



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química
Departamento de Físico-Química

Tese de Doutorado

O Uso de RMN Para Estudar a Estrutura da Água em Interfaces e Sistemas Coloidais

Fernanda do Carmo Egidio

Orientador: Prof. Dr. Edvaldo Sabadini
Co-orientador: Prof. Dr. Fred Yukio Fujiwara

Campinas – 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

Eg41u

Egidio, Fernanda do Carmo.

O uso de RMN para estudar a estrutura da água em interfaces e sistemas coloidais / Fernanda do Carmo Egidio. -- Campinas, SP: [s.n], 2011.

Orientador: Prof. Dr. Edvaldo Sabadini.

Co-orientador: Prof. Dr. Fred Yukio Fujiwara

Doutorado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Relaxação. 2. Interfaces coloidais. 3. Sistemas coloidais. 4. Hidrogéis supramoleculares. I. Sabadini, Edvaldo. II. Fujiwara, Fred Yukio. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.

Título em inglês: The use of NMR to study the structure of water at interfaces and colloidal systems

Palavras-chaves em inglês: Relaxation, Colloidal interfaces, Colloidal systems, Supramolecular hydrogels

Área de concentração: Físico-Química

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Prof. Dr. Edvaldo Sabadini (orientador), Prof. Dr. Fred Yukio Fujiwara (co-orientador), Prof. Dr. Tiago Venâncio (IQ-UFSCar), Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto (DEA-UNESP), Prof. Dr. Celso Aparecido Bertran (IQ-UNICAMP), Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli (IQ-UNICAMP)

Data de defesa: 29/07/2011

“Se as conquistas úteis à humanidade vos comovem; se ficais pasmados diante da telegrafia elétrica, da fotografia, da anestesia, e de tantas outras descobertas; se estais orgulhosos e conscientes da parte que cabe ao vosso país na conquista dessas maravilhas, tomai interesse, eu vos conjuro, por esses recintos sagrados que chamamos de laboratórios. Fazeis o possível para que eles se multipliquem. Eles representam os templos do futuro, da riqueza e do bem-estar social. É por intermédio deles que a humanidade melhora e cresce. É neles que o homem aprende a ler os segredos da natureza e da harmonia universal, enquanto as obras do homem são quase sempre obras de barbárie, de fanatismo e de destruição...”

(Marie Curie, em seu discurso na inauguração do Instituto do Rádio, em Paris, julho de 1914, início da 1ª Guerra Mundial)

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, Joana, e meu marido, Junior, pelo incentivo, apoio, convivência e, principalmente, paciência. A minha afilhada, Thelma, por me incentivar a continuar.

Às amigas Juliana da Silva Bernardes, Adriana Calderini e Lílian Padula que, desde 2000, foram sempre presentes em minha vida. Meu sincero agradecimento pelo carinho e companheirismo.

A todos os amigos do laboratório, pela constante alegria em nosso ambiente de trabalho. Maíra M. S. G. Simões, Suélen H. Takahashi, Kelly R. Francisco, Ana Maria Percebom, Maira Ferreira, Thiago Ito, Rogério Sassonia, Regiane da Silva, Roberta Kamei, Vanessa Bizotto, Fernanda Simplicio, Marcelo Alves, obrigada pela harmoniosa convivência.

À Maria de Lourdes Patrocínio da Silva Coccozza Simoni, pela amizade, pela confiança e pelo estímulo.

A meus alunos, que tanto me ensinam e me motivam.

Ao Prof. Dr. Edvaldo Sabadini, pela orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. Fred Yukio Fujiwara e ao Prof. Dr. Luiz Alberto Colnago, pelas imensuráveis contribuições neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto pela doação de amostras de 2,6-dimetil- β -ciclodextrina e de hidroxipropil- β -ciclodextrina.

Ao Prof. Dr. Munir Salomão Skaf e a suas orientandas, Denise C. Melo e Érica T. Prates, pelo trabalho de colaboração.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

CURRICULUM VITAE

Formação Acadêmica

- Bacharelado em Química
Universidade Estadual de Campinas
Março de 2000 – Novembro de 2003
- Mestrado em Química
Área: Físico-Química
Universidade Estadual de Campinas
Março de 2004 – Outubro de 2005
- Doutorado em Química
Área: Físico-Química
Universidade Estadual de Campinas
Novembro de 2005 – Julho de 2011

Congressos

- Egídio, F. C.; Sabadini, E. e Fujiwara, F. Y.
“Estudo Sobre a Solvatação de Açúcares por RMN Através da Relaxação das Moléculas de Água”.
In: 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas, MG (apresentação oral).
- Sabadini, E.; Egídio, F. C. e Monteiro, F.
“Solubility of Cyclodextrins in H₂O and D₂O. The Hydrogen Bonding Effect”.
In: 8th Latin American Conference on Physical Organic Chemistry, 2005, Florianópolis, SC.

- 2nd International Symposium on Calorimetry and Chemical Thermodynamics sem apresentação de trabalho.
- Egídio, F. C.; Sabadini, E. e Fujiwara, F. Y.
 “O Uso de RMN para Estudar a Relaxação da Água em Soluções de Polímeros Hidrofílicos”
 In: 31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia, SP.
- Egídio, F. C.; Sabadini, E. e Fujiwara, F. Y.
 “Hidrogéis Supramoleculares de α -Ciclodextrina e PEG: Estudos Sobre a Formação e Estrutura Através da Relaxação da Água”
 In: I Encontro Sobre Estruturas Auto-organizadas em Soluções e Interfaces, 2008, São Pedro, SP.

