

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS (MESTRADO) – PPGCEM**

**AVALIAÇÃO DA PERMEAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS ATRAVÉS DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS
MIMETIZANDO O TRANSPORTE TRANSDÉRMICO**

HELTON JEREMIAS DE SOUZA

CRICIÚMA

2015

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS (MESTRADO) – PPGCEM**

HELTON JEREMIAS DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA PERMEAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS ATRAVÉS DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS
MIMETIZANDO O TRANSPORTE TRANSDÉRMICO**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais para
obtenção do título de Mestre em
Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Marques
da Silva Paula

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre
Gonçalves Dal-Bó

CRICIÚMA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S729a Souza, Helton Jeremias de.

Avaliação da permeação de nanopartículas metálicas através de membranas poliméricas mimetizando o transporte transdérmico / Helton Jeremias de Souza; orientador: Marcos Marques da Silva Paula, coorientador: Alexandre Gonçalves Dal-Bó. – Criciúma, SC : Ed. do Autor, 2015.

108 p : il. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Criciúma, SC, 2015.

1. Adesivos transdérmicos – Uso terapêutico. 2. Permeação cutânea de medicamentos. 3. Nanopartículas metálicas. 4. Transporte transdermal. I. Título.

CDD. 22ª ed. 660.2844

Bibliotecária Rosângela Westrupp – CRB 14º/364
Biblioteca Central Prof. Eurico Back – UNESC

Helton Jeremias de Souza

Avaliação da permeação de nanopartículas metálicas através de membranas poliméricas mimetizando o transporte transdérmico.

Esta dissertação foi julgada adequada à obtenção do grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (Área de concentração: Tecnologia de Materiais) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Criciúma, SC, 08 de maio de 2015.

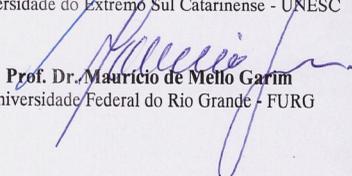
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Adriano Michael Bernardin
Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC



Prof. Dr. Michael Peterson
Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC



Prof. Dr. Maurício de Mello Garim
Universidade Federal do Rio Grande - FURG

Dedico este trabalho a minha
esposa Carla e minha filha
Carolina.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente por tudo o que me foi permitido realizar e aprender em mais um período importante de minha vida.

Ao meu orientador Dr. Marcos Marques da Silva Paula, pelos ensinamentos, orientações e auxílio durante todo o trabalho realizado, desde o planejamento até sua conclusão.

Ao meu co-orientador Dr. Alexandre Gonçalves Dal-Bó, pelos conselhos, orientações e ajuda ao longo desta pesquisa.

A todos do grupo de pesquisa LAPEM/LASICOM, especialmente ao Prof. Dr. Tiago Frizon, a pós-doutoranda Gabriela e aos alunos Elton Torres, Alice Baesso, Jamile Langhben. A contribuição de vocês para meu aprendizado foi fundamental nesta jornada.

Aos colegas do curso de mestrado ou que também participam ou participaram do grupo de pesquisa: Leonardo Oenning, José Luiz Westrup, Georgina Lopez, Júlio César Valdívía e Roselane Cesconeto. Nossas conversas sempre motivaram a conclusão deste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho no CEDUP, professores, direção e assessores que sempre me trouxeram palavras de incentivo e motivação.

A minha família, pais e irmãos que estão sempre presentes em minha vida.

Posso dizer que sou um cientista. Descobertas me entusiasma. O entusiasmo não vem do fato de termos criado alguma coisa, mas de termos encontrado algo maravilhoso que estava lá o tempo todo. Portanto, as questões da ciência afetam não só cada área da minha vida como também minhas atitudes em relação a uma porção de coisas. **Richard Feynman**

RESUMO

O transporte transdermal é uma importante forma de tratamento de doenças e o uso de adesivos transdérmicos associados a nanopartículas carregadoras de fármacos é promissor nesta aplicação. O uso de adesivos é principalmente vantajoso do ponto de vista da aceitação de um tratamento não invasivo em comparação com métodos tradicionais, mas limitado no que diz respeito a medicamentos que podem ser usados, pois a pele funciona como uma barreira para a entrega de fármacos ao corpo. Estudos demonstram que nanopartículas metálicas possuem como uma de suas características a capacidade de carregar compostos farmacêuticos e melhorar a eficiência com relação à entrega dos mesmos através da pele, consequentemente melhorando o tratamento de doenças. Neste trabalho foram realizados estudos de permeação de nanopartículas de ouro e de prata para compreender a dinâmica deste fenômeno em membranas poliméricas de poliestireno co-ácido acrílico (poli- $\{St-co-AA\}$) e poliestireno co-ácido acrílico sulfonado (poli- $\{StS-co-AA\}$), que podem futuramente ser utilizadas como sistemas de entrega transdermal. As membranas foram preparadas por *casting* e caracterizadas, por análise de espessura e microscopia de força atômica, como regulares e uniformes. As nanopartículas apresentaram tamanhos de 10 nm para as nanopartículas de ouro (GNP) e 28 nm para as nanopartículas de prata (SNP) observadas por caracterizações de UV-visível, DRX e MTE. Ensaio de permeação passiva de nanopartículas de prata e ouro em célula de difusão vertical com membranas de poli- $\{St-co-AA\}$ foram realizados mimetizando o transporte transdérmico passivo durante 24 horas e ficou comprovada sua permeabilidade nas condições utilizadas. A quantidade de GNP permeada foi $1,471 \pm 0,204$ mg/L, determinada por espectroscopia de absorção atômica, e as membranas após o ensaio foram novamente avaliadas morfológicamente e continuaram apresentando regularidade superficial. Os materiais poliméricos também demonstraram ser permeáveis a outras espécies, como o íon prata (Ag^+) e SNP, utilizando-se eletrodos revestidos e a técnica de voltametria cíclica. Com esta técnica foi possível constatar que filmes dos copolímeros não modificam o potencial do processo redox observado para o Ag^+ , apenas há diminuição da carga elétrica, que para o poli- $\{StS-co-AA\}$ corresponde a 36% e para o poli- $\{St-co-AA\}$ corresponde a 49%. O estudo da eletroatividade das SNPs apresentou também diferença com relação ao tipo de polímero utilizado, onde o polímero não sulfonado comportou-se como uma barreira para as

nanopartículas.

Palavras-Chave: Entrega transdérmica. Nanopartículas metálicas. Poli- $\{St-co-AA\}$. Poli- $\{StS-co-AA\}$. Permeação passiva. Voltametria cíclica.

ABSTRACT

The transdermal transport is an important way of treating diseases and the use of transdermal patches associated with nanoparticle drug loaders is promising in this application. The use of adhesives is particularly advantageous from the point of view of accepting a non-invasive treatment compared with traditional methods, but is limited in respect of drugs which can be used as the skin acts as a barrier for drug delivery to the body. Studies have shown that metal nanoparticles have as one of its features the ability to load pharmaceuticals and improve efficiency with respect to the same delivery through the skin, thus improving treatment of diseases. In this work, we studied the permeation of gold and silver nanoparticles to understand the dynamics of this phenomenon in polymeric membranes poly-(styrene-co-acrylic acid) (poly-(St-co-AA)) and poly-(styrene-co-acrylic acid) sulfonated (poly-(StS-co-AA)), which can further be used as a transdermal delivery system. The membranes were prepared by casting and characterized by thickness analysis and atomic force microscopy, as regular and uniform. The nanoparticles showed sizes of 10 nm for the gold nanoparticles (GNP) and 28 nm for silver nanoparticles (SNP) observed by characterizations of UV-visible, XRD and TEM. Passive permeation tests of silver and gold nanoparticles in a vertical diffusion cell with membranes of poly-(St-co-AA) were performed mimicking the passive transdermal transport for 24 hours and was proven permeability under the conditions used. The amount of GNP permeated was 1.471 ± 0.204 mg / L, determined by atomic absorption spectroscopy, and the membranes after the test were re-evaluated morphologically and continued to present surface regularity. Polymeric materials have also been shown to be permeable to other species, such as silver ion (Ag^+) and SNP using coated electrodes and the technique of cyclic voltammetry. With this technique it was established that the copolymer films do not alter the redox potential of the observed Ag^+ , there is only a 36% decrease of the electric load for the poly-(StS-co-AA) and 49% decrease for the poly-(St-co-AA). The study of electroactivity of SNPs also showed difference in relation to the polymer type used where the unsulfonated polymer behaved as a barrier to nanoparticles.

Key-words: Transdermal delivery. Metallic nanoparticles. Poly-{St-co-AA}. Poly-{StS-co-AA}. Passive permeation. Cyclic voltammetry.

Índice de Ilustrações

Figura 1 – Pressão Osmótica.....	37
Figura 2 – Adesivos Oculares.....	38
Figura 3 – Sistemas de Entrega Passiva. (a) Sistema de Reservatório e (b) Sistema de Matriz.....	39
Figura 4 – Monômeros estireno e ácido acrílico. (a) monômero estireno e (b) ácido acrílico.....	40
Figura 5 – Reação de Polimerização.....	41
Figura 6 – Reação de Sulfonação do poli-{estireno-co-ácido acrílico}.....	41
Figura 7 – Esquema ilustrativo da pele.....	42
Figura 8 – Síntese pelo Método Turkevich.....	45
Figura 9 – Modelos de Nanopartículas. (a) 100% MUS. (b) 2:1 molar MUS e OT. (c) 2:1 molar MUS e br-OT.....	47
Figura 10 – Nanopartículas em células. Nanopartículas preparadas com MUS (fig. 10a) e preparadas com MUS e br-OT (fig. 10b). Nanopartículas preparadas com MUS e OT (fig. 10c). Contagem de nanopartículas no citoplasma (fig. 10d).....	48
Figura 11 – Sistema representativo da Iontoforese.....	51
Figura 12 – Célula de Sistema de Fluxo Contínuo.....	52
Figura 13 – Célula de Iontoforese usando membrana PANi como eletrodo.....	53
Figura 14 – Voltamograma de uma solução 1mM de ferroceno.....	56
Figura 15 – Célula de difusão de Franz.....	63
Figura 16 – Representação ilustrativa dos ensaios de permeação..	64
Figura 17 – Membrana poli-{St-co-AA} preparada por casting.....	67
Figura 18 – Espectro vibracional de um filme do copolímero poli-{St-co-AA}.....	68
Figura 19 – Espectro vibracional de um filme do copolímero poli-{StS-co-AA}.....	69
Figura 20 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA}, área 10 x 10 μm	71
Figura 21 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA}, área 5 x 5 μm	72
Figura 22 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA}, área 2 x 2 μm	73
Figura 23 – Espectro eletrônico de uma solução aquosa de nanopartículas de prata.....	74
Figura 24 – Difratograma de raios X de nanopartículas de prata..	75

Figura 25 – Micrografia de nanopartícula de prata obtida por MTE.	76
Figura 26 – Solução aquosa de nanopartículas de ouro.....	77
Figura 27 – Espectro eletrônico de uma solução aquosa de nanopartículas de ouro.....	78
Figura 28 – Difratoograma de raios X de nanopartículas de ouro....	79
Figura 29 – Micrografia de nanopartículas de ouro obtida por MTE.	80
Figura 30 – Espectro UV-visível. (----) Solução doadora de nanopartículas de prata, (----) Solução receptora após 24 horas.....	82
Figura 31 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA} após permeação com nanopartículas de prata, área 10 x 10 µm. (a) superior, em contato com a solução doadora; (b) inferior, em contato com a solução receptora.....	83
Figura 32 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA} após permeação com nanopartículas de prata, área 5 x 5 µm. (a) superior, em contato com a solução doadora; (b) inferior, em contato com a solução receptora.....	83
Figura 33 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA} após permeação com nanopartículas de prata, área 2 x 2 µm. (a) superior, em contato com a solução doadora; (b) inferior, em contato com a solução receptora.....	84
Figura 34 – (----) Voltamograma cíclico de solução AgNO₃ (0,075M). (----) Linha de base. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO₄ 0,1 M.....	85
Figura 35 – Voltamogramas cíclicos para soluções de Ag⁺ em diferentes concentrações. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO₄ 0,1 M.....	86
Figura 36 – Traçado gráfico do ip vs. [Ag⁺] obtido a partir dos voltamogramas cíclicos mostrados na Figura 34.....	87
Figura 37 – Voltamogramas cíclicos para solução de nitrato de prata (0,05 mol/L) em diferentes eletrodos. (----) Eletrodo de Pt sem revestimento. (----) Eletrodo Pt poli-[StS-co-AA]. (----) Eletrodo Pt poli-[St-co-AA]. (----) Linha de base. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO₄ 0,1 M.....	88
Figura 38 – Voltamogramas cíclicos para solução aquosa de nanopartículas de prata em diferentes eletrodos. (----) Eletrodo de Pt sem revestimento. (----) Eletrodo de Cglass sem revestimento. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO₄ 0,1 M.....	90

Figura 39 – Voltamogramas cíclicos para solução aquosa de nanopartículas de prata. (----) 1º Ciclo com eletrodo Pt poli-[StS-co-AA]. (----) 11º Ciclo com eletrodo Pt poli-[StS-co-AA]. (----) 1º Ciclo com eletrodo Pt. (----) 11º Ciclo com eletrodo Pt. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO4 0,1 M.....	91
Figura 40 – Voltamogramas cíclicos para solução aquosa de nanopartículas de prata. (----) 1º Ciclo com eletrodo Pt poli-[St-co-AA]. (----) 11º Ciclo com eletrodo Pt poli-[St-co-AA]. (----) 1º Ciclo com eletrodo Pt. (----) 11º Ciclo com eletrodo Pt. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO4 0,1 M.....	92
Figura 41 – Permeação de GNP em célula de Franz com membrana poli-{St-co-AA}.....	94
Figura 42 – Espectro eletrônico da solução aquosa de nanopartículas de ouro do compartimento receptor ao final do ensaio.....	96
Figura 43 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA} após permeação com nanopartículas de ouro, área 5 x 5 µm.....	97
Figura 44 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA} após permeação com nanopartículas de ouro, área 2 x 2 µm.....	98

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Ensaio de Eletroatividade.....	66
Tabela 2 – Espessura dos filmes de poli-{St-co-AA}.....	70
Tabela 3 – Atividade redox de íons prata em diversos eletrodos.....	89
Tabela 4 – Atividade redox de nanopartículas de prata em diversos eletrodos.....	93
Tabela 5 – Concentrações e massa das soluções do ensaio de permeação com membrana de poli-{St-co-AA}.....	95

Lista de Abreviaturas e Siglas

AFM	Microscopia de força atômica
br-OT	3,7-dimetil-1-octanotiol
Cglass	Carbono vítreo
CV	Voltametria cíclica
DRX	Difratometria de raios X
Epa	Potencial de pico anódico
Epc	Potencial de pico catódico
Fc	Ferroceno
FTIR	Espectroscopia de infravermelho
FWHM	Largura da meia altura
GNP	Nanopartículas de ouro
ipa	Corrente de pico anódico
ipc	Corrente de pico catódico
MUS	11-mercapto-1-undecanol
OT	1-octanotiol
PANi	Polianilina
Poli-{St-co-AA}	Poli-{estireno-co-ácido acrílico}
Poli-{StS-co-AA}	Poli-{estireno-co-ácido acrílico} sulfonado
Pt	Platina
Pt Poli-{St-co-AA} AA}	Eletrodo de platina recoberto com Poli-{St-co-AA}
Pt Poli-{StS-co-AA} co-AA}	Eletrodo de platina recoberto com Poli-{StS-co-AA}
SNP	Nanopartículas de prata
SPR	Superfície plasmon ressonante

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	31
2 OBJETIVOS.....	33
2.1 OBJETIVO GERAL.....	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	35
3.1 TRATAMENTOS TRANSDÉRMICOS.....	35
3.1.1 Sistemas de Liberação de Fármacos.....	37
3.1.2 Polímeros e Copolímeros.....	40
3.1.3 Pele.....	41
3.2 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS.....	43
3.2.1 Síntese de Nanopartículas Metálicas.....	44
3.2.2 Nanopartículas Metálicas e Drug Delivery.....	45
3.3 AGENTES FACILITADORES.....	49
3.3.1 Iontoforese.....	49
3.3.2 Ultrassom.....	54
3.4 VOLTAMETRIA CÍCLICA.....	55
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	59
4.1 SÍNTESE E SULFONAÇÃO DO POLI-{ESTIRENO-CO- ÁCIDO ACRÍLICO}.....	59
4.1.1 Preparação das Membranas.....	60
4.1.2 Caracterização dos Copolímeros e Membranas.....	60
4.2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA.....	60
4.2.1 Caracterização das Nanopartículas de Prata.....	61
4.3 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO.....	61
4.3.1 Caracterização das Nanopartículas de Ouro.....	62
4.4 ENSAIOS DE PERMEAÇÃO PASSIVA COM NANOPARTÍCULAS.....	62
4.5 ESTUDO ELETROQUÍMICO DE PROCESSOS DIFUSIONAIS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA.....	65
4.5.1 Curva de Calibração.....	65
4.5.2 Ensaio de Eletroatividade.....	65
5 – RESULTADOS.....	67
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS E MEMBRANAS.....	67
5.1.1 Caracterização espectroscópica por FTIR.....	68
5.1.2 Espessura das membranas de poli-{St-co-AA}.....	69
5.1.3 Caracterização morfológica da membrana de poli-{St-co-AA}	

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA	73
5.2.1 Espectroscopia UV-visível.....	73
5.2.2 Difratometria de Raios X.....	74
5.2.3 Microscopia de Transmissão Eletrônica.....	76
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO.	76
5.3.1 Espectroscopia Uv-visível.....	77
5.3.2 Difratometria de Raios X.....	78
5.3.3 Microscopia de Transmissão eletrônica.....	79
5.4 ESTUDOS DE PERMEAÇÃO EM MEMBRANAS.....	80
5.4.1 Permeação de Nanopartículas de Prata em Célula de Franz. .	81
5.4.2 Difusão de Ag ⁺ e SNP em eletrodos modificados.....	84
5.4.3 Permeação de GNP em membranas de poli-{St-co-AA}.....	93
6 CONCLUSÃO.....	99
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101

1 INTRODUÇÃO

Existem diversos métodos para se tratar doenças como a administração de medicação oral ou injetável. Dentre eles a utilização de adesivos para a liberação controlada de fármacos se destaca na atualidade como um dos mais promissores. Esta técnica demonstra-se menos dolorosa, mais aceitável e mais eficiente que alguns tratamentos tradicionais, onde a entrega de fármaco ocorre de forma gradual e contínua e não através de uma única dose. Também se destacam pesquisas com nanopartículas que estudam propriedades específicas destes materiais, especialmente as relacionadas com o carregamento de fármacos e propriedades antimicrobianas. A propriedade de poderem ser funcionalizadas para carregar e encontrar alvos específicos faz com que estas partículas também se tornem eficientes no tratamento de doenças. Assim, também ocorre que, ultimamente, várias pesquisas destacam que a utilização de adesivos transdérmicos e em conjunto com nanopartículas carregadoras de fármacos pode se tornar viável para o tratamento de doenças através de um sistema mais eficiente.

