



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

VENÍCIOS GONÇALVES SOMBRA

**DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS TERMORRESPONSIVOS DE
COPOLÍMEROS DE POLI(N-ISOPROPILACRILAMIDA) COM GOMA DO
CAJUEIRO E SEUS DERIVADOS**

FORTALEZA

2019

VENÍCIOS GONÇALVES SOMBRA

DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS TERMORRESPONSIVOS DE
COPOLÍMEROS DE POLI(N-ISOPROPILACRILAMIDA) COM GOMA DO
CAJUEIRO E SEUS DERIVADOS

Tese submetida à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em Química
da Universidade Federal do Ceará como
requisito parcial para a obtenção do Título
de Doutor em Química – Área de
concentração: Química.

Orientadora: Prof^a. Dra. Regina Célia
Monteiro de Paula.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S878d Sombra, Venícios Gonçalves.
Desenvolvimento de materiais termorresponsivos de copolímeros de poli(N-isopropilacrilamida) com goma do cajueiro e seus derivados / Venícios Gonçalves Sombra.
– 2019.
72 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Regina Celia Monteiro de Paula.
1. Goma do cajueiro. 2. Poli(N-isopropilacrilamida). 3. Base de Schiff. 4. Química de Carbodiimida. 5. Copolímeros termorresponsivos. I. Título.

CDD 540

VENÍCIOS GONÇALVES SOMBRA

DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS TERMORRESPONSIVOS DE
COPOLÍMEROS DE POLI(N-ISOPROPILACRILAMIDA) COM GOMA DO
CAJUEIRO E SEUS DERIVADOS

Tese submetida à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em Química
como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor em Química – Área de
concentração: Química.

Aprovada em 31/01/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Regina Celia Monteiro de Paula (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dr.^a Izaura Cirino Nogueira Diogenes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dr.^a Judith Pessoa de Andrade Feitosa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Luiz Gonzaga de Franca Lopes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e a criação de tudo.

Aos meus pais, Isamar e Edilene, por todos esses anos de amor e dedicação.

Aos meus irmãos Cíntia e Alexandre, pela amizade, companheirismo e paciência. À toda minha família, tios, tias e avós.

À minha orientadora Regina Célia Monteiro de Paula, pela infinita paciência e apoio irrestrito. Pela confiança depositada no meu trabalho durante todos os anos de orientação.

À professora Judith Feitosa, pela oportunidade de ingressar no Laboratório de Polímeros logo no início da minha graduação. Por todos esses anos de conversas descontraídas, e não tão descontraídas.

Às professoras do Laboratório de Polímeros Pablyana Cunha e Jeanny Maciel, por todo o suporte, amizade e disponibilidade, que contribuíram profundamente para minha formação pessoal e profissional.

À Natalia, meu amor, minha Flor, que durante todos esses anos tem sido minha companheira de todos os momentos. Nas inúmeras conversas, confissões, alicerçou-se uma relação de verdadeira cumplicidade e amor. A ela devo o fato de ter chegado até aqui. Suas contribuições perpassam este, e todos meus outros trabalhos.

À Nadia, pelo seu apoio como amiga e como profissional, desde as minhas primeiras práticas de Química Geral.

À Rayane, por sua amizade e por sempre estar disponível a ajudar

À Maria, por sua amizade e sinceridade durante todos esses anos.

À Lais, por sua amizade e contribuições que tornaram parte desse trabalho possível.

A todos os alunos de IC que me ajudaram nas idas e vindas desse trabalho, Kayena, Wesley e Brenner.

Aos meus amigos do Laboratório Polímeros - LabPol, pelo auxílio nos experimentos e pela amizade durante todos esses anos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química. A todos os professores que direta ou indiretamente contribuíram com minha formação. Aos profissionais Célia, Orlando e Lana, pela ajuda, paciência, compreensão e descontração.

Aos amigos do Laboratório de Proteínas e Carboidratos de Algas Marinhas do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular-UFC, pela parceria e momentos de descontração.

Ao CENAUREMN pelos espectros de RMN obtidos. Ao prof. Daniel Esdras por toda sua ajuda e disponibilidade. E ao Herbert, que durante o período em que fui operador, foi de grande ajuda e compreensão.

À CAPES pela bolsa concedida e ao CNPq, INOMAT e FUNCAP pelo apoio financeiro.

Por fim agradeço a todos, que não tendo sido citados, contribuíram para a realização desse trabalho e na minha formação.

RESUMO

Sistemas poliméricos termorresponsivos têm sido propostos para carreamento e liberação de fármacos, com destaque para os sistemas à base de copolímeros com poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPAAm), polímero termorresponsivo na temperatura próxima à do corpo humano. Polissacarídeos são utilizados na formação desses copolímeros com PNIPAAm por apresentarem propriedades como biodegradabilidade e biocompatibilidade, além de permitir a modulação dessa temperatura de transição. O presente trabalho estuda a formação de copolímeros de goma do cajueiro (GC) e derivados com PNIPAAm amino terminada (PNIPAAmNH₂) por duas rotas: base de *Schiff* e química de carbodiimidas. Foram sintetizados PNIPAAmNH₂ com diferentes massas molares, nomeados PNIPAAmNH₂ 100 e PNIPAAmNH₂ 250, além de derivados modificados da GC por oxidação (GCOX) e carboximetilação (GCCM). Para as reações de copolimerização via base de *Schiff*, utilizou-se GCOX e PNIPAAmNH₂ 100 e 250, em razões mássicas de 5:1 e 1:1. Para as reações de copolimerização via carbodiimida foram utilizadas GCCM e GC com PNIPAAmNH₂ 250. Obteve-se a partir dos copolímeros com GCOX, coloides termorresponsivos com tamanho de partícula a 37 °C, variando entre 147,1 e 221,3 nm e IPd entre 0,151 e 0,580. Os formados com PNIPAAmNH₂ 250 apresentaram as menores LCST (35 °C), tendo a razão entre os constituintes não influenciado na mesma. Esses copolímeros formados via base de *Schiff* apresentaram-se estáveis na faixa de pH de 4,0-7,4. Para os copolímeros formados via reação de carbodiimida, todos apresentaram LCST a 36 °C, com tamanhos e IPd variando entre 194,3 e 262,4 nm, e 0,109 e 0,345, respectivamente. Para esses sistemas, observou-se que a o aumento da quantidade de PNIPAAmNH₂ produziu sistemas mais homogêneos, com menor IPd. Dentre os sistemas estudados os que apresentaram menores tamanhos e IPd foram: GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1, com tamanho de 221,3 nm e 0,151 de IPd; GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1, com tamanho de 194,3 nm e 0,202 de IPd; GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1, com tamanho de 212,8 nm e 0,109 de IPd.

Palavras-chave: Goma do cajueiro. Poli(*N*-isopropilacrilamida). Base de *Schiff*. Química de Carbodiimida. Copolímeros termorresponsivos.

ABSTRACT

Thermoresponsive polymers have been proposed for drug loading and delivery systems, being the prominent systems those based on poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) copolymers due to its thermoresponsive temperature close to human body temperature. Polysaccharides are applied to PNIPAAm copolymers formation providing new properties such as biodegradability and biocompatibility, besides allowing the transition temperature modulation. The present work studies copolymers formation of cashew gum (CG) and derivatives with amino terminated PNIPAAm (PNIPAAmNH₂) by two routes: *Schiff* base and carbodiimide chemistry. PNIPAAmNH₂ 100 and PNIPAAmNH₂ 250 were synthesized, besides the GC oxidation (GCOX) and carboxymethylation (GCCM). GCOX and two different PNIPAAmNH₂ were used in mass ratios of 5:1 and 1:1 in *Schiff* base copolymerization reactions. Copolymerization reactions by carbodiimide used GCCM and GC with PNIPAAmNH₂ 250. GCOX copolymers produced thermoresponsive colloids with particle sizes, at 37 °C, ranging between 147.1 and 221.3 nm, and Pdl from 0.151 to 0.580. Copolymers from PNIPAAmNH₂ 250 exhibit the lowest LCST (35 °C) that is uninfluenced by the mass ratio. The copolymers formed by *Schiff* base are stable in pH range from 4.0 to 7.4. Copolymers formed by the carbodiimide reaction presented LCST at 36 °C, with particle sizes values of 194.3 and 262.4 nm, and Pdl 0.109 and 0.345. It was observed that increasing the amount of PNIPAAmNH₂ the systems becomes more homogeneous with lower Pdl, especially systems: GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1, size 221.3 nm and Pdl 0.151; GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1, size 194.3 nm and Pdl 0.202; GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1, size 212.8 nm and Pdl 0.109.

Keywords: Cashew gum. Poly(*N*-isopropylacrylamide). *Schiff* base. Carbodiimide chemistry. Thermoresponsive copolymers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da transição que ocorre com o polímero termorresponsivo com o aumento da temperatura.....	15
Figura 2 – Principais açúcares constituintes da goma do cajueiro (a) e seu possível arranjo na estrutura do polissacarídeo (b).....	19
Figura 3 – Reação de oxidação com periodato da unidade de α -D-glicose, constituinte da goma do cajueiro.....	20
Figura 4 – Reação genérica para a formação de uma imina via base de Schiff com catálise ácida.....	21
Figura 5 – Mecanismo de reação da carboximetilação de um polissacarídeo..	23
Figura 6 – Esquema de reação de acoplamento entre dois polímeros distintos por meio de química de carbodiimidas na presença de EDC/NHS	24
Figura 7 – Esquema reacional para a obtenção da poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida) amino terminado.....	27
Figura 8 – Representação esquemática da reação para a produção dos polímeros poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida) amino terminado.....	28
Figura 9 – Espectros de <i>N</i> -isopropilacrilamida e poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida) amino terminada.....	34
Figura 10 – Cromatogramas das amostras de PNIPAAmN ₂	35
Figura 11 – Espectros de RMN ¹³ C-BB para as poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida) amino terminadas em D ₂ O.....	37
Figura 12 – Tamanho de partícula e taxa de contagem para os PNIPAAmNH ₂ 250 em função da temperatura.....	37
Figura 13 – Tamanho de partícula e taxa de contagem para os PNIPAAmNH ₂ 100 em função da temperatura.....	38
Figura 14 – Espectros de FTIR para a goma do cajueiro e seus derivados oxidados.....	40
Figura 15 – Espectros de FTIR para a goma do cajueiro carboximetilada.....	41
Figura 16 – Cromatogramas de distribuição de massa molar por GPC para GC, GCOX e GCCM.....	42
Figura 17 – Espectros de RMN ¹³ C-BB e ¹³ C-DEPT 135 para a goma do cajueiro em D ₂ O.....	43

Figura 18 – Espectro de RMN ^{13}C -BB para GCCOX em D_2O	44
Figura 19 – Espectros de RMN ^{13}C -BB e ^{13}C -DEPT 135 para GCCM em D_2O ...	45
Figura 20 – Espectros de FTIR para a série GCOX e PNIPAAm-NH ₂ 250 de copolímeros.....	47
Figura 21 – Espectros de FTIR para a série GCOX e PNIPAAm-NH ₂ 100 de copolímeros.....	48
Figura 22 – Espectros de RMN ^{13}C -BB de copolímeros formados via base de Schiff em D_2O	49
Figura 23 – Taxa de contagem para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1.....	50
Figura 24 – Tamanho de partícula e IPd para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1.....	51
Figura 25 – Taxa de contagem para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1.....	51
Figura 26 – Tamanho de partícula e IPd para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1.....	52
Figura 27 – Taxa de contagem em função da temperatura para GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 5:1.....	53
Figura 28 – Tamanho de partícula e IPd para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 5:1.....	53
Figura 29 – Taxa de contagem em função da temperatura para GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 1:1.....	54
Figura 30 – Tamanho de partícula e IPd em função da temperatura para GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 1:1.....	54
Figura 31 – Tamanho de partícula para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1 em diferentes meios.....	55
Figura 32 – Índice de polidispersão para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1 em diferentes meios.....	56
Figura 33 – Espectros de FTIR para os copolímeros de GCCM e PNIPAAmNH ₂	57
Figura 34 – Espectros de FTIR para os copolímeros de GC e PNIPAAmNH ₂ 250.....	58

Figura 35 – Espectros de RMN ^{13}C -BB para os copolímeros GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1 e GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1 em D ₂ O.....	59
Figura 36 – Taxa de contagem em função da temperatura para GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1.....	60
Figura 37 – Tamanho de partícula e IPd para GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1.....	60
Figura 38 – Taxa de contagem em função da temperatura para GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1.....	61
Figura 39 – Tamanho de partícula e IPd para GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1.....	62
Figura 40 – Taxa de contagem em função da temperatura para GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1.....	63
Figura 41 – Tamanho de partícula e IPd para GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1.....	63
Figura 42 – Taxa de contagem em função da temperatura para GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1.....	64
Figura 43 – Tamanho de partícula e IPd para GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Polímeros que possuem LCST e suas respectivas temperaturas de transição.....	17
Tabela 2 – Compilação de trabalhos com PNIPAAm e polissacarídeos com suas rotas enxertia e aplicação.....	17
Tabela 3 – Condições reacionais para formação dos copolímeros.....	30
Tabela 4 – Condições reacionais para formação dos copolímeros via reação de carbodiimida.....	31
Tabela 5 – Valores de Mpk, Mw, Mn e IPd para os homopolímeros sintetizados.....	36
Tabela 6 – Valores de volume de eluição e massa molar estimada da goma do cajueiro e derivados modificados.....	42
Tabela 7 – Atribuições do espectro de RMN ¹³ C-BB para a goma do cajueiro...	44
Tabela 8 – Sumário dos rendimentos reacionais e de purificação para os copolímeros produzidos via Base de Schiff.....	46
Tabela 9 – Razão entre as bandas de FTIR de 1545 cm ⁻¹ / 1080 cm ⁻¹ para os copolímeros formados via base de Schiff.....	48
Tabela 10 – Compilação dos resultados dos copolímeros de GCOX e PNIPAAmNH ₂	55
Tabela 11 – Sumário dos rendimentos reacionais e de purificação para os copolímeros produzidos via acoplamento EDC/NHS.....	57
Tabela 12 – Razão entre as bandas de FTIR de 1545 cm ⁻¹ / 1080 cm ⁻¹ para os copolímeros.....	58
Tabela 13 – Compilação dos resultados dos copolímeros de GCCM e GC com PNIPAAmNH ₂	65
Tabela 14 – Resultados de DLS para os copolímeros sintetizados.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Absorbância
AET.HCl	Cloridrato de 2-aminoetanotiol
AMC	Ácido monocloroacético
BB	<i>Broad Band Decoupling</i>
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
IPd	Índice de Polidispersão
KPS	Persulfato de potássio
LCST	<i>Lower critical solution temperature</i>
MES	Ácido 2-(N-morfolino)etanosulfônico
$\bar{M}_n$	Massa molar numérica média
Mpk	Massa molar de pico
$\bar{M}_w$	Massa molar ponderal média
NHS	N-Hidrosuccinimida
THF	Tetraidrofurano
UCST	<i>Upper critical solution temperature</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Polímeros termorresponsivos em sistemas de liberação de fármacos.....	15
1.2	Copolímeros termorresponsivos à base de poli(N-isopropilacrilamida) e polissacarídeos.....	16
1.3	Goma do cajueiro oxidada.....	19
1.4	Reações de formação de base de Schiff.....	20
1.5	Goma do cajueiro carboximetilada.....	22
1.6	Química de carbodiiminas.....	24
2	OBJETIVOS.....	26
2.1	Objetivo geral.....	26
2.2	Objetivos específicos.....	26
3	MATERIAIS E MÉTODOS.	27
3.1	Materiais.....	27
3.2	Síntese do poli(N-isopropilacrilamida) com grupo terminal amino....	27
3.3	Quantificação dos grupos terminais aminados na poli(N-isopropilacrilamida).....	28
3.4	Oxidação da goma do cajueiro.....	29
3.5	Determinação do grau de oxidação.....	29
3.6	Reação de carboximetilação da goma do cajueiro.....	29
3.7	Determinação do teor de grupamentos ácidos na goma do cajueiro e o nos seus derivados carboximetilados.....	30
3.8	Síntese dos copolímeros de goma do cajueiro oxidada e a poli(N-isopropilacrilamida) com grupo terminal amino via formação de base de Schiff.....	30
3.9	Síntese dos copolímeros de GC e GCCM com poli(N-isopropilacrilamida) via reação de carbodiimida.....	31
3.10	Purificação dos copolímeros.....	31

3.11	Caracterização dos polímeros de partida e dos copolímeros obtidos.....	32
3.11.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....</i>	32
3.11.2	<i>Cromatografia de Permeação em Gel (GPC).....</i>	32
3.11.3	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....</i>	32
3.11.4	<i>Espalhamento de luz dinâmico (DLS).....</i>	32
3.11.5	<i>Estabilidade temporal dos copolímeros em função do pH.....</i>	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1	Síntese e caracterização da poli(N-isopropilacrilamida) amino terminada.....	34
4.1.1	<i>Síntese de poli(N-isopropilacrilamida) amino terminada e quantificação de grupos terminais.....</i>	34
4.1.2	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....</i>	34
4.1.3	<i>Cromatografia de Permeação em Gel (GPC).....</i>	35
4.1.4	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....</i>	36
4.1.5	<i>Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).....</i>	36
4.2	Reações de oxidação e carboximetilação da goma do cajueiro e suas caraterizações.....	39
4.2.1	<i>Isolamento da goma do cajueiro e determinação do teor de ácido....</i>	39
4.2.2	<i>Reação de oxidação da goma do cajueiro e determinação do grau de oxidação.....</i>	39
4.2.3	<i>Reação de carboximetilação e determinação do grau de substituição.....</i>	39
4.2.4	<i>Caracterização da goma do cajueiro e seus derivados modificados.</i>	39
4.2.4.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....</i>	40
4.2.4.2	<i>Cromatografia de Permeação em Gel (GPC).....</i>	41
4.2.4.3	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....</i>	43
4.3	Síntese dos copolímeros de GCOX20 e poli(N-isopropilacrilamida) amino terminada e suas caracterizações.....	46

4.3.1	<i>Síntese dos copolímeros de GCOX e poli(N-isopropilacrilamida) via formação de Base de Schiff.....</i>	46
4.3.2	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....</i>	46
4.3.3	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....</i>	48
4.3.4	<i>Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).....</i>	49
4.3.5	<i>Estabilidade temporal dos copolímeros em função do pH.....</i>	55
4.4	<i>Síntese dos copolímeros de GC e GCCM com e poli(N-isopropilacrilamida) amino terminada e suas caracterizações.....</i>	56
4.4.1	<i>Síntese dos copolímeros de GC e GCCM com poli(N-isopropilacrilamida) via reação de carbodiimida.....</i>	56
4.4.2	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....</i>	57
4.4.3	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....</i>	58
4.4.4	<i>Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS).....</i>	59
4.5	<i>Comparativo entre os copolímeros produzidos.....</i>	65
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
	REFERÊNCIAS.....	68

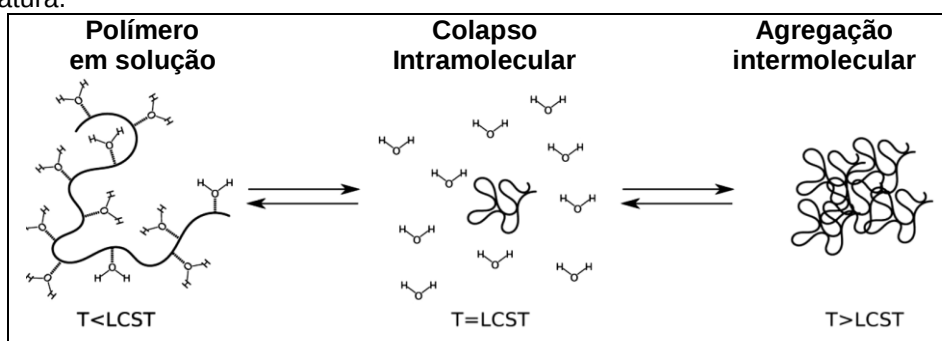
1 INTRODUÇÃO

1.1 Polímeros termorresponsivos em sistemas de liberação de fármacos

Uma vertente que surge dentre os sistemas de liberação de fármaco está relacionada a sistemas que respondem a um estímulo externo ou ambiente, como pH (SONAWANE *et al.*, 2017; MAO *et al.*, 2016), radiação (JOCHUM; THEATO, 2013) e temperatura (SAMANTA *et al.*, 2018).

Os sistemas poliméricos termorresponsivos apresentam mudança em sua solubilidade em relação à variação de temperatura, estando essa resposta associada diretamente à liberação do fármaco no meio. A temperatura na qual ocorre tal mudança pode ser classificada de duas formas: LCST (*Lower Critical Solution Temperature*) quando a partir de tal temperatura o polímero torna-se insolúvel e UCST (*Upper Critical Solution Temperature*) quando a partir de tal temperatura o polímero torna-se solúvel. Este último tipo de transição ocorre para um número limitado de polímeros termorresponsivos (SEURING; AGARWAL, 2012). O efeito da temperatura nas cadeias dos polímeros termorresponsivos está esquematizado na Figura 1.

Figura 1 – Representação da transição que ocorre com o polímero termorresponsivo com o aumento da temperatura.



Fonte: Abulateefeh *et al.*, 2011.

Sistemas de liberação têm sido estudados principalmente com polímeros que possuem LCST, esses polímeros e suas respectivas temperaturas de transição são mostrados na Tabela 1.

Dentre os polímeros termorresponsivos citados destaca-se a poli(*N*-isopropilacrilamida) que, tanto por sua biocompatibilidade como pelo seu valor de LCST (30-34 °C), próximo à temperatura do corpo humano (37 °C), tem sido tem

utilizada em sistema de liberação de fármaco, principalmente para fármacos anti-cancerígeno.

Tabela 1 – Polímeros que possuem LCST e suas respectivas temperaturas de transição.

Polímero	Temperatura de transição em solução aquosa (°C)
Poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida)	30-34
Poli(<i>N,N</i> -dimetilacrilamida)	32-34
Poli(metil vinil eter)	37
Poli(<i>N</i> -vinilcaprolactama)	30-50
Copolímero em bloco de poli(óxido de etileno)	20-85

Fonte: GHANDI *et al.*, 2015.

1.2 Copolímeros termorresponsivos à base de poli(*N*-isopropilacrilamida) e polissacarídeos

A síntese de copolímeros de poli(*N*-isopropilacrilamida) e polissacarídeos tem se intensificado nos últimos anos. A introdução de um grupamento hidrofílico afeta o padrão de interação das cadeias de PNIPAAm acarretando uma elevação de LCST e modulando a liberação de fármacos.