Publicações Científicas

- Sabadini, E.; Cosgrove, T. and Egídio, F. C.
 “Solubility of cyclomaltooligosaccharides (cyclodextrins) in H₂O and D₂O: a comparative study”
Carbohydrate Research, 341 (2006), 270-274
- Sabadini, E.; Egídio, F. C.; Fujiwara, F. Y. and Cosgrove, T.
 “Use of water spin-spin relaxation rate to probe the solvation of cyclodextrins in aqueous solutions”
The Journal of Physical Chemistry B, 112 (2008), 3328-3332

RESUMO

O USO DE RMN PARA ESTUDAR A ESTRUTURA DA ÁGUA EM INTERFACES E SISTEMAS COLOIDAIIS. O modelo de dois sítios, utilizado nos estudos de relaxação do solvente em soluções de carboidratos, pode ser transposto de forma satisfatória para soluções de polímeros hidrofílicos. Polímeros que possuem hidrogênios lábeis, isto é, que possuem hidrogênios disponíveis para troca química com os hidrogênios da água, causam aumento da taxa de relaxação spin-spin do solvente, R_2 , em relação ao valor obtido para a água pura. O efeito torna-se mais intenso na medida em que a concentração dos polímeros aumenta. Polímeros que não possuem hidrogênios lábeis não alteram significativamente o R_2 do solvente, pois o mecanismo de troca química não é estabelecido. A relaxação do solvente pode ser usada para estudar o processo de transição sol-gel em sistemas poliméricos. Conforme o gel é formado, as moléculas de água começam a ser confinadas e a taxa de relaxação do solvente aumenta significativamente. A estrutura de hidrogéis supramoleculares formados entre PEG e α -CD, a qual possui uma cavidade hidrofóbica em relação ao seu exterior hidrofílico, dependem das concentrações de seus constituintes e da massa molar do polímero. Quanto maior a massa molar do polímero, menor o número de pontos de reticulação e mais frágil será o hidrogel. A partir da entrada de 2 moléculas de α -CD em uma cadeia de PEG linear 1.470 Da, a complexação torna-se mais intensa, levando ao recobrimento de toda a cadeia polimérica. A cinética de gelação entre α -CD e PEG, estudada por medidas do tempo de relaxação spin-spin ($T_2 = 1/R_2$) do solvente, fornece um perfil de curva que pode explicar o processo de complexação e formação do gel como um todo. A liberação e o confinamento de moléculas de água são refletidos no tempo de relaxação spin-spin destas. Ao liberar moléculas de água, observa-se uma diminuição nos valores de R_2 da água até um ponto mínimo, a partir do qual os valores começam a aumentar devido ao confinamento destas moléculas.

ABSTRACT

THE USE OF NMR TO STUDY THE STRUCTURE OF WATER AT INTERFACES AND COLLOIDAL SYSTEMS. The two sites model used in the studies of solvent relaxation in carbohydrate solutions was also applied for hydrophilic polymer solutions. Polymers with labile hydrogen atoms, meaning they have hydrogen available for chemical exchange with the hydrogen atoms of water, increase the solvent spin-spin relaxation rate, R_2 , relative to the pure water. The effect becomes more intense as the polymer concentration increases. Polymers without labile hydrogen do not affect significantly R_2 of the solvent, because the chemical exchange mechanism is not established in this case. The solvent relaxation can be used to study the process of sol-gel transition in polymer systems. When the gel is formed, the water molecules become confined and the solvent relaxation rate increases significantly. The structure of supramolecular hydrogels formed from PEG and α -CD, which has a hydrophobic cavity and exterior hydrophilic, depends on the concentration of the constituents and the molar mass of the polymer. The higher is the molar mass of the polymer, the fewer is the crosslinking points and more the fragile is hydrogel. Since the inclusion of two α -CD molecules in a chain of linear PEG 1470 Da, the complexation becomes more intense, leading to the full inclusion complex. The kinetics of hydrogel formation between α -CD and PEG was studied by relaxation time measurements of the spin-spin ($T_2 = 1/R_2$) of the solvent, provides a curve, whose shape can be used to explain the process of complexation and the gelation process at all. The release and confinement of water molecules of the gel affect spin-spin relaxation time of the water molecules. The releasing of the water molecules, results in the decreasing of R_2 up to a minimum value, and beyond this point the values increase again, due to confinement of these molecules.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	xix
LISTA DE TABELAS	xxi
LISTA DE FIGURAS	xxiii
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	01
1.1 FUNDAMENTOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	01
1.1.1 NÍVEIS ENERGÉTICOS E TRANSIÇÕES	02
1.1.2 EFEITO DA ENERGIA DE RADIOFREQUÊNCIA	04
1.2 PROCESSO DE RELAXAÇÃO	06
1.2.1 EVOLUÇÃO DA MAGNETIZAÇÃO – EQUAÇÕES DE BLOCH	11
1.2.2 MEDIDAS DE T_2 – A SEQUENCIA DE PULSOS CPMG	14
1.2.3 A RELAXAÇÃO DO SOLVENTE	19
1.3 SISTEMAS COLOIDAIIS	20
1.4 AS CICLODEXTRINAS	21
1.5 AS CICLODEXTRINAS NA QUÍMICA SUPRAMOLECULAR	24
1.6 OBJETIVOS	28
2. A RELAXAÇÃO DO SOLVENTE EM SOLUÇÕES DE CICLODEXTRINAS E DE OUTROS CARBOIDRATOS	29
2.1 METODOLOGIA	29
2.1.1 SOLUÇÕES DE DEXTRINA, DEXTRANA E β -LACTOSE	30
2.1.2 SOLUÇÕES DE CICLODEXTRINAS SUBSTITUÍDAS	31
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
2.2.1 SOLUÇÕES DE DEXTRINA, DEXTRANA E β -LACTOSE	34
2.2.2 SOLUÇÕES DE CICLODEXTRINAS SUBSTITUÍDAS	41