É nesse sentido que este trabalho apresenta os resultados da pesquisa da permeação passiva de nanopartículas metálicas de ouro através de membranas do copolímero poli-{estireno-co-ácido acrílico} (poli-{St-co-AA}). Estas membranas podem se tornar candidatas a membranas controladoras da liberação do fármaco em adesivos transdérmicos. Este estudo também apresenta os resultados da aplicação de técnicas eletroquímicas para a avaliação da permeação de nanopartículas de prata. Procurou-se então compreender a dinâmica da permeação de nanopartículas metálicas de ouro (GNP) e prata (SNP) através de membranas poliméricas dos copolímeros poli-{estireno-co-ácido acrílico} e poli-{estireno-co-ácido acrílico} sulfonado (poli-{StS-co-AA}).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a permeação de nanopartículas de ouro e prata em solução através de membranas poliestirênicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar copolímeros e filmes poliméricos (membranas) baseados em poli-{St-co-AA} e poli-{StS-co-AA};
- Sintetizar nanopartículas de ouro (GNP) e prata (SNP) com diâmetro médio de 10 e 30 nm, respectivamente;
- Avaliar a permeação passiva de GNP e SNP através de membranas de poli-[St-co-AA] e poli-[StS-co-AA] usando células de Franz e
- Preparar eletrodos modificados do tipo Pt||poli-{St-co-AA}, Pt||poli-{StS-co-AA}, Cglass||poli-{St-co-AA}, Cglass||poli-{StS-co-AA} e avaliar a permeação de íons Ag^+ , SNP e GNP empregando técnicas eletroquímicas.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 TRATAMENTOS TRANSDÉRMICOS

O tratamento de doenças através da utilização de adesivos transdérmicos é promissor por diversos fatores. Um dos principais é o controle da entrega de fármaco. A maioria das formas tradicionais utilizadas em tratamentos médicos, como as injeções, proporciona variação na concentração do fármaco e não possibilita a entrega contínua e sistemática de medicação como ocorre com os adesivos transdérmicos (PRABHAKAR et al, 2013). Também podem ser citados como objetivos e vantagens da liberação controlada de fármacos a garantia da segurança e a melhora na eficácia dos medicamentos, bem como a adesão do paciente ao tratamento. (PRABHAKAR et al., 2013).

O trabalho de PRABHAKAR et al (2013) também afirma que o uso do sistema transdérmico não é adequado e possui algumas desvantagens em alguns casos como quando é necessária cura para dor aguda ou quando é exigida a administração rápida da dose.

SILVA et al (2010) descreve que a entrega transdérmica possui vantagens quando comparada às outras formas tradicionais de administração de fármacos. “O metabolismo de primeira passagem hepática, para fármacos administrados por via oral, é o responsável por diminuir a biodisponibilidade e degradar diversos fármacos.” (SILVA et al., 2010). Também com relação a outros efeitos indesejáveis “[...] podem gerar efeitos secundários como náuseas, diarreia, constipação, ulceração e sangramento na mucosa, o que não ocorre por entrega transdermal.” (SILVA et al., 2010). A entrega transdérmica também oferece vantagem por ser indolor e não invasiva, o que favorece a terapia por parte de uma maior aceitação do paciente. Além destas vantagens, PRAUSNITZ e LANGER (2009) acrescentam a liberação por períodos maiores e serem, geralmente, sistemas mais baratos.

Historicamente, de acordo com PRAUSNITZ e LANGER (2009), essa técnica já existe há muito tempo e como exemplo está a aprovação em 1979 nos Estados Unidos de um sistema para a entrega de escopolamina e o maior exemplo popular e de sucesso de entrega transdérmica é o de adesivos para entrega de nicotina. Ainda de acordo

com PRAUSNITZ e LANGER (2009) até 2007 já existiam 19 sistemas de entrega transdermal e a estimativa de produção anual de mais de um bilhão de Patch¹.

Os avanços nos sistemas de entrega transdérmica podem ser classificados em três gerações, de acordo com PRAUSNITZ e LANGER (2009). A primeira geração foram dos adesivos com medicamentos, utilizados atualmente, que podem atravessar a pele a taxas terapêuticas com pouco ou sem aprimoramento. A segunda geração produziu avanços para entrega de pequenas moléculas com o aumento da permeabilidade da pele e o uso de forças motrizes para o transporte transdérmico, como a iontoforese e o ultrassom. A terceira geração permitirá a administração transdérmica de medicamentos de pequenas moléculas até macromoléculas como proteínas e vacinas através da permeabilização do estrato córneo da pele.

Sobre os sistemas de entrega de drogas STAMATIALIS et al. (2008) afirmam que o ideal do sistema é entregar a droga ao local em um tempo e liberação específicos. Ao contrário dos tratamentos tradicionais (injeções, via oral, entre outros) que entregam a droga com picos muitas vezes acima da dose necessária.

Outro grande desafio, relatado por PRAUSNITZ e LANGER (2009), é que “[...] existe um número limitado de drogas que podem ser utilizadas com esta técnica”. São moléculas de pequena massa molecular e que requerem doses de miligramas por dia ou menos. Além de macromoléculas, PRAUSNITZ e LANGER (2009) também descrevem que o desafio se estende para drogas hidrofílicas e até a possibilidade de vacinas serem administradas através de entrega transdermal.

Muitos modelos projetados e utilizados se baseiam em uma espécie de reservatório onde o fármaco fica retido e uma membrana que fica em contato com a pele controla a liberação do mesmo. Em outros a própria membrana que está em contato com a pele serve de reservatório, pois o fármaco já se encontra incorporado nela (PRAUSNITZ e LANGER, 2009).

1 Patch – Sistema de Entrega Transdérmico.

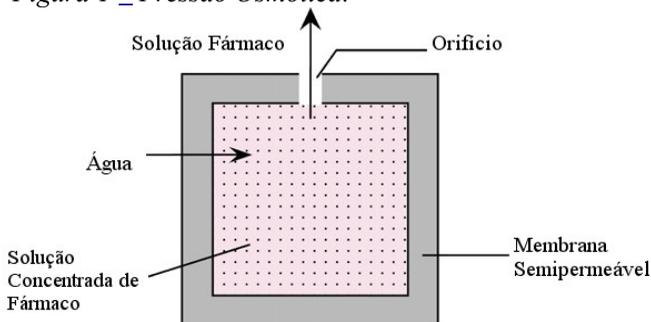
3.1.1 Sistemas de Liberação de Fármacos

Sobre os sistemas de liberação de fármacos através de membranas o trabalho de STAMATIALIS et al. (2008) diferencia dois tipos de sistemas básicos: Sistemas Osmóticos e Sistemas de Difusão Controlada.

O Sistema Osmótico é constituído por um reservatório feito de uma membrana polimérica semipermeável, apenas permeável para água, onde dentro do reservatório encontra-se o fármaco em solução concentrada. Com o aumento da pressão osmótica, através da passagem de água pela membrana, o medicamento é liberado por um orifício. Este sistema permite a entrega de vários tipos de medicamentos e com taxas elevadas.

A FIGURA 1 ilustra a liberação de droga pelo efeito da pressão osmótica.

Figura 1 – Pressão Osmótica.

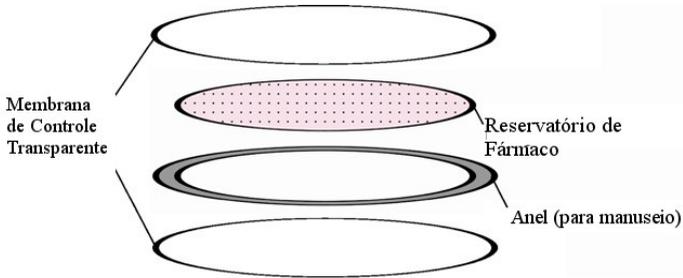


Fonte: STAMATIALIS et al., 2008.

Diferente do que ocorre em Sistemas Osmóticos, em Sistemas de Difusão Controlada o mesmo trabalho de STAMATIALIS et al.(2008) afirmam que a liberação do fármaco é controlada pela membrana dependendo de sua difusividade e da espessura da membrana. Os maiores exemplos são os Adesivos Oculares e Sistemas Transdérmicos de acordo com STAMATIALIS et al.(2008). Os adesivos oculares são típicos Sistemas de Reservatório controlado por uma membrana, a

FIGURA 2 ilustra este modelo.

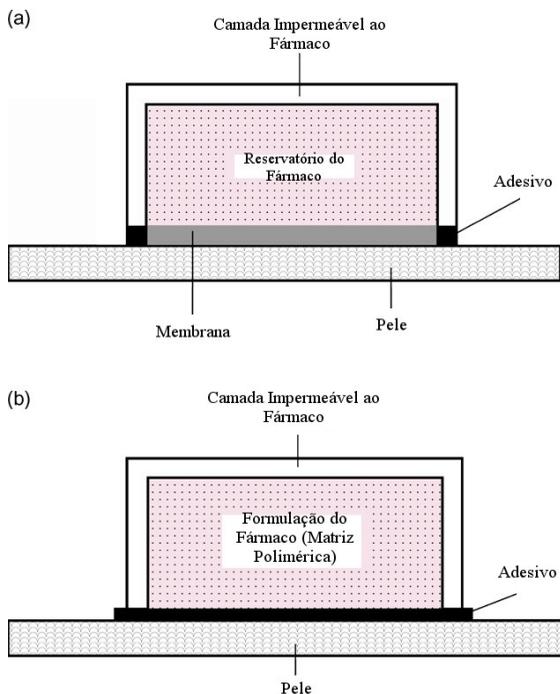
Figura 2 = Adesivos Oculares.



Fonte: STAMATIALIS et al., 2008.

Para os Sistemas Transdérmicos, STAMATIALIS et al. (2008), informam que a droga é incorporada em um emplastro e a entrega é realizada mediante a diferença de concentração ou outras forças como a corrente elétrica. Algumas vantagens desse sistema, ainda de acordo com STAMATIALIS et al. (2008), são que se assemelham à infusão intravenosa, mas ao contrário dela os Sistemas Transdérmicos não são invasivos e não necessitam internação hospitalar. Os tipos mais usados são o da entrega passiva e podem ser classificados em duas categorias: Sistema Reservatório e Sistema Matriz. No Sistema de Membrana ou Reservatório, exemplificado na FIGURA 3a, o fármaco é colocado entre duas membranas. A membrana superior e lateral é impermeável ao medicamento, a outra ficará em contato com a pele e controlará a liberação do material. A taxa de liberação pode ser controlada através de alguns fatores como: variação da composição no reservatório, permeabilidade da droga através da membrana (por adaptação do material, porosidade e espessura) e/ou através do adesivo. (STAMATIALIS et al., 2008) Para o Sistema de Matriz, ilustrado na FIGURA 3b, STAMATIALIS et al. (2008) descrevem que o fármaco é solubilizado em um polímero e não existe assim uma membrana que controla a liberação da droga.

Figura 3 – Sistemas de Entrega Passiva. (a) Sistema de Reservatório e (b) Sistema de Matriz.



Fonte: STAMATIALIS et al., 2008.

STAMATIALIS et al. também explicam que as partes principais de sistemas de entrega de droga transdérmico, como a camada impermeável, o reservatório, a camada de adesivo de pressão e a membrana são preparados a partir de polímeros. A variedade de polímeros que podem ser usados para a construção dos sistemas é grande incluindo polímeros naturais, como o amido, semi-sintéticos e sintéticos como exemplo o polibutadieno e poliésteres. (STAMATIALIS et al., 2008)

Sobre estes materiais STAMATIALIS et al.(2008) ainda afirmam que o valor dos produtos de membranas médicas é muito maior do que todas as outras aplicações combinadas e que somente nos EUA o

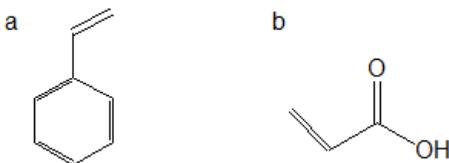
mercado se aproxima de US\$ 1,5 bilhão por ano e cresce de forma constante. E essa tecnologia é aplicada com várias finalidades como a entrega de drogas, regeneração de tecidos e órgãos artificiais.

3.1.2 Polímeros e Copolímeros

Polímeros são macromoléculas obtidas através da união de moléculas menores por uma reação chamada de polimerização. Os compostos formadores, através da polimerização, das macromoléculas são chamados monômeros. Copolímeros são polímeros obtidos por dois ou mais monômeros obtendo-se assim macromoléculas com propriedades distintas dos dois homopolímeros. O poliestireno é obtido com a polimerização vinílica radicalar, onde a reação se processa nos carbonos insaturados por ligações duplas. A copolimerização do estireno é comum e um dos compostos mais conhecidos é o copolímero com butadieno, 75% butadieno e 25% estireno, que é um substituto para a borracha natural (MORRISON e BOYD, 1996). A copolimerização do estireno com o ácido acrílico, que também possui carbonos insaturados por ligação dupla, torna possível a obtenção do copolímero chamado poli{estireno-co-ácido acrílico}.

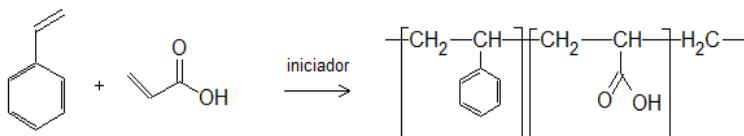
A FIGURA 4a representa a estrutura do estireno e a FIGURA 4b representa a do ácido acrílico, onde pode-se observar o grupo vinílico presente na estrutura e necessária para a reação. Na FIGURA 5 se encontra a representação da reação de polimerização para obtenção do copolímero poli-{estireno-co-ácido acrílico}.

Figura 4 – Monômeros estireno e ácido acrílico. (a) monômero estireno e (b) ácido acrílico.



Fonte: Autor, 2015.

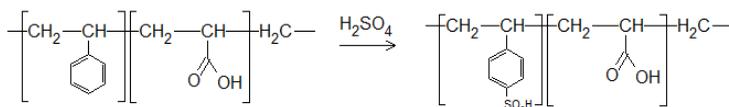
Figura 5 – Reação de Polimerização.



Fonte: Autor, 2015.

A sulfonação do copolímero permite a inserção de grupo sulfona (-SO₃H) nos anéis aromáticos da cadeia polimérica. A presença deste grupo proporciona maior hidrofiliçidade, aumento da permeabilidade e da condutividade protônica ao polímero. (GUAN et al., 2005) A FIGURA 6 apresenta a reação de sulfonação do copolímero poli-{estireno-co-ácido acrílico}.

Figura 6 – Reação de Sulfonação do poli-{estireno-co-ácido acrílico}.



Fonte: Autor, 2015.

3.1.3 Pele

Assim, com o desenvolvimento de vários sistemas de entrega transdérmicos e suas vantagens com relação à aplicação, a pele torna-se a principal barreira para a administração de medicamentos por esse método de tratamento devido a suas características.

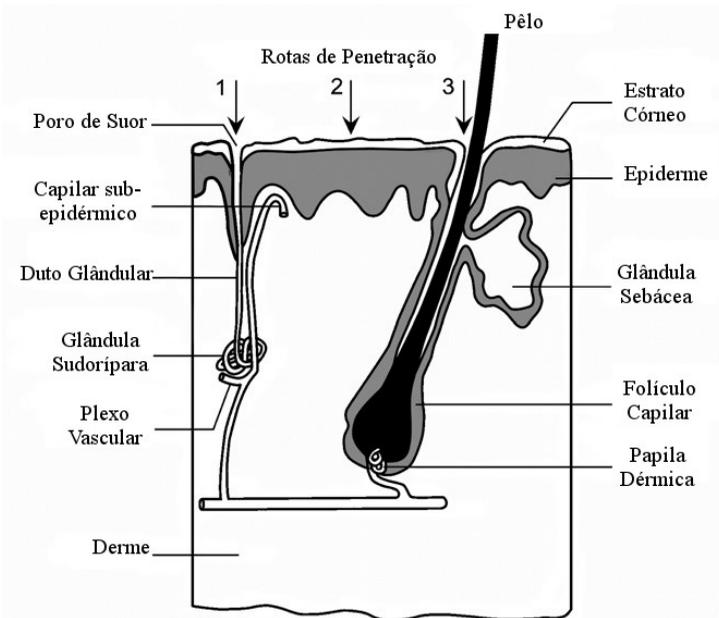
Esse importante órgão do corpo humano, de acordo com STAMATIALIS et al.(2008,) é o maior órgão do corpo com 2 m² de área superficial. Constituída por duas camadas de tecidos chamadas derme e epiderme. A derme possui espessura de 100 a 200 μm sendo a maior parte da pele. A epiderme, camada superior da pele, possui espessura de 100 a 110 μm sendo composta por vários tecidos fisiologicamente ativos e uma camada fisiologicamente inativa chamada

estrato córneo com aproximadamente 10 μm de espessura.

Com todas essas características, pode-se considerar viável a entrega de drogas através do estrato córneo e/ou por folículos capilares e dutos de suor. O estrato córneo desempenha fator principal de barreira para a entrega de drogas, pois os folículos capilares e os dutos de suor compõem apenas 0,1% da pele. (STAMATIALIS et al., 2008)

A FIGURA 7 ilustra a descrição da pele, rotas de penetração e suas principais características estruturais.

Figura 7 – Esquema ilustrativo da pele.



Fonte: STAMATIALIS et al., 2008.

Ainda, concordando com STAMATIALIS et al.(2008), HUANG et al. (2010) afirmam que “[...] a pele é considerada como uma via de entrada ideal para o fornecimento, não invasivo, de drogas por causa da sua fácil acessibilidade.” E para se utilizar a pele no fornecimento de

drogas para tratamento de doenças deve-se levar em conta a função barreira exercida pelo estrato córneo.