As sínteses destes copolímeros ocorrem via reação de polimerização do monômero *N*-isopropilacrilamida na cadeia do polissacarídeo por polimerização radicalar ou por reação de acoplamento de um polímero de *N*-isopropilacrilamida pré formado com a cadeia do polissacarídeo. Nas reações radicalares utiliza-se como iniciadores persulfato de amônio ou potássio (APS ou KPS) ou nitrato cérico amoniacal (CAN) (Tabela 2). As reações de acoplamento, geralmente, utilizam a química de carbodiimidas, como por exemplo os reagentes EDC (3-etilcarbodiimida)/NHS (*N*-hidroxissuccinimida). Neste tipo de reação há a condensação de um grupo carboxilato com um amina primária, formando amidas. Assim, um polissacarídeo tendo grupos carboxilatos em sua estrutura, o PNIPAAm deve ser funcionalizado com grupamentos NH₂ (PNIPAAm-NH₂) (Tabela 2). Vários destes copolímeros possuem respostas termoresponsivas e apresentam capacidade de liberar controladamente fármacos.

Tabela 2 - Compilação de trabalhos com PNIPAAm e polissacarídeos com suas rotas de enxertia e aplicação

Polissacarídeo	Forma de Inserção do PNIPAM	Atmosfera	Reagentes	Temperatura/tempo de reação	Apresentação do copolímero	Aplicação	Referência
Amido	NIPAAm	Argônio	APS	70 °C/Refluxo 24h	Nanohidrogel magnético	Teranóstico com metotrexato	Poorgholy, Massoumi, Jamand, 2017
Alginato	NIPAAm	-	KPS/BIS/T EMED	25 °C/2 h	Hidrogel	Potencial carreamento de fármaco	Dumitriu, Mitchell, Vasile, 2011
Alginato	NIPAAm	-	KPS/BIS/T EMED	25 °C/2 h	Hidrogel	Carreamento de teofilina (antiasmático)	Dumitriu et al., 2014
Alginato	PNIPAAm-NH ₂	-	EDC	96 h	Hidrogel	-	Lencina et al. 2014
Alginato	PNIPAAm-NH ₂	-	EDC/NHS	4°C/20h	Micelas	Carreamento de doxorubicina (anticâncer)	Ahn et al. 2014
Alginato	PNIPAAm-NH ₂	-	EDC	48 h	Hidrogel	-	Cheaburu et al. 2013
Dextrana	NIPAAm	Argônio	CuBr	Banho de gelo/ 5 h	Micelas	Carreamento de metotrexato (anticâncer)	Blanco-Fernandez et al., 2017
Ácido poligulurônico e	PNIPAAm-NH ₂	-	EDC/NHS	Temperatura ambiente/16 h	Hidrogel	-	Martinez-Gomez et al. 2015
Pululana carboximetilada	NIPAAm	Nitrogênio	BIS/TEME D/APS	Temperatura ambiente/48 h	Hidrogel	Carreamento de difenidramina (anti-alérgico)	Asmarandei et al., 2013
Guar carboximetilada	PNIPAAm-NH ₂	-	EDC	Temperatura ambiente/15 h	Hidrogel	-	Gupta et al. 2011
Celulose Carboximetilada	PNIPAAm-NH ₂	Nitrogênio	EDC/NHS	-/24 h	-	-	Marques et al, 2016
Celulose Carboximetilada	PNIPAAm-NH ₂	-	EDC	Temperatura ambiente/8h	-	-	Bokias et al, 2001
Quitosana Carboximetilada	PNIPAAm-NH ₂	-	EDC/NHS	25 °C/12h	-	Carreamento de doxorubicina (anticâncer)	Antoniraj, Kumar, Kandasamy, 2016.
Goma do Cajueiro	NIPAAm	Nitrogênio	CAN	25 °C/4h	Nanopartículas	Carreamento de epirrubicina (anticâncer)	Abreu et al, 2016

Copolímeros termossensíveis de alginato com PNIPAAm foram sintetizados via reação radicalar e por reação de acoplamento (TABELA 2). Alginato/PNIPAAm hidrogel foi testado como carreador de teofilina, medicamento utilizado para asma e obstruções graves respiratórias (DUMITRIU *et al.*, 2014). Os autores mostraram que a capacidade de incorporação varia entre 55 a 73%, sendo que o aumento da proporção de alginato no copolímero proporciona um aumento da incorporação do fármaco. Uma liberação controlada também foi observada até 24 horas a pH 7,4.

Martinez-Gomez *et al.* (2015) realizaram sínteses de copolímeros com PNIPAm e cadeias de homopolímeros de ácido manurônico (MM-g-PNIPAAm) e de ácido galacturônico (GG-g-PNIPAAm). Os autores mostraram que os hidrogéis de GG-g-PNIPAAm possuem propriedades de intumescimento, térmicas e de resposta ao pH melhores que os hidrogéis de MM-g-PNIPAAm.

Copolímeros de PNIPAAm e pululana carboximetilada apresentaram resposta tanto à variação de temperatura quanto ao pH (ASMARANDEI *et al.*, 2013). Teste de liberação de difenidramina, um anti-histaminico, mostra que a liberação depende da temperatura, pH e composição do copolímero.

Micelas de copolímeros de dextrana-g-PNIPAm também apresentaram respostas diferenciadas ao pH e temperatura. As micelas foram utilizadas para incorporação de um fármaco para tratamento do câncer (Metotrexato). As micelas carregadas foram eficientes na internalização do fármaco em células cancerígenas, tendo ação mais citotóxica nestas células que o fármaco livre (BLANCO-FERNANDEZ *et al.*, 2017).

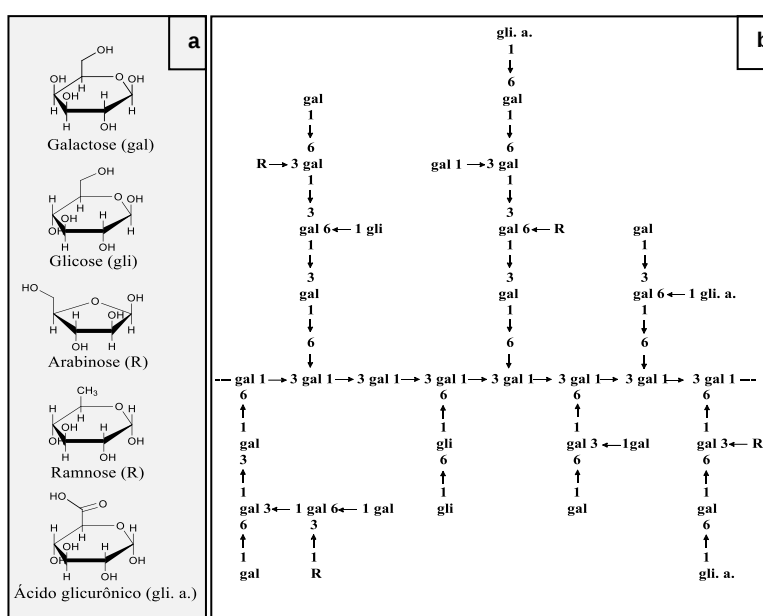
Hidrogéis injetáveis foram obtidos a partir de copolímeros de ácido hialurônico e PNIPAm. Os hidrogéis apresentaram um aumento de viscosidade acima de 35 °C, permanecendo estáveis, na administração *in vivo* por 24h. Uma liberação mais controlada de riboflavina foi observada quando a inserção de PNIPAm foi maior (HA *et al.*, 2006).

Nanopartículas de copolímeros de goma do cajueiro e PNIPAm com tamanhos variando de 12 a 21 nm. Foram sintetizados copolímeros via polimerização radicalar utilizando nitrato cérico amoniacal (CAN) como iniciador. As nanopartículas não apresentaram citotoxicidade em testes com células Caco-2 e HT29-MTX e foram eficientes na incorporação de epirubicina, um fármaco para o tratamento do câncer (ABREU *et al.*, 2016).

1.3 Goma do cajueiro oxidada

A goma do cajueiro é um polissacarídeo obtido a partir do exsudato extraído da árvore *Anacardium occidentale*, abundante na região nordeste do Brasil. A Figura 2 apresenta as unidades monossacarídicas constituintes da goma do cajueiro e o seu possível arranjo na estrutura do polissacarídeo.

Figura 2 – Principais açúcares constituintes da goma do cajueiro (a) e seu possível arranjo na estrutura do polissacarídeo (b)



Fonte: Adaptada de Anderson e Bell (1975).

Devido a presença de vários grupos hidroxilas na cadeia dos polissacarídeos, estes podem ser modificados facilmente gerando vários tipos de derivados, entre eles os derivados oxidados onde o grupamento hidroxila é oxidado a aldeído ou cetona.

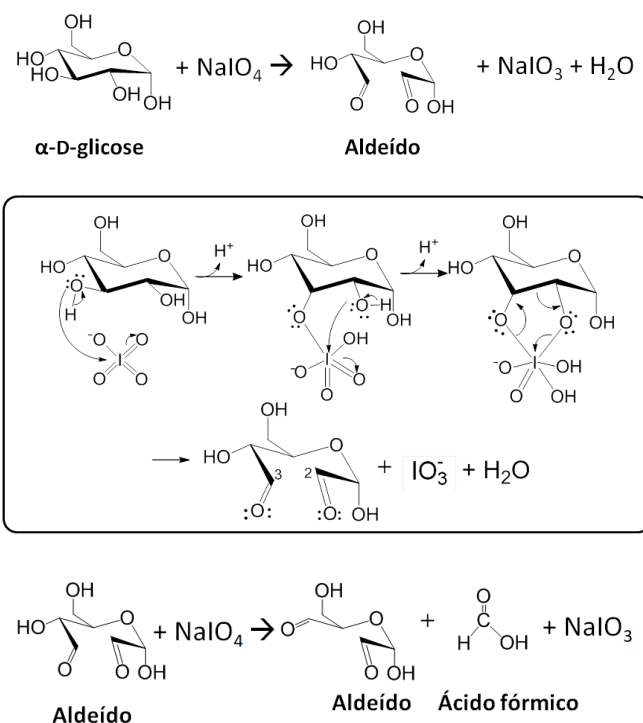
A Figura 3 apresenta a reação de oxidação com periodato para uma unidade de glicose, presente na estrutura da goma do cajueiro. Alguns reagentes podem ser utilizados para a oxidação de unidades monossacarídicas, tais como reagente TEMPO (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina) (CUNHA *et al.*, 2007;) e o periodato de sódio (LEITE *et al.*, 2017),

Para que ocorra a reação de oxidação com periodato, é imprescindível que a unidade monossacarídica a ser oxidada, possua duas hidroxilas vicinais e na mesma

orientação (ambas equatoriais ou ambas axiais). Para a unidade de glicose, apenas os carbonos C-2, C-3 e C-4 atendem a essa restrição.

Cada unidade de glicose pode ser duplamente oxidada, na primeira oxidação ocorre a abertura do anel piranosídico com a formação de um dialdeído, na segunda oxidação formaldeído é liberado a partir da estrutura previamente oxidada.

Figura 3 – Reação de oxidação com periodato da unidade de α -D-glicose, constituinte da goma do cajueiro



Fonte: Elaborada pelo autor.

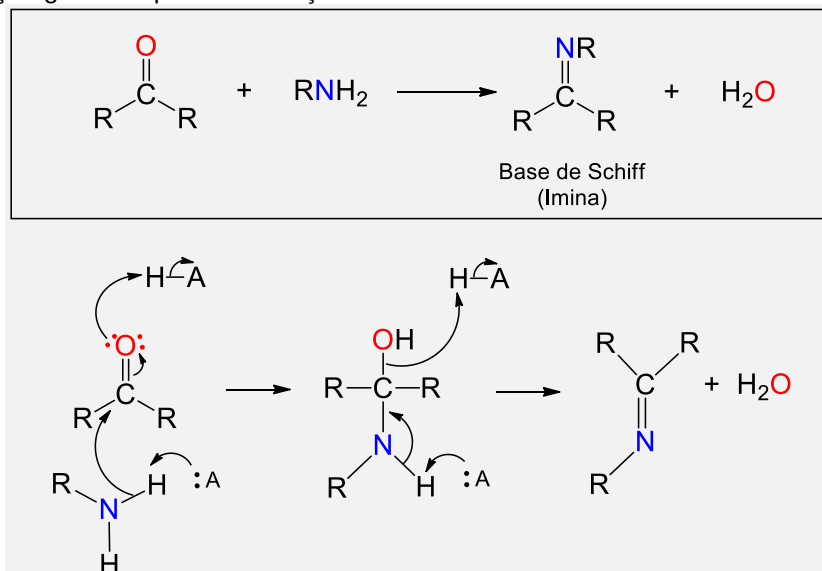
Os grupos aldeídos na estrutura do polissacarídeo permitem a formação de ligação com outras moléculas, sejam elas pequenas como fármacos (EHRENFREUND-KLEINMAN *et al.*, 2002; LI *et al.*, 2017), macromoléculas como polissacarídeos (JIA *et al.*, 2011) ou proteínas (BALAKRISHNAN *et al.*, 2005), na síntese de novos materiais.

1.4 Reações de formação de base de Schiff

Base de Schiff, descoberta pelo químico Hugo Schiff, em suas pesquisas com iminas e aldeídos (1864), é uma imina ligada pelo átomo de hidrogênio a um grupo hidrocarbíl (grupo hidrocarbonado sem um hidrogênio), tendo como estrutura

básica $R_2C=NR'$ ($R' \neq H$). A reação de formação da base de Schiff ocorre por adição nucleofílica entre uma amina primária aromática ou alifática e um grupo carbonila de aldeído ou cetona, formando um hemiaminal seguido de desidratação, tendo uma imina como produto final (DA SILVA *et al.*, 2011; KLEIN, 2016). A Figura 4 mostra um exemplo genérico de formação de base de Schiff.

Figura 4 – Reação genérica para a formação de uma imina via base de Schiff com catálise ácida.



Fonte: Adaptada de KLEIN, 2016.

Pesquisas mais recentes exploram a formação de bases de Schiff em reações envolvendo polissacarídeos visando a produção de novos materiais, aliando propriedades desses polissacarídeos com as de outras moléculas ao acoplá-las pela formação de imina. Sabaa *et al.* (2017) estudaram a formação de bases de Schiff entre um copolímero de quitosana com poliacrilonitrila e diversos aldeídos, observando um aumento na atividade bactericida do copolímero, em relação ao copolímero sem modificação.

Bases de Schiff também mostram eficiência em sistemas de carreamento e liberação de fármacos como nos resultados apresentados por Feng *et al.* (2017) mostrando um conjugado de um fármaco anticancerígeno, a doxorubicina, com um polissacarídeo, a dextrana oxidada. A conjugação entre o polissacarídeo e o fármaco ocorreu via base de Schiff entre o grupo amino da doxorubicina e os grupos aldeídos da dextrana oxidada. Esse sistema mostrou-se dependente do pH do meio, podendo ser modulável para liberação do fármaco na região tumoral. Além disso, o sistema mostrou, em relação ao fármaco não conjugado, uma maior eficiência de

internalização celular, maior citotoxicidade e aumento da inibição de proliferação tumoral.

Alguns trabalhos envolvendo polissacarídeos regionais também propõem o uso de bases de Schiff em sistemas de carregamento e liberação de ativos. Moura Neto (2009) propôs a formação de esferas à base de gelatina para a liberação de ativos em meio aquoso, fazendo uso de base de Schiff entre o grupo amino da gelatina e os grupos aldeídos da goma do cajueiro oxidada, observando dependência da interação entre gelatina e goma com o aumento do grau de oxidação da goma. O mesmo sistema foi utilizado para a formação de géis como suportes de células ou ativos, “scaffolds”, para medicina regenerativa (MAGALHÃES, 2013).

As bases de Schiff também podem ser úteis na produção de hidrogéis injetáveis com formação *in situ*, como o material produzido por Cheng *et al.* (2014) a partir de quitosana e dextrana funcionalizada com grupos aldeído, que se destaca por sua excelente citocompatibilidade. Filmes finos de goma do cajueiro oxidada com diferentes graus de oxidação com quitosana via base de Schiff foram produzidos e caracterizados por Leite *et al.* (2017).

Dessa forma, bases de Schiff mostram-se interessantes na elaboração de sistemas carreadores, possibilitando agregar propriedades de diferentes moléculas, em um único material.

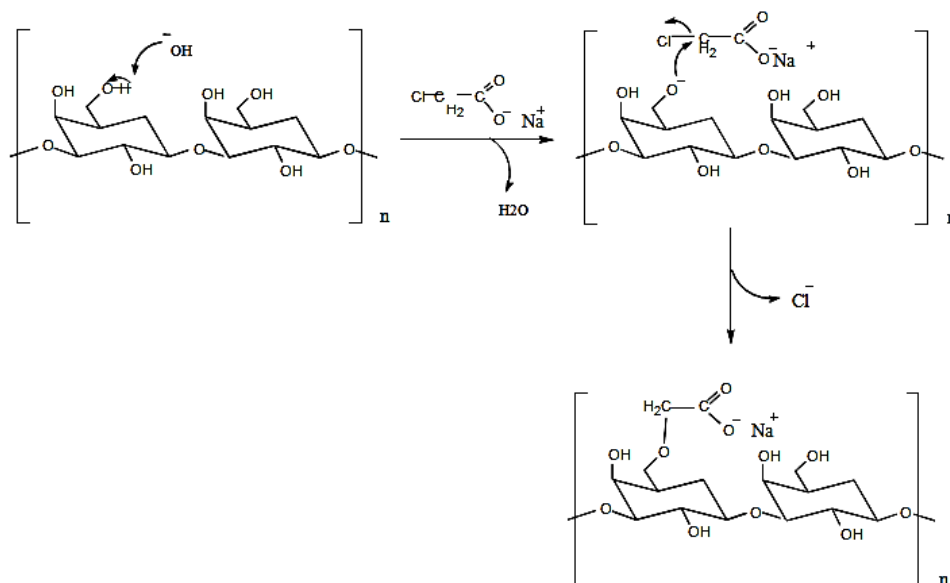
1.5 Goma do cajueiro carboximetilada

A carboximetilação é um método industrial bastante utilizado para a preparação de derivados a partir de polissacarídeos, apresentando vantagens como baixo custo e a não toxicidade dos produtos formados (VERRAEST *et al.*, 1995). Esse método tem sido aplicado a diferentes polissacarídeos como: quitosana (HAYES, 1986), celulose (TORUL; ARSLAN, 2003), goma do cajueiro (SILVA *et al.*, 2004), amido (KOOIJMAN *et al.*, 2003), quitina (KURITA, 2001), gelana (MIYAMOTO *et al.*, 1996), pululana (PICTON *et al.*, 1995) e inulina (VERRAEST *et al.*, 1995), como materiais de partida.

A reação de carboximetilação introduz no substrato de interesse grupo carboximetilas ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), geralmente utilizando como reagente o ácido monocloroacético em meio básico. Esse tipo de modificação tanto aumenta a

hidrofilicidade do substrato como pode aumentar sua atividade. O mecanismo de reação para unidades genéricas de um polissacarídeo é apresentado na Figura 5.

Figura 5 – Mecanismo de reação da carboximetilação de um polissacarídeo



Fonte: SILVA *et al.*, 2004.

A primeira etapa da reação consiste no equilíbrio de protonação e desprotonação da hidroxila pelo hidróxido formando íons alcóxidos que, por sua vez, reagem com o ácido monocloroacético para a formação de um éter.

A quantidade de grupos carboximetil formados é indicada pelo grau de substituição (GS) (número de grupos carboximetil inseridos na cadeia do polímero por unidade monomérica). O grau de substituição (GS) para derivados carboximetilados pode ser determinado por um número de técnicas analíticas, as mais comuns utilizam potenciometria e condutimetria (GLINEL *et al.*, 2000).

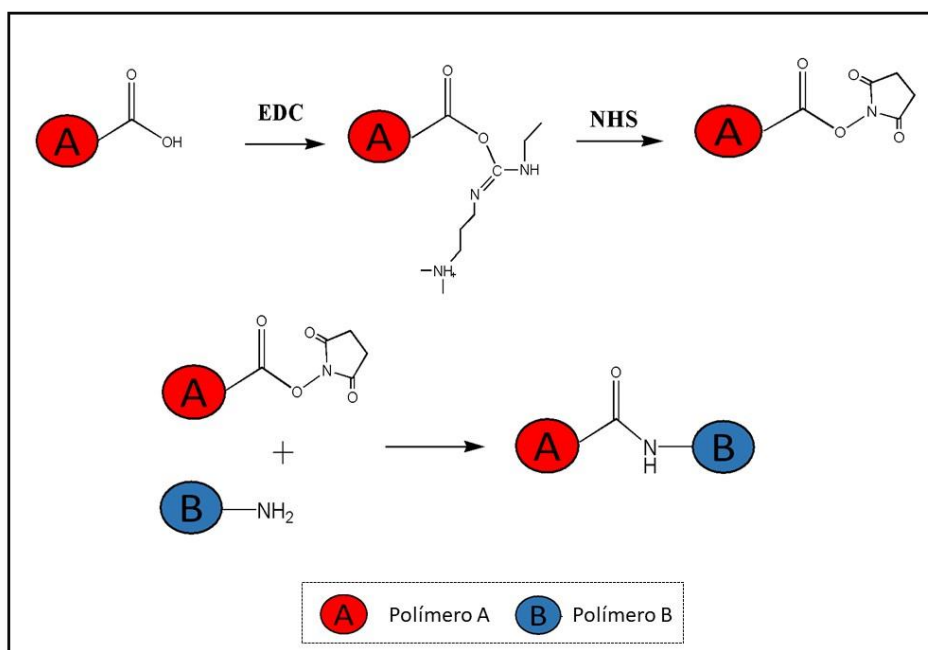
A reação de carboximetilação da goma do cajueiro foi proposta anteriormente para obtenção de materiais com diferentes aplicações. A interação entre goma do cajueiro carboximetilada e quitosana levou à produção de complexos polieletrólitos (MACIEL *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2010) e microesferas (MAGALHÃES JR *et al.*, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2015) visando a liberação controlada de fármacos. Filmes de goma do cajueiro carboximetilada obtidos por layer by layer (LBL) mostraram aumento de carga quando comparados com os filmes obtidos com goma do cajueiro não modificada, característica interessante para a aplicação de tais filmes como dispositivos optoeletrônicos (LEITE *et al.*, 2017).

1.6 Química de carbodiiminas

A química de carbodiimidas é comumente empregada quando deseja-se ligar covalentemente um grupo amino a um ácido carboxílico. O agente de acoplamento mais utilizado para essa classe de reações em meio aquoso é o *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDC), presente geralmente na forma protonada em meio levemente ácido (pH entre 4 e 6). O reagente EDC atua como ativador do ácido carboxílico, sendo empregado juntamente com o reagente *N*-hidroxissuccinimida (NHS), o qual atua como estabilizante do intermediário de reação, aumentando assim a eficiência da reação.

A química de carbodiimidas tem sido utilizada na química de polímeros em especial na produção de nanopartículas poliméricas, uma vez que a reação de acoplamento que se dá por essa via dispensa o uso de reticulantes, pois liga as espécies de interesse por meio dos grupos funcionais presentes nas próprias espécies envolvidas, como mostra o esquema apresentado na Figura 6.

Figura 6 – Esquema de reação de acoplamento entre dois polímeros distintos por meio de química de carbodiimidas na presença de EDC/NHS



Fonte: Elaborada pelo autor.