3. POLÍMEROS HIDROFÍLICOS	48
3.1 METODOLOGIA	48
3.1.1 EFEITO DA PRESENÇA DE GRUPOS HIDROFÍLICOS	49
3.1.2. INFLUÊNCIA DO pH EM SOLUÇÕES DE PAA	49
3.1.3 EFEITO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO SOL-GEL	50
3.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
3.2.1 EFEITO DA PRESENÇA DE GRUPOS HIDROFÍLICOS	50
3.2.2. INFLUÊNCIA DO pH EM SOLUÇÕES DE PAA	63
3.2.3 EFEITO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO SOL-GEL	64
4.COMPLEXOS DE INCLUSÃO ENTRE CICLODEXTRINAS E POLI(ETILENO GLICOL)	67
4.1HIDROGÉIS SUPRAMOLECULARES	67
4.2 METODOLOGIA	69
4.2.1 ESTEQUIOMETRIA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM D ₂ O	69
4.2.2 CINÉTICA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM D ₂ O	69
4.2.3 ESTRUTURAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM H ₂ O	70
4.2.4 CINÉTICA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM H ₂ O	70
4.2.5 QUANTIFICAÇÃO DO NÚMERO DE MOLÉCULAS DE α -CD POR MOLÉCULA DE PEG NO HIDROGEL FORMADO EM H ₂ O	70
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	71
4.3.1ESTEQUIOMETRIA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM D ₂ O	72
4.3.2 CINÉTICA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM D ₂ O	74
4.3.3 ESTRUTURAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR	

EM H ₂ O – ESTUDOS DE RELAXAÇÃO DAS MOLÉCULAS DE ÁGUA	75
4.3.4 CINÉTICA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM H ₂ O	77
4.3.5 QUANTIFICAÇÃO DO NÚMERO DE MOLÉCULAS DE α -CD POR MOLÉCULA DE PEG NO HIDROGEL FORMADO EM H ₂ O	78
5. CONCLUSÕES	85
BIBLIOGRAFIA	88
APÊNDICE A	91
APÊNDICE B	92

LISTA DE ABREVIATURAS

Símbolo	Conceito
$\rightarrow$	
B_0	campo magnético externo
$\rightarrow$	
B_1	campo magnético associado à radiação de radiofrequência
CD	ciclodextrina
co-PAM	poli(acrilamida-co-ácido acrílico)
DMe- β -CD	dimetil- β -ciclodextrina
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
FID	<i>Free Induction Decay</i>
HP- β -CD	hidroxi-propil- β -ciclodextrina
$\rightarrow$	
I	vetor momento angular de spin
k	<i>constante de Boltzmann</i>
m_i	isocromata de spin
$\rightarrow$	
M	magnetização total da amostra
M_x	componente x da magnetização M
M_y	componente y da magnetização M
M_z	componente z da magnetização M
PAA	poli(ácido acrílico)
PAM	poli(acrilamida)
PEG	poli(etileno glicol)
PEGdME	poli(etileno glicol) dimetil éter
PVA	poli(álcool vinílico)
PVP	poli(vinilpirrolidona)
RF	radiofrequência
R_2	taxa de relaxação spin-spin
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
t_p	tempo de aplicação do pulso de radiofrequência
T_2	tempo de relaxação spin-spin
α -CD	alfa-ciclodextrina

<i>Símbolo</i>	<i>Conceito</i>
β -CD	beta-ciclodextrina
ϕ	ângulo de nutação
γ	razão magnetogírica
γ -CD	gama-ciclodextrina
$\vec{\mu}$	momento magnético nuclear
ν	frequência da radiação de radiofrequência
ω_0	frequência de precessão nuclear (frequência de Larmor)
τ	intervalo de tempo entre a aplicação do pulso de 90° e 180°
τ_c	tempo de correlação
ω	velocidade angular do sistema de spins

LISTA DE TABELAS

1. Valores calculados de F para os carboidratos estudados	36
2. Estruturas e nomes dos polímeros estudados	51

LISTA DE FIGURAS

1. Variação temporal de M_y e M_z	13
2. Sequência de pulsos CPMG utilizada para medidas de T_2 : a) aplicação de um pulso de 90° na direção x , $\vec{M}_0$ se desloca pra o eixo y ; b) isocromatas de spin precessando com velocidades diferentes, devido à não-homogeneidade de $\vec{B}_0$; c) aplicação de um pulso de 180° na direção y , após um tempo τ ; d) inversão das isocromatas no plano xy , mantendo suas velocidades; e) todos os $\vec{\mu}$ entram em fase, após um tempo 2τ , na direção y , o eco é detectado; f) aplicação de um pulso de 180° na direção y , após um tempo 3τ ; g) todos os $\vec{\mu}$ entram em fase, após um tempo 4τ , no sentido positivo da direção y , e o eco é novamente detectado	17
3. Ilustração do decaimento da altura do pico em função do tempo, cujo ajuste da curva permite a medida de T_2	18
4. Estrutura molecular da α -ciclodextrina e sua representação pictórica na forma de um cone oco	23
5. Representação molecular das CD na forma de um cone truncado, com as dimensões aproximadas em ângstrons	24
6. Estrutura supramolecular de estequiometria 2:1 formada entre α -CD e poli(etileno glicol)	27
7. Efeito da presença de oxigênio nos valores da taxa de relaxação da água, em diferentes temperaturas	34
8. Taxas de relaxação do solvente em soluções de alguns carboidratos em função de suas frações máximas de prótons intercambiáveis	35

9. Estrutura molecular da glicose (α -D-glicose) com a numeração nos átomos de carbono	36
10. Estrutura molecular das ciclodextrinas ($n = 6, 7$ ou 8)	37
11. Estrutura molecular da dextrana na forma linear (não enovelada)	38
12. Estrutura molecular da β -lactose	39
13. Estrutura molecular da dextrina	39
14. Taxas de relaxação do solvente em soluções de dextrina em função de suas frações máximas de prótons intercambiáveis (a esquerda). Na figura da direita, é repetido o gráfico com os outros carboidratos para comparação	40
15. Viscosidade relativa de soluções de dextrina em função da concentração	41
16. Secção da estrutura cristalina da β -CD.12D ₂ O deuterada, onde as ligações de hidrogênio são indicadas pelas linhas tracejadas e, as ligações de hidrogênio “flip-flop”, pelas setas curvas	44
17. Taxa de relaxação da água em soluções de β -CD, HP- β -CD e DMe- β -CD em função de suas concentrações em % (m/m)	45
18. Taxas de relaxação do solvente em soluções de β -CD, HP- β -CD e DMe- β -CD em função de suas frações máximas de prótons intercambiáveis	46
19. Estruturas moleculares das espécies: A) ciclodextrinas ($n = 6, 7$ ou 8); B) DMe- β -CD; C) HP- β -CD ($R = H$ ou $CH_2CH_2(OH)CH_3$)	47
20. Taxas de relaxação do solvente em soluções de alguns polímeros hidrofílicos em função da concentração a 25 °C	52