“O espaço extracelular lipídico fornece a via essencial para a absorção percutânea e a barreira da pele pode ser enfraquecida por utilização de potencializadores de permeação químicos os quais interagem com os lipídios da pele e quimicamente ou fisicamente alteram a estrutura do SC.” (HUANG et al., 2010, p. 1)

3.2 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

De acordo com o trabalho de ZARBIN (2007), os materiais nanométricos são interessantes para o campo da pesquisa e para o desenvolvimento de novos materiais. Suas propriedades particulares, devido ao reduzido tamanho, os diferenciam dos materiais em maior escala. Essas propriedades ficam evidentes devido ao seu comportamento, semelhante ao de átomos ou moléculas individuais. Nesta escala, especialmente entre 1 e 10 nm, ocorre uma grande interação física e química devido à elevada superfície de contato. Muitas propriedades que não se manifestam em macro ou microescala aparecem em escala nanométrica como a alta atividade catalítica, propriedades térmicas, óticas e eletrônicas.

No mundo, de acordo com a Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial (ABDI, 2010), as pesquisas em nanociência possuem uma alta taxa de crescimento em vários temas como o de materiais, que foi aproximadamente 22% entre 1996 e 2006. Este estudo aponta também que o mercado de nanotecnologia cresceu com a incorporação de materiais básicos em produtos de alto valor agregado como na indústria farmacêutica e de semicondutores. Como exemplos de alguns produtos, já existentes no mercado nacional, podem ser citados a Língua Eletrônica (Embrapa), Grafite (Faber Castell), Biphor (Bunge) e Sistema de Liberação Controlada de Drogas (Nanocore).

ZARBIN (2007) relata que são muitos os tipos de materiais nanométricos e entre eles se destacam nanopartículas metálicas, nanotubos de carbono, nanoemulsões e nanocompósitos.

As nanopartículas metálicas, especialmente as de ouro, são muito versáteis em suas aplicações. São utilizadas em grande parte das

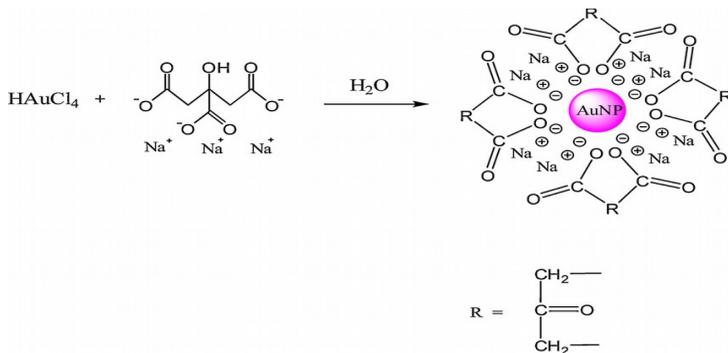
pesquisas com nanomateriais, incluindo pesquisas médicas. A facilidade em obtê-las por diversas técnicas de síntese e funcionalizá-las devidamente são dois dos motivos que as levam a serem utilizadas nas mais variadas aplicações (DAS et al., 2011; DUNCAN et al., 2010).

Nanopartículas de prata também apresentam propriedades físicas, químicas e biológicas que as tornam objetos de pesquisa na medicina. Por causa de sua grande atividade antimicrobiana, produtos de nanopartículas de prata estão sendo usados como método contraceptivo, no tratamento de lesões e queimaduras e também como desinfetantes de água. (YOU et al., 2012)

3.2.1 Síntese de Nanopartículas Metálicas

Diversos métodos são utilizados para se obter nanopartículas e os métodos de síntese química envolvem o uso de um sal precursor do metal, no caso do ouro, e um agente redutor (ZHAO et al., 2013; NGUYEN et al., 2011). A maioria desses métodos são variações da síntese proposta por Turkevich em 1951 (TURKEVICH et al., 1951) utilizando citrato de sódio como agente redutor e ácido cloroáurico como sal precursor para a síntese de nanopartículas de ouro, alguns trabalhos utilizam borohidreto ou outras substâncias redutoras (ZHAO et al., 2013). A FIGURA 8 representa o modelo proposto pelo método de Turkevich para formações de nanopartículas de ouro. O uso de citrato é o mais comum, possibilitando uma síntese simples com a utilização de uma substância que atua como agente redutor e ao mesmo tempo estabilizante (DOYEN et al., 2013). De forma geral, o mecanismo de síntese de nanopartículas metálicas por método químico é descrito como a redução para obter o metal zero valente, utilizando ligantes protetores para estabilizar e evitar a aglomeração das partículas obtidas (DOYEN et al., 2013; ZHOU et al., 2009, GARCÍA-BARRASA et al., 2011).

Figura 8 – Síntese pelo Método Turkevich.



Fonte: Zhao et al., 2013.

A proteção das nanopartículas pode ser feita através da repulsão eletrostática das camadas superficiais ou pela estabilização estérica com ligantes orgânicos volumosos que atuam na superfície da nanoestrutura. Dependendo do meio utilizam-se agentes estabilizantes adequados, no caso da síntese ocorrer em meio aquoso usam-se agentes hidrofílicos para obter-se colóides solúveis em água (hidrosóis). Se o meio é orgânico utilizam-se agentes estabilizantes lipofílicos. Como exemplos de agentes estabilizantes tem-se o uso de polímeros, copolímeros, aminas, grupos tiol, solvente THF e THF/MeOH (ZHOU et al., 2009).

3.2.2 Nanopartículas Metálicas e *Drug Delivery*

Nos últimos anos pesquisas com nanopartículas metálicas de ouro se concentraram também nos sistemas de “*Drug Delivery*”. A entrega de substâncias para tratamento de saúde mostra-se com incrível potencial de uso para essas estruturas, vários estudos relacionam a capacidade das nanopartículas de ouro neste campo da medicina (PISSUWAN et al., 2011; RANA et al., 2012). Uma parte das pesquisas também trata do uso de nanopartículas metálicas de ouro na entrega transdermal de medicação (LABOUTA e SCHNEIDER, 2013; PROW et al., 2011).

No entendimento de HUANG et al.(2010), a crescente compreensão dos efeitos biológicos das nanopartículas no corpo deu

origem a vários sistemas de entrega de medicamentos destinados a melhorar a terapia com drogas. Nanopartículas metálicas apresentam muitas propriedades biológicas distintas, devido à sua forma não-deformável e tamanho muito menor (por exemplo, <10 nm) em comparação com o lipídio ou homólogos poliméricos.

De acordo com o descrito em algumas pesquisas, a baixa toxicidade das nanopartículas de ouro, biocompatibilidade e sua eficiente funcionalização tornam esses materiais adequados ao desenvolvimento de novas formas de administração de drogas (DAS et al., 2011; GHOSH et al., 2008; HUANG et al., 2011). Sobre a toxicidade das nanopartículas DAS et al. (2011) descrevem que depende de fatores como tamanho, concentração e modificações na superfície da nanopartícula. A facilidade de se obter nanopartículas de ouro estáveis com tamanho adequado e funcionalizadas para tratamentos de doenças está relacionada ao grande conhecimento que hoje se têm destas partículas. Esses estudos, como o de HUANG et al. (2010), relatam a importância do tamanho, forma e correta modificação superficial através de grupos ligantes para a eficiente penetração celular.

VERMA et al. (2008), descrevem que a organização de grupos químicos na superfície tem um papel importante na regulação da penetração na membrana celular. Neste estudo comparativo entre duas nanoestruturas, com conteúdos hidrofóbicos idênticos, mas com diferença na organização dos grupos ligantes, foi observado que estruturas sem organização não conseguem atravessar a membrana celular, evidenciando assim a necessidade do controle das propriedades químicas superficiais das nanopartículas. Em uma parte deste trabalho, as nanopartículas foram revestidas utilizando grupos sulfonados como 11-mercapto-1-undecanol (MUS), 1-octanotiol (OT) e 3,7-dimetil-1-octanotiol (br-OT). A FIGURA 9 representa o modelo de partícula obtida com o revestimento dos grupos escolhidos. Foram obtidas duas partículas que podem, como explicado pelos autores, ser consideradas “isômeros químicos”. Elas possuem o mesmo tamanho e forma e a mesma quantidade de ligantes hidrofílicos e hidrofóbicos, diferindo apenas no arranjo molecular dos grupos superficiais.

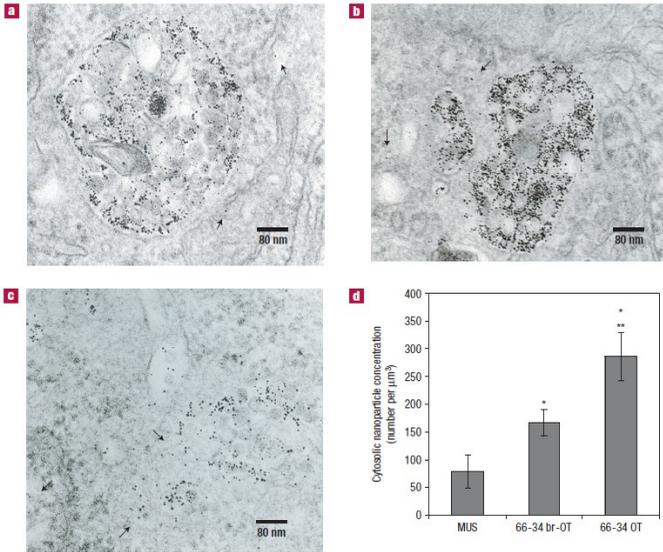
Figura 9 – Modelos de Nanopartículas. (a) 100% MUS. (b) 2:1 molar MUS e OT. (c) 2:1 molar MUS e br-OT.



Fonte: adaptado de VERMA et al., 2008.

A FIGURA 10 apresenta algumas imagens de microscopia obtidas após incubação de células com as nanopartículas. Observa-se que as nanopartículas preparadas apenas com MUS (fig. 10a) e as preparadas com MUS e br-OT (fig. 10b) ficam confinadas aos compartimentos de endossomas. As preparadas com MUS e OT (fig. 10c) entram até o citoplasma. Os autores concluem, através dos resultados obtidos, que a organização dos grupos ligantes é fundamental para se entender o processo de entrada de nanopartículas através das membranas celulares. Pequenas diferenças na estrutura e arranjo dos grupos ligantes estão diretamente relacionadas com as interações moleculares que levam à permeação celular.

Figura 10 – Nanopartículas em células. Nanopartículas preparadas com MUS (fig. 10a) e preparadas com MUS e br-OT (fig. 10b). Nanopartículas preparadas com MUS e OT (fig. 10c). Contagem de nanopartículas no citoplasma (fig. 10d).



Fonte: VERMA et al., 2008.

HUANG et al. (2010), afirmam que “[...]as nanopartículas têm mostrado modular as transições de fase lipídica e induzir áreas gelificadas na membrana, aumentando assim a fluidez lipídica”.

“Nanopartículas à base de metal de menos de 10 nm em tamanho, incluindo pontos quânticos e nanopartículas de óxido de ferro, revelaram-se capazes de penetrar através da pele intacta, em grande parte devido à interação com os lipídios no espaço extracelular. Assim, a condição alterada da pele acompanhada de penetração percutânea de nanopartículas leva à quebra de barreira da pele.” HUANG et al. (2010, p. 1)

O trabalho de HUANG et al. (2010) também coloca que existe um potencial ignorado, onde o estado alterado de barreira da pele

causada por nanopartículas poderia beneficiar a entrega percutânea de drogas. A hipótese dos autores neste trabalho é que a penetração na pele pode ocorrer não só com as nanopartículas em si, mas também com os compostos administrados concomitantemente que vão passar com as nanopartículas por causa da permeabilidade da pele alterada.

“Se este efeito de co-entrega existir ele pode proporcionar uma estratégia para a entrega da droga percutânea. Considerando-se as suas amplas aplicações na entrega de droga e as vantagens de biocompatibilidade e tamanhos bem ajustáveis as nanopartículas de ouro seriam um material ideal[...].” HUANG et al. (2010, p. 1)

3.3 AGENTES FACILITADORES

3.3.1 Iontoforese

Os agentes facilitadores da permeação cutânea de fármacos podem ser químicos ou físicos, dentre os agentes físicos tem-se a aplicação de corrente elétrica com a técnica chamada iontoforese. De acordo com PRAUSNITZ e LANGER (2009), a iontoforese “[...] tem sido estudada para entrega transdérmica por muitos anos, normalmente com a aplicação de uma corrente contínua de baixa tensão. Ela fornece principalmente uma força motriz para o transporte através do estrato córneo”.

FAN et al.(2008) descrevem a iontoforese como um método não-invasivo, utilizando uma corrente elétrica para entregar drogas solubilizadas onde a diferença de potencial aplicada entre dois eletrodos, imersos na solução, movimenta a droga em direção a pele.

Concordando com os demais trabalhos, SILVA et al. (2010) explicam que “[...] a iontoforese é uma técnica não invasiva com a aplicação de uma corrente elétrica de baixa intensidade para facilitar a permeação de fármacos, carregados ou não, através de membranas [...]”. SILVA et al. (2010) descrevem também que o aumento de permeação pode ser compreendido como a combinação de três mecanismos: “[...] eletro-pulsão (para solutos com cargas), eletromose (para solutos sem carga) e eletro-pertubação (para ambos)” (SILVA et al., 2010).

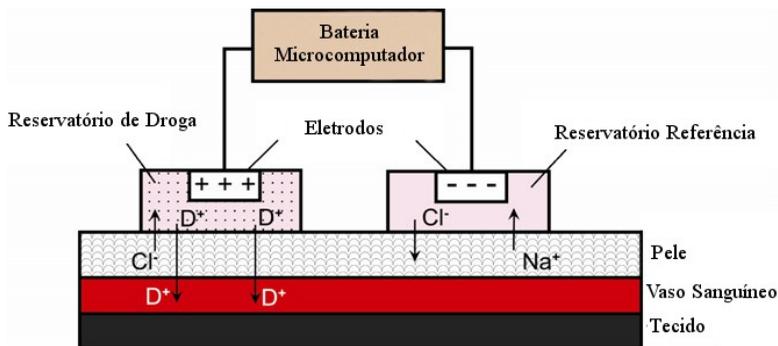
O atrativo mais forte da iontoforese, de acordo com PRAUSNITZ

e LANGER (2009), é que a entrega de drogas é controlada pela corrente aplicada. Assim pode-se ligar e desligar o fornecimento de fármaco ou até mesmo modular a entrega. Entretanto eles afirmam que a limitação de corrente, conseqüentemente o valor máximo da entrega, é a irritação da pele e a dor provocada.

Ainda de acordo com PRAUSNITZ e LANGER (2009), com essas características “[...] as aplicações atuais enfatizam a capacidade da iontoforese em fornecer controle sobre a administração de drogas, porque pode ser ajustada com a quantidade de carga (ou seja, o produto da corrente e tempo) entregue à pele”. Eles também citam alguns exemplos de uso da iontoforese dentre eles a entrega rápida de lidocaína para anestesia local e pilocarpina para induzir a transpiração. Outro exemplo também citado por PRAUSNITZ e LANGER (2009) é o de patch de iontoforese recentemente aprovado que permite aos pacientes ativar periodicamente o patch para administrar fentanil com base na sua necessidade para alívio da dor. E outro sistema iontoforético, também recentemente aprovado, envolve ligar o sistema a uma tensão constante e liberar a droga até o esgotamento da bateria. Neste caso a taxa de distribuição não é bem controlada, mas a quantidade total de fármaco sim.

Explicando o funcionamento da iontoforese, STAMATIALIS et al.(2008) descrevem que a iontoforese utiliza pequenas e fisiologicamente aceitáveis quantidades de corrente elétrica. A FIGURA 11 representa o dispositivo que consiste de dois patches contendo dois eletrodos (ânodo e o cátodo) e o fornecimento de energia.

Figura 11 – Sistema representativo da Iontoforese.



Fonte: STAMATIALIS et al., 2008.

Neste exemplo, a droga líquida ou em gel é colocada no adesivo-eletrodo que tem a mesma carga que o medicamento, neste caso o ânodo. O outro adesivo-eletrodo contém eletrólito de referência ou gel e assim o fármaco é dirigido por repulsão eletrostática (STAMATIALIS et al., 2008).

O mecanismo básico do funcionamento da iontoforese também é explicado por FAN et al. (2008) da seguinte forma, o eletrodo carregado positivamente (ânodo) atrai os íons carregados negativamente (fármaco) e o cátodo, eletrodo carregado negativamente, atrai os íons de carga oposta. Ele também afirma que normalmente para estes sistemas são utilizados eletrodos de Ag/AgCl.

Além disso, STAMATIALIS et al.(2008) descrevem que “[...] o fluxo do fluido em massa ou de volume de fluxo ocorre na mesma direção que o fluxo dos contra-íons. Esse fenômeno de acompanhamento eletro-migração é chamado de eletrosmose.”

Para o fluxo de estado estacionário de uma droga carregada durante a iontoforese STAMATIALIS et al.(2008) explicam que “[...] é composto por três partes: o fluxo devido à difusão passiva, o fluxo devido à eletro-migração e do fluxo devido a eletrosmose”. O fluxo do estado estacionário então pode ser representado pela Equação 1:

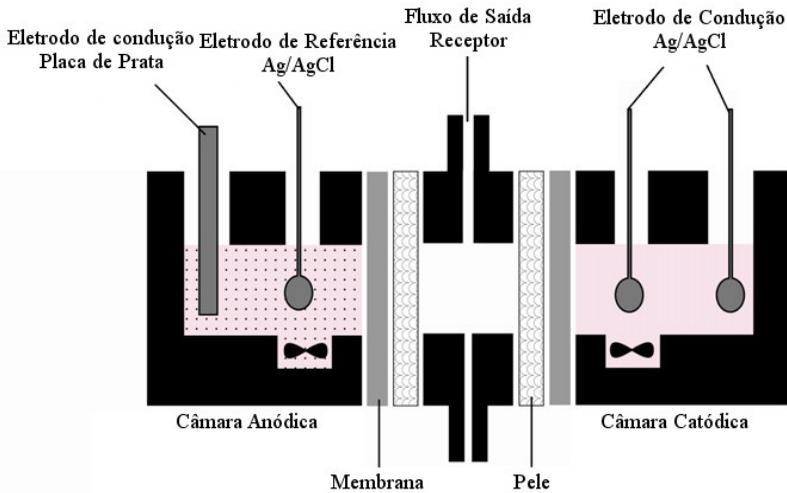
$$\mathbf{J} = \mathbf{J}_{\text{DP}} + \mathbf{J}_{\text{EM}} + \mathbf{J}_{\text{EO}}$$

Equação 1

Onde \mathbf{J} significa o fluxo do estado estacionário, \mathbf{J}_{DP} o fluxo relacionado a difusão passiva, \mathbf{J}_{EM} o fluxo devido à eletro-migração e \mathbf{J}_{EO} o fluxo devido à eletrosmose.