Reações de acoplamento utilizando química de carbodiimidas foram aplicadas em sínteses com polissacarídeos, como a quitosana, na produção de copolímeros enxertados com PNIPAAm, para a produção de hidrogéis injetáveis

(CHEN, CHENG, 2006). Alginato e derivados carboximetilados de goma guar enxertados com PNIPAm-NH₂ foram sintetizados para a produção de hidrogéis (CHEABURU *et al.* 2013; Chen, CHENG, 2006) e alginato com PNIPAAm-NH₂ para a produção de micelas visando o carreamento de fármacos (AHN *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2017).

Neste trabalho é proposta uma nova rota para síntese de copolímeros utilizando a formação de base de Schiff entre o derivado oxidado da goma do cajueiro e o homopolímero pré-formado de PNIPAAm com grupos NH₂ terminais e a formação de copolímeros de goma do cajueiro e goma da cajueiro carboximetilada com PNIPAAm com grupos NH₂ terminais via química de carbodiimidas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir novas rotas de síntese de copolímeros de poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) com grupos terminais NH₂ e derivados oxidados e carboximetilados de goma do cajueiro para potencial aplicação em liberação de fármacos.

2.2 Objetivos específicos

Sintetizar e caracterizar o poli(*N*-isopropilacrilamida) com grupo amino terminal de diferentes massas molares e avaliar o efeito do tamanho da cadeia na formação e propriedades do copolímero enxertado.

Sintetizar e caracterizar derivados oxidados e carboximetilados de goma do cajueiro.

Sintetizar e caracterizar copolímeros de poli(*N*-isopropilacrilamida) com grupo amino terminal e goma do cajueiro oxidada via formação de base de Schiff.

Sintetizar e caracterizar copolímeros de poli(*N*-isopropilacrilamida) com grupo amino terminal e goma do cajueiro e seu derivado carboximetilado via formação de carbodiimidas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

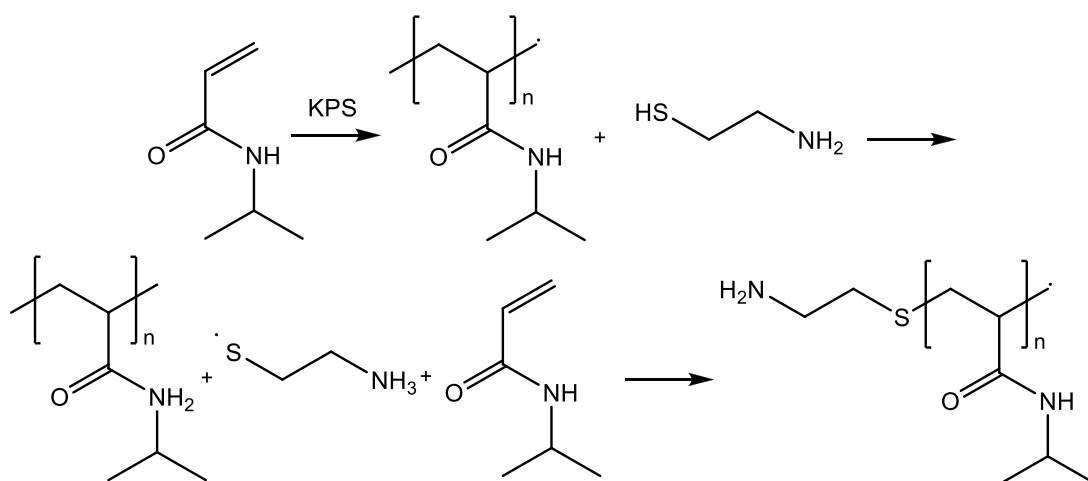
3.1 Materiais

A goma do cajueiro (GC) foi extraída do exsudato do cajueiro (*Anacardium occidentale*) coletado de árvores nativas, em Fortaleza-CE, e isolada segundo o método descrito por Rodrigues, de Paula e Costa (1993). A *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm), cloridrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*'-etilcarbodiimida (EDC), *N*-hidroxisuccinimida (NHS) e ácido 2-(*N*-morfolino)eta nosulfônico (MES) e cloridrato de 2-aminoetanotiol (EAT) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Acetona e periodato de sódio foram obtidos da Synth. Todos os experimentos foram realizados com água deionizada com resistividade de 18 MΩ.cm, obtida de deionizador com resina de troca iônica (ELGA, modelo PURELAB Classic).

3.2 Síntese do poli(*N*-isopropilacrilamida) com grupo terminal amino

A preparação do poli(*N*-isopropilacrilamida) com terminal amino (FIGURA 7) foi realizada por polimerização radicalar dos monômeros (*N*-isopropilacrilamida) em solução aquosa usando cloridrato de 2-aminoetanotiol (AET·HCl) como agente de transferência de cadeia e persulfato de potássio (KPS) como iniciador (FIGURA 8) (BOKIAS *et al*; 2001; GUPTA; GHUTE; BADIGER, 2011).

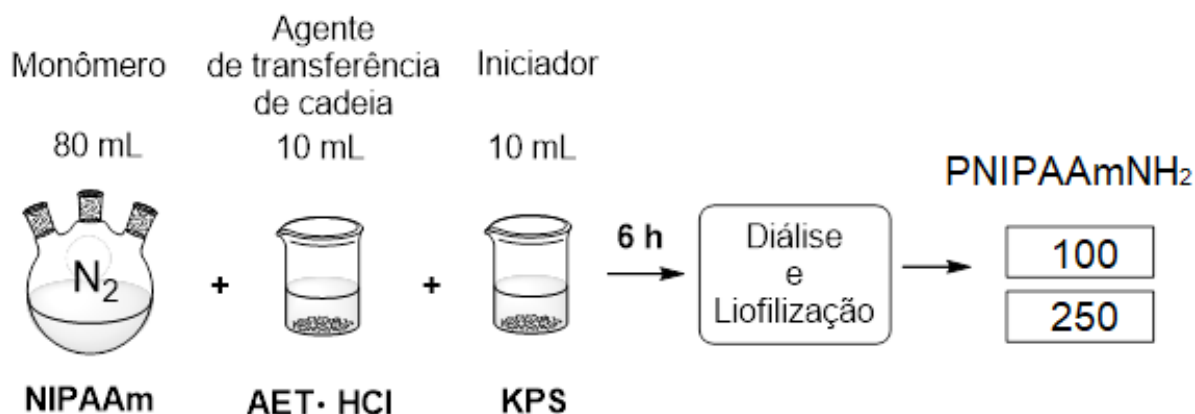
Figura 7 - Esquema reacional para a obtenção da poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminado



Fonte: Elaborada pelo autor.

A *N*-isopropilacrilamida (monômero) foi dissolvida em água (80 mL) e a solução mantida em atmosfera de N_2 por 30 minutos. O iniciador, KPS (2 mmol) e o agente de transferência de cadeia (AET·HCl) foram dissolvidos em 10 mL de água, separadamente e depois adicionados à solução do monômero. A reação foi mantida sob atmosfera inerte por 6 horas. Foram utilizadas duas razões molares de monômero e AET·HCl (100:1 e 250:1), esperando-se obter polímeros com diferentes massas molares. Após o tempo de reação, a solução foi transferida para membrana de diálise com limite de massa molar de 3.500 Da, e dialisada contra água destilada. Após o processo de diálise, o material foi seco por liofilização, obtendo-se os polímeros amino terminados PNIPAAmNH₂250 e PNIPAAmNH₂100, como mostra o esquema apresentado na Figura 8.

Figura 8 – Representação esquemática da reação para a produção dos polímeros poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminado



Fonte: Elaborada pelo autor.

3.3 Quantificação dos grupos terminais aminados na poli(*N*-isopropilacrilamida)

A determinação da quantidade de grupos terminais amino ($-NH_2$) presentes no material foi realizada por titulação potenciométrica. O PNIPAAmNH₂ (0,25 g) foi dissolvido em 10 mL de água deionizada. Inicialmente, foi adicionado solução de NaOH (0,1 mol/L) até $pH \geq 11$, para que houvesse a completa desprotonação dos grupamentos amino. Em seguida, a solução foi titulada com solução de HCl (0,01 mol/L) devidamente padronizada (LENCINA et al., 2014).

3.4 Oxidação da goma do cajueiro

A GC foi dispersa em água destilada por 24 h, na proporção de 5 g de goma, correspondentes a 3×10^{-3} mol de unidades glicosídicas (UG), para 100 mL de água. Após esse período, foi adicionada certa quantidade de periodato e sódio (NaIO_4) na dispersão de GC, para a obtenção de derivado oxidado com razão molar de NaIO_4 :UG de 1:5, a fim de ser obtido derivado com grau de oxidação de 20%.

A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e protegida da luz por 6 horas (DAWLEE et al., 2005). Após este intervalo de tempo, adicionou-se etilenoglicol para parar a reação. A mistura reacional foi então, dialisada contra água destilada em membrana com limite de exclusão de 14.000 g/mol até condutividade igual a da água destilada e seca por liofilização, sendo o derivado nomeado GCOX.

3.5 Determinação do grau de oxidação

Para quantificar o grau de oxidação da GCOX (a porcentagem de unidades monossacarídeas oxidadas) determinou-se o teor de grupos aldeídicos na estrutura usando o método de titulação por meio do cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$) (ZHAO E HEINDEL, 1991). Dissolveu-se aproximadamente 100 mg de CGOX liofilizada em 25 mL de cloridrato de hidroxilamina $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ sob agitação durante 24 h em temperatura ambiente. O ácido liberado após a conversão de aldeídos em oximas ($\text{C}=\text{N}-\text{OH}$), foi determinado por titulação potenciométrica com uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ padronizada.

3.6 Reação de carboximetilação da goma do cajueiro

A reação de carboximetilação da goma do cajueiro foi realizada como descrito em Silva et al. (2004). A goma do cajueiro (5 g, 0,0308 mol) foram dispersos em 5 mL de água destilada por 12 horas. Em seguida foi adicionado 6,17 mL de solução de NaOH (10 mol/L), ficando o sistema sob agitação por 10 minutos. Em seguida foi adicionado 2,92 g de ácido monocloroacético (AMC). A razão molar entre goma, NaOH e AMC foi de 1:2:1 (GOMA: NaOH :AMC). O sistema reacional foi mantido sob agitação por 3 horas a 55°C . Após esse período, o meio reacional foi neutralizado com HCl 1,0 mol/L, seguido por diálise contra água destilada para a remoção dos

subprodutos reacionais. O processo de diálise foi acompanhado por condutividade e, após o término do mesmo, o material foi seco por “spray drying”.

3.7 Determinação do teor de grupamentos ácidos na goma do cajueiro e o nos seus derivados carboximetilados

Para a determinação do teor de grupamentos ácidos presentes na goma não modificada (ácidos urônicos) e nos derivados carboximetilados, dispersões da goma não modificada e da carboximetilada foram percoladas em coluna com resina Amberlite IRA-120 H⁺. Em seguida, o material foi titulado com NaOH padronizado. A quantidade de grupos ácidos para a goma não modificada e o grau de substituição para os carboximetilados foram calculados por aproximações sucessivas.

3.8 Síntese dos copolímeros de goma do cajueiro oxidada e a poli(*N*-isopropilacrilamida) com grupo terminal amino via formação de *base de Schiff*

A síntese dos copolímeros via base de *Schiff* foi realizada pela reação entre a amina primária presente como grupo terminal do poli(*N*-isopropilacrilamida) sintetizado e os grupos aldeído da goma oxidada. Foram preparadas soluções de poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminada e goma do cajueiro oxidada, ambas em tampão acetato pH=5,0. As condições reacionais são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Condições reacionais para formação dos copolímeros via base de Schiff

Tabela 3 – Condições reacionais para formação dos copolímeros na base do GCox			
Razão mássica	Massa adicionada (mg)		Copolímero
	GCOX	PNIPAAmNH ₂ 100	
5:1	625	125	GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 5:1
1:1	375	375	GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 1:1
Razão mássica	GCOX	PNIPAAmNH ₂ 250	Copolímero
5:1	625	125	GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1
1:1	375	375	GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1

Após a dissolução da goma oxidada, a solução de poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminada foi adicionada ao sistema. O sistema permaneceu sob agitação por 24h e após esse período, a mistura reacional foi dialisada contra água destilada em membrana com limite de exclusão de 3.500 g/mol e a diálise acompanhada por condutividade. Após a diálise a amostra foi seca em liofilizador, obtendo-se os copolímeros nomeados na Tabela 3.

3.9 Síntese dos copolímeros de GC e GCCM com poli(N-isopropilacrilamida) via reação de carbodiimida

A síntese dos copolímeros via reação de carbodiimida foi realizada pela reação dos grupos carboxilatos presentes na GC GCCM e as aminas primárias presentes em PNIPAAmNH₂, intermediados por EDC e NHS. Certa quantidade de GC ou GCCM foi dissolvida em 20 mL tampão MES (pH=6,00; 0,1 mol/L) e PNIPAAmNH₂250 foi dissolvidos em 20 mL de tampão fosfato 0,1 mol/L (pH=6,8; 0,1 mol/L). Na solução de GCCM ou GC foi adicionada certa quantidade de EDC e NHS de acordo com a quantidade de grupos carboxilatos presentes, mantendo razão COO⁻:EDC:NHS em 1:2:2. Após a adição manteve-se o sistema sob agitação por 30 min. Em seguida adicionou-se a solução PNIPAAmNH₂ 250 à solução de polissacarídeo. Após a adição o sistema permaneceu sob agitação por 24 h. O sistema foi dialisado em membrana com limite de exclusão de 3.500 g/mol contra água destilada e liofilizado. A Tabela 4 sumariza as quantidades de polímeros utilizadas e a nomenclatura adotada.

Tabela 4 - Condições reacionais para formação dos copolímeros via reação de carbodiimida

Razão mássica	Massa adicionada (mg)		Copolímero
	GCCM	PNIPAAmNH ₂ 250	
5:1	166,7	33,3	GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 100 5:1
1:1	100	100	GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 100 1:1
Razão mássica	Massa adicionada (mg)		Copolímero
	GC	PNIPAAmNH ₂ 250	
5:1	166,7	33,3	GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1
1:1	100	100	GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1

3.10 Purificação dos copolímeros

Os copolímeros foram purificados, a fim de remover o homopolímero residual, que não foi enxertado durante a reação de copolimerização, adicionando acetona e deixando sob agitação por 48 h para retirada de homopolímero residual após a copolimerização (ABREU *et al.*, 2016). O copolímero é insolúvel em acetona enquanto o homopolímero é solúvel. Após esse período, o copolímero, insolúvel em acetona, foi centrifugado, redisperso em água e liofilizado.

3.11 Caracterização dos polímeros de partida e dos copolímeros obtidos

3.11.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros para a goma do cajueiro, goma do cajueiro oxidada e PNIPAAm e para aos copolímeros foram obtidos em pastilhas de KBr em equipamento IRTracer 100 (Shimadzu), com varredura de número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} .

3.11.2 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A distribuição de massa molar dos materiais obtidos foi analisada em cromatógrafo LC-20AD (Shimadzu) acoplado a um detector de índice de refração RID-10A (Shimadzu). Para a análise dos polissacarídeos e dos copolímeros foi utilizada coluna PolySep Linear (300 mm x 7,8 mm) com pré-coluna PolySep Linear (35 mm x 7,8 mm), solução de NaNO_3 (0,1 mol L^{-1}) como eluente a um fluxo de 1,0 mL min^{-1} e volume de injeção de 50 μL de amostra (1,0 mg mL^{-1}). Para calibração foram utilizados padrões de pululana P-82 (Shodex) com massas molares variando de $0,59 \times 10^4$ a $78,8 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$. Para as amostras de PNIPAAm- NH_2 sintetizadas, as análises foram realizadas em coluna Phenogel $10^{-3} \text{ \AA}$ (300 mm x 7,8 mm). THF foi utilizado como eluente com fluxo de 1,0 mL min^{-1} , com um volume de injeção de 50 μL . Para calibração, foram utilizados padrões de poliestireno.

3.11.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância de ^1H , ^{13}C -BB e ^{13}C -DEPT 135 foram obtidos em Avance DRX 500 (Bruker). As amostras foram dissolvidas em D_2O e DSS (ácido 3-(trimetilsilil)-1-propanosulfônico) foi utilizado como padrão interno de deslocamento químico (0 ppm). Para as amostras de PNIPAAm e copolímeros, os experimentos foram realizados a 25 $^\circ\text{C}$. Para as demais amostras os experimentos foram realizados a 70 $^\circ\text{C}$.

3.11.4 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

O tamanho das nanopartículas produzidas e os seus valores de índice de polidispersão (IPd) foram determinados a 25 $^\circ\text{C}$ utilizando o equipamento ZetaSizer Nano ZS da Malvern, modelo ZEN3600 com laser de comprimento de onda de 633 nm. Foi utilizado ângulo de espalhamento de 173 $^\circ$ para as medidas de tamanho. A

temperatura em que há a transição de fase do copolímero e a consequente formação dos agregados auto-organizados (LCST – Lower Critical Solution Temperature) foi estudada pela taxa de contagem de luz espalhada dos copolímeros em solução aquosa em função da temperatura, no intervalo de 25 a 50 °C.

3.11.5 Estabilidade temporal dos copolímeros em função do pH

A estabilidade do copolímero CGOX-PNIPAAM-NH₂250 1:1 foi realizada em soluções tampões 0,1 mol L⁻¹ com diferentes pHs (7,4; 6,8; 5,0 e 4,0) a 37 °C. O acompanhamento da estabilidade das nanopartículas foram realizados em intervalos determinados por 72h utilizado Nano ZetaSizer Malvern, Modelo ZS 3600.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e caracterização da poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminada

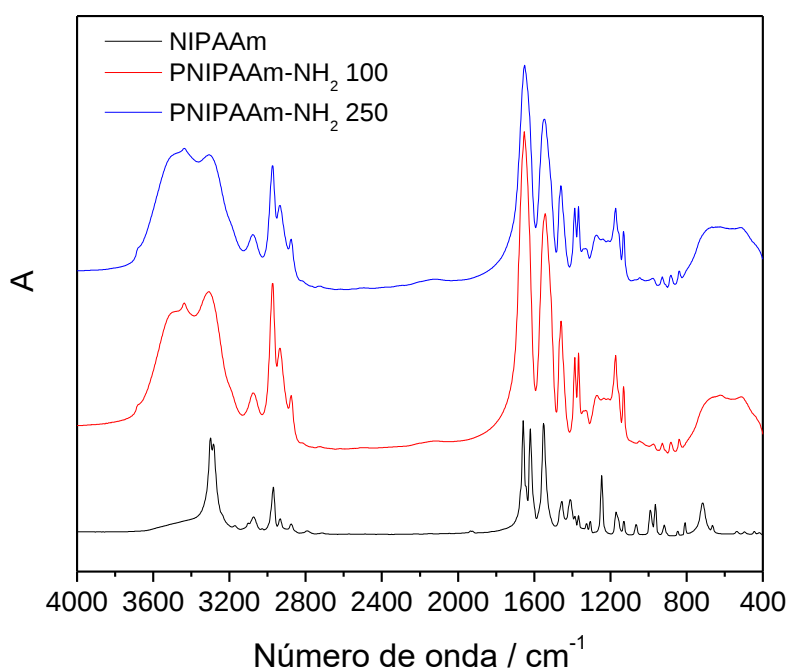
4.1.1 Síntese de poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminada e quantificação de grupos terminais

A quantidade de grupos terminais foi determinada por titulação potenciométrica. Para PNIPAAmNH₂ 100 a quantidade de NH₂ foi de $9,18 \times 10^{-5} \pm 0,28 \times 10^{-5}$ mol/g. Para PNIPAAmNH₂ 250 a quantidade de NH₂ foi de $8,52 \times 10^{-5} \pm 0,56 \times 10^{-5}$ mol/g.

4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR para o polímero poli(*N*-isopropilacrilamida) sintetizados e o monômero de partida (NIPAAm) estão apresentados na Figura 9. Para o espectro do NIPAAm é possível observar bandas características da estrutura do monômero, como a banda em 3300 cm⁻¹ atribuída ao estiramento N-H de amida secundária, bandas em 1658 e 1550 cm⁻¹ atribuídas ao estiramento C=O de amida secundária (AMIDA I) e a combinação de deformação N-H e estiramento C-N (AMIDA II), respectivamente.

Figura 9 – Espectros de *N*-isopropilacrilamida e poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminada



Também foram observadas bandas em 1620 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C=C, e 1410 cm^{-1} atribuído a deformação CH_2 de alcenos (LÜ *et al.*, 2011; PRETSCH *et al.*, 2009).

Para os homopolímeros amino terminados foi observado o desaparecimento dos sinais referentes a C=C (1620 cm^{-1}) e CH_2 de alcenos (1410 cm^{-1}) uma vez que a polimerização radicalar do monômero ocorre pelo grupo alceno do monômero. As demais bandas não sofreram alteração, como as bandas AMIDA I e AMIDA II (1658 e 1550 cm^{-1}), uma vez que a reação de não produz outras alterações estruturais além da quebra da dupla ligação do alceno.

4.1.3 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

Os cromatogramas com as distribuições de massa molar estão apresentadas na Figura 10. O PNIPAAmNH₂ 250 apresentou volume de eluição de de 5,25 mL enquanto PNIPAAmNH₂ 100 de 6,11 mL. Os valores de $\bar{M}_n$, $\bar{M}_w$, Mpk e polidispersividade para as distribuições de massa molar estão apresentadas na Tabela 5.

Figura 10 – Cromatogramas das amostras de PNIPAAmN₂

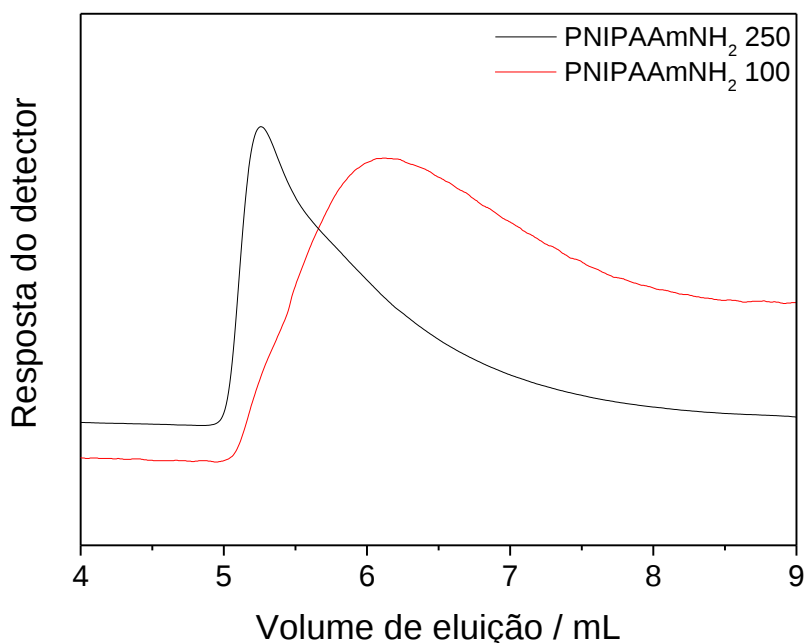


Tabela 5 – Valores de M_{pk} , $\bar{M}_w$, $\bar{M}_n$ e polidispersividade (Pd) para os homopolímeros sintetizados.