21. Taxas de relaxação do solvente em soluções de PVA 13000 e 85000 Da em função da concentração a 25 °C	54
22. Taxas de relaxação do solvente em soluções de PEG 200, 300, 400 e 6.000 Da em função da concentração a 25 °C	55
23. Termograma (DSC) de resfriamento e 2º aquecimento do PEG 200 Da	56
24. Termograma (DSC) de resfriamento e 2º aquecimento do PEG 300 Da	56
25. Esquema dos polímeros usados na simulação e suas respectivas denominações. Em verde, os átomos do carbono; em branco, os átomos de hidrogênio; em vermelho, os átomos de oxigênio	58
26. <i>Snapshots</i> da trajetória alinhados para o PEG 200 Da	59
27. <i>Snapshots</i> da trajetória alinhados para o PEGdME 200 Da	59
28. <i>Snapshots</i> da trajetória alinhados para o PEG 400 Da	60
29. <i>Snapshots</i> da trajetória alinhados para o PEGdME 400 Da	60
30. Função de probabilidade de sobrevivência das moléculas de água a 4 Å de cada polímero	62
31. Efeito do pH na relaxação spin-spin do solvente a 25 °C a) em água Milli-Q e em solução 1% (m/m) de PAA em água Milli-Q e b) em solução 0,1 mol l ⁻¹ de NaCl e em solução 1% (m/m) de PAA em solução salina 0,1 mol l ⁻¹	64
32. Efeito da temperatura na relaxação da água durante a transição sol-gel de soluções de F127 20% (m/m) e PNIPAM 5% (m/m)	65

33. a) Representação dos pontos de reticulação em hidrogéis supramoleculares de α -CD e PEG. A microcristalização das moléculas de ciclodextrinas forma estruturas colunares, que atuam como agentes de reticulação. b) Aspecto visual do hidrogel supramolecular (adaptado da ref. 36)	68
34. Rendimento dos hidrogéis formados em D ₂ O para diferentes concentrações de α -CD com diferentes PEGs, nos quais a concentração foi mantida fixa em 0,5%	73
35. Cinética de formação dos hidrogéis em D ₂ O com variação da massa molar do PEG	74
36. Taxa de relaxação dos prótons das moléculas de água em hidrogéis supramoleculares variando-se a concentração de α -CD	76
37. Cinética de formação dos hidrogéis com variação de concentração de PEG 6.000 Da. Os estudos se baseiam na taxa de relaxação dos prótons das moléculas de água	77
38. Curva de calibração para determinação da concentração de α -CD no sobrenadante de amostras do hidrogel por Polarimetria	79
39. Número de moléculas de α -CD por molécula de PEG no hidrogel versus a concentração relativa inicial de α -CD	80
40. Distribuição de Poisson para variadas concentrações de α -CD: cálculo teórico da estequiometria de complexação	82
41. Gráfico onde são sobrepostos os valores experimentais e previstos pela distribuição de Poisson, referentes ao número de moléculas de α -CD complexadas por molécula de PEG, em toda a faixa de concentração estudada	83

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 FUNDAMENTOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, RMN, fundamenta-se na absorção seletiva de ondas de radiofrequência RF (10^6 a 10^9 Hz) por amostras, contendo núcleos magnéticos, colocadas em um campo magnético externo e homogêneo $\vec{B}_0$. Quando uma amostra ativa em RMN é colocada sob influência de $\vec{B}_0$, os núcleos realizam um movimento de precessão ao redor deste campo. Às ondas de RF está associado um campo magnético oscilatório $\vec{B}_1$. Para que o sistema entre em ressonância e absorva essa energia, a frequência de oscilação de $\vec{B}_1$ deve ser igual à frequência de precessão dos núcleos magnéticos da amostra. Os núcleos excitados pela radiação retornam ao estado inicial emitindo energia. A determinação precisa dos valores dessa energia e da velocidade de retorno do sistema ao estado inicial (relaxação) fornece informações sobre a estrutura molecular e sobre a dinâmica da amostra.

Uma molécula ativa para RMN deve apresentar núcleos magnéticos, isto é, núcleos atômicos que se comportam como minúsculos ímãs e, portanto, conseguem se alinhar com um campo magnético externo, quando submetidos a este. Núcleos magnéticos apresentam momento magnético nuclear $\vec{\mu}$, proporcional ao momento angular de spin nuclear $\vec{I}$ pelo fator γ , razão magnetogírica, uma constante própria de cada nuclídeo (núcleo magnético). O $\vec{I}$ é um momento angular intrínseco do nuclídeo.

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I} \quad [1]$$

O momento magnético nuclear pode ser tomado, em uma visão clássica, como resultante da rotação do núcleo em torno de um de seus eixos. Ou seja, uma distribuição de cargas, em movimento de spin, produz um campo eletromagnético, ao qual associa-se um momento magnético.