A FIGURA 12 mostra uma célula de transporte contínuo de fluxo para medir o transporte de drogas e de acordo com o descrito por STAMATIALIS et al.(2008) o compartimento doador anódico contém o fármaco, com a aplicação de corrente a droga passa através da pele e é recolhida por um fluxo que simula o sangue.

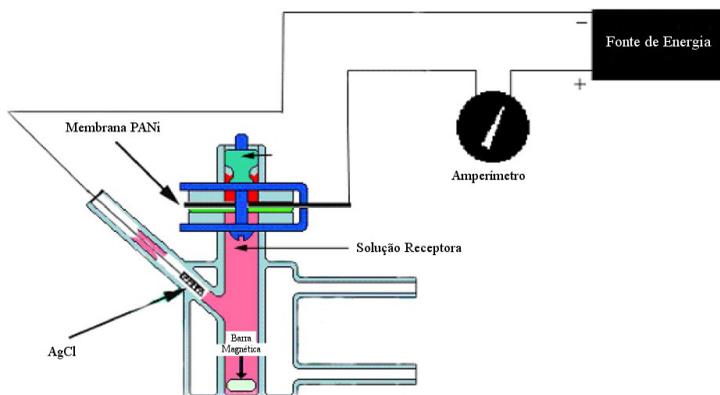
Figura 12 – Célula de Sistema de Fluxo Contínuo.



Fonte: STAMATIALIS et al., 2008.

A FIGURA 13 apresenta a montagem de uma célula para estudar a permeação de algumas substâncias como cafeína e lidocaína com o uso de membrana de polianilina (PANi) como eletrodo.

Figura 13 – Célula de Iontoforese usando membrana PANi como eletrodo.



Fonte: FAN et al., 2008.

Ainda conforme STAMATIALIS et al.(2008), as partes básicas dos adesivos utilizados em iontoforese se assemelham aos usados em difusão passiva. A formulação do fármaco é um gel altamente condutor e em quase todos os sistemas uma membrana artificial biocompatível e com baixa absorção da droga é colocada em contato direto com a pele.

FAN et al. (2008) afirmam que desde que a densidade de corrente seja menor do que $0,5 \text{ mA/cm}^2$, não há perturbação da pele durante a iontoforese e as drogas também podem ser entregues localmente ou sistemicamente sem potenciais efeitos colaterais. À medida que a corrente controla a entrega da droga, também pode controlar o tempo de entrega necessário.

Apesar de muitas vantagens como agente facilitador de permeação cutânea, de acordo ainda com FAN et al.(2008), a iontoforese tem algumas desvantagens. Apenas drogas solúveis em água de baixo peso molecular são passíveis de entrega. Alguns pacientes apresentam vermelhidão, ardor e/ou prurido no local da administração da droga. E outra preocupação é com o tamanho da fonte de energia que deve ser pequena e leve.

3.3.2 Ultrassom

Outro agente físico que pode ser utilizado para facilitar a permeação de fármacos através da pele é o uso de ultrassom. Em muitas pesquisas os termos fonoforese e sonoforese além da palavra ultrassom são usados para definir o transporte de fármacos que ocorre através da pele e para o tecido mole durante ou após a aplicação de ultrassom (AZAGURY et al., 2014).

De acordo com PRAUSNITZ e LANGER (2009) o ultrassom é reconhecido como um potencializador da permeação na pele e pode ser definido como uma onda de pressão oscilante em uma frequência muito alta e “[...] seu efeito dominante é o de romper a estrutura lipídica do estrato córneo e, assim, aumentar a permeabilidade” (PRAUSNITZ e LANGER, 2009). Concordando com PRAUSNITZ e LANGER (2009), AZAGURY et al. (2014) afirmam que o uso de ultrassom melhora o transporte de fármacos através de mudanças na pele, que diminuem a resistência ao fármaco, e também por convecção forçada.

O ultrassom, ainda de acordo com o relatado por PRAUSNITZ et al. (2009) “[...] também é conhecido por gerar cavitação, que é a formação, oscilação e, em alguns casos, o colapso das bolhas”. Assim, a cavitação é gerada somente em condições específicas, como o ultrassom de baixa frequência, criando a oportunidade para administração transdérmica de drogas concentrando a energia e assim permitindo efeitos orientados. Como explica PRAUSNITZ e LANGER (2009), “O mecanismo esperado de ultrassom por cavitação é gerar ondas de choque localizadas através do colapso na superfície da pele”. Tal situação perturba a estrutura lipídica do estrato córneo e assim aumenta a permeabilidade da pele por muitas horas sem danificar os tecidos mais profundos.

Os principais efeitos que o ultrassom provoca durante seu uso são: térmicos, cavitacionais e acústicos. O efeito térmico ocorre devido ao aumento da temperatura pela absorção de ondas sonoras. O efeito cavitacional pode ser dividido em dois tipos: inercial e estável. Na cavitação inercial a bolha cresce rapidamente e em seguida colapsa quando atinge um determinado diâmetro. A cavitação estável ocorre por bolhas oscilantes no campo de aplicação do ultrassom. O colapso de

bolhas causa mudanças estruturais nos tecidos por ação de microjatos (PARK et al., 2014). Outro efeito que ocorre durante a aplicação do ultrassom é o de transmissão acústica. É o efeito que ocorre pela geração de correntes de fluxo devido às ondas sonoras. Vários estudos foram realizados nos últimos tempos para compreensão destes efeitos, mesmo assim o mecanismo ainda não é explicado completamente. Estudos recentes mostram que o efeito de cavitação é o mais importante (AZAGURY et al., 2014).

Possíveis danos causados na pele de acordo com a intensidade do ultrassom limitam sua aplicação. O tempo de aplicação também é um importante fator e a aplicação de ultrassom pode ocorrer por dois métodos: usando o ultrassom antes da aplicação do fármaco e utilizando-o com a presença da droga no meio (AZAGURY et al., 2014).

Com relação ao aspecto comercial, de acordo com AZAGURY et al. (2014), o primeiro sistema de aplicação aprovado pelo FDA foi em 2004 para a aplicação local de lidocaína.

3.4 VOLTAMETRIA CÍCLICA

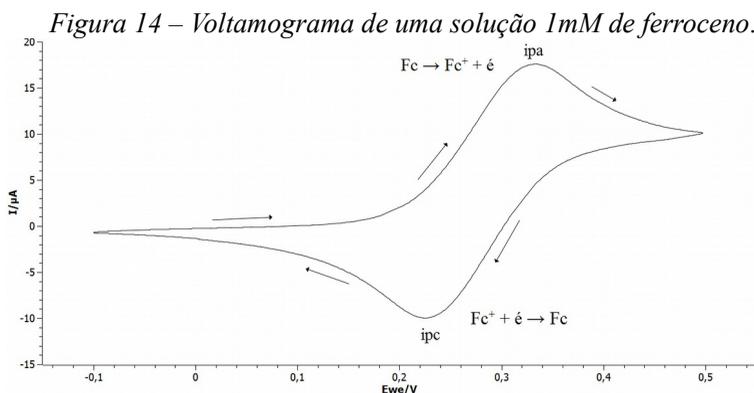
O termo voltametria representa técnicas eletroquímicas utilizadas em análises quantitativas e qualitativas onde a resposta depende da relação entre o potencial e a corrente (HARRIS et al., 2008). Estas técnicas permitem a determinação de propriedades, quantidades e estudo de processos redox com técnicas como polarografia, voltametria de onda quadrada, voltametria cíclica entre outras (SKOOG et al., 2007; HARRIS, 2008).

Dentre as técnicas, a voltametria cíclica (CV) é uma das mais importantes, sendo aplicada para, como exemplo, investigar os processos eletroquímicos e detectar intermediários de reação. Utilizada quando estiverem presentes espécies eletroativas, aplicada tanto na química orgânica quanto na inorgânica (SKOOG et al., 2007).

A técnica de CV consiste em aplicar um potencial inicial (E1) num eletrodo de trabalho inerte, geralmente de platina (Pt) ou carbono vítreo (Cglass) e variá-lo a uma taxa pré-definida até um segundo potencial (E2) retornando em seguida ao potencial inicial (E1) e durante esta varredura a corrente é anotada. Daí a denominação voltametria

cíclica e a direção da varredura efetuada pode ser tanto para potenciais negativos ou positivos (SKOOG et al., 2007). A aplicação do potencial elétrico no eletrodo de trabalho ocorre então como uma onda triangular onde o ciclo pode ser repetido várias vezes (HARRIS, 2008). O perfil corrente *vs.* potencial permite obter várias informações termodinâmicas e cinéticas de uma reação redox.

A FIGURA 14 apresenta um voltamograma de uma solução 1,0 mM de ferroceno (Fc) em que a variação de potencial ocorre de - 0,1 V até 0,5 V com taxa de $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, o eletrólito neste caso é uma solução 0,1 M de hexafluorofosfato de tetrabutilamônio em diclorometano. O eletrodo de trabalho utilizado foi de platina, previamente limpo, como referência foi utilizado um eletrodo de Ag/Ag^+ e uma placa de platina foi utilizada como eletrodo auxiliar. Observa-se no ciclo as correntes em seus pontos máximos indicando os picos anódicos (ipa) e picos catódicos (ipc) que correspondem respectivamente a $17,57 \mu\text{A}$ e $-9,98 \mu\text{A}$. Durante a varredura no sentido de potencial negativo o processo observado corresponde a redução dos íons presentes na solução. Em - 0,1 V a varredura é invertida para o sentido de potencial positivo e a corrente aumenta até tornar-se anódica. O processo observado neste caso é o da oxidação da espécie anteriormente reduzida.



Fonte: Autor, 2015.

Os eletrodos de trabalho utilizados em uma CV podem ser de platina, carbono vítreo, ouro ou grafite mas também podem ser utilizados eletrodos modificados superficialmente. Esses últimos são produzidos com eletrodos inertes e o recobrimento de sua área ativa com outros materiais, como exemplo o uso de polímeros, utilizando-se técnicas como *casting*, eletrodeposição e *spin-coating* para promover a modificação. A utilização de eletrodos modificados é aplicada em diversas áreas como a eletrocatalise para células a combustíveis e baterias. Também utilizada em eletrocromia, onde o processo redox provoca a mudança de cor, com a aplicação em mostradores (*displays*) e janelas inteligentes. E finalmente em sensores analíticos, onde apresentam seletividade a uma determinada espécie química ou grupo funcional. (SKOOG et al., 2007; YU et al., 2010; LUO et al., 2012)

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 SÍNTESE E SULFONAÇÃO DO POLI-{ESTIRENO-CO-ÁCIDO ACRÍLICO}

Para a síntese do copolímero foi utilizado o monômero estireno (Sigma-Aldrich) purificado, utilizando o método descrito por NABIFAR et al. (2009), por meio de sucessivas adições de solução 2M de NaOH. Em cada uma das adições as fases formadas foram separadas até não haver mudança de cor da solução de NaOH. Após esta etapa, o estireno foi lavado com água até o pH 7, seco com a adição de sulfato de cálcio seguida da filtração da mistura após agitação por três horas. Para finalizar a purificação, o estireno obtido após a secagem foi destilado a vácuo.

Os demais reagentes foram adquiridos de fabricantes diversos e utilizados sem purificação prévia.

Para a síntese do poli-{estireno-co-ácido acrílico} na proporção molar 98:2 (estireno:ácido acrílico) adicionou-se num reator, em banho de óleo, 389,1 mL do monômero previamente destilado e 20,4 mL de ácido acrílico. O meio reacional foi aquecido até 100 °C seguido da adição do iniciador, uma solução contendo 0,447 g de peróxido de benzoíla em estireno, com o auxílio de uma seringa. A mistura foi mantida sob agitação em atmosfera de argônio durante duas horas e após este tempo o aquecimento foi desligado. O reator foi retirado do banho de óleo e o polímero foi precipitado diretamente pela adição de metanol. O polímero foi coletado e dissolvido em acetona seguido da reprecipitação com metanol. Finalmente o copolímero foi seco em estufa a vácuo por 24 horas (40-50 °C).

Para a sulfonação do poli-{StS-co-AA} 98:2 dissolveu-se, num reator, 40 g de poli-{St-co-AA} em diclorometano sob agitação a 40 °C. Adicionou-se lentamente 38,8 mL de ácido sulfúrico e após 2 horas, foi adicionada água destilada gelada. Procedeu-se a lavagem do copolímero sulfonado com água até esta apresentar o valor do pH igual a 7.

4.1.1 Preparação das Membranas

Membranas dos copolímeros foram preparadas empregando a técnica de *casting* com pequenas modificações. O procedimento consistiu em preparar 4 mL de solução 0,05 g/mL do polímero em tetraidrofurano que foi mantida sob agitação durante 1 hora até a completa solubilização do polímero. Em seguida depositou-se a solução preparada numa placa de petri. O filme foi formado pela evaporação completa do solvente a temperatura ambiente. Finalmente, o filme foi cuidadosamente removido da placa de petri com auxílio de um bisturi.

A partir de cada membrana foram confeccionados três discos com diâmetro aproximado de 2 cm, isto é, com tamanho suficiente para cobrir a área de difusão efetiva da célula utilizada nos ensaios de permeação.

4.1.2 Caracterização dos Copolímeros e Membranas

Os copolímeros poli-{St-co-AA} e poli-{StS-co-AA} foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho (FTIR) num equipamento IRAffinity-1S, marca SHIMADZU. A análise espectroscópica de infravermelho foi realizada com filmes dos polímeros entre os comprimentos de onda 400 e 4000 cm^{-1} .

Para avaliar a morfologia das membranas de poli-{St-co-AA}, obtidas de acordo com o item 4.1.1, foi utilizado um Microscópio de Força Atômica, marca SHIMADZU e modelo SPM-9700. As imagens obtidas foram em áreas de 10 x 10 μm , 5 x 5 μm e 2 x 2 μm .

A espessura média dos discos usados nos ensaios de difusão foi avaliada usando um micrômetro, marca MITUTOYO (0,01/10 mm). Foram efetuadas cinco leituras em diferentes pontos de cada disco.

4.2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Em um balão contendo 50mL de solução 1,47 mM de nitrato de prata (AgNO_3), em banho de gelo e ao abrigo da luz, adiciona-se 50mL de uma solução 5,45 mM de citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Após a homogeneização da mistura e ainda sob agitação adiciona-se 5 mL de

uma solução 1,16 mM de borohidreto de sódio (NaBH_4).

4.2.1 Caracterização das Nanopartículas de Prata

Nanopartículas de prata foram caracterizadas por espectroscopia de UV-visível empregando um espectrofotômetro da marca SHIMADZU (UV-1800), entre os comprimentos de onda 200 e 800 nanômetros.

O tamanho das nanopartículas de prata foi determinado empregando-se duas técnicas distintas: difratometria de raios X (DRX), empregando um DRX da marca SHIMADZU, modelo XRD-6000, usando $\text{Cu-K}\alpha$ (0,154056 nm) a 30kV, 30mA e velocidade de escaneamento de $2^\circ/\text{min}$. A amostra para DRX foi preparada com a deposição em placa de vidro de solução de nanopartículas previamente concentrada por centrifugação a 13.000 rpm durante 15 minutos e finalmente, secada em estufa a vácuo (25°C) por 24 h. Por Microscopia Eletrônica de Transmissão, com auxílio de um microscópio JEOL TITAN (80-300 kV), pela deposição de uma gota de solução de nanopartículas sobre um porta-amostras de cobre. A solução foi deixada para secar a temperatura ambiente (20°C) durante 24 horas. As medidas foram realizadas no Centro de Investigación en Química Aplicada – CIQA, México.

4.3 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO

Para a síntese das nanopartículas de ouro utilizou-se ácido cloroáurico (SIGMA-ALDRICH) e citrato de sódio tribásico (NUCLEAR). O procedimento foi realizado com o uso de um balão de três bocas onde 100 mL de uma solução contendo 35 μL de ácido cloroáurico (HAuCl_4 – 30% wt) aquecida a 100°C . Então foram adicionados 5 mL de uma solução 143,8 mM de citrato de sódio tribásico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – diidratado P.A.). Após a mudança de cor, de amarelo para roxo, desligou-se o aquecimento e deixou-se a solução resfriar até a temperatura ambiente. A solução resfriada foi mantida ao abrigo da luz.

4.3.1 Caracterização das Nanopartículas de Ouro

As nanopartículas de ouro sintetizadas foram caracterizadas de modo análogo ao empregado na caracterização das nanopartículas de prata, isto é, por espectroscopia de UV-visível (SHIMADZU, modelo UV-1800), por difração de raios X (SHIMADZU, modelo XRD-6000) e por microscopia eletrônica de transmissão (JEOL TITAN).

4.4 ENSAIOS DE PERMEAÇÃO PASSIVA COM NANOPARTÍCULAS

Os ensaios de permeação passiva foram realizados com célula de Franz, marca Spell Glass com 19 mL de capacidade e área de difusão $6,97 \text{ cm}^2$ (d: 14,90 mm). A FIGURA 15 apresenta a imagem da célula de difusão utilizada nos ensaios de permeação. Após a realização de cada ensaio, a célula de difusão e a barra magnética foram limpas em água régia. Os ensaios foram realizados com membranas de poli-{St-co-AA} obtidas previamente por *casting*, conforme descrito no item 3.2.

Figura 15 – Célula de difusão de Franz.

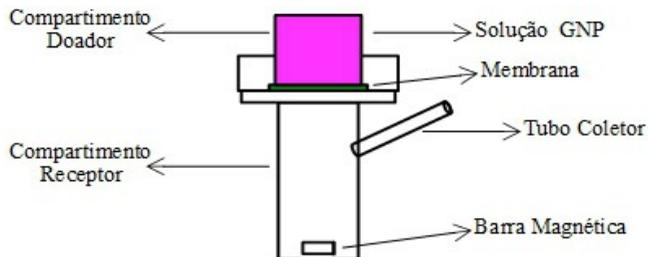


Fonte: Autor, 2015.

Todas as membranas utilizadas nos ensaios de difusão foram preparadas cortando-se discos de aproximadamente 2 cm de diâmetro e hidratadas previamente. Para hidratar a membrana de poli- $\{St-co-AA\}$ os discos foram imersos em água 24 horas antes dos ensaios (NG et al., 2010).