Homopolímero	$M_{pk} / g \text{ mol}^{-1}$	$\bar{M}_w / g \text{ mol}^{-1}$	$\bar{M}_n / g \text{ mol}^{-1}$	Pd
PNIPAAmNH ₂ 250	$6,41 \times 10^4$	$3,63 \times 10^4$	$1,57 \times 10^4$	2,31
PNIPAAmNH ₂ 100	$2,41 \times 10^4$	$1,47 \times 10^4$	$3,29 \times 10^3$	4,45

A PNIPAAmNH₂ 250 foi a que apresentou maior massa molar e menor IPd quando comparado com PNIPAAmNH₂ 100. As diferenças de massa molar entre os homopolímeros estão associadas às diferentes razões molares de NIPAAm e AET utilizados na síntese dos homopolímeros (BOKIAS *et al.*, 1998). O AET tem durante a síntese a dupla função de funcionalizar as cadeias de poli(*N*-isopropilacrilamidas) produzidas como também controlar a propagação de radicais no meio, controlando a massa molar da macromolécula

4.1.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ¹³C-BB para os homopolímeros (FIGURA 11) sintetizados apresentaram sinais iguais, como esperado. Os sinais na faixa de 20 a 50 ppm foram atribuídos como: δ 24,3 ppm (C-1), δ 37,4 ppm (C-4), δ 44,5 (C-2), δ 45,7 ppm (C-5). Foi observado um sinal em δ 178,0 ppm que foi atribuído a C-3.

Não foi possível observa por RMN de ¹³C-BB os sinais referentes ao grupo terminal (C-6 e C-7), devido à baixa quantidade desses grupamentos em relação ao restante da massa de unidades méricas.

4.1.5 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

O tamanho de partícula em função da temperatura e a temperatura de agregação crítica dos polímeros PNIPAAm-NH₂ 250 e PNIPAAm-NH₂ 100 foram estudados por espalhamento de luz dinâmico (DLS). Nas Figuras 12 e 13 são apresentados gráficos de valores de tamanho e taxa de contagem em função da temperatura, para PNIPAAmNH₂ 250 e PNIPAAmNH₂ 100, respectivamente.

Figura 11 – Espectros de RMN ^{13}C -BB para as poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminadas em D_2O

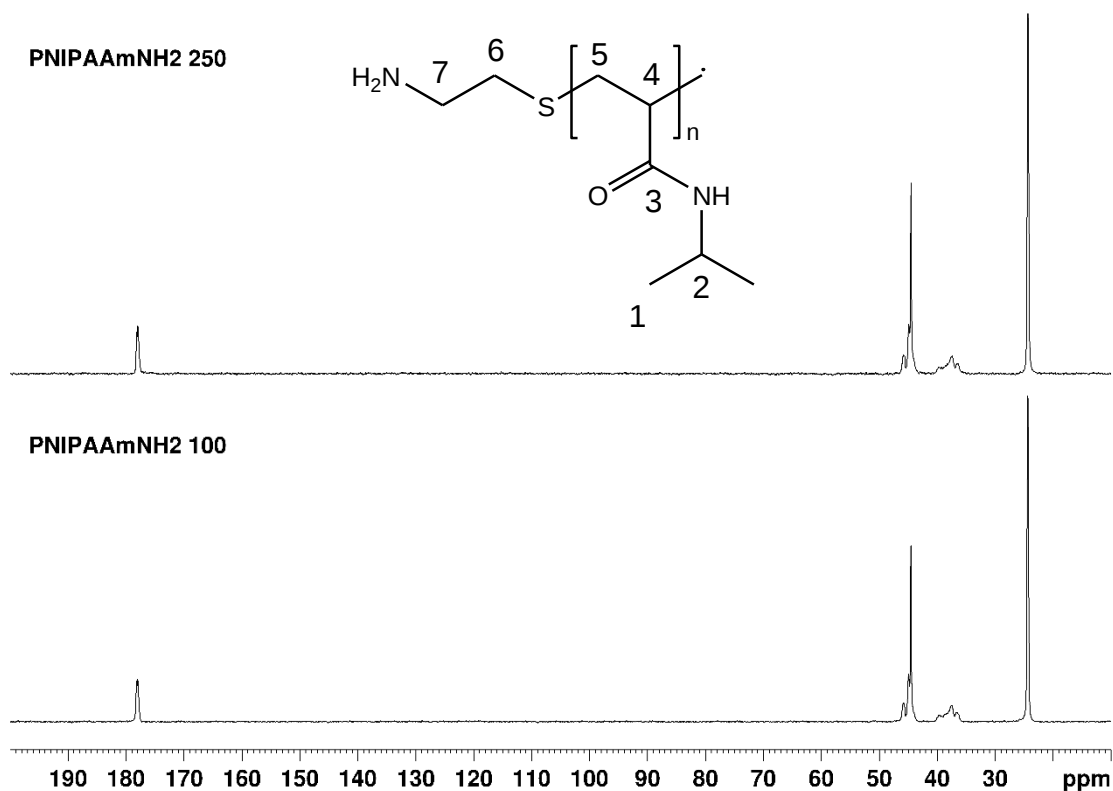
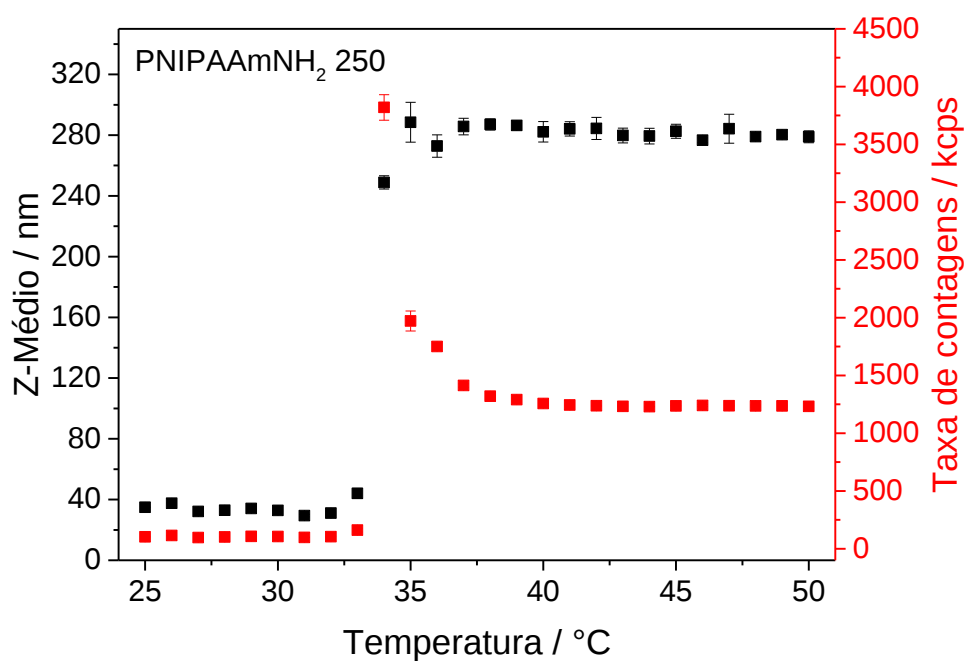


Figura 12 – Tamanho de partícula e taxa de contagem para os PNIPAAmNH₂ 250 em função da temperatura

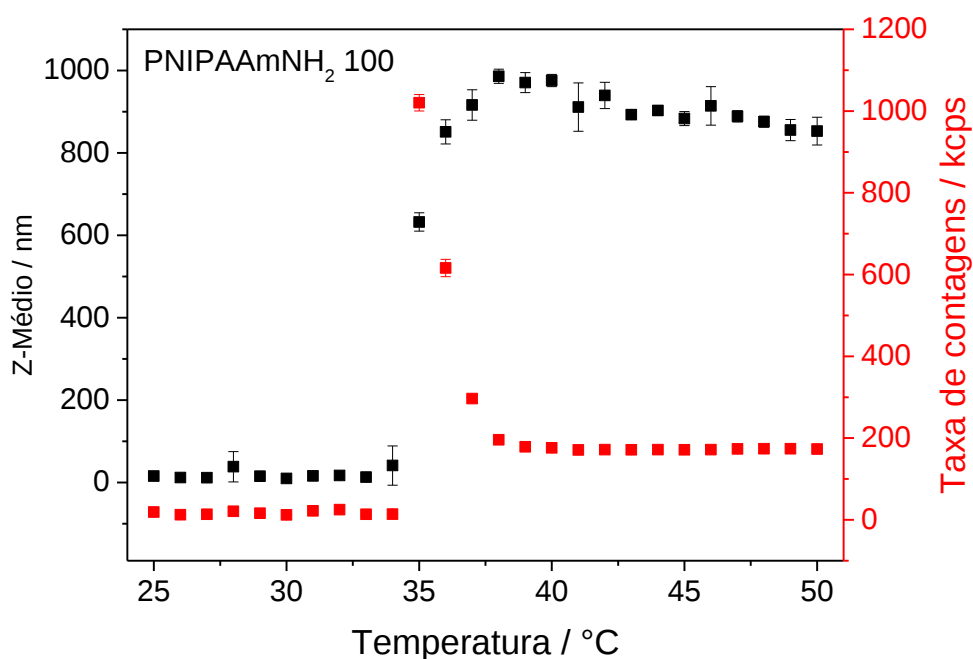


Para o PNIPAAm-NH₂250 é possível observar uma rápida transição à temperatura de 34 °C (LCST), devido ao rápido aumento na taxa de contagem e no diâmetro das partículas. A quantidade de fótons espalhada está associada com características intrínsecas do sistema, bem como à quantidade de partículas no meio. Assim, um aumento relativo na quantidade de luz espalhada num mesmo sistema está relacionada com o aumento da quantidade de partículas ou mudanças conformacionais nos constituintes do coloide.

Após a temperatura de transição, é possível observar um rápido aumento no tamanho de partícula, até estabilização desse tamanho em 280,0 nm.

Para o PNIPAAm-NH₂ 100 a amostra apresentou mudança na taxa de contagem em 35°C (LCST). Nessa temperatura, como no sistema anterior, observou-se um rápido aumento no tamanho de partícula, acompanhando o evento de LCST do material. Houve um aumento no tamanho de partícula até 38 °C (986,0 nm) seguido de gradual diminuição, ocasionada pela contração das cadeias agora hidrofóbicas.

Figura 13 – Tamanho de partícula e taxa de contagem para os PNIPAAmNH₂ 100 em função da temperatura



A diferença entre as temperaturas de transição observadas para os dois sistemas é ocasionada pela diferença entre a massa molar dos polímeros de PNIPAAm-NH₂. O PNIPAAm-NH₂250 por possuir uma massa molar maior, Mw de 3,63

$\times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$, quando comparado com o PNIPAAmNH₂ 100, $1,47 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$. A maior cadeia do polímero PNIPAAmNH₂250 ocasiona uma diminuição da temperatura de transição quando comparado ao PNIPAAmNH₂100 (LENCINA *et al.*, 2014).

4.2 Reações de oxidação e carboximetilação da goma do cajueiro e suas caracterizações

4.2.1 Isolamento da goma do cajueiro e determinação do teor de ácido

O isolamento da goma do cajueiro teve rendimento de $78,3 \pm 0,9\%$. O teor de ácido determinado por titulação potenciométrica foi de $5,2 \pm 0,2\%$, valor similar ao encontrado por Paula, Heatley e Budd (1998) por cromatografia gasosa. O teor de ácido na goma é atribuído a presença de ácido glucurônico na estrutura do polissacarídeo.

4.2.2 Reação de oxidação da goma do cajueiro e determinação do grau de oxidação

A reação de oxidação apresentou rendimento mássico de $91,3\% \pm 0,5\%$ o derivado GCOX20. A determinação do grau de oxidação foi realizada pela análise de NaIO₄ consumido ao final da reação e pela titulação dos grupos aldeídos após reação com hidroxilamina. O resultado obtido por titulação foi de $16,9\% \pm 0,45\%$, indica que parte do periodato não reagiu formando grupamentos aldeído no polissacarídeo.

4.2.3 Reação de carboximetilação e determinação do grau de substituição

O rendimento da reação de carboximetilação foi de $35,5\%$, valor inferior ao encontrado por Silva *et al* (2004), que foi de 45% . O valor de grau de substituição determinado por titulação potenciométrica foi de $0,41 \pm 0,02$. O valor do grau de substituição (GS) foi similar ao descrito em Silva *et al* (2004) e Magalhães Jr. *et al* (2009) para as mesmas condições reacionais e polissacarídeo.

4.2.4 Caracterização da goma do cajueiro e seus derivados modificados

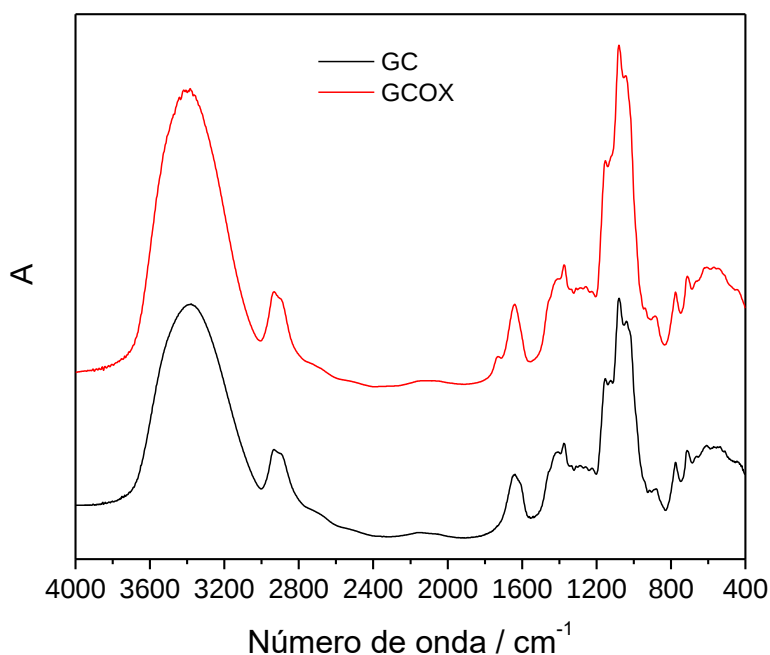
Com o objetivo de caracterizar os polissacarídeos utilizados e determinar modificações estruturais ocasionadas por essas modificações químicas, foram

realizadas análises espectroscópicas e cromatográficas dos polissacarídeos utilizados no presente trabalho.

4.2.4.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

A goma e os derivados foram analisados por FTIR. Os espectros de FTIR para a goma do cajueiro juntamente com seu derivado oxidado e da goma do cajueiro carboximetilada estão apresentados nas Figuras 14 e 15, respectivamente.

Figura 14 – Espectros de FTIR para a goma do cajueiro e seus derivados oxidados

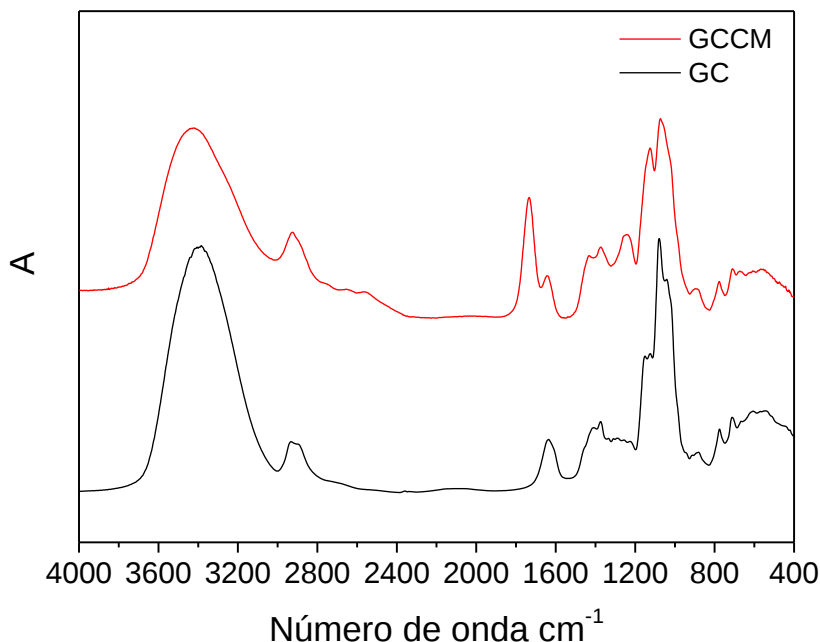


O espectro da GC apresentou bandas características de polissacarídeos em 3379 e em 2933 cm^{-1} atribuídas a estiramento O-H e C-H, respectivamente. As bandas em 1150, 1080 e 1030 cm^{-1} foram atribuídas às vibrações de estiramento de C-O-C das ligações glicosídicas (SILVA *et al.*, 2010). Nos espectros de GCOX20 observa-se além das bandas características da goma do cajueiro, a presença de uma nova banda em 1730 cm^{-1} atribuída a estiramento C=O de aldeídos (LEITE *et al.*, 2017).

O espectro para a GCCM (FIGURA 15) apresenta sinais característicos de polissacarídeo, como bandas em 1150, 1072 e 1030 cm^{-1} , além de novo sinal em 1733 cm^{-1} , atribuído a carbonila de ácido protonado, e intensificação das bandas em 1644 e 1434 cm^{-1} , atribuídas a estiramento simétrico e assimétrico de carboxilatos. O

surgimento desses novos sinais indica que a reação de carboximetilação introduziu grupos ácidos na cadeia do polissacarídeo.

Figura 15 – Espectros de FTIR para a goma do cajueiro carboximetilada



4.2.4.2 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A distribuição de massa molar dos materiais foi determinada por GPC (FIGURA 16). É possível observar que a realização de reações de modificação, aumentaram o volume de eluição das mesmas, ocasionado pela diminuição do volume hidrodinâmico dos materiais analisados. Essa diminuição indica uma diminuição na massa molar dos materiais.

Para a goma do cajueiro, tem-se um pico de volume eluição de 8,86 mL, enquanto os derivados apresentaram valores de 9,00 mL para GCOX e 9,13 mL para GCCM. Essa diminuição pode estar relacionada a degradações que podem ocorrer durante as reações devido as condições adversas dos meios reacionais, como hidrólise da cadeia principal pelo NaOH no caso da reação de carboximetilação.

Os valores de massa molar de pico foram estimados por uma curva de calibração de padrões de pululana e estão apresentados na Tabela 6.

Figura 16 – Cromatogramas de distribuição de massa molar por GPC para GC, GCOX20 e GCCM

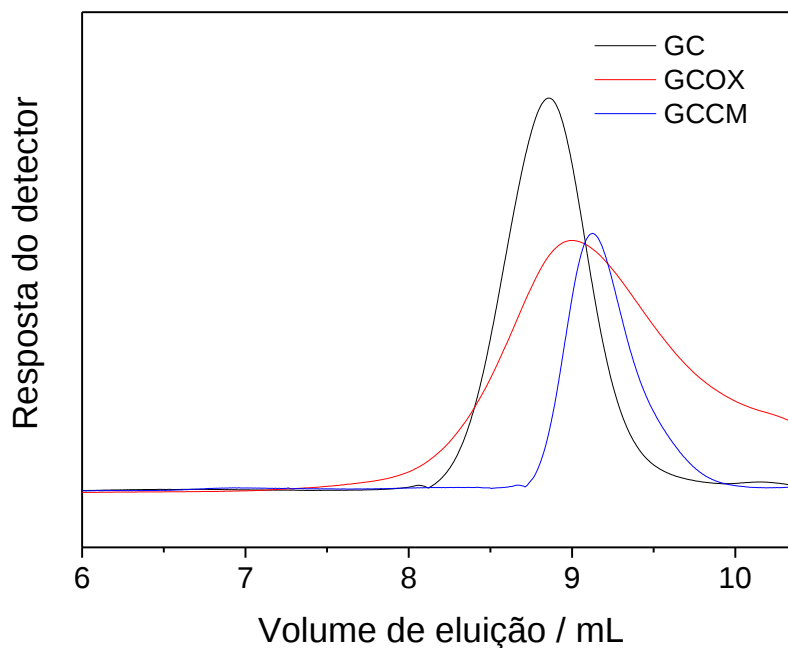


Tabela 6 – Valores de volume de eluição e massa molar estimada da goma do cajueiro e derivados modificados.

Amostra	Vel / mL	Mpk / g mol ⁻¹
GC	8,86	2,07 x 10 ⁴
GCOX	9,00	1,43 x 10 ⁴
GCCM	9,13	1,02 x 10 ⁴

O valor de massa molar para GC foi similar ao reportado na literatura de $2,4 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$ (PAULA, HEATLER e BUDD, 1998). Os valores obtidos para massa molar só devem ser contemplados qualitativamente, uma vez que as modificações realizadas nas amostras introduziram grupos que modificam de maneira diferenciada o volume hidrodinâmico das cadeias de polissacarídeo e os padrões e análise de GPC, sozinhas não corrigem esses efeitos.

4.2.4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN ^{13}C -BB e ^{13}C -DEPT 135 para a goma do cajueiro estão apresentados na Figura 17. O espectro de ^{13}C -BB da GC apresentou sinais similares aos encontrados por Paula *et al* (1998). Os sinais entre 100 e 110 ppm que foram atribuídos a carbonos anoméricos das unidades constituintes da goma (TABELA 7). Os sinais entre 70 e 90 ppm foram atribuídos aos carbonos C-2 a C-5 das unidades. Nessa região observou-se várias sobreposições de sinais e sinais pouco intensos. Os carbonos C-6 foram atribuídos na região de 60 a 74 ppm. Foi possível também observar o sinal atribuído ao CH_3 da unidade de ramnose, além do sinal pouco intenso de carbonila atribuída a ácidos urônicos presentes na amostra. O espectro de ^{13}C -DEPT 135 confirmou as atribuições de C-6, com duas regiões principais: uma faixa ente 62 e 64 ppm, e outra em 72 ppm atribuído a galactose.