Em uma descrição quântica, o momento angular de spin nuclear $\vec{I}$ é uma propriedade vetorial com grandeza quantizada e expressa em termos do número quântico de spin nuclear I :

$$\vec{I} = [I(I + 1)]^{1/2} \hbar / 2\pi \quad [2]$$

onde $\hbar$ é a constante de Planck, $6,626 \times 10^{-34}$ J s, e I pode apresentar valores inteiros ou semi-inteiros. $I = 0$ representa núcleos com ausência de $\vec{I}$ e $\vec{\mu}$ e, conseqüentemente, inativos em RMN. A orientação do vetor $\vec{I}$ também não deve ser qualquer em relação a uma direção escolhida, z , por exemplo, qual é definida como a direção de aplicação do campo magnético. Apenas determinadas componentes $\vec{I}_z$ são permitidas, de acordo com os princípios da Mecânica Quântica:

$$\vec{I}_z = m_I \hbar / 2\pi = m_I \hbar \quad [3]$$

com m_I (número quântico magnético) assumindo os seguintes valores: $-I, -I + 1, \dots, +I$, quais representam as orientações permitidas para o spin nuclear. Para núcleos com $I = 1/2$, qualquer medida de seu $\vec{I}_z$ fornecerá sempre um dos valores $\pm \hbar/2$. A cada um dos $2I + 1$ valores de m_I corresponde um estado de spin nuclear descrito por uma função de onda de spin ψ . Essas funções são auto-funções do operador I_z , cujo auto-valor é $m_I \hbar$.

O número quântico de spin I é determinado pelo número de núcleons desemparelhados, de acordo com o Modelo de Camadas para a distribuição de núcleons, qual é semelhante ao modelo atômico de distribuição de elétrons em camadas e envolve sequências distintas de níveis energéticos para os prótons e para os nêutrons, onde o emparelhamento de núcleons ocorre apenas se estes apresentarem spins opostos. Núcleos com número par de prótons e nêutrons possuem $I = 0$.¹⁻⁴

1.1.1 NÍVEIS ENERGÉTICOS E TRANSIÇÕES

Quando uma amostra contendo nuclídeos é submetida a um campo magnético externo e homogêneo ($\vec{B}_0$), os vários estados de spin nuclear adquirem energias diferentes. Tais estados energéticos são degenerados na ausência de $\vec{B}_0$. Para um núcleo de $I = 1/2$, apenas dois níveis de energia são possíveis: o de menor

energia, α , correspondente à orientação preferida do núclídeo, com relação a $\vec{B}_0$ e, o de maior energia, β , à orientação oposta. Quanto maior for a intensidade de $\vec{B}_0$, mais estável será o nível α e mais instável o nível β , pois a diferença energética entre os níveis torna-se maior conforme a intensidade de $\vec{B}_0$ aumenta. Esses núclídeos adquirem energias diferentes e se distribuem entre os estados energéticos de spin nuclear, com pequeno excesso de população no nível de menor energia, de acordo com a agitação térmica do meio. Sendo z a direção de aplicação de $\vec{B}_0$, tem-se a energia correspondente à interação entre $\vec{\mu}_z$ e $\vec{B}_0$, considerando que $E = - \vec{\mu} \cdot \vec{B}_0$:

$$E = - \vec{\mu} \cdot \vec{B}_0 = - \gamma \vec{I}_z \vec{B}_0 = - \gamma m_I \hbar B_0 \quad [4]$$

Dependendo do valor de m_I , têm-se os valores das energias dos níveis α e β :

$$E_\alpha = -1/2 \gamma \hbar B_0 \quad [5a]$$

$$E_\beta = +1/2 \gamma \hbar B_0 \quad [5b]$$

$$E, \text{ portanto:} \quad \Delta E = E_\beta - E_\alpha = \gamma \hbar B_0 \quad [5c]$$

A regra de seleção para RMN diz que somente são permitidas transições entre dois níveis de energia adjacentes se $\Delta m_I = \pm 1$. A condição de ressonância é, pois, a seguinte:

$$\Delta E = h\nu = \gamma \hbar B_0 \quad [6a]$$

$$\text{que implica em:} \quad \nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad [6b]$$

onde ν é a frequência da radiação eletromagnética de RF necessária para que haja uma transição entre os níveis de energia de spin nuclear para um determinado núclídeo. Ou seja, num espectro de RMN, o sinal observado para esse núclídeo ocorre na frequência ν . Entretanto, torna-se necessário fazer uma normalização no valor de ν , pois quanto maior o $\vec{B}_0$ aplicado, maior será ν . Essa

normalização é feita baseada na frequência de um composto de referência, como o tetra-metil-silano (TMS), submetido ao mesmo campo $\vec{B}_0$ e é denominada deslocamento químico δ . Tipicamente, os valores de ν são muito pequenos (da ordem de Hz), devido à pequena diferença energética entre os níveis de spin nuclear, e torna-se conveniente expressar δ em partes por milhão, ppm. Esta normalização é muito útil, pois faz cada núcleo magnético apresentar o mesmo valor de deslocamento químico qualquer que seja o valor de $\vec{B}_0$ ^{1-2,4}

$$\delta_{\text{ppm}} = \frac{\nu - \nu_{\text{TMS}}}{\nu_{\text{TMS}}} \times 10^6 \quad [7]$$

1.1.2 EFEITO DA ENERGIA DE RADIOFREQUÊNCIA

A diferença entre as populações nos estados α e β determina um momento magnético total, ou magnetização macroscópica resultante, $\vec{M}_0 = \sum \vec{\mu}$, alinhada com $\vec{B}_0$, na direção z. Essa magnetização é a resultante do movimento de precessão que os vetores $\vec{\mu}$ dos núclídeos realizam ao redor de $\vec{B}_0$. A $\vec{M}_0$ se alinha a $\vec{B}_0$ devido à distribuição dos $\vec{\mu}$ individuais no cone de precessão, ao redor de $\vec{B}_0$, serem aleatórias. A frequência angular correspondente ao movimento de precessão dos $\vec{\mu}$ é ω_0 , denominada Frequência de Larmor.