Em cada ensaio, a célula foi montada utilizando água destilada como meio receptor devido às nanopartículas também estarem dispersas em meio aquoso. Os discos foram posicionados entre os dois compartimentos (doador e receptor). No compartimento doador foi inserido 1 mL de solução de nanopartículas de ouro ou 1 mL de solução de nanopartículas de prata. O sistema permaneceu sob agitação e a temperatura ambiente durante 24 horas (SETO et al, 2010). A FIGURA 16 mostra o esquema utilizado para realizar os ensaios.

Figura 16 – Representação ilustrativa dos ensaios de permeação.



Fonte: Autor, 2015.

Após o término dos ensaios com nanopartículas de ouro, uma alíquota de 15 mL do compartimento receptor foi coletada e usada para as análises de absorção atômica e UV-visível. As membranas de poli-{St-co-AA} foram avaliadas por microscopia de força atômica num AFM SHIMADZU, modelo SPM-9700. Para o ensaio de permeação com nanopartículas de prata a amostra coletada no compartimento receptor foi analisada por espectroscopia UV-visível e as membranas foram analisadas morfologicamente por microscopia de força atômica na parte superior e inferior, isto é, a superfície em contato com a solução doadora e em contato com a solução receptora respectivamente.

O teor de ouro nas soluções de nanopartículas foi determinado por Espectroscopia de Absorção Atômica em um equipamento AGILENT 700, series ICP-OES. Brevemente, uma alíquota de 5 mL foi coletada e diluída com água destilada em um balão de 100 mL. Para a amostra da solução utilizada no ensaio de permeação com nanopartículas de ouro foi realizada a digestão com uso de HCl e HNO₃ e aquecimento a 75 °C. Após a digestão, a amostra foi novamente avolumada a 100 mL e realizada a leitura em seguida.

4.5 ESTUDO ELETROQUÍMICO DE PROCESSOS DIFUSIONAIS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Um estudo acerca de processos difusionais de nanopartículas de prata em filmes poliméricos foi conduzido empregando-se a técnica eletroquímica de voltametria cíclica. Inicialmente, este estudo deveria ser efetuado também com nanopartículas de ouro. Contudo, a detecção de Au em solução por método eletroquímico empregando voltametria cíclica não é tão apropriada quanto à detecção de Ag.

O estudo eletroquímico foi conduzido num potenciostato/galvanostato da BioLogic, modelo SP 200, interfaceado a um microcomputador. Os dados foram adquiridos e tratados com auxílio do *EC-Lab*® *software V10.23*, também da BioLogic. Experimentos foram efetuados numa célula eletroquímica de três eletrodos, a saber: eletrodos de carbono vítreo e de platina (3 mm de diâmetro cada). Estes eletrodos foram previamente polidos mecanicamente e eletroquimicamente antes de cada experimento. Como referência, utilizou-se um pseudo-eletrodo de platina (fio) e finalmente, uma placa de platina como eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo.

4.5.1 Curva de Calibração

A eletroatividade das nanopartículas de prata foi contrastada com a do íon Ag^+ . Neste sentido, seis soluções de nitrato de prata foram preparadas nas seguintes concentrações: 0,075M, 0,060M, 0,050M, 0,035M, 0,025M e 0,010M. Como meio eletrolítico foi utilizada uma solução de LiClO_4 (0,1M). Todas as medidas foram efetuadas em atmosfera inerte de argônio (White Martins), a uma velocidade de varredura de $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

4.5.2 Ensaios de Eletroatividade

Os ensaios de eletroatividade foram realizados com os eletrodos de platina e Cglass modificados superficialmente com os copolímeros. Para modificar os eletrodos de trabalho utilizou-se a técnica de *coating* com os copolímeros poli- $\{\text{St-co-AA}\}$ e poli- $\{\text{StS-co-AA}\}$.

Primeiramente foi preparada uma solução, com concentração de 10 mg/mL, em tetraidrofurano e depositou-se 10 μ L na superfície ativa do eletrodo. O eletrodo foi deixado em temperatura ambiente para completa evaporação do solvente. Os ensaios foram realizados com os eletrodos, copolímeros e soluções como descrito na Tabela 1. Antes da realização de cada ensaio foi realizado também o registro da linha base no meio eletrolítico da solução de LiClO₄ (0,1M).

Tabela 1 – Ensaio de Eletroatividade.

Ensaio Eletroatividade	Eletrodo	Polímero	Espécie Eletroativa
1	Platina	poli- {St-co-AA}	AgNO ₃
2	Cglass	poli- {St-co-AA}	AgNO ₃
3	Platina	poli- {StS-co-AA}	AgNO ₃
4	Cglass	poli- {StS-co-AA}	AgNO ₃
5	Platina	Sem modificação	Nanopartículas de Prata
6	Cglass	Sem modificação	Nanopartículas de Prata
7	Platina	poli- {St-co-AA}	Nanopartículas de Prata
8	Cglass	poli- {St-co-AA}	Nanopartículas de Prata
9	Platina	poli- {StS-co-AA}	Nanopartículas de Prata
10	Cglass	poli- {StS-co-AA}	Nanopartículas de Prata

Fonte: Autor, 2015.

5 – RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS E MEMBRANAS

Foram obtidos na síntese descrita anteriormente, 160 gramas do copolímero poli- $\{St-co-AA\}$ e 30 gramas do poli- $\{StS-co-AA\}$. O copolímero poli- $\{St-co-AA\}$ apresentou-se como um sólido branco, já o poli- $\{StS-co-AA\}$ apresentou-se como um sólido amarelo e quebradiço. Membranas de poli- $\{St-co-AA\}$ preparadas por *casting* puderam ser retiradas com facilidade e mostraram-se uniformes e translúcidas. Contudo não foi possível se obter membranas de poli- $\{StS-co-AA\}$ com qualidade suficiente para uso em estudos de permeação. As membranas de poli- $\{StS-co-AA\}$ tornam-se quebradiças após a evaporação do solvente. A FIGURA 17 apresenta uma imagem da membrana de poli- $\{St-co-AA\}$ obtida pela técnica de *casting* e que foi utilizada nos ensaios de permeação.

Figura 17 – Membrana poli- $\{St-co-AA\}$ preparada por casting.

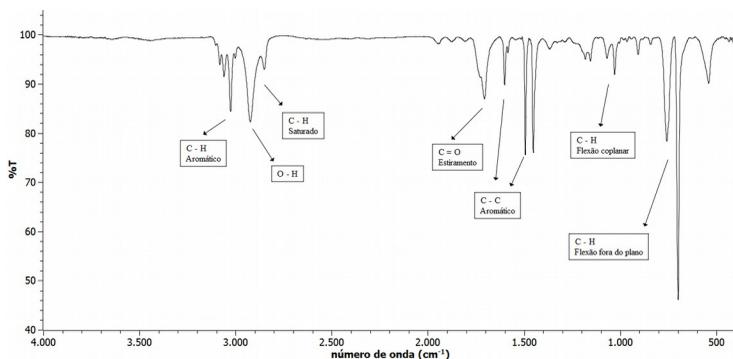


Fonte: Autor, 2015.

5.1.1 Caracterização espectroscópica por FTIR.

O espectro de FTIR de uma membrana de poli- $\{St-co-AA\}$ é mostrado na FIGURA 18. O espectro foi registrado em filme e revela a presença de bandas em 699 e 758 cm^{-1} que são características de flexões das ligações C – H para fora do plano (SMITHA et al., 2003; CRISTOVAN et al., 2005); as bandas em 1027 e 1067 cm^{-1} são ocasionadas por flexões coplanares das ligações C – H; a 1492 e 1600 cm^{-1} observam-se as bandas relacionadas ao estiramento das ligações C – C no anel benzênico. Na região de 3000 cm^{-1} aparecem os sinais relativos ao estiramento das ligações C – H também do anel aromático (SMITHA et al., 2003). A banda que aparece em 2850 cm^{-1} é devida ao estiramento das ligações C – H dos carbonos saturados presentes na cadeia. Relativo ao monômero ácido acrílico também pode-se observar a banda em 1706 cm^{-1} ocasionada pelo estiramento da ligação C = O da carboxila e em 2924 cm^{-1} relativa à flexão das ligações O – H provenientes da hidroxila (MORRISON e BOYD, 1996).

Figura 18 – Espectro vibracional de um filme do copolímero poli- $\{St-co-AA\}$.

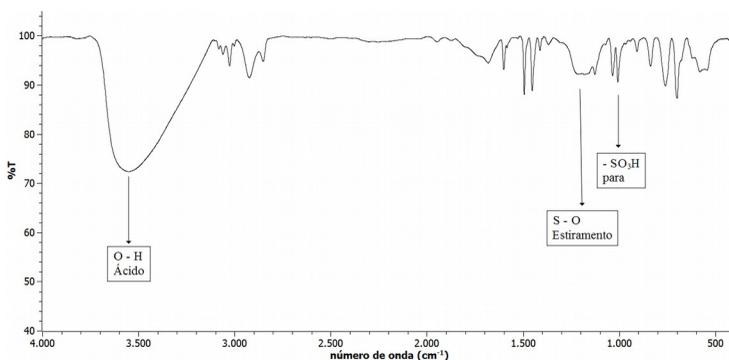


Fonte: Autor, 2015.

O espectro apresentado na FIGURA 19, corresponde a um filme de poli- $\{StS-co-AA\}$ e mostra que a maioria dos modos vibracionais

característicos da membrana não sulfonada são preservados, porém diferindo em relação à intensidade. Também é possível observar que entre 1100 e 1250 cm^{-1} há a presença de uma banda larga característica do estiramento S-O. Este resultado está de acordo com o relatado por MARTINS et al. (2003). Em 1007 cm^{-1} surge uma nova banda, inexistente no copolímero não sulfonado. Becker et al. (2012) afirmam que a banda de absorção em 1006 cm^{-1} é característica de vibrações no plano do anel benzênico com o grupo sulfona situado na posição *para*. Ainda, em 1126 cm^{-1} encontra-se outra banda que também está relacionada ao ânion sulfonado ligado ao anel aromático (BECKER et al, 2012). Estas duas informações evidenciam a sulfonação do polímero com o acoplamento do grupo sulfona em posição *para* no núcleo benzênico proveniente do monômero estireno. Observa-se também uma região alargada em 3400 cm^{-1} devido ao estiramento simétrico do grupo - OH de acordo com o encontrado por GUAN et al. (2005) e JITHUNSA et al. (2011) e também descrito por CRISTOVAN et al. (2005).

Figura 19 – Espectro vibracional de um filme do copolímero poli-{StS-co-AA}.



Fonte: Autor, 2015.

5.1.2 Espessura das membranas de poli-{St-co-AA}

A TABELA 2 apresenta os valores médios de espessura para a

membrana de poli- $\{St-co-AA\}$. A pequena variação média e o baixo desvio padrão confirmam que a técnica de *casting*, empregada na preparação das membranas, permite a obtenção de membranas uniformes em relação à espessura. Para o Disco 2 todas as cinco leituras apresentaram o mesmo resultado.

Tabela 2 – Espessura dos filmes de poli- $\{St-co-AA\}$.

Disco	Espessura (μm)
1	$66 \pm 5,48$
2	80 ± 0
3	$78 \pm 4,47$

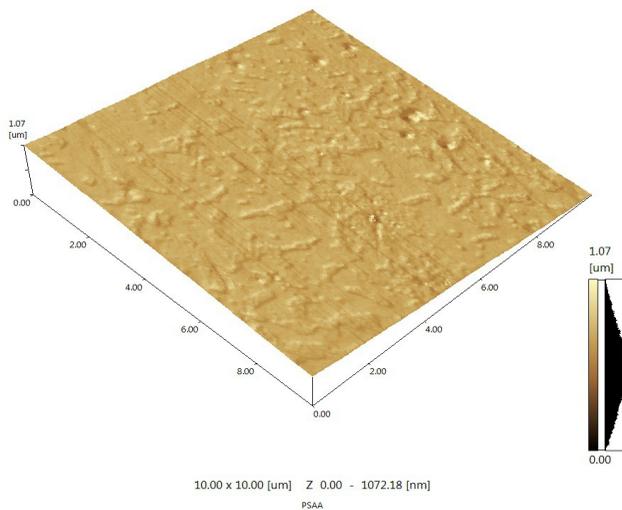
Fonte: Autor, 2015.

5.1.3 Caracterização morfológica da membrana de poli- $\{St-co-AA\}$

Uma amostra de membrana de poli- $\{St-co-AA\}$ preparada por *casting* e utilizada nos ensaios de permeação foi submetida à análise morfológica empregando a técnica de microscopia de força atômica. As micrografias obtidas revelam a formação de uma membrana homogênea e com boa regularidade superficial. Contudo, observa-se a presença de algumas depressões ao longo do filme que podem ser decorrentes da contração do material ou rupturas de bolhas de ar microscópicas oclusas na solução polimérica e que acabam rompendo devido à evaporação do solvente durante a formação do filme.

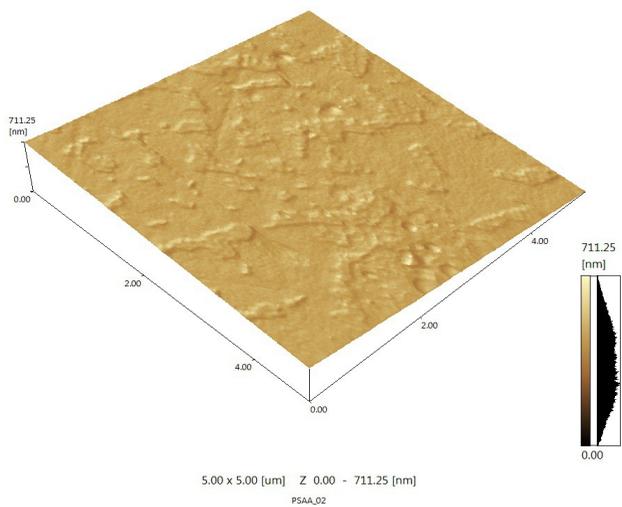
As FIGURAS 20, 21 e 22 apresentam as imagens obtidas da amostra com diferentes aproximações para uma mesma região.

Figura 20 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA}, área 10 x 10 μm .



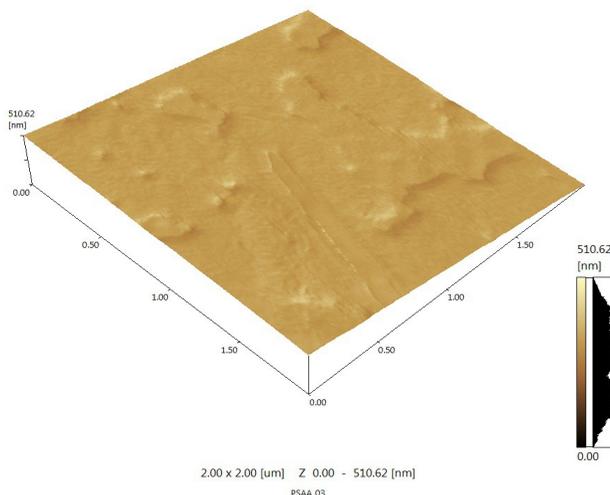
Fonte: Autor, 2015.

Figura 21 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA}, área 5 x 5 μm .



Fonte: Autor, 2015.

Figura 22 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA}, área 2 x 2 μm .



Fonte: Autor, 2015.

Conforme esperado, à medida que a área avaliada diminui, observa-se menor variação na rugosidade superficial.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA

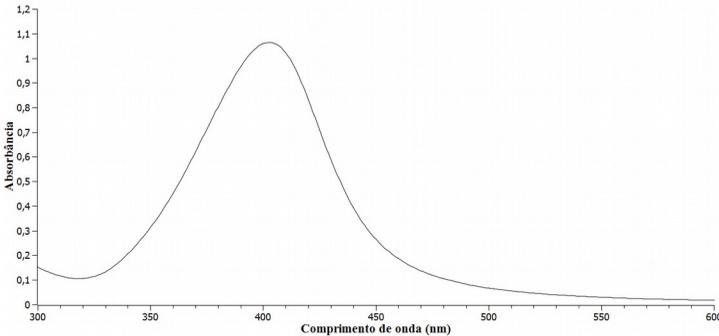
As nanopartículas de prata empregadas neste estudo foram caracterizadas por meio das técnicas de espectroscopia de UV-visível, difratometria de raios X e microscopia de transmissão eletrônica.

5.2.1 Espectroscopia UV-visível

A FIGURA 23 corresponde ao espectro eletrônico característico da solução aquosa de nanopartículas de prata com diâmetro médio de 28 nm e que apresenta cor amarela (PAULA et al., 2009; YU et al., 2010). Observa-se uma banda de SPR (superfície de plasmon ressonante) com

máxima absorção em 403 nm (GARCÍA-BARRASA et al., 2011). A natureza desta banda será discutida no item 5.3.1.

Figura 23 – Espectro eletrônico de uma solução aquosa de nanopartículas de prata.

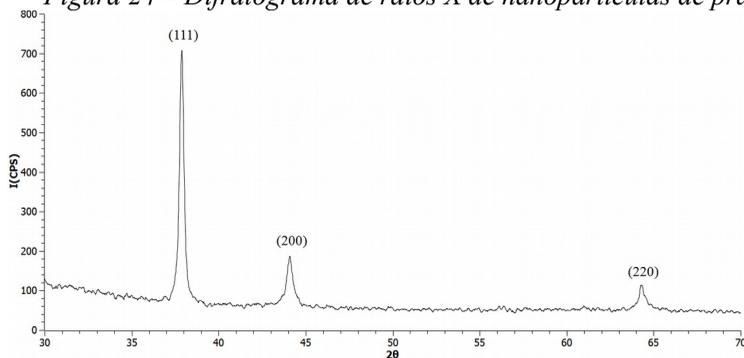


Fonte: Autor, 2015.

5.2.2 Difractometria de Raios X

A FIGURA 24 corresponde a um difratograma de raios X de nanopartículas provenientes da mesma solução. Os picos característicos da prata, em $2\theta = 37,88$; $44,08$ e $64,28$ (JCPDS CARD 4-0783) que correspondem, respectivamente, aos planos cristalinos da prata = (111), (200) e (220). (FAGHIHI e SHABANIAN, 2011; GAIKWAD et al., 2013.)

Figura 24 – Difractograma de raios X de nanopartículas de prata.



Fonte: Autor, 2015.