Figura 17- Espectros de RMN ^{13}C -BB e ^{13}C -DEPT 135 para a goma do cajueiro de D_2O

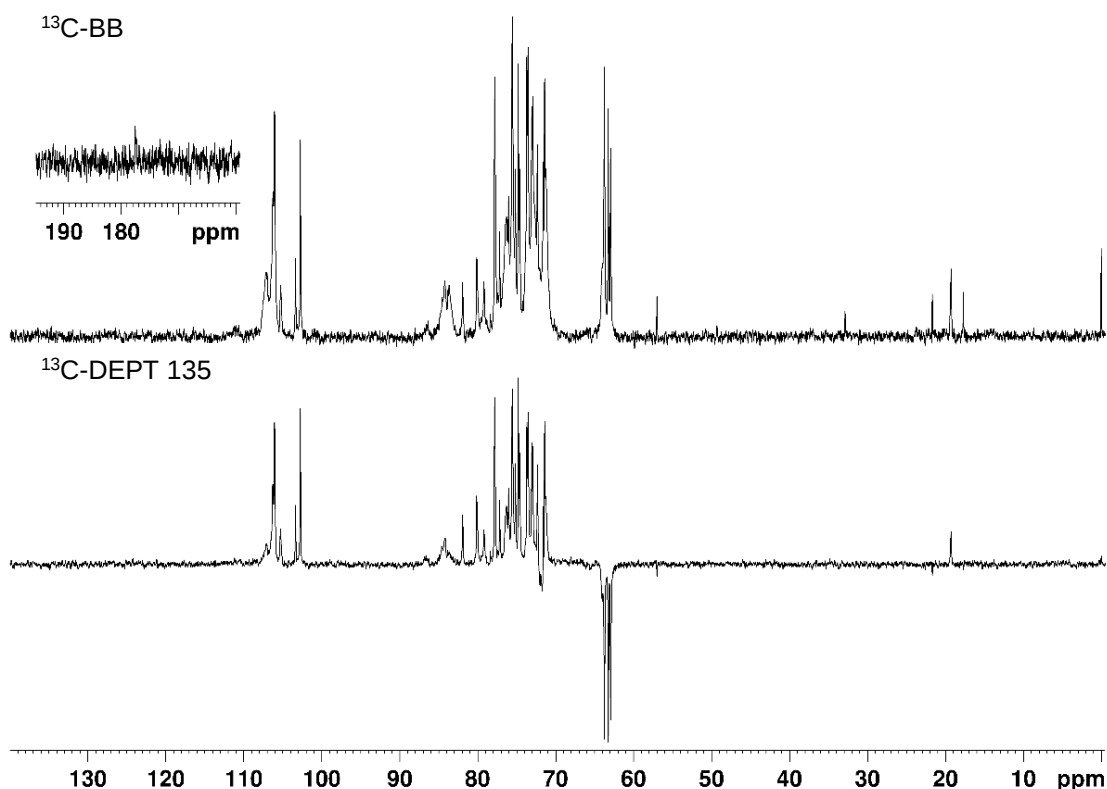
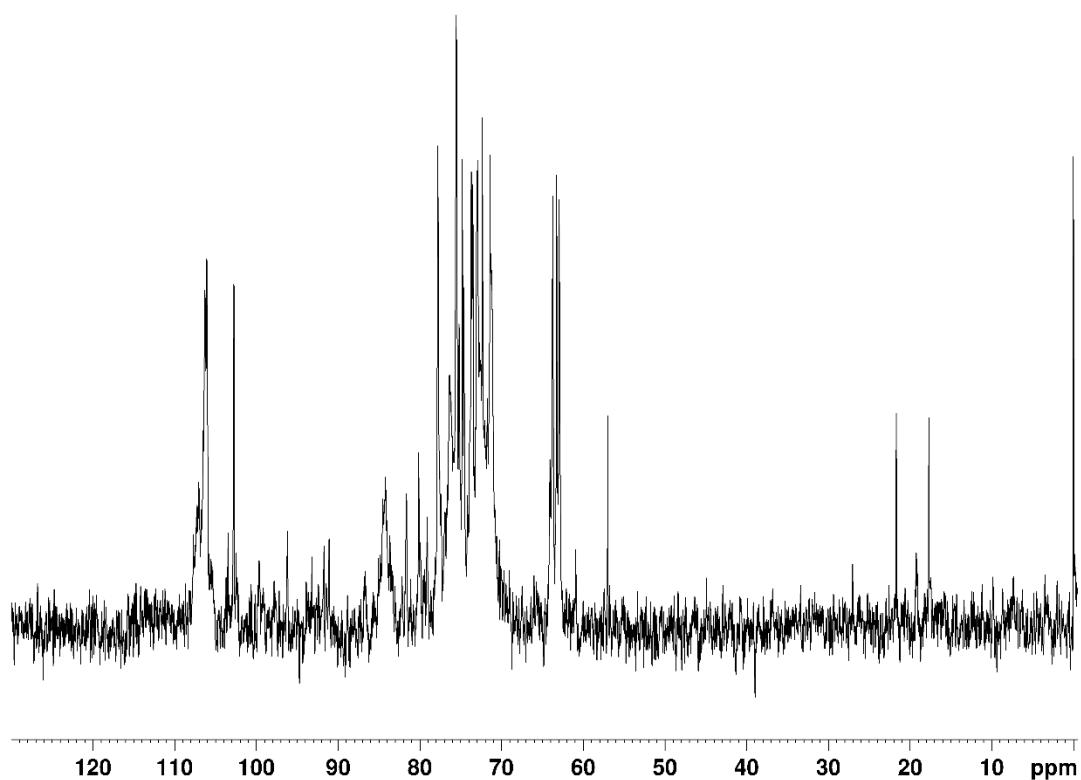


Tabela 7 – Atribuições do espectro de RMN ^{13}C -BB para a goma do cajueiro

Unidade	Deslocamento químico / ppm					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
β -D-Galp(1 $\rightarrow$ 3)	106,2	72,8	83,6	71,2	77,8	63,3/63,7/64,0
β -D-Galp(1 $\rightarrow$ 6)	107,1	72,8	75,5	71,2	76,3	72,8
β -D-Galp(1-OMe)	106,2	-	75,4	71,4	77,6	63,7
α -D-Glcp(1 $\rightarrow$	102,7	74,6	77,8	73,7	74,6	62,9
α -D-Glcp(1-OMe)	-	73,9	75,8	72,3	74,2	63,2
α -L-Araf(1 $\rightarrow$	110,5			86,6	-	
α -L-Araf(1-OMe)	-	83,5	79,2	86,4	64,0	
β -L-Ramp(1 $\rightarrow$	103,3	73,5	73,3	75,3	71,9	19,2
β -L-Ramp(1-OMe)	-	72,8	73,1	74,8		19,4
β -D-AGlcp(1 $\rightarrow$	105,3	73,7	77,3	73,7	76,0	177,5
β -D-AGlcp(1-OMe)	106,0	75,4	78,2	74,0	77,4	

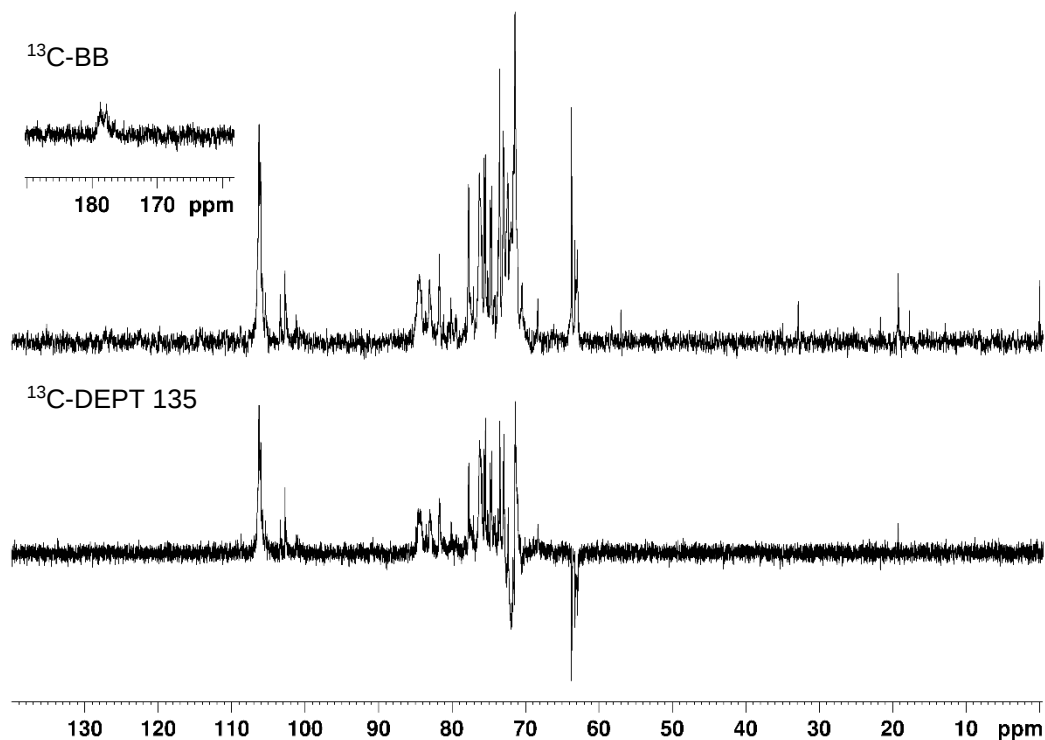
O espectro de ^{13}C -BB da amostra de goma do cajueiro oxidada é apresentada na Figura 18.

Figura 18 – Espectro de RMN ^{13}C -BB para GCCOX em D_2O 

Para o espectro foi observado, além dos sinais já presentes na GC, o surgimento de novos sinais na região compreendida entre 85 e 100 ppm, que podem ser atribuídos a formação de hemiacetais intra-residuais formados como rearranjo da estrutura após a reação de oxidação (GOMEZ, RINAUDO e VILLAR, 2007).

Para a amostra de cajueiro caboximetilado, os espectros de RMN ^{13}C -BB e ^{13}C -DEPT 135 estão apresentados na Figura 19. No espectro de ^{13}C -BB foi possível observar o aparecimento de um novo sinal em 178,8 ppm, atribuído a grupos carboximetil inseridos na cadeia do polissacarídeo pela reação de modificação, corroborando os dados de infravermelho e confirmando a reação de modificação. O deslocamento e o surgimento de novos sinais foram observados, e essas modificações foram ocasionadas pela modificação química realizada. Foi observado no ^{13}C -DEPT 135, a intensificação dos sinais de CH_2 na região de 73 ppm, sendo isso atribuído aos CH_2 do grupamento carboximetila inserido na cadeia do polissacarídeo.

Figura 19 – Espectros de RMN ^{13}C -BB e ^{13}C -DEPT 135 para GCCM em D_2O



4.3 Síntese dos copolímeros de GCOX e poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminada e suas caracterizações

4.3.1 Síntese dos copolímeros de GCOX e poli(*N*-isopropilacrilamida) via formação de base de Schiff

Os valores de rendimentos após a reação de copolimerização da goma do cajueiro oxidada (GCOX) e a PNIPAAm-NH₂ via base de Schiff e os rendimentos após a purificação estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Sumário dos rendimentos reacionais e de purificação para os copolímeros produzidos via Base de Schiff

Copolímero	Rendimento (%)	
	Reação	Purificação
GCOX-g-PNIPAAm-NH ₂ 250 5:1	97,3	75,5
GCOX-g-PNIPAAm-NH ₂ 250 1:1	94,5	43,6
GCOX-g-PNIPAAm-NH ₂ 100 5:1	89,3	85,1
GCOX-g-PNIPAAm-NH ₂ 100 1:1	88,5	47,9

Os valores de rendimento após a reação variaram entre 87,5% e 97,3% para as condições reacionais estudadas. Não sendo possível encontrar relação entre os rendimentos reacionais e a razão de GCOX e PNIPAAm-NH₂ utilizada nas reações.

Os rendimentos após a purificação dos materiais variaram entre 43,6% e 85,1%. Observou-se que aumento da razão entre GCOX e PNIPAAm-NH₂ levou a um aumento no rendimento das reações. Valores mais baixos de rendimento, à medida que a quantidade de PNIPAAm-NH₂ aumenta (menor razão GCOX e PNIPAAm-NH₂), podem ser ocasionados pelo aumento da solubilidade dos copolímeros em acetona (aumento no grau de enxertia dos mesmos) ou devido a diminuição da eficiência de enxertia, assim o PNIPAAmNH₂ não se ligaria à GCOX com a mesma eficiência que ocorre em razões mássicas maiores e portanto, uma porção crescente de PNIPAAmNH₂ não estaria se ligando à cadeia de GCOX, sendo removido durante a purificação.

4.3.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros dos copolímeros produzidos estão apresentados nas Figuras 9, e 10. Para os espectros dos copolímeros obtidos pelos derivados de GCOX e

PNIPAAm-NH₂250 (FIGURA 20) é possível observar as bandas características dos polímeros que deram origem aos copolímeros. Foram observados em todos os espectros da série, banda em 3409 cm⁻¹ atribuída a estiramento O-H, bem como banda em 1080 cm⁻¹ atribuída a estiramento C-O-C de ligação glicosídica, ambas presentes na porção sacarídica do copolímero. Também foi possível observar banda em 1545 cm⁻¹ atribuída a vibração de amida (AMIDA II), grupo presente na estrutura da PNIPAAm-NH₂250.

Para os espectros da série de reações com GCOX e PNIPAAm-NH₂ 100 (FIGURA 21) foi possível observar bandas características dos polímeros de partida nos copolímeros formados. Como bandas em 3409 e 1080 cm⁻¹ atribuídas a estiramento O-H e estiramento C-O-C de ligação glicosídica, respectivamente, oriundas da goma oxidada. Sendo observada também banda em 1548 cm⁻¹ atribuída a AMIDA II, da PNIPAAm-NH₂

Para as duas séries apresentadas com GCOX foi possível observar um aumento na razão entre as bandas em 1545 cm⁻¹ (AMIDA II), oriunda da PNIPAAmNH₂ e 1080 cm⁻¹ (C-O-C) de ligação glicosídica da goma oxidada, com a diminuição da razão mássica entre a GCOX e o PNIPAAmNH₂ (TABELA 9).

Figura 20 – Espectros de FTIR para a série GCOX e PNIPAAm-NH₂250 de copolímeros

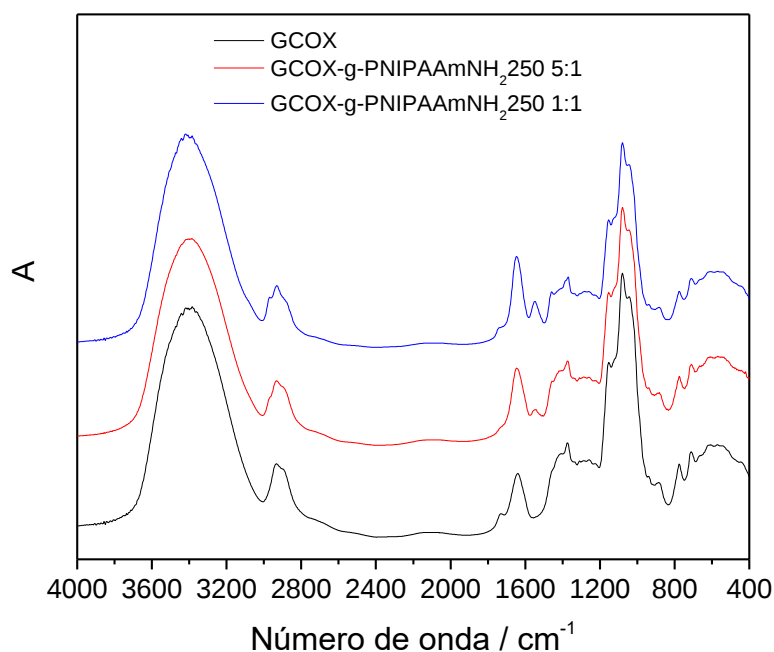
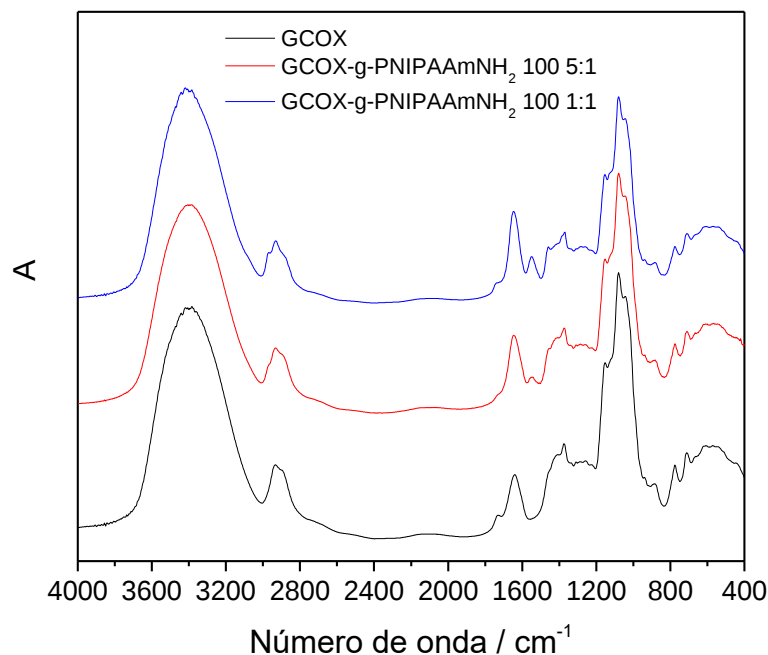


Figura 21 – Espectros de FTIR para a série GCOX e PNIPAAm-NH₂ 100 de copolímeros



O aumento da razão entre as bandas evidencia um maior grau de enxertia da PNIPAAmNH₂ com o aumento da quantidade da mesma, na reação de formação do copolímero.

Tabela 9 – Razão entre as bandas de FTIR de 1545 cm⁻¹ / 1080 cm⁻¹ para os copolímeros formados via base de Schiff

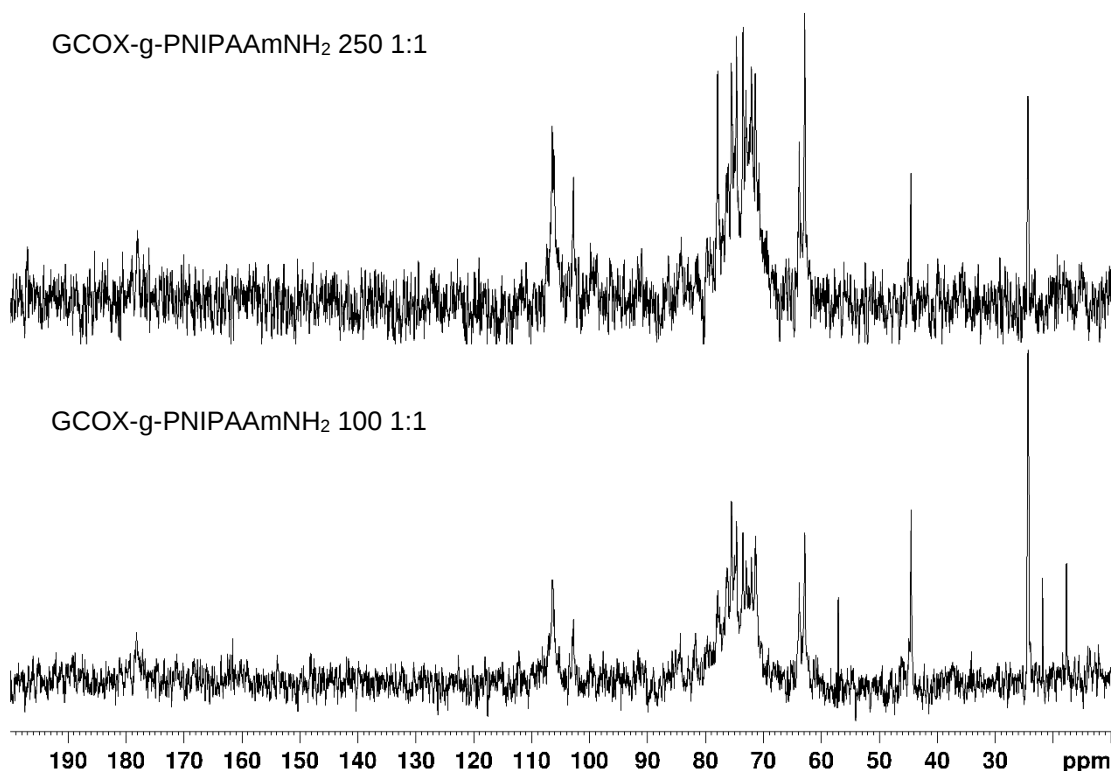
Copolímero	Razão 1545 cm ⁻¹ / 1080 cm ⁻¹	
	5:1	1:1
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250	0,029	0,119
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100	0,040	0,124

4.3.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ¹³C-BB para os copolímeros GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 e GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 1:1 estão apresentados na Figura 22.

Os espectros apresentaram sinais de ambos polímeros formadores dos copolímeros. Foram observados sinais da goma em 106,3 e 102,7 ppm, referentes a carbonos anomérico da goma, entre 78 e 70 ppm referentes a sinais de C-2 a C-5, em 62 ppm referentes a C-6 e sinal em 178 ppm referente a carbonila de ácido urônico. Da porção sintética foram observados sinais em 24,3 e 44,5 ppm referentes a CH₃ e CH do grupo isopropil, respectivamente.

Figura 22 – Espectros de RMN ^{13}C -BB de copolímeros formados via base de Schiff em D_2O



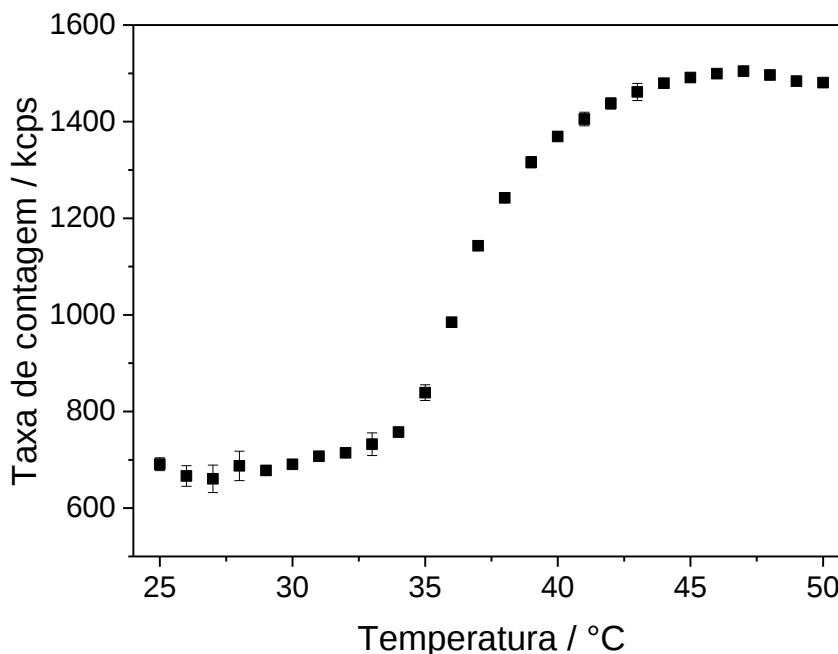
Foi observado um sinal pouco intenso em 161,4 ppm para GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 1:1 que pode ser atribuído a carbono de imina, estrutura da base de Schiff, comprovando a formação do copolímero via a rota estudada.