Em RMN, a variação da componente da magnetização no plano xy é o que se detecta através de uma bobina alinhada a esse plano. Para que isso seja possível, é preciso que a magnetização se desloque da direção z, produzindo componentes nos eixos x e y. A forma encontrada para se produzir tal deslocamento, foi usar o conceito de ressonância através da aplicação de um campo magnético oscilatório $\vec{B}_1$ muito pequeno (10^{-3} a 10^{-2} T), em relação a $\vec{B}_0$ (2,5 a 15 T), ao longo do eixo x. Entretanto esse campo deve oscilar na frequência de Larmor, ou seja $\omega = \omega_0$, que é a condição para que haja ressonância entre o sistema de spins nucleares e a radiação RF e transferência de energia entre eles. Atualmente, utiliza-se a aplicação de um pulso de RF (método de onda pulsada), que é equivalente à aplicação simultânea de uma gama de frequências durante um intervalo de tempo

muito curto (1 a 100 μs). A duração do pulso, t_p , e a intensidade de B_1 determinam o ângulo de deslocamento de M_0 da direção z , ângulo de nutação, $\phi = \gamma B_1 t_p$. Um campo magnético oscilatório, com amplitude e duração de aplicação adequadas para produzir uma rotação ϕ de $\pi/2$ rad, é chamado de pulso de 90° . Se o pulso for ajustado para produzir uma rotação de π rad, será designado como pulso de 180° . Desta forma, o ajuste do tempo de aplicação do pulso de RF permite que a magnetização seja colocada em qualquer direção escolhida, sem perda em sua grandeza, desde que t_p seja muito menor que o tempo de relaxação spin-spin dos núcleos analisados. A definição precisa deste tempo será feita adiante. Portanto, o controle de ϕ é a base das técnicas de medidas do tempo de relaxação spin-spin, T_2 . Os tempos de relaxação T_2 é o parâmetro mais relevante neste trabalho.

A aplicação de um pulso de RF, na direção x , perpendicular a $\vec{B}_0$, faz alguns núclídeos do estado α absorverem energia, alterando as populações entre os níveis. A interação de $\vec{B}_1$ com os $\vec{\mu}$ da amostra é a responsável pela alteração na distribuição dos núcleos magnéticos entre os estados energéticos. Para que $\vec{B}_1$ interaja com os $\vec{\mu}$ (fenômeno de ressonância) é necessário que algum componente do vetor $\vec{\mu}$ varie com a mesma frequência ω_0 que $\vec{B}_1$. Como a orientação dos $\vec{\mu}$ é aleatória ao redor de $\vec{B}_0$, $\vec{\mu}$ só pode ser conhecido em grandeza e através de sua projeção na direção z . As componentes nos eixos x e y variam periodicamente, o que é equivalente a assumir que o vetor $\vec{\mu}$ precessa ao redor de $\vec{B}_0$, e justifica a possibilidade de interação de $\vec{\mu}$ com $\vec{B}_1$. O pulso de RF induz os $\vec{\mu}$ a precessarem em fase, criando uma coerência de fase em seus movimentos, e tende a agrupá-los em semi-cones (para os estados α e β), o que faz a magnetização macroscópica resultante ser deslocada da direção z segundo o ângulo de nutação ϕ , definido de acordo com t_p . Essa magnetização, então, passa a precessar ao redor de $\vec{B}_0$ com a frequência do campo oscilatório, ω_0 , gerando componentes oscilatórias nos eixos x e y ($\vec{M}_x$ e $\vec{M}_y$). Esses componentes induzem, segundo seus respectivos eixos, uma corrente elétrica que pode ser detectada por uma bobina receptora, usualmente alinhada com o eixo y , detectando-se, portanto,

variações na componente M_y . Quando a condição de ressonância é atingida e ocorre absorção da radiação de RF correspondente à transição entre os níveis energéticos, é registrado um sinal elétrico traduzido em um pico no espectro.

O campo magnético $\vec{B}_1$ oscila linearmente ao longo do eixo x , variando de $-x$ a $+x$, o que é equivalente a uma oscilação circular, no plano xy , de duas componentes deste campo, B_1^+ e B_1^- , que oscilam em sentidos contrários com frequências $+\omega_0$ e $-\omega_0$, respectivamente. Sendo a Frequência de Larmor uma quantidade negativa para núclídeos com $\gamma > 0$, a precessão dos $\vec{\mu}$ ocorre no sentido negativo, de $+x$ para $-y$, antes da aplicação da radiação de RF, neste caso. O sentido negativo é o mesmo do sentido de oscilação de B_1^- . Desta forma, B_1^- interage com os $\vec{\mu}$, enquanto B_1^+ pode ser desprezada por não possuir interação significativa com os $\vec{\mu}$. Entretanto, B_1^- possui uma dependência temporal que pode ser removida através de um truque matemático que utiliza um sistema cartesiano rotativo que oscila na mesma frequência que B_1^- . Esse referencial rotativo (x' , y' e z') possui o eixo z' alinhado ao eixo z do referencial do laboratório (considerado até agora) e os eixos x' e y' rotacionando ao redor de z' com frequência $-\omega_0$.^{1-2,4}

1.2 PROCESSO DE RELAXAÇÃO

Quando o sistema entra em coerência, ocorre o aparecimento de componentes da magnetização nos eixos cartesianos, cujos valores são $M_{x'}$, $M_{y'}$ e $M_{z'}$, considerando o referencial rotativo, e, conseqüentemente, a magnetização deixa de ter valor M_0 na direção z' . A recuperação da magnetização ao longo do eixo z' ocorre através dos processos de relaxação, ou seja, as componentes da magnetização voltam a ter os valores $M_{z'} = M_0$ e $M_{x'} = M_{y'} = 0$.

Sendo o pulso de RF de duração muito curta, a remoção do campo oscilatório $\vec{B}_1$ faz com que o sistema de spins nucleares retorne à situação de equilíbrio. A evolução das componentes da magnetização, retornando ao equilíbrio, ocorre segundo tempos de relaxação próprios de cada componente. O tempo de relaxação T_1 está associado à $M_{z'}$ e é, por isso, chamado de tempo de relaxação

longitudinal, enquanto o tempo de relaxação T_2 está associado à M_x e M_y e é chamado tempo de relaxação spin-spin.