Aplicando-se a equação de Scherer (Equação 2) com a largura da meia altura (FWHM) do pico de difração mais forte (111) pode-se determinar o tamanho médio do cristalito (FERREIRA et al., 2009; LEE et al., 2012). O tamanho calculado, utilizando-se a equação de Scherer foi 27,52 nm. Resultado este que está em acordo com o encontrado na espectroscopia UV-visível e na microscopia eletrônica.

$$d = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

d = tamanho médio do cristalito, em nm.

K = fator de forma, 0,9.

λ = comprimento de onda do raio-x Cu- $K\alpha$, 0,154056 nm.

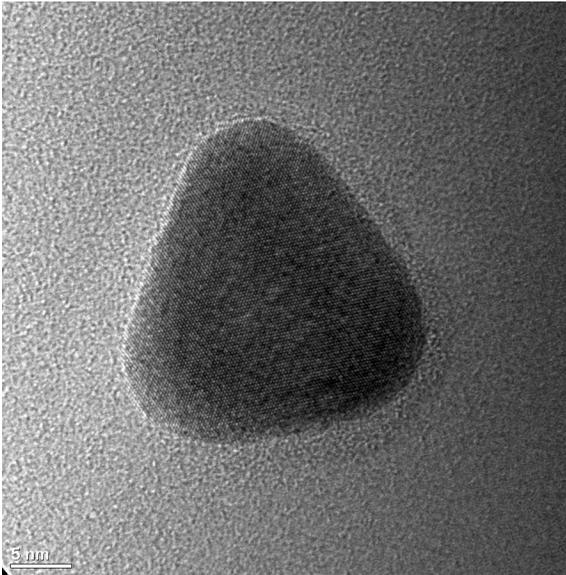
β = largura a meia altura (FWHM), em radianos.

θ = ângulo de Bragg, onde se encontra o pico.

5.2.3 Microscopia de Transmissão Eletrônica

Uma micrografia, FIGURA 25, obtida por microscopia de transmissão eletrônica de nanopartículas de prata revela que o diâmetro médio das mesmas é da ordem de 28 nm e que também apresentam geometria esférica. Estes resultados estão em concordância com os achados por UV-visível e DRX, bem como estudos anteriores realizados no Grupo de Pesquisa (SEGALA et al., 2006; PAULA et al., 2009).

Figura 25 – Micrografia de nanopartícula de prata obtida por MTE.



Fonte: Autor, 2015.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO

As nanopartículas de ouro foram caracterizadas empregando as mesmas técnicas e metodologias utilizadas para a caracterização das

nanopartículas de prata.

5.3.1 Espectroscopia Uv-visível

Uma solução de nanopartículas de ouro apresentou a cor rubi característica (TOMA et al., 2005; DAS et al., 2011). A FIGURA 26 ilustra a solução aquosa de nanopartículas de ouro com diâmetro médio de 10 nm.

Figura 26 – Solução aquosa de nanopartículas de ouro.



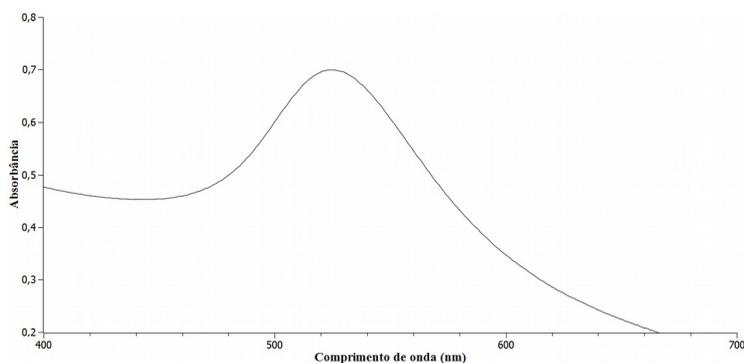
Fonte: Autor, 2015.

Conforme esperado o espectro eletrônico das nanopartículas de ouro apresentou uma banda SPR (superfície de plasmon ressonante) característica de materiais metálicos nanoparticulados. A nuvem de elétrons na superfície de uma nanopartícula pode oscilar absorvendo radiação eletromagnética em determinados comprimentos de onda, esse fenômeno é conhecido como ressonância de plasmon superficial. Com o aumento do tamanho da nanopartícula, aumenta a densidade dos estados eletrônicos e a coloração tende ao violeta. Outros fatores também

contribuem para o deslocamento e intensidade da banda SPR tais como a geometria da nanopartícula, o solvente empregado e a funcionalização da superfície (PHILIP, 2008; TOMA et al., 2005).

A FIGURA 27 corresponde ao espectro eletrônico de uma solução aquosa de nanopartículas de ouro. Uma banda com absorção em $\lambda_{\text{máximo}} = 525 \text{ nm}$ é típica de nanopartículas de aproximadamente 10 nm de diâmetro (PHILIP, 2008). Este resultado está em concordância com as análises de difratometria de raios x e microscopia de transmissão eletrônica como será mostrado a seguir.

Figura 27 – Espectro eletrônico de uma solução aquosa de nanopartículas de ouro.

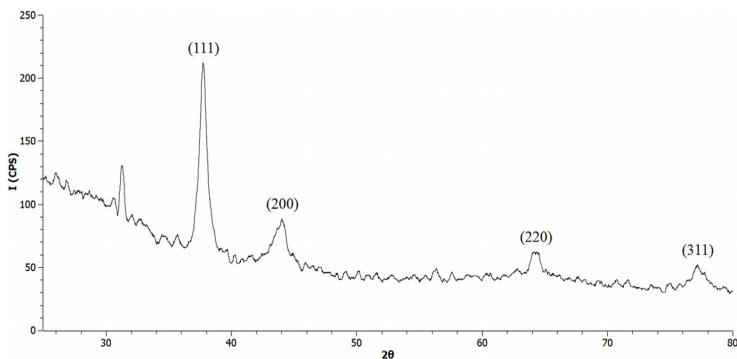


Fonte: Autor, 2015.

5.3.2 Difratometria de Raios X

A Figura 28 corresponde a um difratograma de raios X de nanopartículas provenientes desta mesma solução. Pode-se observar os picos característicos do ouro, em 2θ : 37,36; 44,04; 64,22 e 77,18 (JCPDS CARD 4-0784) que correspondem, respectivamente, aos planos cristalinos do ouro: (111), (200), (220) e (311) (FERREIRA et al., 2009; YOU et al., 2014; HUANG et al., 2014).

Figura 28 – Difratoograma de raios X de nanopartículas de ouro.



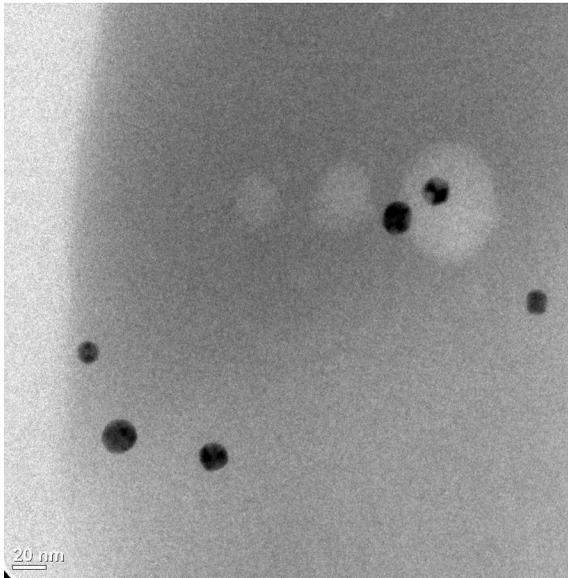
Fonte: Autor, 2015.

Aplicando-se a equação de Scherer (Equação 2), discutida no item 5.2.2, com a largura da meia altura (FWHM) do pico de difração mais forte (111) foi determinado o tamanho médio do cristalito em 10,2 nm, confirmando desta forma também os resultados encontrados na espectroscopia UV-visível e na microscopia de transmissão eletrônica.

5.3.3 Microscopia de Transmissão eletrônica

A FIGURA 29 corresponde a uma micrografia obtida por microscopia de transmissão eletrônica de nanopartículas de ouro. Observa-se que o diâmetro médio é de cerca de 10 nm, estando em concordância com os achados por UV-visível e DRX.

Figura 29 – Micrografia de nanopartículas de ouro obtida por MTE.



Fonte: Autor, 2015.

5.4 ESTUDOS DE PERMEACÃO EM MEMBRANAS

Em estudos realizados no grupo de pesquisa, LASICOM, verificou-se que a aplicação tópica de gel impregnado com nanopartículas metálicas de ouro, puras ou combinadas a outros fármacos e associadas ou não à ultrassonoterapia (fonoforese e/ou iontoforese) apresentam-se como bons agentes anti-inflamatórios em lesões tendíneas e musculares, por exemplo (SILVEIRA et al., 2010; DOHNERT et al., 2012; ENGELMANN et al., 2012; MUNARI et al., 2012; PEREIRA et al., 2012; VICTOR et al., 2012; CARDOSO et al., 2014; DOHNERT et al., 2014; SILVEIRA et al., 2014; ZORTEA et al., 2015).

Apesar dos resultados promissores, pouco se sabe acerca do processo de transporte de nanopartículas até o tecido lesionado e seu

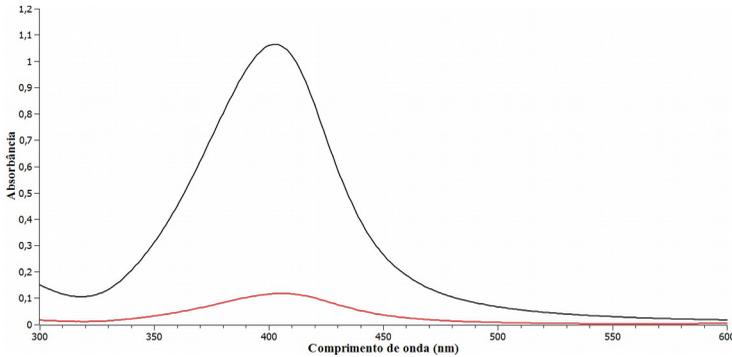
respectivo mecanismo de ação. Ademais, sabe-se que a derme é um sistema bastante complexo, o que dificulta a elucidação destes mecanismos de transporte. Assim, no sentido de contribuir para a compreensão destes processos, optou-se por utilizar dois modelos simplificados de transporte transdermal de SNP e GNP. O primeiro modelo empregando difusão em célula de Franz e o segundo, por método eletroquímico em eletrodos inertes de Pt e Cglass revestidos por filmes poliméricos. Contudo, convém antes esclarecer que para as nanopartículas de ouro, este estudo ficou limitado a testes em célula de Franz. Foram realizados ensaios eletroquímicos preliminares com GNPs, mas os resultados não foram satisfatórios nas condições empregadas.

5.4.1 Permeação de Nanopartículas de Prata em Célula de Franz

Para avaliar a permeação das nanopartículas de prata foi utilizada uma célula de difusão de Franz e o experimento foi conduzido de forma passiva durante 24 horas. Assim, a membrana de poli-[St-co-AA] foi posicionada entre o compartimento doador e o receptor e 1 mL de solução de nanopartículas de prata foi colocada no compartimento doador. O meio receptor escolhido foi água destilada, pelo fato das nanopartículas de prata serem solúveis neste meio.

Após 24 h uma amostra da solução do compartimento receptor foi coletada e um espectro de UV-visível foi registrado para confirmar a permeação das SNP através da membrana polimérica. A FIGURA 30 apresenta os espectros de UV-visível da solução doadora no início da medida e da solução receptora ao final do experimento, ou seja, após 24 h. Observa-se a presença da banda SPR característica da solução de nanopartículas, mas sua máxima absorção é menor que a da solução doadora. Este fato está relacionado à diluição que ocorre no compartimento receptor com as nanopartículas e também com a quantidade que permeia através da membrana durante a realização do experimento.

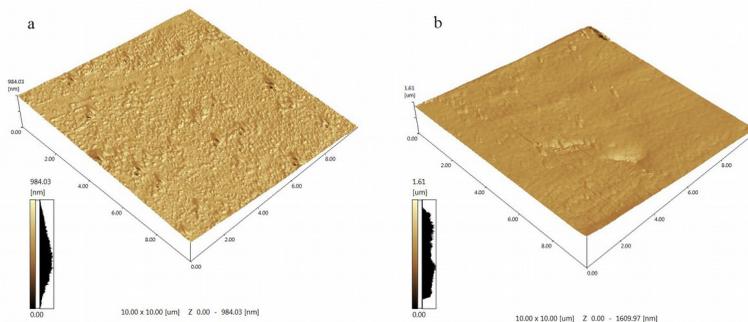
Figura 30 – Espectro UV-visível. (----) Solução doadora de nanopartículas de prata, (----) Solução receptora após 24 horas.



Fonte: Autor, 2015.

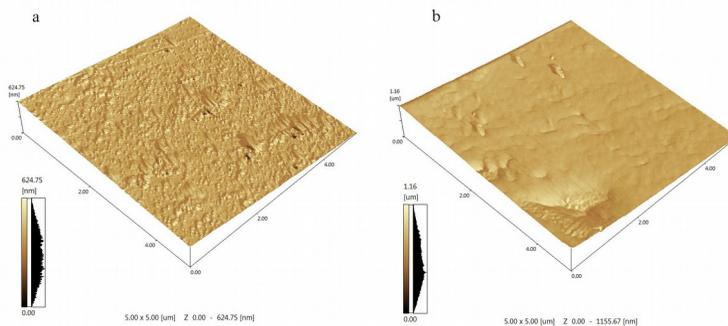
Após o ensaio a membrana utilizada foi caracterizada morfologicamente por microscopia de força atômica. As FIGURAS 31, 32 e 33 apresentam as imagens obtidas da amostra após o ensaio de permeação, em diferentes aproximações da mesma área. Em adição, realizaram-se medidas nas duas superfícies do filme, isto é, das interfaces: solução doadora||membrana e membrana||solução receptora.

Figura 31 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA} após permeação com nanopartículas de prata, área 10 x 10 μm . (a) superior, em contato com a solução doadora; (b) inferior, em contato com a solução receptora.



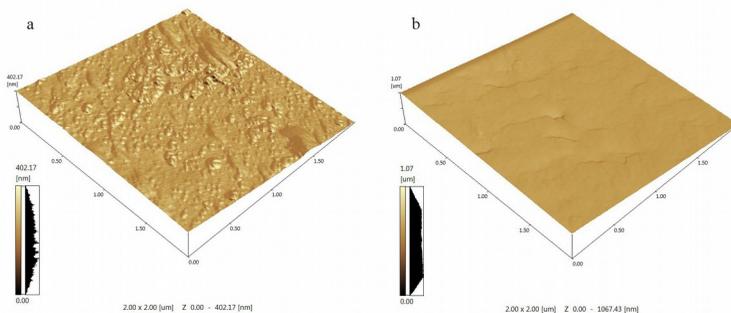
Fonte: Autor, 2015.

Figura 32 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA} após permeação com nanopartículas de prata, área 5 x 5 μm . (a) superior, em contato com a solução doadora; (b) inferior, em contato com a solução receptora.



Fonte: Autor, 2015.

Figura 33 – Microscopia de força atômica poli-{St-co-AA} após permeação com nanopartículas de prata, área 2 x 2 μm. (a) superior, em contato com a solução doadora; (b) inferior, em contato com a solução receptora.



Fonte: Autor, 2015.

Os resultados da microscopia de força atômica indicam que a membrana está integralmente preservada, inexistindo orifícios ou falhas que permitam a passagem das nanopartículas diretamente até a solução receptora. A superfície em contato com a solução doadora apresenta-se mais irregular e rugosa, quando comparada com a superfície que ficou em contato com a solução receptora.

5.4.2 Difusão de Ag^+ e SNP em eletrodos modificados

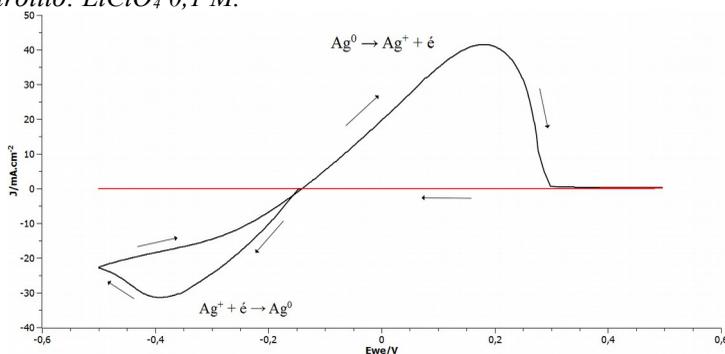
Estudos de permeação em eletrodos modificados por membranas poliméricas também têm sido alvo de investigação no grupo de pesquisa. Por exemplo, num estudo recente demonstrou-se que filmes poliméricos de poli-[St-co-AA] e poli-[StS-co-AA] são permeáveis à difusão de íons Fe^{2+} (PAULA et al., artigo submetido ao Journal of Applied Electrochemistry 2015).

A seguir são apresentados os resultados da avaliação eletroquímica da permeabilidade de nanopartículas de prata através de filmes poliméricos de poli-[St-co-AA] e poli-[StS-co-AA]. Avaliou-se a atividade redox de íons prata (Ag^+) e SNP em eletrodos de Pt e Cglass

revestidos por poli-[St-co-AA] e poli-[StS-co-AA] e os resultados comparados aos respectivos eletrodos não modificados.

A FIGURA 34 corresponde a um voltamograma cíclico de uma solução aquosa de AgNO_3 0,075 M em LiClO_4 0,1 M. O perfil voltamétrico (terceiro ciclo) apresenta uma onda com Epc em $-0,393$ V e ipc em $-31,405$ mA/cm², que é atribuída ao processo redox $\text{Ag}^+ + e^- \rightarrow \text{Ag}^0$ e uma outra com Epa em $+0,180$ V e ipa em $41,483$ mA/cm² que corresponde ao processo $\text{Ag}^0 \rightarrow \text{Ag}^+ + e^-$. A presença de *trace-crossing*, também conhecido por *loop* de nucleação, em -156 mV é típica de processos de eletrodeposição (SEBASTIÁN et al., 2013). Com base na teoria da nucleação, fica fácil compreender. É necessário impor um sobre potencial para promover a redução dos íons metálicos em solução sobre uma superfície de natureza diferente, por exemplo, Ag^+ sobre Pt. Contudo, ao retornar ao potencial de partida, já existem regiões com filme nucleado, o que diminui a energia necessária para a redução. Neste caso, teremos íon Ag^+ sendo reduzidos sobre uma superfície contendo filme de Ag.