4.3.4 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

A taxa de contagem, o tamanho de partícula e o índice de polidispersão em função da temperatura dos sistemas coloidais produzidos a partir dos copolímeros de GCOX e PNIPAAmNH₂250 estão apresentados nas figuras 23, 24, 25 e 26.

A taxa de contagem de fótons em função temperatura para o copolímero indica que o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH₂250 5:1 (FIGURA 23) apresenta um aumento na taxa de contagem a 35 °C, indicando uma transição de fase do copolímero formador do coloide. Há um aumento progressivo na taxa de contagem atingindo um máximo a 46 °C.

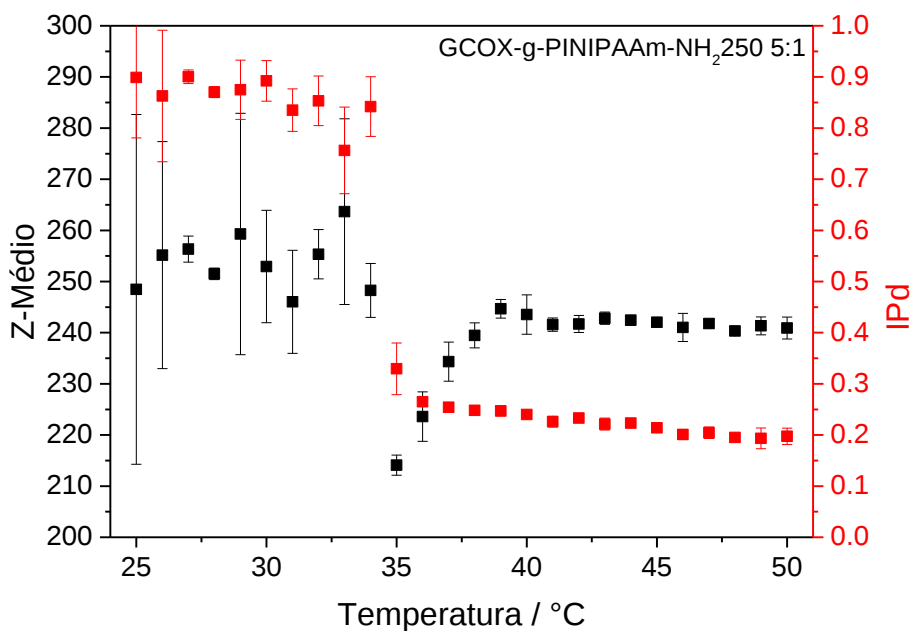
Figura 23 – Taxa de contagem para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH₂250 5:1



O tamanho de partícula e IPd em função da temperatura (FIGURA 24) indica que a 35 °C há uma diminuição do tamanho e IPd, sendo essa mudança resultado da transição de fase ocorrida a essa temperatura, como indicado anteriormente.

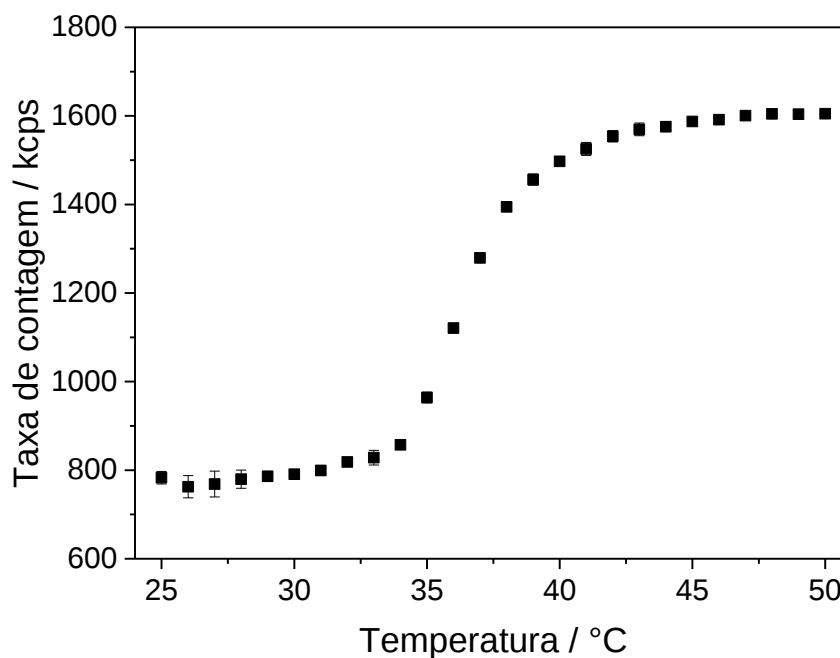
A essa temperatura foi observada uma rápida mudança no tamanho de partícula, diminuindo para 214,1 nm e no índice de polidispersão (IPd), diminuindo para 0,329. Após a transição, houve um decréscimo do IPd com o aumento da temperatura, indicando uma maior organização do sistema coloidal. O tamanho de partícula foi de 234,3 nm e IPd de 0,254 a 37 °C. Foi observado também que houve um acréscimo no tamanho até 39 °C (244,7 nm), após essa temperatura o tamanho não sofreu grandes variações.

Figura 24 – Tamanho de partícula e IPd para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH₂250 5:1



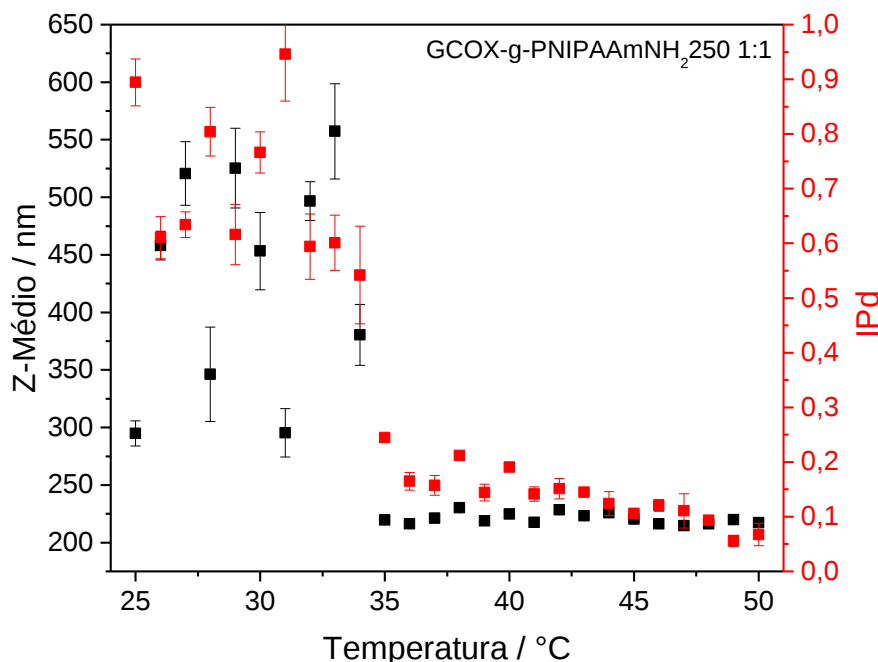
No sistema formado a partir do GCOX-g-PNIPAAmNH₂250 1:1 (FIGURA 25) a temperatura de transição (LCST) determinada pela taxa de contagem foi de 35 °C, como observado no sistema anterior.

Figura 25 – Taxa de contagem para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH₂250 1:1



Na temperatura de 35 °C, o sistema (FIGURA 26) apresentou tamanho de 219,5 nm e IPd de 0,245.

Figura 26 – Tamanho de partícula e IPd para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH₂250 1:1



O tamanho de partícula e IPd dos sistemas coloidais produzidos a partir dos copolímeros formados com GCOX e PNIPAAmNH₂ 100, bem como a taxa de contagem de espalhamento em função da temperatura estão apresentados nas Figuras 27, 28, 29 e 30.

A temperatura de transição (LCST) foi determinada para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 5:1 pela taxa de contagem de fótons espalhados em função da temperatura, como 37 °C. (FIGURA 27).

Para o sistema coloidal formado com GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 5:1 (FIGURA 28), foi observado a dependência do tamanho de partícula e IPd com a temperatura. Foi observado que a 38 °C há uma diminuição do IPd (0,376), indicando uma maior organização do sistema. A essa temperatura o sistema teve tamanho de partícula de 218,1 nm. A 37 °C o sistema teve tamanho de partícula de 195,5 nm e IPd de 0,502.

Figura 27 – Taxa de contagem em função da temperatura para GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 5:1

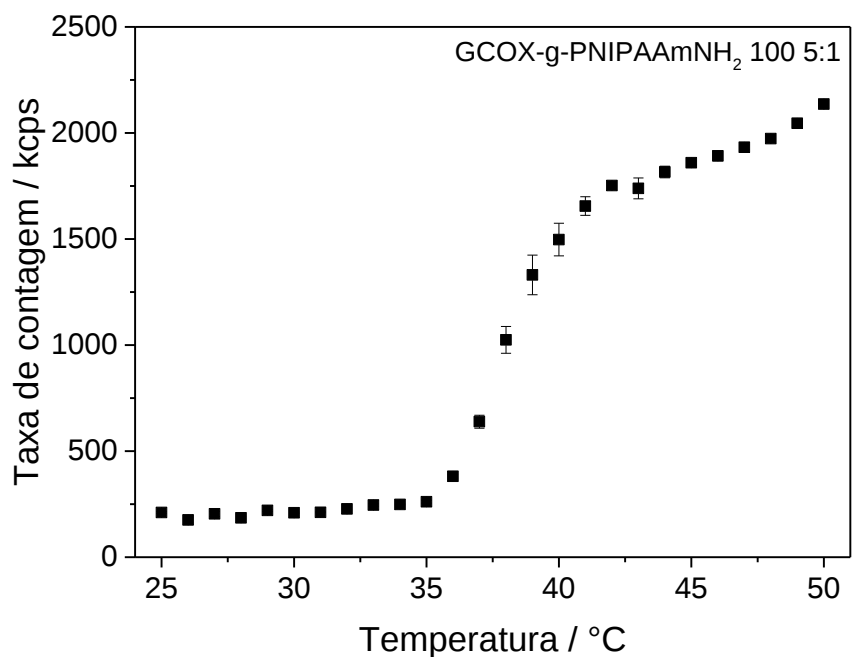
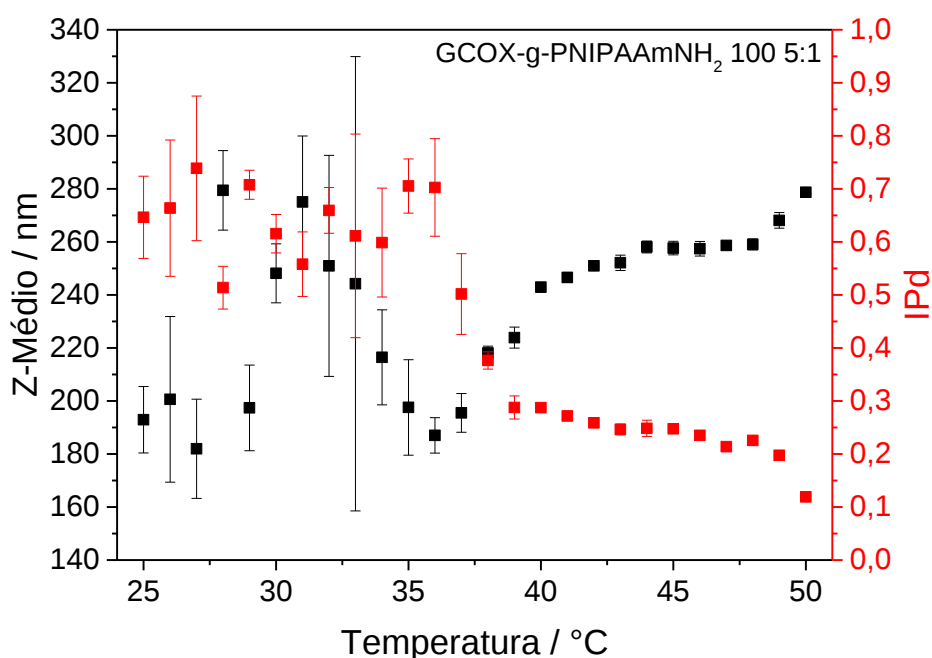
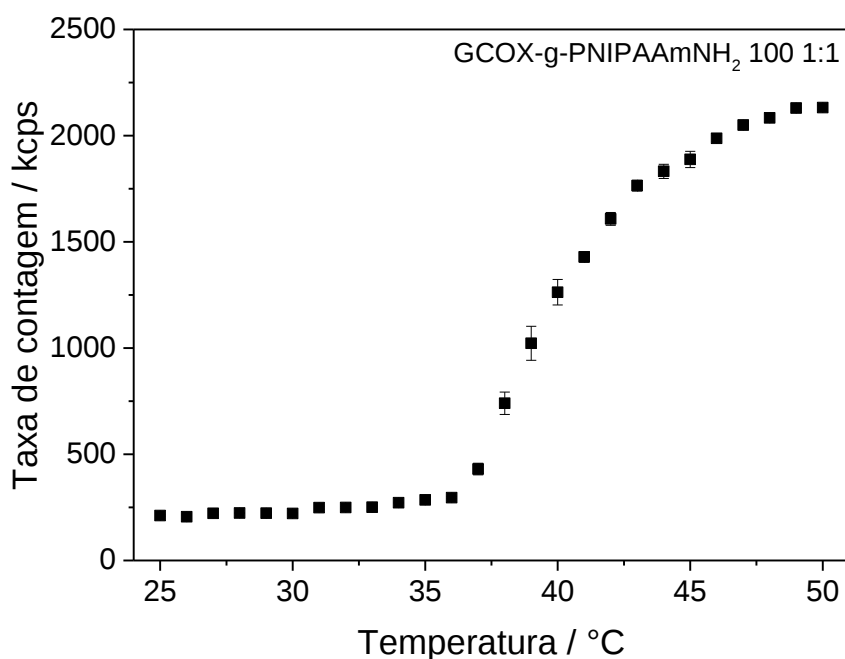


Figura 28 – Tamanho de partícula e IPd para o copolímero GCOX20-g-PNIPAAmNH₂ 100 5:1



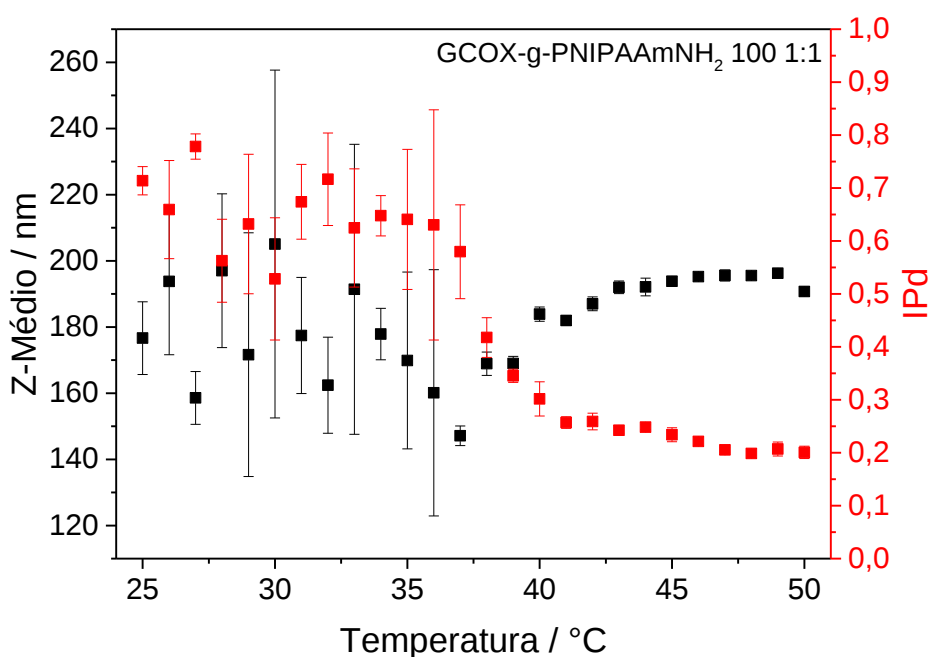
Para o coloide produzido com GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 1:1 (FIGURA 29), como observado para a outra amostra da série (GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 5:1) foi observado que taxa de contagem aumenta a partir de 36 °C como observado no sistema anterior

Figura 29 – Taxa de contagem em função da temperatura para GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 1:1



Para o tamanho de partícula e IPd (FIGURA 30) foi observado a diminuição do IPd (0,418) a 38 °C. A essa temperatura o tamanho de partícula foi de 168,9 nm. Para a temperatura de 37 °C, o tamanho de partícula foi de 147,1 nm e IPd de 0,580.

Figura 30 – Tamanho de partícula e IPd em função da temperatura para GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 100 1:1



A Tabela 10 apresenta um resumo dos resultados obtidos por DLS para os copolímeros de GCOX.

Tabela 10 – Compilação dos resultados dos copolímeros de GCOX e PNIPAAmNH₂

Copolímero	LCST	37 °C		40 °C	
		Z-Médio	IPd	Z-Médio	IPd
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1	35 °C	214,1 nm	0,329	243,5 nm	0,240
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1	35 °C	221,3 nm	0,151	224,9 nm	0,191
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 5:1	37 °C	195,5 nm	0,502	242,9 nm	0,287
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 1:1	36 °C	147,1 nm	0,580	183,9 nm	0,302

Os copolímeros produzidos apresentaram tamanho de partícula variando entre 147,1 e 221,3 nm a 37 °C. A LCST dos copolímeros foi superior a LCST dos homopolímeros de PNIPAAmNH₂. Esse aumento foi ocasionado pelo aumento porção hidrofílica nos copolímeros quando comprado com o homopolímero. Para os copolímeros formados por PNIPAAmNH₂ 250, a variação da razão entre os constituintes não influenciou a LCST, diferente do ocorrido nos sistemas formados com PNIPAAmNH₂ 100. Esse efeito ocorre pois sistemas formados com poli(*N*-isopropilacrilamida) de maiores massas molares não sofrem influência da concentração da mesma nos sistemas (LENCINA *et al.*, 2014; FUJISHIGE, KUBOTA, ANDO, 1989).

4.3.5 Estabilidade temporal dos copolímeros em função do pH

A estabilidade temporal do copolímero GCOX-g-PNIPAAm-NH₂250 1:1 em função do pH foi estudada por 72 h a 37 °C pelo acompanhamento do tamanho de partícula e do IPd (FIGURAS 31 e 22).

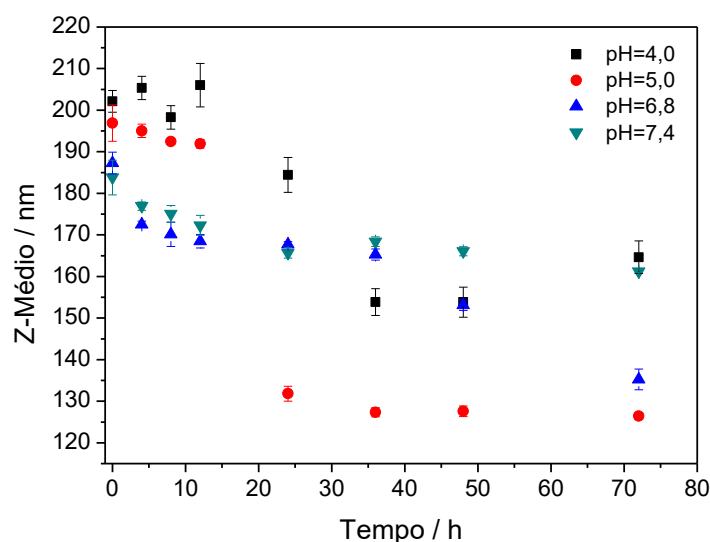
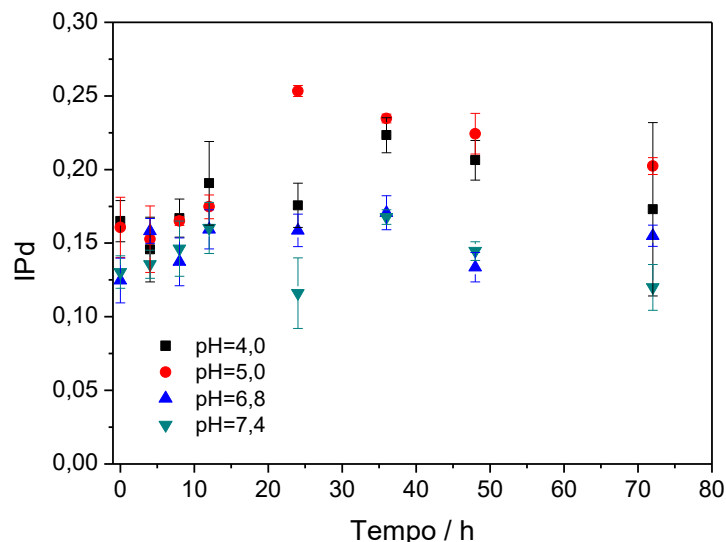
Figura 31 - Tamanho de partícula para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH₂250 1:1 em diferentes meios

Figura 32 – Índice de polidispersão para o copolímero GCOX-g-PNIPAAmNH₂250 1:1 em diferentes meios



Foi observado que para os pHs 4,0 e 5,0 houve uma maior variação no tamanho quando comparado aos pHs 6,8 e 7,4. Essa diminuição do tamanho pode ser causada pela quebra da base de Schiff que é favorecida em meios moderadamente ácidos (LI *et al.*, 2017). A quebra dessa ligação faz com que haja a perda do PNIPAAm enxertado, causando consequentemente a diminuição do volume hidrodinâmico das partículas do coloide.

Para o índice de polidispersão foi observado que os sistemas em meios tamponados pH 4,0 e 5,0, como foi observado anteriormente para o tamanho, foram os que sofreram maior variação no IPd com o tempo. Os sistemas em pH 6,8 e 7,4 permaneceram praticamente constantes no período de tempo estudado.

4.4 Síntese dos copolímeros de GC e GCCM com e poli(*N*-isopropilacrilamida) amino terminada e suas caracterizações

4.4.1 Síntese dos copolímeros de GC e GCCM com poli(*N*-isopropilacrilamida) via reação de carbodiimida

Os valores de rendimento para as reações de formação dos copolímeros por acoplamento via EDC/NHS da GCCM e GC com PNIPAAmNH₂ estão apresentados na Tabela 11.