A relaxação entre níveis de energia nuclear é muito mais lenta que em outros processos analisados por espectroscopia óptica, originando tempos de relaxação que podem ser até de segundos. A relaxação nuclear consiste em transições de spin nuclear estimuladas por campos magnéticos locais que oscilem com a frequência de Larmor (ω_0) e possuem uma dependência aleatória com o tempo. Para um núclídeo de uma molécula no meio líquido, esses campos magnéticos locais são devidos ao movimento Browniano das moléculas neste meio. O núclídeo pode sofrer a influência de campos magnéticos locais associados aos momentos magnéticos nucleares de outros núcleos próximos a ele, na mesma molécula ou em moléculas vizinhas. Os campos magnéticos flutuantes podem ser resolvidos em várias componentes, oscilando com diferentes frequências. Considerando moléculas, cujo tempo entre colisões sucessivas seja de 10^{-12} s, seus movimentos apresentarão componentes de frequência entre 0 e 10^{12} Hz, uma vez que, em um dado instante, algumas moléculas se movem muito rapidamente e outras, muito lentamente.

Uma condição necessária para que ocorra relaxação é que os movimentos moleculares tenham uma escala de tempo adequada, a qual para RMN é lenta, pois é definida pela frequência de Larmor, cujo valor típico é da ordem de 10^7 Hz. Processos muito rápidos, em relação a ω_0 , como as vibrações moleculares, não são eficientes para a relaxação.

Em gases a baixa pressão, o livre caminho médio de uma molécula é grande e esta pode rotacionar várias vezes antes de colidir com outras e alterar seu estado rotacional. Em líquidos, as colisões ocorrem com maior frequência e as moléculas sofrem colisões de todos os lados, sendo que cada colisão acelera ou desacelera seu movimento rotacional e altera seu eixo de rotação.

Para esse tipo de movimento, é definido um tempo característico denominado tempo de correlação rotacional, τ_c . O tempo de correlação pode ser entendido como o tempo médio entre as colisões moleculares para uma molécula num determinado estado de movimento, sendo que o eixo de rotação desta molécula é

constantemente alterado devido às colisões. Em outras palavras, o τ_c mede o tempo de duração de uma determinada propriedade de um sistema até que esta seja anulada pelo movimento aleatório microscópico das moléculas deste sistema. No caso da RMN, τ_c está relacionado com as flutuações dos campos magnéticos locais devido ao movimento Browniano.

Em tempos muito menores que τ_c , a maioria das moléculas está próxima de suas posições originais, enquanto para tempos muito maiores que τ_c , as moléculas possuem orientações completamente aleatórias. Valores típicos de τ_c para moléculas em solventes não viscosos, em torno de 25 °C, estão na faixa de 100 ps. O tempo de correlação está intimamente associado aos tempos de relaxação T_1 e T_2 , pois a relaxação está relacionada com o movimento aleatório molecular.

Existe uma importante distinção entre o tipo de transição causada por pulsos de RF e aquela que leva à relaxação. Quando um pulso de RF é aplicado, todos os núclídeos experimentam o mesmo campo oscilatório. O tipo de transição que leva à relaxação afeta apenas poucos spins, devido à presença de campos magnéticos locais. Esses campos variam randomicamente em direção e amplitude, o que leva a amostra ao equilíbrio, e são gerados na própria amostra por interações entre spins e o meio em torno deles (relaxação longitudinal, envolvendo o retorno das populações ao equilíbrio) ou por interações apenas entre spins (relaxação spin-spin, que envolve o decaimento da magnetização transversal a zero). O movimento aleatório, rotação principalmente, resultante da agitação térmica do meio e das colisões entre as moléculas, é o responsável pelo surgimento desses campos.

A evolução temporal de M_z corresponde ao processo de *relaxação longitudinal*, dado pelo tempo T_1 , e dependente das populações nos níveis de energia. Durante esse processo, o sistema de spins nucleares transmite o excesso de energia ao ambiente, descrito genericamente pela palavra *rede*, pois os primeiros estudos de relaxação foram realizados em amostras de sólidos cristalinos, estendendo-se o uso do termo *rede* para qualquer amostra. A *rede* se refere às moléculas com as

quais a energia pode ser trocada. Portanto, T_1 também é denominado de tempo de relaxação spin-rede.

A transferência de energia faz com que a rede sofra um aumento de temperatura para manter a energia total constante. Esse aumento de temperatura, devido à transformação da energia potencial magnética em energia cinética molecular, é extremamente pequeno e não pode ser determinado diretamente. A medida da variação temporal da componente M_z é uma forma indireta de se observar a variação da temperatura do sistema.

A relaxação envolve dois processos: as populações retornarem ao equilíbrio (relaxação longitudinal) e a magnetização transversal decair a zero (relaxação spin-spin).

A relaxação spin-spin implica em variações nas componentes transversais da magnetização M_x e M_y . Os valores não-nulos dessas componentes são consequência da coerência de fase na precessão dos momentos magnéticos individuais em torno da direção z' , ou seja, ocorre o aumento da ordem no sistema de spins nucleares, fazendo sua entropia diminuir. Esse estado macroscópico de coerência do sistema de spins é, então, caracterizado por menor entropia e maior energia que o estado de equilíbrio, uma vez que $M_z < M_0$ devido à tendência de igualar as populações entre os níveis energéticos de spins nucleares.

Cada spin da amostra contribui para a magnetização total, qual possui componentes nos eixos x' , y' e z' , como já mencionado. As contribuições ao longo do eixo z' produzem M_0 . As contribuições transversas podem ser representadas como vetores que precessam com Frequência de Larmor no plano $x'y'$. A direção para onde cada vetor aponta mostra sua fase, o ângulo medido a partir do eixo x' . Se essas fases são randomicamente distribuídas, a magnetização transversal será zero, pois as contribuições individuais se cancelam. Um pulso de RF desloca a magnetização M_0 da direção z' e alinha os vetores das contribuições individuais dos spins em uma direção, ou seja, gera uma coerência de fases. A relaxação transversa destrói essa coerência e leva o sistema à situação de equilíbrio.

Esse processo é, fundamentalmente, diferente da relaxação longitudinal, pois corresponde à perda de coerência de fase entre os momentos magnéticos

nucleares individuais na sua precessão. Na evolução temporal de M_x e M_y ocorre apenas perda da coerência, não havendo transferência de energia. É atribuída a esse processo a denominação relaxação spin-spin, pois a perda da coerência de fase é devida a interações diretas entre os momentos individuais de spin, sem qualquer modificação na energia do sistema.