Figura 34 – (----) Voltamograma cíclico de solução AgNO_3 (0,075M). (----) Linha de base. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO_4 0,1 M.

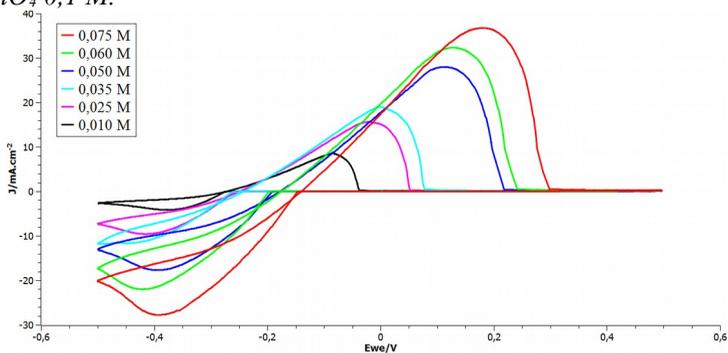


Fonte: Autor, 2015.

A FIGURA 35 corresponde aos traçados gráficos de perfis de corrente vs. Potencial para soluções de AgNO_3 em diferentes

concentrações, registrados a uma velocidade de variação de potencial de 50 mV/s e empregando como meio eletrolítico LiClO_4 0,1 M. Todas as curvas voltamétricas correspondem ao terceiro ciclo de varredura.

Figura 35 – Voltamogramas cíclicos para soluções de Ag^+ em diferentes concentrações. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO_4 0,1 M.



Fonte: Autor, 2015.

Verifica-se um deslocamento nos potenciais de pico para valores mais positivos em função do aumento da concentração de Ag^+ no meio. Isto provavelmente se deva a uma maior taxa de recobrimento superficial por ciclo a maiores concentrações de Ag^+ .

Observa-se ainda uma dependência nítida da intensidade das correntes de pico anódicas e catódicas em função da concentração de íons Ag^+ na solução. O traçado gráfico da i_p vs. C é linear em toda a faixa de concentração (FIGURA 36), estando em concordância com o previsto na equação de Randles-Sevcik (Equação 3) (SKOOG et al., 2007).

$$i_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} ACD^{1/2} \nu^{1/2}$$

Equação 3

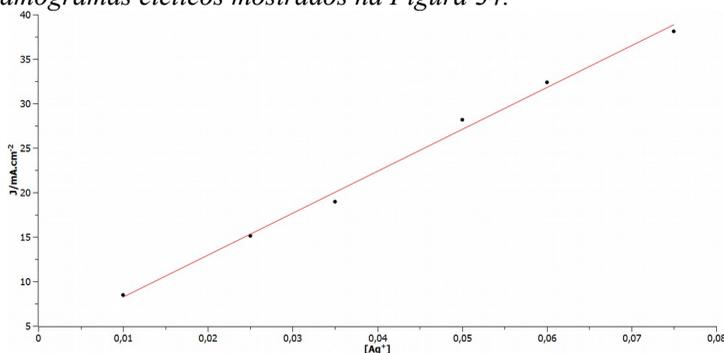
onde:

i_p = corrente do pico em Ampére

- n = número de elétrons da semi-reação
 A = área do eletrodo em cm^2
 C = concentração em mol/L
 D = coeficiente de difusão em cm^2/s
 v = velocidade de variação do potencial em V/s

A equação da reta obtida por ajuste linear corresponde a uma função $f(x)$: $470,48x + 3,53$ ($R^2 = 0,99$). Assim o ajuste para os resultados encontrados foi determinado linearmente de acordo com a equação.

Figura 36 – Traçado gráfico do i_p vs. $[Ag^+]$ obtido a partir dos voltamogramas cíclicos mostrados na Figura 34.



Fonte: Autor, 2015.

O mesmo estudo foi realizado empregando-se um eletrodo de trabalho de Cglass. Os resultados foram similares aos obtidos com o eletrodo de Pt e por isso não serão mostrados aqui.

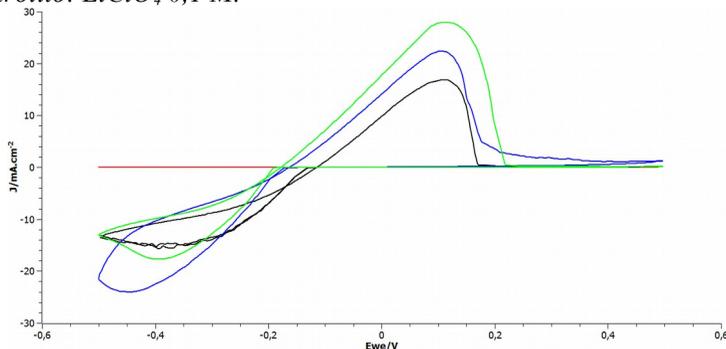
No sentido de avaliar a permeação do íon Ag^+ através das membranas poliméricas, eletrodos de Pt e Cglass foram revestidos com filmes de poli-[St-co-AA] e poli-[StS-co-AA]. Todos os eletrodos foram recobertos pela deposição de alíquotas idênticas de soluções poliméricas de mesma concentração. Após secagem do solvente por evaporação, os eletrodos já modificados foram hidratados em água destilada por 24 h. A FIGURA 37 mostra os perfis voltamétricos de corrente vs. Potencial de eletrodos de Pt, revestidos ou não, em solução aquosa de $AgNO_3$ 0,05

mol/L. Observa-se que os potenciais redox do íon Ag^+ não são afetados em função da modificação superficial.

A carga elétrica, obtida pela integração da corrente em função do tempo está associada à quantidade de espécie eletroativa em contato com o eletrodo e que sofre reação redox, que neste caso, corresponde à quantidade de íons prata permeados através da membrana.

Conforme esperado, a carga máxima é obtida para o eletrodo não revestido, isto é, 100% de área eletroativa. Para o eletrodo Pt||poli-[StS-co-AA] verifica-se uma redução de 36 % na carga em relação ao eletrodo de Pt não revestido. Uma redução mais substancial é verificada para o eletrodo Pt||poli-[St-co-AA], cuja carga corresponde a 49% em relação ao eletrodo não revestido e 21% em relação ao poli-[StS-co-AA]. Isto pode ser racionalizado em função da ausência de grupos $-\text{SO}_3\text{H}$ na matriz polimérica. Trabalhos anteriores com eletrodos do tipo Pt||poli-[St-co-AA] e Pt||poli-[StS-co-AA] mostraram maior permeabilidade a íons Fe^{2+} em KCl 0.1 mol/L e a íons H^+ em solução de H_2SO_4 0.5 mol/L para este último.(PAULA et al., artigo submetido ao Journal of Applied Electrochemistry 2015).

Figura 37 – Voltamogramas cíclicos para solução de nitrato de prata (0,05 mol/L) em diferentes eletrodos. (---) Eletrodo de Pt sem revestimento. (---) Eletrodo Pt||poli-[StS-co-AA]. (----) Eletrodo Pt||poli-[St-co-AA]. (---) Linha de base. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO_4 0,1 M.



Fonte: Autor, 2015.

Os resultados para eletrodos de Cglass modificados foram semelhantes aos obtidos em eletrodos de Pt e por isso não são apresentados.

A TABELA 3 apresenta os valores encontrados nos ensaios de eletroatividade de íons prata utilizando eletrodos de platina e carbono vítreo, modificados com poli-[St-co-AA] e poli-[StS-co-AA]. Nela observam-se os potenciais anódicos (Epa) e suas respectivas densidades de corrente (ipa) no terceiro ciclo de varredura.

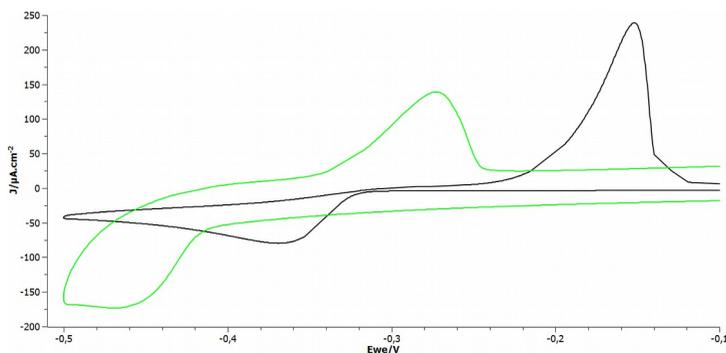
Tabela 3 – Atividade redox de íons prata em diversos eletrodos.

Eletrodo	Polímero	Epa (V)	ipa (mA/cm²)	[Ag⁺]
Platina	poli-{St-co-AA}	+0,11	16,835	0,028
Cglass	poli-{St-co-AA}	+0,0084	12,200	0,018
Platina	poli-{StS-co-AA}	+0,103	22,370	0,040
Cglass	poli-{StS-co-AA}	-0,021	6,976	0,007

Fonte: Autor, 2015.

Uma vez comprovada a permeação de íons Ag⁺ em eletrodos modificados, empregou-se a mesma metodologia para a avaliação da permeabilidade das membranas, porém empregando SNP como espécie eletroativa. A FIGURA 38 ilustra um voltamograma cíclico de uma solução aquosa de nanopartículas de prata em eletrodo de platina. Verifica-se a presença de um processo redox com pico anódico em - 273 mV (Epa) e respectiva corrente anódica de 138,7 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Neste caso não se observa a presença de *loop (trace-crossing)* devido a processo de nucleação e crescimento de depósito metálico, a exemplo do que ocorreu nos ensaios realizados com íons Ag⁺. Observa-se também que o processo redox observado ao utilizar o eletrodo de carbono grafite ocorre numa região mais positiva, - 152 mV, e a corrente anódica de 238,7 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ é maior que a observada com o eletrodo de platina.

Figura 38 – Voltamogramas cíclicos para solução aquosa de nanopartículas de prata em diferentes eletrodos. (----) Eletrodo de Pt sem revestimento. (---) Eletrodo de Cglass sem revestimento. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO₄ 0,1 M.



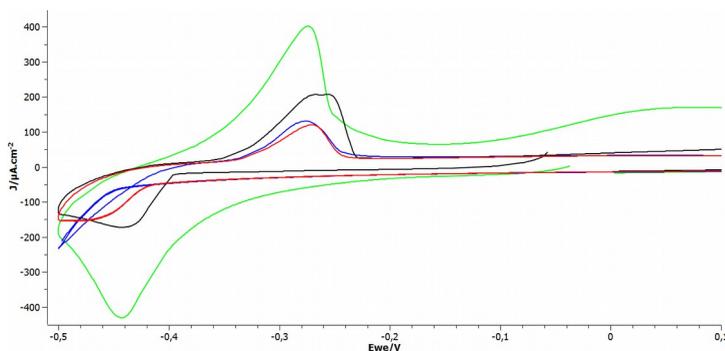
Fonte: Autor, 2015.

A Figura 39 ilustra os voltamogramas cíclicos de dois eletrodos: um de Pt e outro de Pt||poli-[StS-co-AA]. Observa-se que para o primeiro ciclo voltamétrico, o eletrodo não modificado apresenta E_{pa} em -262 mV com i_{pa} igual a $205,5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$. Para o eletrodo modificado o E_{pa} é de -274 mV e com i_{pa} igual a $401,6 \mu\text{A}/\text{cm}^2$. A princípio pode parecer estranho a intensidade de corrente ser cerca do dobro no eletrodo revestido em relação ao eletrodo de Pt não revestido, uma vez que a área eletroativa deste último é em tese, maior. Porém, é necessário levar em conta que o polímero na sua forma sulfonada contém ao longo da estrutura polimérica grupos $-\text{SO}_3\text{H}$, que são ácidos. Logo, o pH no interior da matriz polimérica não é o mesmo do apresentado no seio da solução. Esta condição local de baixo pH favorece a formação e estabilização de íons Ag^+ provenientes da dissolução de átomos de prata da superfície das SNPs. Esta hipótese é suportada pela análise dos perfis voltamétricos após vários ciclos. Nota-se que a partir do 11º ciclo, as respectivas ondas anódicas se sobrepõem. É possível então racionalizar este achado considerando que a cada ciclo voltamétrico os grupos $-\text{SO}_3\text{H}$ vão sendo neutralizados pela redução dos íons H^+ , conduzindo a um pH próximo da neutralidade, equivalente ao de um eletrodo não

revestido.

Um estudo da influência do pH na atividade redox de eletrodos do tipo Pt||poli-[StS-co-AA] também suportam esta hipótese (PAULA et al., artigo submetido ao Journal of Applied Electrochemistry 2015).

Figura 39 – Voltamogramas cíclicos para solução aquosa de nanopartículas de prata. (----) 1º Ciclo com eletrodo Pt||poli-[StS-co-AA]. (----) 11º Ciclo com eletrodo Pt||poli-[StS-co-AA]. (----) 1º Ciclo com eletrodo Pt. (----) 11º Ciclo com eletrodo Pt. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO₄ 0,1 M.

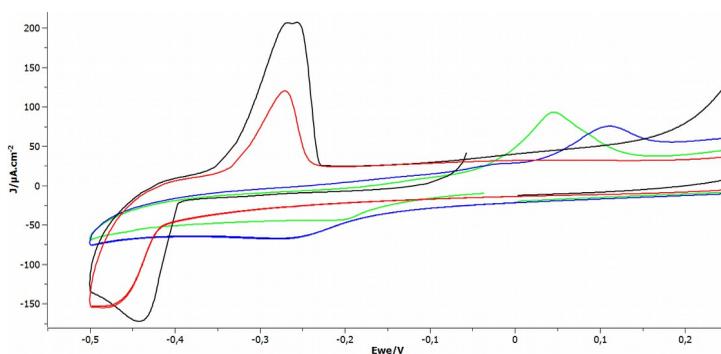


Fonte: Autor, 2015.

Ao contrário, do que ocorre com o eletrodo de Pt||poli-[StS-co-AA], o voltamograma da solução de nanopartículas de prata utilizando eletrodo de Pt||poli-[St-co-AA] apresenta maior E_{pa} e menor i_{pa} durante os ciclos efetuados. Esse deslocamento de potencial e menor corrente anódica pode estar associado à ausência do grupo $-SO_3H$ no polímero. A FIGURA 40 apresenta os voltamogramas cíclicos para solução de nanopartículas de prata utilizando-se dois eletrodos, um de Pt e outro Pt||poli-[St-co-AA]. Observa-se que no 1º ciclo o eletrodo Pt||poli-[St-co-AA] apresenta um E_{pa} : + 45,5 mV e uma corrente anódica de 92,9 $\mu A/cm^2$. O eletrodo de platina não revestido como verificado anteriormente apresenta menor potencial anódico e uma maior corrente anódica, respectivamente -262 mV e 205,5 $\mu A/cm^2$. Ao longo dos ciclos a intensidade destes picos diminui mas não chega a sobrepor-se, como o

que ocorre com o eletrodo de Pt||poli-[StS-co-AA], evidenciando assim que o revestimento de poli-[StS-co-AA] atua como uma barreira física e dificulta o processo redox observado.

Figura 40 – Voltamogramas cíclicos para solução aquosa de nanopartículas de prata. (----) 1º Ciclo com eletrodo Pt||poli-[St-co-AA]. (----) 11º Ciclo com eletrodo Pt||poli-[St-co-AA]. (----) 1º Ciclo com eletrodo Pt. (----) 11º Ciclo com eletrodo Pt. Velocidade de varredura: 50mV/s; Eletrólito: LiClO₄ 0,1 M.



Fonte: Autor, 2015.

A TABELA 4 apresenta os valores encontrados no estudo de eletroatividade de nanopartículas de prata utilizando eletrodos de platina e carbono vítreo, não recobertos e modificados com poli-[St-co-AA] e poli-[StS-co-AA]. Encontram-se os valores do potencial anódico (Epa) observado bem como a densidade de corrente (ipa) e a ocorrência ou não de *loop* (*trace-crossing*) devido à nucleação e o crescimento no terceiro ciclo de varredura.

Tabela 4 – Atividade redox de nanopartículas de prata em diversos eletrodos.

Eletrodo	Polímero	Epa (V)	ipa ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	Loop
Platina	Sem modificação	-0,273	138,7	Não
Cglass	Sem modificação	-0,152	238,7	Não
Platina	poli- $\{\text{St-co-AA}\}$	+0,117	80,4	Não
Cglass	poli- $\{\text{St-co-AA}\}$	-0,271	33,8	Sim
Platina	poli- $\{\text{StS-co-AA}\}$	-0,286	178,9	Sim
Cglass	poli- $\{\text{StS-co-AA}\}$	-0,228	62,4	Sim

Fonte: Autor, 2015.

5.4.3 Permeação de GNP em membranas de poli- $\{\text{St-co-AA}\}$

Os ensaios de permeação com nanopartículas de ouro foram conduzidos de acordo com o descrito no item 4.4. A membrana de poli- $\{\text{St-co-AA}\}$ foi posicionada entre o compartimento doador e receptor, que continha água destilada. Foi depositado no compartimento doador 1 mL da solução aquosa de nanopartículas de ouro e aguardou-se o término das 24 horas, à temperatura ambiente e sob agitação, para coletar a amostra do compartimento receptor. Foram realizados três ensaios com membranas previamente hidratadas de poli- $\{\text{St-co-AA}\}$ e para estes ensaios a solução doadora de GNP apresentou a concentração de 82,310 mg/L determinada por espectroscopia de absorção atômica. A FIGURA 41 apresenta a imagem da célula de Franz durante o estudo de permeação.

Figura 41 – Permeação de GNP em célula de Franz com membrana poli- $\{St-co-AA\}$.



Fonte: Autor, 2015.

Como o volume doador utilizado foi 1 mL de GNP e o volume receptor da célula é 19 mL, pode-se também estimar a quantidade em massa de nanopartículas ouro disponíveis inicialmente na solução doadora e a quantidade que atravessou as membranas ao final de cada 24 horas. Os resultados dos três ensaios estão reunidos na TABELA 5 com a concentração determinada por espectroscopia de absorção atômica e a massa calculada de acordo com o volume da solução.

Tabela 5 – Concentrações e massa das soluções do ensaio de permeação com membrana de poli-{St-co-AA}.