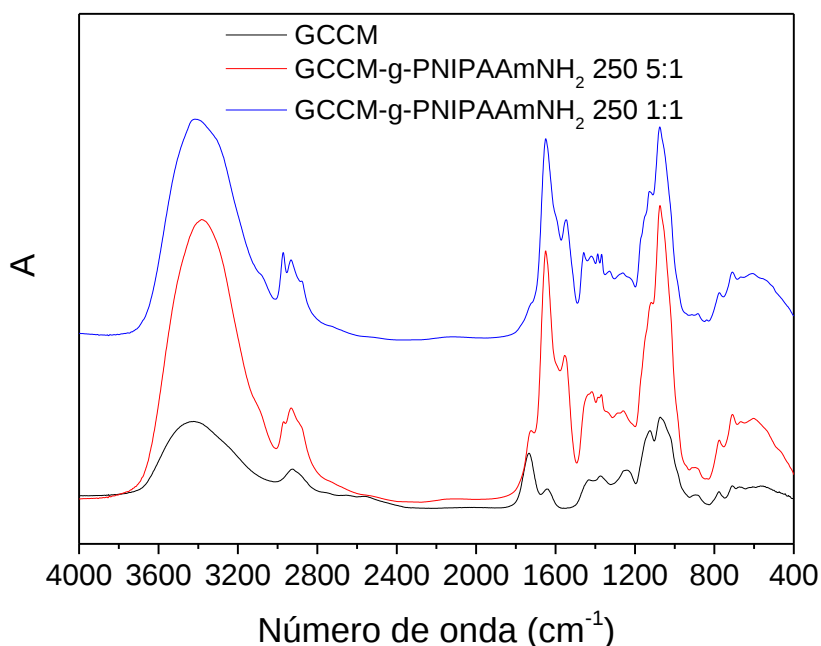
Tabela 11 – Sumário dos rendimentos reacionais e de purificação para os copolímeros produzidos via acoplamento EDC/NHS

Copolímero	Rendimento (%)	
	Reação	Purificação
GCCM-g-PNIPAAm-NH ₂ 250 5:1	98,5	84,2
GCCM-g-PNIPAAm-NH ₂ 250 1:1	93,6	53,6
GC-g-PNIPAAm-NH ₂ 250 5:1	99,5	83,4
GC-g-PNIPAAm-NH ₂ 250 1:1	96,6	42,6

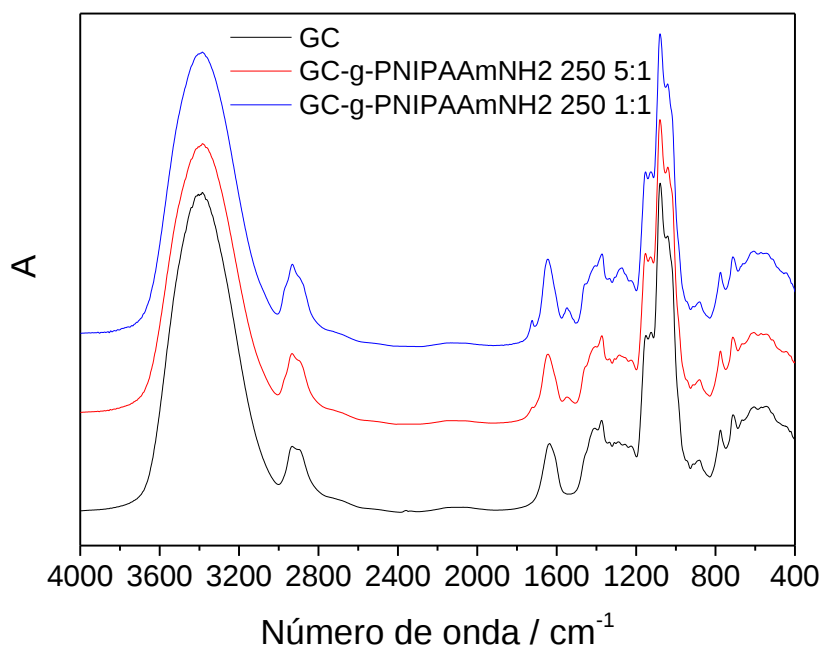
4.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros para os copolímeros produzidos por acoplamento via EDC/NHS estão apresentados nas Figuras 33 e 34. Os espectros para os copolímeros produzido a partir de GCCM e PNIPAAmNH₂ 250 (FIGURA 33) apresentaram bandas características dos polímeros formadores do copolímero. Foi possível observar, além das bandas características da GCCM, como as atribuídas as ligações glicosídicas (1080 cm⁻¹) e estiramento O-H (3400 cm⁻¹), e banda em 1548 cm⁻¹ atribuída a vibração de amida (AMIDA II) presentes na estrutura da PNIPAAmNH₂ presente nos copolímeros formados.

Figura 33 – Espectros de FTIR para os copolímeros de GCCM e PNIPAAmNH₂



Os espectros para as reações entre GC e PNIPAAmNH₂ 250 estão apresentados na Figura 34. Como observado nos copolímeros anteriores, foi possível observar as bandas dos polímeros precursores dos copolímeros.

Figura 34 – Espectros de FTIR para os copolímeros de GC e PNIPAAmNH₂ 250

Para as duas séries apresentadas com GCCM e GC foi possível observar um aumento na razão entre as bandas em 1545 cm⁻¹ (AMIDA II), oriunda da PNIPAAmNH₂ 250 e 1080 cm⁻¹ (C-O-C) de ligação glicosídica da goma, com a diminuição da razão mássica entre a GCCM, e GC, e o PNIPAAmNH₂ (TABELA 12). O aumento da razão entre as bandas evidencia um maior grau de enxertia da PNIPAAmNH₂ com o aumento da quantidade da mesma, na reação de formação do copolímero, como observado na série de GCOX.

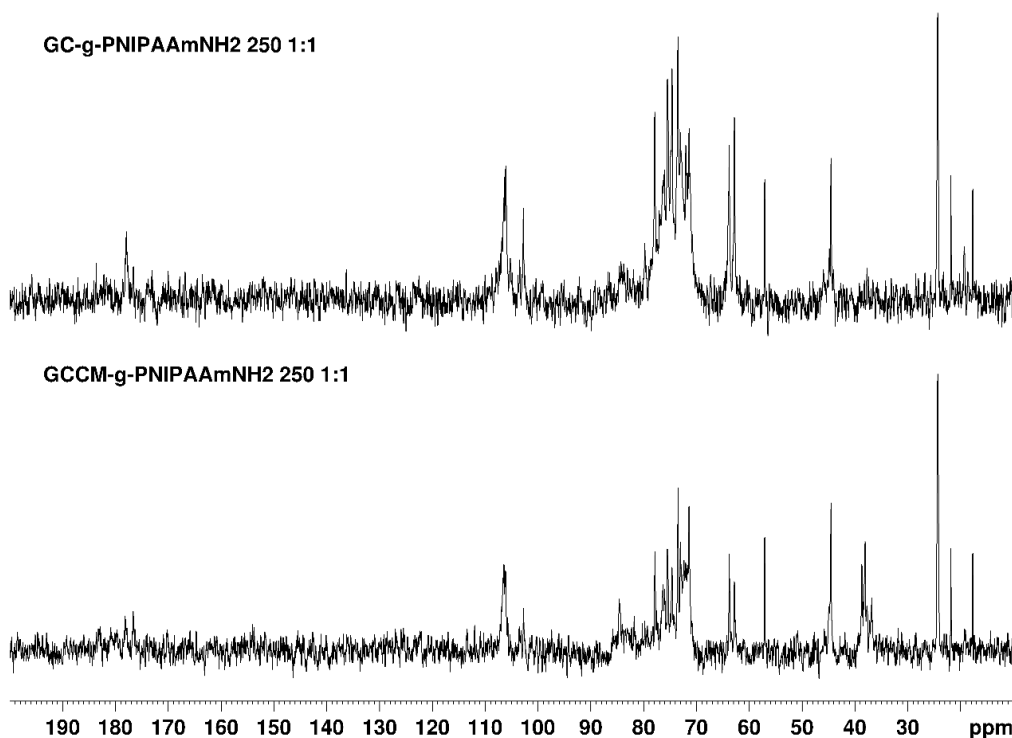
Tabela 12 – Razão entre as bandas de FTIR de 1545 cm⁻¹ / 1080 cm⁻¹ para os copolímeros

Copolímero	Razão 1545 cm ⁻¹ / 1080 cm ⁻¹	
	5:1	1:1
GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250	0,192	0,263
GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250	0,027	0,054

4.4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN ¹³C-BB para os copolímeros GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 e GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 estão apresentados na Figura 35.

Figura 35 – Espectros de RMN ^{13}C -BB para os copolímeros GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 e GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 em D₂O



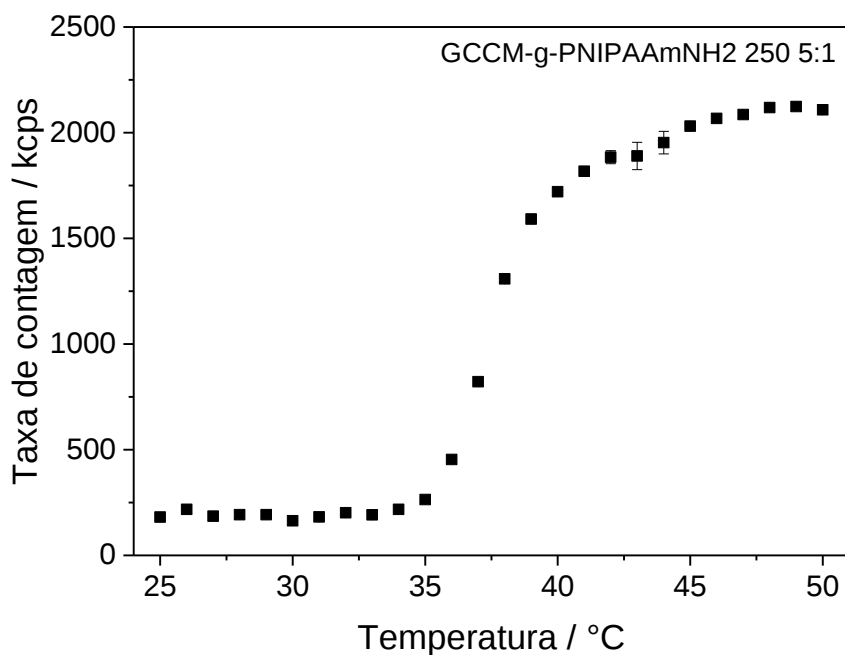
Os espectros apresentaram sinais dos polímeros formadores dos copolímeros analisados. Foram observados sinais na região de 110 a 100 ppm referentes a carbonos anoméricos em ambos os copolímeros, além de sinais entre 60 e 80 ppm atribuídos aos carbonos formadores dos anéis glicosídicos. E sinais em 24,3 e 44,5 ppm referentes a CH₃ e CH do grupo isopropil, respectivamente.

4.4.4 Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)

Os coloides produzidos a partir dos copolímeros de GCCM e PNIPAAmNH₂ apresentaram tamanho de partícula, IPd e taxa de contagem dependente da temperatura, como apresentado nas figuras 36, 37, 38 e 39.

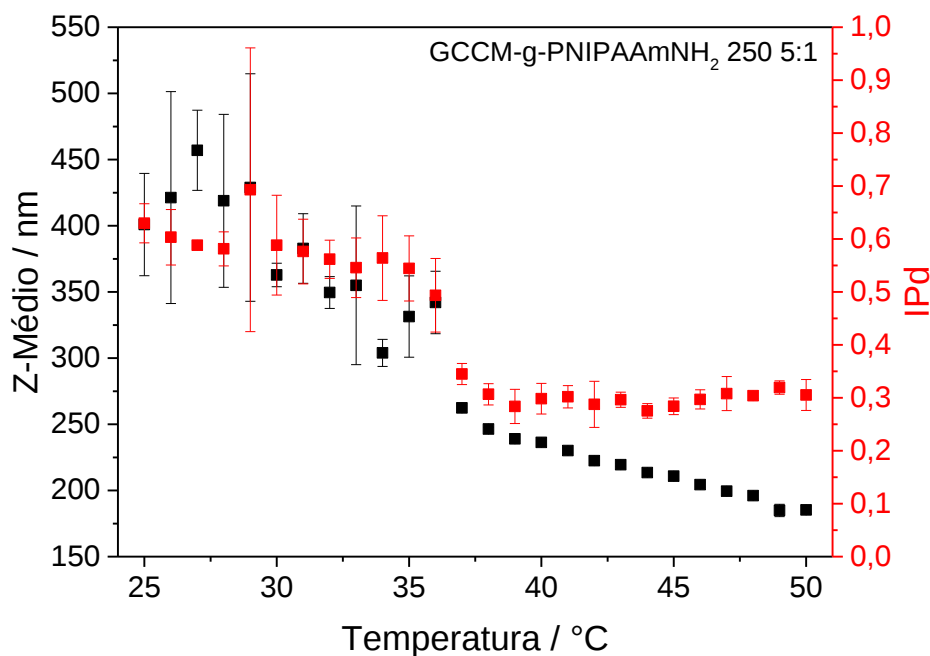
O sistema coloidal formado por GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 5:1 (FIGURA 36) apresentou um aumento na taxa de contagem de luz espalhada a 36 °C, indicando o evento de transição para esse copolímero formado.

Figura 36 – Taxa de contagem em função da temperatura para GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 5:1



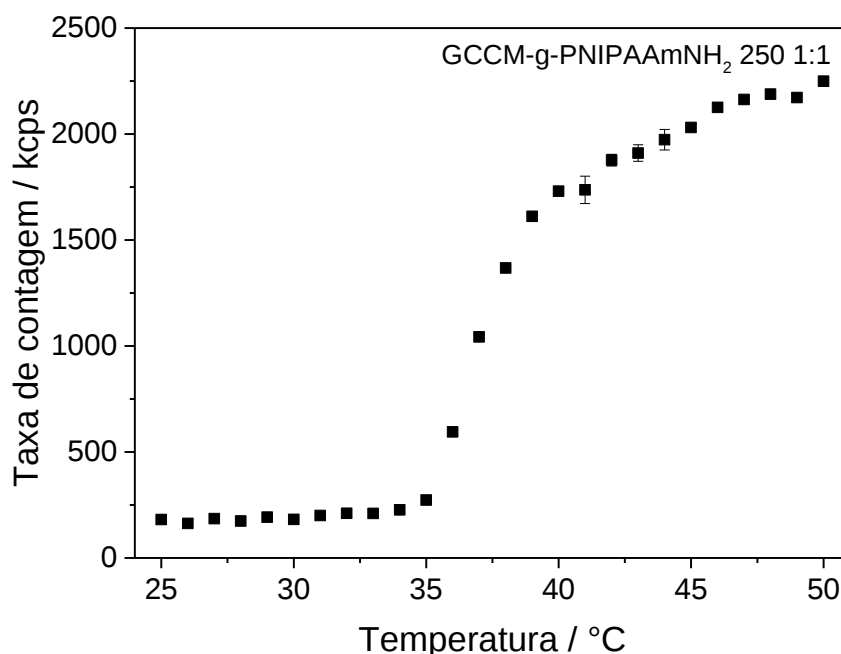
A amostra também apresentou uma diminuição do IPd para 0,345 a 37 °C. Nessa temperatura as partículas do coloide apresentaram diâmetro hidrodinâmico de 262,4 nm. A partir de 38 °C há uma estabilização dos valores de IPd, até 50 °C, em um valor médio de $0,297 \pm 0,012$. Contudo houve uma progressiva diminuição do tamanho, variando de 246,4 nm (38 °C) a 185,4 nm (50 °C).

Figura 37 – Tamanho de partícula e IPd para GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 5:1



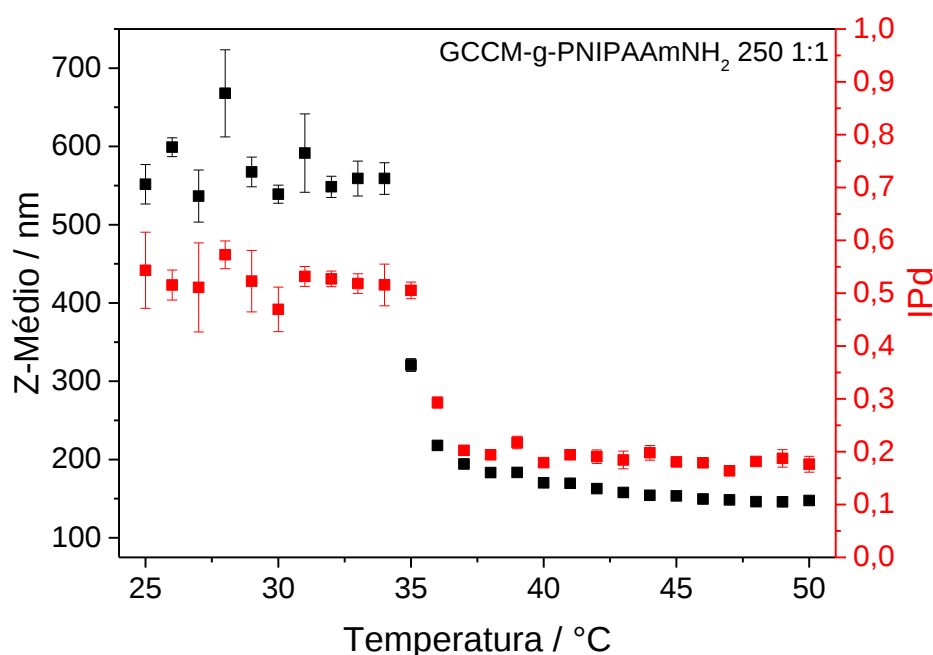
A taxa de espalhamento em função da temperatura para o sistema formado por GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 (FIGURA 38), indicou que similar ao copolímero anterior, o mesmo apresentou LCST a 36 °C.

Figura 38 – Taxa de contagem em função da temperatura para GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1



Para o sistema formado a partir de GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 (FIGURA 39), foi observado que há uma diminuição no IPd a 36 °C. Nessa temperatura o IPd observado foi de 0,293 e o tamanho de partícula foi de 218,0 nm. A 37 °C os valores de tamanho e IPd foram de 194,3 nm e 0,202, respectivamente. A partir de 37 °C o IPd permaneceu constante até o final da faixa estudada.

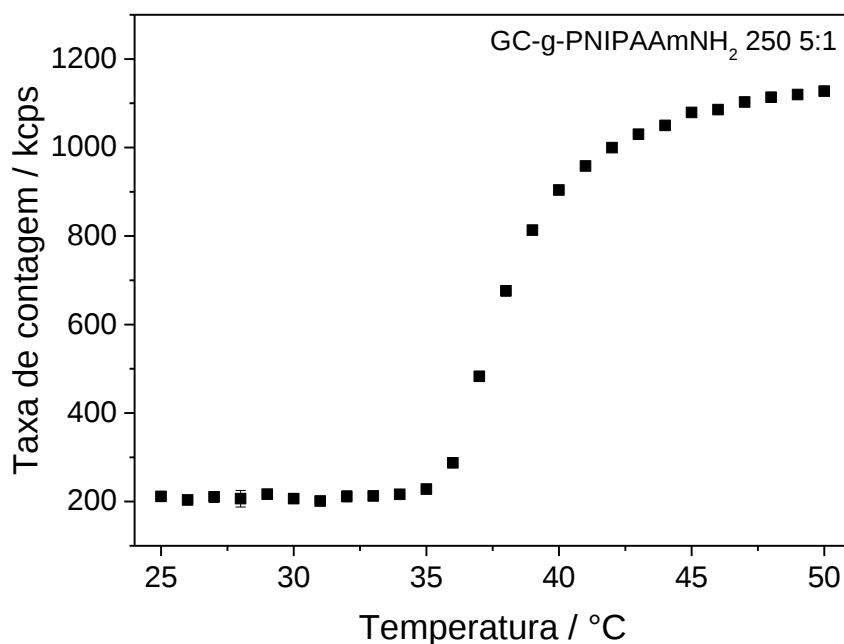
Para o sistema formado a partir de GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 (FIGURA 38), foi observado que há uma diminuição no IPd a 36 °C. Nessa temperatura o IPd observado foi de 0,293 e o tamanho de partícula foi de 218,0 nm. A 37 °C os valores de tamanho e IPd foram de 194,3 nm e 0,202, respectivamente. A partir de 37 °C o IPd permaneceu constante até o final da faixa estudada, apresentado valor médio de $0,187 \pm 0,013$. Contudo o tamanho das partículas do coloide apresentou ligeira redução, diminuindo até 147,7 nm a 50 °C.

Figura 39 – Tamanho de partícula e IPd para GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1

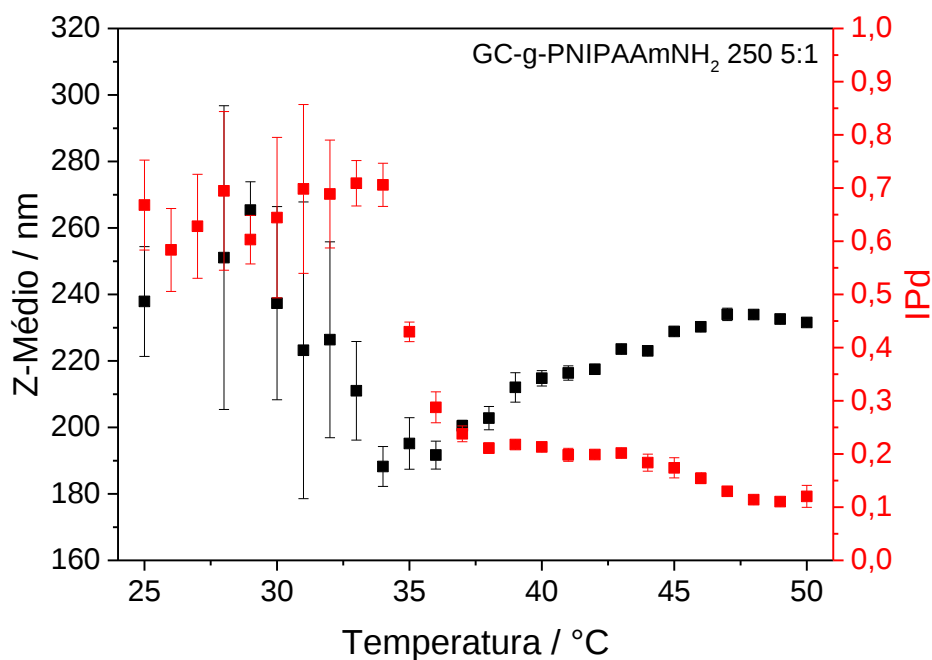
Quando comparados os sistemas coloidais da série de copolímeros formados por GCCM e PNIPAAmNH₂ 250 é possível observar que o aumento da quantidade de PNIPAAmNH₂ levou a uma diminuição da temperatura de transição bem como a diminuição do tamanho de partícula e IPd para a mesma temperatura, considerando os sistemas 5:1 e 1:1. Além de uma tendência de diminuição do tamanho de partícula com o aumento da temperatura, o que é esperado para sistemas formados com poli(*N*-isopropilacrilamida), uma vez que o aumento da temperatura produz um aumento da hidrofobicidade do material levando a uma contração das cadeias dos copolímeros.

Os coloides produzidos a partir dos copolímeros de GC e PNIPAAmNH₂ apresentaram tamanho de partícula e IPd dependente da temperatura, como apresentado nas figuras 40, 41, 42 e 43.

Para o copolímero GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 5:1 (FIGURA 40) foi possível observar que a 36 °C há o evento de transição para a amostra. Foi observado (FIGURA 41) uma diminuição nos valores de índice de IPd, indicado uma maior organização do sistema e estando associada a temperatura de transição do material.