Soluções	Concentração (mg/L)	Massa (mg)
Doadora	82,310	$8,231 \times 10^{-2}$
Ensaio 1	1,705	$3,239 \times 10^{-2}$
Ensaio 2	1,332	$2,531 \times 10^{-2}$
Ensaio 3	1,376	$2,614 \times 10^{-2}$

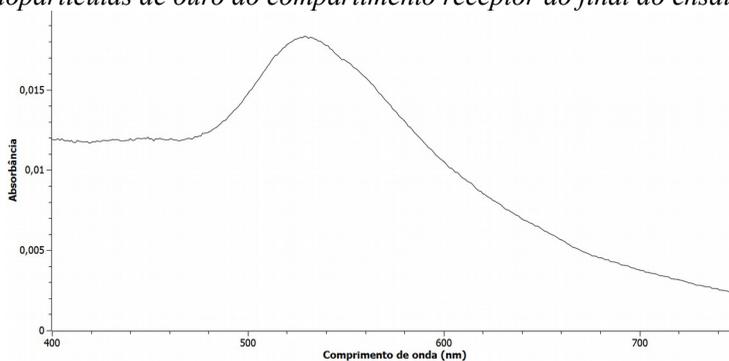
Fonte: Autor, 2015

Pode-se observar que a quantidade de ouro que permeia a membrana de poli-{St-co-AA} corresponde a $1,471 \pm 0,204$ mg/L. Pode-se também estimar que após 24 horas de ensaio a quantidade, em mg de acordo com a capacidade do compartimento doador, de ouro corresponde a $2,79 \times 10^{-2} \pm 3,87 \times 10^{-3}$ mg. Esta quantidade corresponde a aproximadamente 33,9% da massa disponível no compartimento doador.

A FIGURA 42 corresponde ao espectro eletrônico de uma solução aquosa de nanopartículas de ouro coletada no compartimento receptor após 24 horas de ensaio de permeação. Também pode-se observar a presença da banda SPR característica da solução de nanopartículas de ouro e, como havia ocorrido no ensaio de permeação com nanopartículas de prata (item 5.4.1), sua máxima absorção é menor que a da solução doadora. Este fato novamente está relacionado à diluição que ocorre no compartimento receptor com as nanopartículas e também com a quantidade que permeia através da membrana durante a realização do experimento.

Observa-se que não há alteração substancial no espectro eletrônico das soluções antes e após a permeação. Isto é indicativo da estabilidade das nanopartículas, durante o ensaio de permeação, além de não haver coalescência das nanopartículas. Se isto tivesse ocorrido, certamente a banda teria seu comprimento de onda na máxima absorção deslocado para região de menor energia.

Figura 42 – Espectro eletrônico da solução aquosa de nanopartículas de ouro do compartimento receptor ao final do ensaio.



Fonte: Autor, 2015.

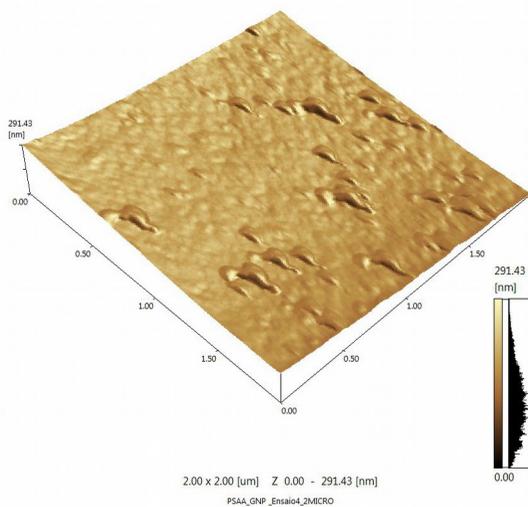
Também foram realizadas micrografias por microscopia de força atômica para uma membrana de poli-[St-co-AA] após 24 horas de permeação e as imagens mostram que a sua superfície permanece regular e uniforme.

Figura 43 – Microscopia de força atômica poli- $\{St-co-AA\}$ após permeação com nanopartículas de ouro, área 5 x 5 μm .



Fonte: Autor, 2015.

Figura 44 – Microscopia de força atômica poli- $\{St-co-AA\}$ após permeação com nanopartículas de ouro, área 2 x 2 μm .



Fonte: Autor, 2015.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram desenvolvidos estudos sobre a permeação de nanopartículas metálicas em membranas poliméricas utilizando-se célula de difusão vertical e técnicas eletroquímicas.

O método de produção de membranas por *casting* foi possível apenas ao poli- $\{St-co-AA\}$ para as aplicações em células de difusão mas para os estudos eletroquímicos com eletrodos modificados foi possível a utilização de ambos os materiais poliméricos. No caso do poli- $\{StS-co-AA\}$ a aplicação ficou restrita aos estudos eletroquímicos devido à natureza quebradiça de suas membranas obtidas por *casting*.

As nanopartículas de ouro apresentaram o diâmetro médio de 10 nm e as nanopartículas de prata de aproximadamente 28 nm e ambas apresentaram a banda SPR característica.

Os ensaios de permeação passiva de nanopartículas de prata em célula de difusão comprovou que as membranas de poli- $\{St-co-AA\}$ são permeáveis a estas espécies e após a realização apresentam-se ainda preservadas mostrando que a permeação ocorreu através das mesmas e não de orifícios ou falhas.

Os estudos de eletroatividade demonstraram que os polímeros poli- $\{St-co-AA\}$ e poli- $\{StS-co-AA\}$ são permeáveis às nanopartículas de prata e também de íons prata. Para o processo de permeação de íons prata ficou comprovado que o material polimérico utilizado não modifica os potenciais redox e o perfil voltamétrico observados para a prata em eletrodo de platina. A diferença encontrada é a perda de carga que para o eletrodo revestido com poli- $\{StS-co-AA\}$ representa 36% e para o eletrodo revestido com é de 49%.

Para os estudos de eletroatividade com nanopartículas metálicas conclui-se que a presença do grupo $-SO_3H$ favorece a formação e estabilização de íons prata. Assim, inicialmente o fluxo de corrente anódica é maior em eletrodos de platina recobertos com poli- $\{StS-co-AA\}$. No caso de eletrodos recobertos com poli- $\{St-co-AA\}$ a ausência do grupo sulfona diminui a permeabilidade e a condutividade protônica, comportando-se como uma barreira física para as nanopartículas de prata.

Os estudos de permeação passiva de nanopartículas de ouro

demonstraram também a permeabilidade do poli- $\{St-co-AA\}$ a este material e sua integridade ao final do experimento. A quantidade de nanopartículas de ouro que permeiam o material, de acordo com as condições experimentais, corresponde a 33,9% da massa disponível no compartimento doador.

Estes resultados são promissores para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlado por polímeros poli- $\{St-co-AA\}$ e poli- $\{StS-co-AA\}$ pois a comprovação de permeação a estas espécies é uma primeira etapa nesta direção. Como sugestões de trabalhos futuros pode-se:

- Avaliar também o processo difusional de nanopartículas de Au e Ag revestidas com diferentes fármacos, por exemplo N-acetilcisteína ou diclofenaco sódico, possibilitando assim a compreensão desse processo aplicado a um sistema de carregamento;

- Utilização de fonoforese e iontoforese como agentes facilitadores de permeação, comparando-os com a permeação passiva e

- Caracterizar as propriedades elétricas das membranas ao longo do tempo por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. “Panorama Nanotecnologia”. **Série Cadernos da indústria ABDI XIX**. Brasília: ABDI, 2010.

AZAGURY, A. et al. “Ultrasound mediated transdermal drug delivery”. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 72, 127–143, 2014.

BECKER, C. M. et al. “Sulfonation and Characterization of Styrene-Indene Copolymers for the Development of Proton Conducting Polymer Membranes”. **Polímeros**, vol. 22, n. 4, p. 395-400, 2012.

CARDOSO, E. et al. “Acute and chronic administration of gold nanoparticles cause dna damage in the cerebral cortex of adult rats”. **Mutation Research**. v. 766-767, p. 25-30, 2014.

CRISTOVAN, F. H. et al. “Preparação e Caracterização Óptica de Filmes de Poli(Estireno Sulfonados) dopados com Neodímio”. **Química Nova**, Vol. 28, No. 6, 964-967, 2005.

DAS, M et al. “Review on Gold Nanoparticles and Their Applications”. **Toxicol. Environ. Health. Sci**. 3(4), 193-205, 2011.

DOHNERT, M. B. et al. “Gold nanoparticles and diclofenac diethylammonium administered by iontophoresis reduce inflammatory cytokines expression in Achilles tendinitis”. **International Journal of Nanomedicine**. v. 7, p. 1651-1657, 2012.

DOHNERT, M. B. et al. “Inflammatory Cytokines Content in Achilles Tendinopathy after Phonophoresis Treatment Combined with Gold Nanoparticles and Diclophenac Diethylammonium in Rats”. **Inflammation**. v. 1, p. 1, 2014.

DOYEN, M. et al. “UV–Vis and NMR study of the formation of gold nanoparticles by citrate reduction: Observation of gold–citrate

aggregates”. **Journal of Colloid and Interface Science.** 399, 1–5, 2013.

DUNCAN, B. et al. “Gold nanoparticle platforms as drug and biomacromolecule delivery systems”. **Journal of Controlled Release.** 148, 122–127, 2010.

ENGELMANN, J. et al. “Pulsed Ultrasound and Dimethylsulfoxide Gel Treatment Reduces the Expression of Pro-Inflammatory Molecules in an Animal Model of Muscle Injury”. **Ultrasound in Medicine & Biology.** v. 38, p. 1470-1475, 2012.

FAGHIHI, K. e SHABANIAN, M.. “Thermal and optical properties of silver-polyimide nanocomposite based on diphenyl sulfone moieties in the main chain”. **J. Chil. Chem. Soc.**, 56, N° 2, 665-667, 2011.

FAN, Q et al. “Iontophoretic transdermal drug delivery system using a conducting polymeric membrane”. **Journal of Membrane Science.** 321, 240–249, 2008.

FERREIRA, H. S. et al. “A Spectroscopic Study of Au/CeXZr1–XO2 Catalysts.” **Brazilian Journal of Physics.** vol. 39, no. 1A, 141-145, 2009.

GAIKWAD, S. C. et al. “Screening of different fusarium species to select potential species for the synthesis of silver nanoparticles”. **J. Braz. Chem. Soc.** Vol. 24, No. 12, 1974-1982, 2013.

GARCÍA-BARRASA, J. et al. “Silver nanoparticles: synthesis through chemical methods in solution and biomedical applications”. **Central European Journal of Chemistry.** 9(1), 7-19, 2011.

GHOSH, P. et al. “Gold nanoparticles in delivery applications”. **Advanced Drug Delivery Reviews.** 60, 1307–1315, 2008.

GUAN, R. et al. “Polyethersulfone sulfonated by chlorosulfonic acid

and its membrane characteristics”. **European Polymer Journal**. 41, 1554–1560, 2005.

HARRIS, Daniel C. **Análise Química Quantitativa**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

HUANG, D. et al. “A morpholinium surfactant crystallization induced formation of Au nanoparticle sheet-like assemblies with uniform SERS activity”. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**. 456, 100–107, 2014.

HUANG, H.-C. et al. “Inorganic nanoparticles for cancer imaging and therapy”. **Journal of Controlled Release**. 155, 344–357, 2011.

HUANG, Y. et al. “Co-administration of protein drugs with gold nanoparticles to enable percutaneous delivery”. **Biomaterials**. 31, 9086–9091, 2010.

JITHUNSA, M. et al. “Poly(acrylic acid-co-4-vinylimidazole)/Sulfonated poly(ether ether ketone) blend membranes: A role of polymer chain with proton acceptor and donor for enhancing proton transfer in anhydrous system”. **International Journal of Hydrogen Energy**. 36, 10384–10391, 2011.

LABOUTA, H.I. e SCHNEIDER, M. “Interaction of inorganic nanoparticles with the skin barrier: current status and critical review”. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**. 9, 39–54, 2013.

LEE, C.-F et al. “Morphological determination of face-centered-cubic metallic nanoparticles by X-ray diffraction”. **Journal of Colloid and Interface Science**. 369, 129–133, 2012.

LUO, Z. et al. “Reduced graphene oxide/PAMAM–silver nanoparticles nanocomposite modified electrode for direct electrochemistry of glucose oxidase and glucose sensing”. **Biosensors and Bioelectronics**. 36, 179–

185, 2012.

MARTINS, C. R. et al. "Synthesis in Pilot Plant Scale and Physical Properties of Sulfonated Polystyrene". **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 14, No. 5, 797-802, 2003.

MORRISON, R. T. e BOYD, R. N. **Química Orgânica**. 13 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.

MUNARI, U. B. et al. "Análise comparativa entre ultrassom terapêutico e auto-hemoterapia no tratamento de lesão muscular em modelo animal". **Fisioterapia Brasil**. V. 13, p. 371, 2012.

NABIFAR, A. et al. "Thermal polymerization of styrene in the presence of TEMPO". **Chemical Engineering Science**. 64, 304-312, 2009.

NG, S.-F et al. "A Comparative Study of Transmembrane Diffusion and Permeation of Ibuprofen across Synthetic Membranes Using Franz Diffusion Cells". **Pharmaceutics**. 2, 209-223, 2010.

NGUYEN, D. T. et al "Controlled synthesis and biomolecular probe application of gold nanoparticles". **Micron**. 42, 207-227, 2011.

PARK, D. et al. "Sonophoresis in transdermal drug deliveries". **Ultrasonics**. 54, 56-65, 2014.

PAULA, M. M. S. et al. "Electrochemical evaluation of poly-[styrene-co-acrylic acid] membranes for use in Proton Exchange Membrane Fuel Cell (PEMFC)". Submitted to **Journal of Applied Electrochemistry** number JACH-S-15-00060.

PAULA, M. M. S. et al. "In vitro Effect of Silver Nanoparticles on Creatine Kinase Activity". **J. Braz. Chem. Soc.** Vol. 20, No. 8, 1556-1560, 2009.

PEREIRA, D. V. et al.. "Effects of Gold Nanoparticles on Endotoxin-

Induced Uveitis in Rats”. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. V. 53, p. 8036-8041, 2012.

PHILIP, D.. “Synthesis and spectroscopic characterization of gold nanoparticles”. **Spectrochimica Acta**. Part A, 71 80–85, 2008.

PISSUWAN, D. et al. “The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems”. **Journal of Controlled Release**. 149, 65–71, 2011.

PRABHAKAR, D. et al. “Transdermal Drug Delivery Patches: A Review”. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**. 3(4), 213-221, 2013.

PRAUSNITZ, M. R. e LANGER, R. “Transdermal drug delivery”. **Nat Biotechnol**. 26(11), 1261–1268, 2009.

PROW, T. W. et al. “Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery”. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 63, 470–491, 2011.

RANA, S. et al. “Monolayer coated gold nanoparticles for delivery applications”. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 64, 200–216, 2012.

SEBASTIÁN, P. et al. “First stages of silver electrodeposition in a deep eutectic solvent. Comparative behavior in aqueous medium”. **Electrochimica Acta**. 112, 149– 158, 2013.

SEGALA, K. et al. “Characterization of Poly-{trans-[RuCl₂(vpy)₄]-styrene-4-vinylpyridine} Impregnated with Silver Nanoparticles in Non Aqueous Medium”. **J. Braz. Chem. Soc**. Vol. 17, No. 8, 1679-1682, 2006.

SETO, J. E. et al. “Effects of ultrasound and sodium lauryl sulfate on the transdermal delivery of hydrophilic permeants: Comparative in vitro studies with full-thickness and split-thickness pig and human skin”. **Journal of Controlled Release**. 145, 26–32, 2010.

SILVA, J.A. et al. “Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas”. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**. 31(3), 125-131, 2010.

SILVEIRA, P. C. L. et al. “Effects of Therapeutic Pulsed Ultrasound and Dimethylsulfoxide (DMSO) Phonophoresis on Parameters of Oxidative Stress in Traumatized Muscle”. *Ultrasound in Medicine & Biology*. V. 36, p. 44-50, 2010.

SILVEIRA, P. C. L. et al. “Effects of phonophoresis with gold nanoparticles on oxidative stress parameters in a traumatic muscle injury model”. **Drug Delivery**, v. 41, p. 1-7, 2014.

SILVEIRA, P. C. L. et al. “Iontophoresis with Gold Nanoparticles Improves Mitochondrial Activity and Oxidative Stress Markers of Burn Wounds”. **Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems**. v. 44, p. 380-385, 2014.

SKOOG et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8 ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007.

SMITHA, B. et al. “Synthesis and characterization of proton conducting polymer membranes for fuel cells”. **Journal of Membrane Science**. 225, 63–76, 2003.

STAMATIALIS, Dimitrios F. et al. “Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering”. **Journal of Membrane Science**. 308, 1–34, 2008.

TOMA, H. E. et al. “Da cor à cor inexistente: Uma reflexão sobre espectros eletrônicos e efeitos cromáticos”. **Química Nova**. v. 28, No. 5, 897-900, 2005.

TURKEVICH, J. et al. “A study of the nucleation and growth process in

the synthesis of colloidal gold”. **Discussion of the Faraday Society**. 11, 55-75, 1951.

VERMA, Ayush et al. “Surface-structure-regulated cell-membrane penetration by monolayer-protected nanoparticles”. **Nature Materials**. v. 7, p. 588-595, 2008.

VICTOR, E. G et al. “Pulsed ultrasound associated with gold nanoparticle gel reduces oxidative stress parameters and expression of proinflammatory molecules in an animal model of muscle injury”. **Journal of Nanobiotechnology**. v. 10, p. 11, 2012.

YOU, C. et al. “The progress of silver nanoparticles in the antibacterial mechanism, clinical application and cytotoxicity”. **Mol Biol Rep**. 39, 9193–9201, 2012.

YOU, J. et al. “Quaternized cellulose-supported gold nanoparticles as capillarycoatings to enhance protein separation by capillary electrophoresis”. **Journal of Chromatography A**. 1343, 160–166, 2014.

YU, C. et al. “Immobilization, direct electrochemistry and electrocatalysis of hemoglobin on colloidal silver nanoparticles-chitosan film”. **Electrochimica Acta**. 55, 8738–8743, 2010.

ZARBIN, A. J. G.. “Química de (Nano)Materiais”. **Química Nova**. 30, No. 6, 1469-1479, 2007.

ZHAO, P. et al. “State of the art in gold nanoparticle synthesis”. **Coordination Chemistry Reviews**. 257, 638–665, 2013.

ZHOU, J. et al. “Functionalized gold nanoparticles: Synthesis, structure and colloid stability”. **Journal of Colloid and Interface Science**. 331, 251–262, 2009.

ZORTEA, D. et al. “Effects of Phonophoresis and Gold Nanoparticles in

Experimental Model of Muscle Overuse: Role of Oxidative Stress".
Ultrasound in Medicine & Biology, v. 41, p. 151-162, 2015.