Figura 40 – Taxa de contagem em função da temperatura para GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 5:1

A essa temperatura o sistema apresentou IPd de 0,430 e tamanho de partícula de 195,2 nm. A 37 °C o sistema apresentou tamanho de partícula de 200,4 nm e IPd de 0,238. Com o progressivo aumento da temperatura foi observado diminuição do IPd, acompanhado do aumento do tamanho de partícula, indicando que o aumento da temperatura leva a um sistema mais organizado, contudo com partículas maiores.

Figura 41 – Tamanho de partícula e IPd para GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 5:1

Para o sistema formado com GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 (FIGURA 42) foi observado que a temperatura de transição foi em 36 °C. A essa temperatura o sistema apresentou tamanho de partícula de 198,9 nm e IPd de 0,111 (FIGURA 43). A 37 °C, o sistema coloidal apresentou tamanho de 212,8 nm e IPd 0,110. Como no outro sistema da série, o aumento da temperatura levou a um progressivo aumento do tamanho de partícula acompanhado com a diminuição do IPd.

Figura 42 – Taxa de contagem em função da temperatura para GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1

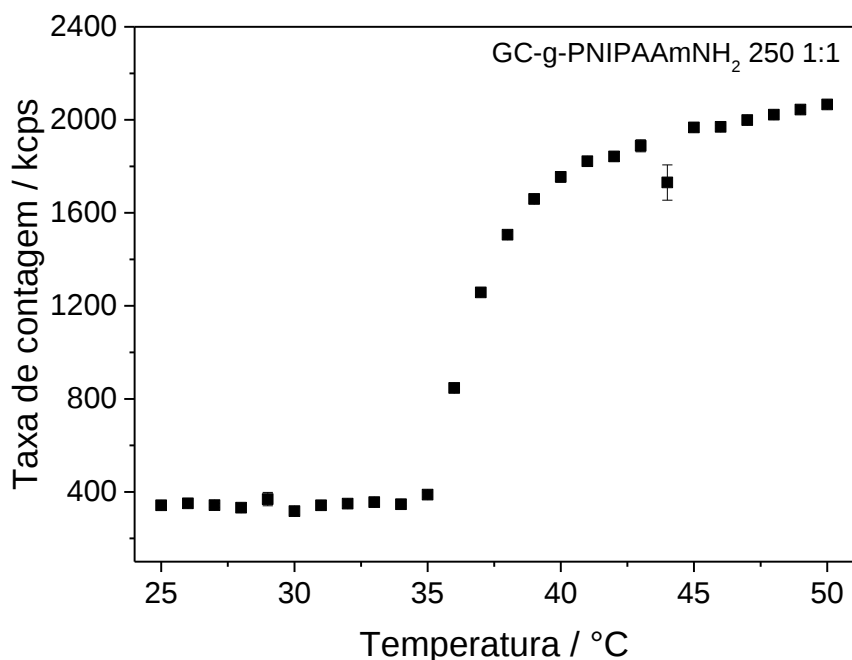


Figura 43 – Tamanho de partícula e IPd para GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1

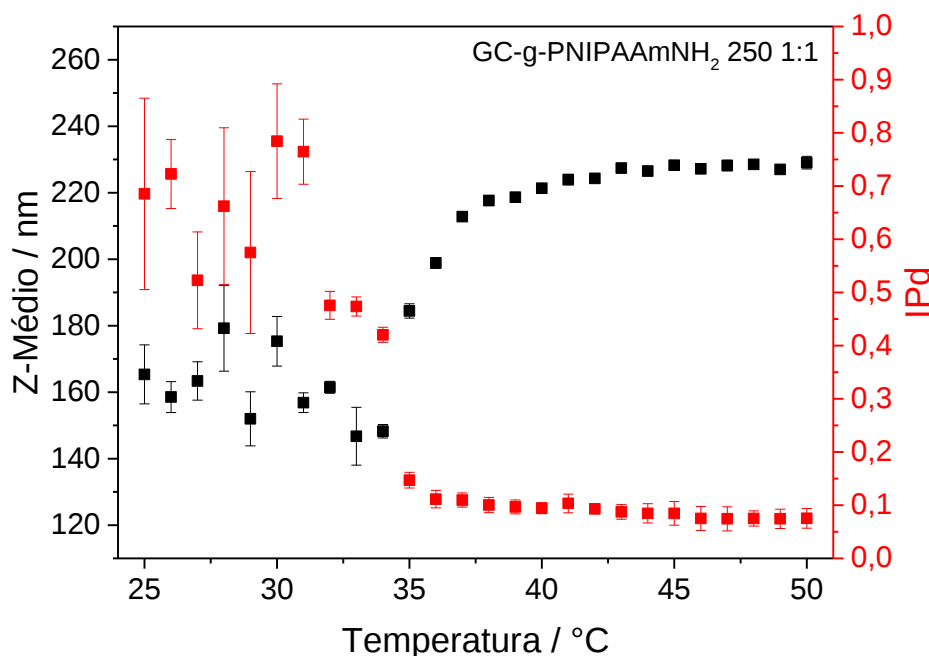


Tabela 13 – Compilação dos resultados dos copolímeros de GCCM e GC com PNIPAAmNH₂

Copolímero	LCST	37 °C		40 °C	
		Z-Médio	IPd	Z-Médio	IPd
GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1	36 °C	262,4 nm	0,345	236,3 nm	0,298
GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1	36 °C	194,3 nm	0,202	170,1 nm	0,179
GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1	36 °C	200,4 nm	0,238	214,8 nm	0,213
GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1	36 °C	212,8 nm	0,109	221,3 nm	0,094

A Tabela 13 apresenta um resumo dos resultados obtidos por DLS para os copolímeros de GCCM e GC. Os copolímeros produzidos apresentaram tamanho de partícula variando entre 194,3 e 262,4 nm a 37 °C. A LCST dos copolímeros foi superior a LCST do homopolímero de PNIPAAmNH₂ 250. Esse aumento foi ocasionado pelo aumento porção hidrofílica nos copolímeros quando comprado com o homopolímero. Não sendo observado, nos sistemas estudados, variação da LCST com a variação da razão dos constituintes. Entretanto, há uma influência entre a razão de polissacarídeo e PNIPAAmNH₂ 250, pois quanto maior a quantidade de PNIPAAmNH₂ presente, menor é o IPd. Uma hipótese seria que a maior quantidade de poli(*N*-isopropilacrilamida) maior é a formação de domínios hidrofóbicos depois da LCST, aumentando as forças atrativas das cadeias, permitindo a formação de sistemas mais homogêneos.

Dentre os copolímeros formados por GCCM e GC, o que apresentou menor tamanho a 37 °C foi GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 com 194,3 nm. E a que apresentou as partículas mais homogêneas foi GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1, com IPd de 0,094.

4.5 Comparativo entre os copolímeros produzidos

O comportamento dos coloides produzidos a partir dos copolímeros sintetizados foram reunidos na Tabela 14. Para todos os copolímeros sintetizados com PNIPAAmNH₂ 250, não há influência da razão entre polissacarídeo e poli(*N*-isopropilacrilamida) na LSCT.

Observou-se também que os sistemas formados com GCOX e PNIPAAmNH₂ apresentaram as menores temperaturas de transição, para todos os sistemas formados. A GCOX é, dos polissacarídeos modificados utilizados no

presente trabalho, o que apresenta o menor caráter hidrofílico, devido a sua modificação química, que introduz grupos aldeídos na cadeia. Assim para suas amostras, o balanço hidrofílico/hidrofóbico dos copolímeros favoreceu a transição em solução.

Tabela 14 – Resultados de DLS para os copolímeros sintetizados

Copolímero	LCST	37 °C		40 °C	
		Z-Médio	IPd	Z-Médio	IPd
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1	35 °C	214,1 nm	0,329	243,5 nm	0,240
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1	35 °C	221,3 nm	0,151	224,9 nm	0,191
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 5:1	37 °C	195,5 nm	0,502	242,9 nm	0,287
GCOX-g-PNIPAAmNH ₂ 100 1:1	36 °C	147,1 nm	0,580	183,9 nm	0,302
GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1	36 °C	262,4 nm	0,345	236,3 nm	0,298
GCCM-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1	36 °C	194,3 nm	0,202	170,1 nm	0,179
GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 5:1	36 °C	200,4 nm	0,238	214,8 nm	0,213
GC-g-PNIPAAmNH ₂ 250 1:1	36 °C	212,8 nm	0,109	221,3 nm	0,094

Todos os sistemas coloidais produzidos apresentaram tamanho inferior a 270 nm após a LCST, mostrando que os sistemas são apropriados para aplicações médicas (NAJAFI *et al*, 2016).

Dentre os sistemas estudados os que se apresentaram com menor tamanho e IPd foram os formados com PNIPAAmNH₂ na razão 1:1, correspondendo aos copolímeros GCOX-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1, GCCM-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1 e GC-g-PNIPAAmNH₂ 250 1:1.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os homopolímeros de PNIPAAmNH₂ sintetizados apresentaram temperaturas de transição distintas, havendo influência da quantidade de grupos terminais adicionados durante a síntese.

A razão mássica entre os polissacarídeos e PNIPAAmNH₂ nos copolímeros sintetizados influencia no tamanho de partícula e IPd dos sistemas coloidais.

Nos copolímeros sintetizados com PNIPAAmNH₂ 250 não houve influência da razão mássica na LCST, contudo ela influenciou no IPd dos colóides produzidos.

Dentre os sistemas estudados, os formados com PNIPAAmNH₂ com razão 1:1 foram os que apresentaram os menores tamanhos e IPd.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. M. W. S., PAULA, H. C. B., SEABRA, V., FEITOSA, J. P. A., SARMENTO, B., DE PAULA, R. C. M. Synthesis and characterization of non-toxic and thermo-sensitive poly(*N*-isopropylacrylamide)-grafted cashew gum nanoparticles as a potential epirubicin delivery matrix. **Carbohydrate Polymers**, v. 154, p. 77, 2016.
- ABULATEEFEH, S. R., SPAIN, S. G., AYLOTT, J. W., CHAN, W.C., GARNETT, M. C. ALEXANDER, C. Thermoresponsive polymer colloids for drug delivery and cancer therapy. **Macromolecular Bioscience**, v. 11, p. 1722, 2011.
- AHN, G., LEE, J., PARK, S., KWARK, Y., LEE, K. Y. Doxorubicin-Loaded Alginate-g-Poly(*N*-isopropylacrylamide) Micelles for Cancer Imaging and Therapy. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 6, p. 22069, 2014.
- ANDERSON, D.M.W.; BELL, P. C. Structural analysis of the gum polysaccharide from *anacardium occidentale*. **Analytica. Chimica. Acta**, v. 79, p. 185, 1975.
- ANTONIRAJ, M.G.; KUMAR, C. S.; KANDASAMY, R. Synthesis and characterization of poly (*N*-isopropylacrylamide) -g-carboxymethyl chitosan copolymer-based doxorubicin-loaded polymeric nanoparticles for thermoresponsive drug release. **Colloid and Polymer Science**, v. 294, p. 527, 2016.
- ASMARANDEI, I., FUNDUEANU, G., CRISTEA, M., HARABAGIU, V., CONSTANTIN, M. Thermo- and pH-sensitive interpenetrating poly(*N*-isopropylacrylamide) / carboxymethyl pullulan network for drug delivery. **Journal of Polymer Research**, v. 20, p. 293, 2013.
- BALAKRISHNANA, B., MOHANTY, B., UMASHANKAR, P. R., JAYAKRISHNAN, A. Evaluation of an in situ forming hydrogel wound dressing based on oxidized alginate and gelatin. **Biomaterials**, v. 26, p. 6335, 2005.
- BLANCO-FERNANDEZ, B., CONCHEIRO, A., MAKWANA, H., FERNANDEZ-TRILLO, F., ALEXANDER, C., ALVAREZ-LORENZO, C. Dually sensitive dextran-based micelles for methotrexate delivery. **RSC Advances**, v. 7, p. 14448, 2017.
- BOKIAS, G., MYLONAS, Y., STAIKOS, G., BUMBU, G. G., VASILE, C. Synthesis and aqueous solution properties of novel thermoresponsive graft copolymers based on a carboxymethylcellulose backbone. **Macromolecules**, v. 34, p. 4958, 2001.
- CHEABURU, C. N., CIOCOIU, O., STAIKOS, G., VASILE, C. Thermoresponsive sodium alginate-g-poly(*N*-isopropylacrylamide) copolymers III. Solution properties. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 127, p. 3340, 2013.
- CHEN, J.-P., CHENG, T.-H., Thermo-responsive chitosan-*graft*-poly(*N*-isopropylacrylamide) injectable hydrogel for cultivation of chondrocytes and meniscus cells. **Macromolecular Bioscience**, v. 6, p. 1026, 2006.

CHENG, Y., NADA, A. A., VALMIKINATHAN, C. M., LEE, P., LIANG, D. *In situ* gelling polysaccharide-based hydrogel for cell and drug delivery in tissue engineering. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, p. 39934, 2014.

CUNHA, P. L. R., MACIEL, J. S., SIERAKOWSKI, M. R., DE PAULA, R. C. M., FEITOSA, J. P. A. Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with TEMPO reagent. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 85, 2007.

DAWLEE, S., SUGANDHI, A., BALAKRISHNAN, B., LABARRE, D., JAYAKRISHNAN, A. Oxidized chondroitin sulfate-cross-linked gelatin matrixes: A new class of hydrogels. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 2040, 2005.

DUMITRIU, R. P., MITCHELL G. R., VASILEA, C. Multi-responsive hydrogels based on N-isopropylacrylamide and sodium alginate. **Polymer International**, v. 60, p. 222, 2011.

DUMITRIU, R. P., OPREA, A., CHEABURU, C. N., NISTOR, M., NOVAC, O., GHICIUC, C., M., PROFIRE, L. VASILE, C. Biocompatible and biodegradable alginate/poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels for sustained theophylline release. **Journal of Applied Polymes Science**, v. 131, p. 40733, 2014.

EHRENFREUND-KLEINMANA, T., AZZAMA, T., FALK, R., POLACHECK, I., GOLENSER, J., DOMB, J. A. Synthesis and characterization of novel water soluble amphotericin B–arabinogalactan conjugates. **Biomaterials**, v. 23, p. 1327, 2002.

FENG, X., LI, D., HAN, J., ZHUANG, X., DING, J. Schiff base bond-linked polysaccharide–doxorubicin conjugate for upregulated cancer therapy. **Materials Science and Engineering: C**, v. 76, p. 1121, 2017.

FUJISHIGE, S., KUBOTA, K., ANDO, I. Phase transition of aqueous solutions of poly(N-isopropylacrilamide) and poly(N-isopropylmethacrylamide). **Journal Physical of Chemistry**, v. 93, p. 3311, 1989.

GANDHI, A., PAUL, A., SEN, S. O., SEN, K. K. Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, p. 99, 2015.

GLINEL, K., SAUVAGE, J. P., OULYADI, H., HUGUET, J. Determination of substituents distribution in carboxymethylpullulans by NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 328, p. 343, 2000.

GUPTA, N. R., GHUTE, P. P., BADIGER, M. V. Synthesis and characterization of thermo-sensitive graft copolymer of carboxymethyl guar and poly(N-isopropylacrylamide). **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 74, 2011.

HA, D. I., LEE, S. B., CHONG, M. S., LEE, Y. M., KIM, S. Y., PARK, Y. H. Preparation of thermo-responsive and injectable hydrogel based on hyaluronic acid and poly(N-isopropylacrylate) and their drug release behaviors. **Macromolecular Research**, v. 14, p. 87, 2006.

HAYES. F. R., *N,O*-carboxymethyl chitosan and preparative method therefor. U. S. Patent 4.619.995, October 28, 1986

KLEIN, D. **Química Orgânica v.2**, 2. ed., Rio de Janeiro:LCT. 2016.
 KOOIJMAN, L. M., GANZVELD, K. J., MANURUNG, R. M., HEERES, H. L.
 Experimental studies on the carboxymethylation of arrow root starch in isopropanol-water media. **Starch-Starke**, v. 55, p. 495, 2003.

KURITA, K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. **Progress in Polymer Science**, v. 26, p. 1921, 2001.

LEITE, A. J., COSTA, R. R., COSTA, A. M.S., MACIEL, J. S., COSTA, J. F. G., DE PAULA, R. C. M., MANO, J. F. The potential of cashew gum functionalization as building blocks for layer-by-layer films. **Carbohydrate Polymers**, v. 174, p. 849, 2017.

LENCINA, M. M. S., IATRIDI, Z., VILLAR, M. A., TSITSILIANIS, C.
 Thermoresponsive hydrogels from alginate-based graft copolymers. **European Polymer Journal**, v. 61, p. 33, 2014

LI, D., HAN, J., DING, J., CHEN, L., CHEN., X. Acid-sensitive dextran prodrug: a higher molecular weight makes a better efficacy. **Carbohydrate Polymer**, v. 161, p. 33, 2017.

LÜ, S., LIU, M., NI, B. Degradable, injectable poly(*N*-isopropylacrylamide)-based hydrogels with low gelation concentrations for protein delivery application. **Chemical Engineering Journal**, v. 173, p. 241, 2011.

JIA, Y., FEI, J., CUI, Y., YANG, Y., GAO, L., LI, J. pH-responsive polysaccharide microcapsules through covalent bonding assembly. **Chemical Communications**, v. 47, p. 1175, 2011.

JOCHUM, F. D., THEATO, P. Temperature- and light-responsive smart polymer materials. **Chemical Society Reviews**, v. 42, p. 7468, 2013.

LIU, M., SONG, x., WEN, Y., ZHU, J.-L., LI, J. Injectable thermoresponsive hydrogel formed by alginate-g-poly(*N*-isopropylacrylamide) releasing doxorubicina-encapsulated micelles as smart drug delivery system. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 9, p. 35673, 2017.

MACIEL, J. S., SILVA, D. A., PAULA, H. C. B., DE PAULA, R. C. M.
 Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex: synthesis and thermal stability. **European Polymer Journal**, v. 41, p.2726, 2005.

MAGALHÃES. F. A. **Preparação e Caracterização de Potenciais Suportes Porosos (Scaffolds) à Base de Géis de Gelatina / Goma do Cajueiro (*Anacardium Occidentale*) Oxidada**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

MAGALHÃES JR., G. A., SANTOS, C. M.W., SILVA, D. A., MACIEL, J. S., FEITOSA, J. P.A., PAULA, H. C. B., DE PAULA, R. C. M. Microspheres of chitosan/carboxymethyl cashew gum (CH/CMCG): Effect of chitosan molar mass and CMCG degree of substitution on the swelling and BSA release. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 217, 2009.

MAO, J., LI, Y., WU, T., YUAN, C., ZENG, B., XU, Y., DAI, L. A simple dual-pH responsive prodrug-based polymeric micelles for drug delivery. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 8, p. 17109, 2016.

MARTÍNEZ-GÓMEZ, F., ENCINAS, M. V., MATSUHIRO, B., PAVEZ, P. Preparation and swelling properties of homopolymeric alginic acid fractions/poly(N-isopropyl acrylamide) graft copolymers. **Journal of Applied Polymes Science**, v. 132, p. 42398, 2015.

MIYAMOTO, K., TSUJI, K., NAKAMURA, T., TOKITA, M., KOMAI, T. Recrystallization of amylopectin in concentrated starch gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 30, p. 61, 1996.

MONTEIRO, A. A. S., RICHTER, A. R., MACIEL, J. S., FEITOSA, J. P. A., PAULA, H. C. B., DE PAULA, R. C. M. Efeito da modificação química na solubilidade e intumescimento de microesferas à base de goma do cajueiro carboximetilada e quitosana. **Polímeros**, v. 25, p. 31, 2015.

MOURA-NETO, E. **Desenvolvimento de Novo Materiais à Base de Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale*): Derivados e Microesferas com Gelatina**. 2008. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

PAMIÉS, R., ZHU, K., KJØNIKSEN, A. L., NYSTRÖM, B. Thermal response of low molecular weight poly-(N-Isopropylacrylamide) polymers in aqueous solution. **Polymer Bulletin**, v. 62, p. 487, 2009.

PICTON, L., MOCANU, G., MIHAI, D., CARPOV, A., MULLER, G. Chemically modified exopolysaccharide pullulans: physico-chemical characteristics of ionic derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 28, p. 131, 1995.

POORGHOLY, N., MASSOUMI, B., JAYMAND, M. A novel starch-based stimuli-responsive nanosystem for theranostic applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, p. 654, 2017.

PRETSCH, E.; BÜHLMANN, P.; BADERTSCHER, M. **Structure determination of organic compounds-Tables of spectra data**. 4. ed. Berlin: Springer, 2009.

RODRIGUES, J. F., DE PAULA, R. C. M., COSTA, S. M. O. Métodos de isolamento de gomas naturais: Comparação através de goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*). **Polímeros: Ciências e Tecnologia**, v. 1, p. 31, 1993.

SABAA, M. W., ELZANATY, A. M., ABDEL-GAWADB, O. F., ARAFAB, E. G. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of Schiff bases modified

chitosan-graft-poly(acrylonitrile). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 1280, 2018.

SAMANTA, S., DE SILVA, C. C., LEOPHAIRATANA, P., KOBERSTEIN, J. T. Main-chain polyacetal conjugates with hif-1 inhibitors: temperature-responsive, pH-degradable drug delivery vehicles. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, p. 666, 2018.

SARUBBO, L. A., OLIVEIRA, L. A., PORTO, A. L. F., DUARTE, H. S., CARNEIRO-LEÃO, A. M. A., LIMA-FILHO, J. L., CAMPOS-TAKAKI, G. M., TAMBOURGI, E. B. New aqueous two-phase system based on cashew-nut tree gum and poly(ethylene glycol). **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 743, p. 79, 2000.

SEURING, J., AGARWAL, S. Polymers with upper critical solution temperature in aqueous solution. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 33, p. 1898, 2012.

SILVA, D.A., DE PAULA, R.C.M., FEITOSA, J.P.A., DE BRITO, A.C.F., MACIEL, J.S., Paula, H.C.B. Carboxymethylation of cashew tree exudate polysaccharide. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p.163, 2004.

SILVA, D. A., MACIEL, J. S., FEITOSA, J. P. A., PAULA, H. C. B., DE PAULA, R. C. M. Polysaccharide-based nanoparticles formation by polyelectrolyte complexation of carboxymethylated cashew gum and chitosan. **Journal of Materials Science**, v. 45, p. 5605, 2010.

SONAWENA, S. J., KALHAPURE, R. S., GOVENDER, T. Hydrazone linkages in pH responsive drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, p. 45, 2017

TORUL, H., ARSLAN. N. Production of carboxymethyl cellulose from sugar beet pulp cellulose and rheological behaviour of carboxymethyl cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 73, 2003.

VERRAEST, D. L., Peters, J. A., Kuzee, H. C., Batelaan Van, J. G., Bekkum. H. Carboxymethylation of inulin. **Carbohydrate Research**, v. 271, p. 101, 1995.