Com a retirada de $\vec{B}_1$, o sistema evolui para a situação de equilíbrio caracterizada por $M_z = M_0$ e $M_x = M_y = 0$ e o único campo magnético atuante no sistema é $\vec{B}_0$. A não-homogeneidade de $\vec{B}_0$ contribui para a relaxação spin-spin, através da perda de coerência, pois núclídeos em partes diferentes da amostra sentem valores ligeiramente diferentes de $\vec{B}_0$ e precessam com frequências diferentes.

A determinação experimental de tempos de relaxação tem se baseado, atualmente, nos métodos de espectroscopia de RMN pulsada com Transformada de Fourier. Basicamente, são utilizadas sequências de pulsos, a partir das quais se observa a evolução das componentes longitudinais e transversais da magnetização e se obtêm os tempos de relaxação.

Na determinação de T_2 , o primeiro pulso deve colocar a magnetização no plano $x'y'$, ou seja, $\phi = \pi/2$, que não deixa componente longitudinal e cria uma coerência de fase entre os μ individuais. O comportamento da magnetização transversal é observado através da detecção dos ecos de spins, que consiste no alinhamento dos μ no eixo y' .

Devido à não-homogeneidade de $\vec{B}_0$, os $\vec{\mu}$ podem não apresentar a mesma frequência angular quando deslocados para o plano $x'y'$. Para evitar desvios cumulativos do vetor magnetização, em relação a esse plano, decorrentes da não-homogeneidade de $\vec{B}_0$, é utilizada uma sequência de pulsos de forma a produzir os ecos de spins. Nesse processo, detecta-se, na verdade, a atenuação dos ecos de spin. Esses são os fundamentos da técnica CPMG (Carr–Purcell–Meiboom–Gill), amplamente utilizada para medidas de T_2 .^{1-2,4-6}

1.2.1 EVOLUÇÃO DA MAGNETIZAÇÃO – EQUAÇÕES DE BLOCH

Na presença dos campos magnéticos $\vec{B}_0$ e $\vec{B}_1$, a magnetização M_0 varia com o tempo em grandeza, devido às transições de spin, e em orientação, devido à precessão ao redor de $\vec{B}_0$, no *referencial do laboratório*. M_0 varia também pelos efeitos dos fenômenos de relaxação.

M_0 varia com $\vec{B}_0$ e $\vec{B}_1$ de acordo com a expressão:

$$\left(\frac{dM_0}{dt} \right) = \gamma M_0 \times B = \gamma \left[(M_y B_z - M_z B_y) \vec{i} + (M_z B_x - M_x B_z) \vec{j} + (M_x B_y - M_y B_x) \vec{k} \right] \quad [8]$$

sendo $\vec{B} = \vec{B}_0 + \vec{B}_1$ e $\vec{i}, \vec{j}$ e $\vec{k}$, os vetores unitários nas direções x , y e z , respectivamente.

De acordo com as componentes de $\vec{B}_0$ e $\vec{B}_1$ nos sistema cartesiano, considerando ωt a fase de $\vec{B}_1$ no plano xy , os valores destas componentes são:

$$B_x = B_1 \cos \omega t \quad [9a]$$

$$B_y = - B_1 \sin \omega t \quad [9b]$$

$$B_z = B_0 \quad [9c]$$

As componentes de M_0 variam com o tempo da seguinte forma:

$$\left(\frac{dM_x}{dt} \right) = \gamma (M_y B_0 + M_z B_1 \sin \omega t) \quad [10a]$$

$$\left(\frac{dM_y}{dt} \right) = \gamma (M_z B_1 \cos \omega t - M_x B_0) \quad [10b]$$

$$\left(\frac{dM_z}{dt} \right) = -\gamma (M_x B_1 \sin \omega t + M_y B_1 \cos \omega t) \quad [10c]$$

Pode-se observar que M_z varia com o tempo de uma forma particular em relação a $\vec{B}_1$, que é o responsável pelas transições de spins nucleares.

A relaxação recupera os valores de equilíbrio da magnetização, fazendo com que um sistema de spins em coerência ($M_z \neq M_0$, $M_x \neq 0$ e $M_y \neq 0$) volte a apresentar $M_z \neq M_0$ e $M_x = M_y = 0$. Considerando que a evolução dessas componentes ocorra de um modo exponencial (fenômeno de 1ª ordem), tem-se:

$$\left(\frac{dM_x}{dt} \right) = -R_2 M_x = \frac{-M_x}{T_2} \quad [11a]$$

$$\left(\frac{dM_y}{dt} \right) = -R_2 M_y = \frac{-M_y}{T_2} \quad [11b]$$

$$\left(\frac{dM_z}{dt} \right) = -R_1 (M_z - M_0) = \frac{-(M_z - M_0)}{T_1} \quad [11c]$$

Observa-se, nas equações acima, que a taxa de evolução de M_z ($R_1 = 1/T_1$) não precisa ser obrigatoriamente idêntica à taxa das componentes transversais ($R_2 = 1/T_2$). M_z atinge seu valor de equilíbrio quando $M_z = M_0$, porém as componentes transversais podem atingir seu valor de equilíbrio (zero) em um tempo menor, ou seja, $T_1 \geq T_2$ e $R_1 \leq R_2$.

A integração das Equações 11b e 11c mostra que as componentes transversal e longitudinal da magnetização, respectivamente, evoluem com o tempo obedecendo a uma lei exponencial em cada caso, como é observado na Figura 1. Os tempos T_1 e T_2 podem ser obtidos a partir dessas equações integradas:

$$M_y(t) = M_y(0) \exp(-t/T_2) \quad [12a]$$

$$M_z(t) - M_0 = [M_z(0) - M_0] \exp(-t/T_1) \quad [12b]$$

A Figura 1 mostra como M_y e M_z variam exponencialmente com o tempo.

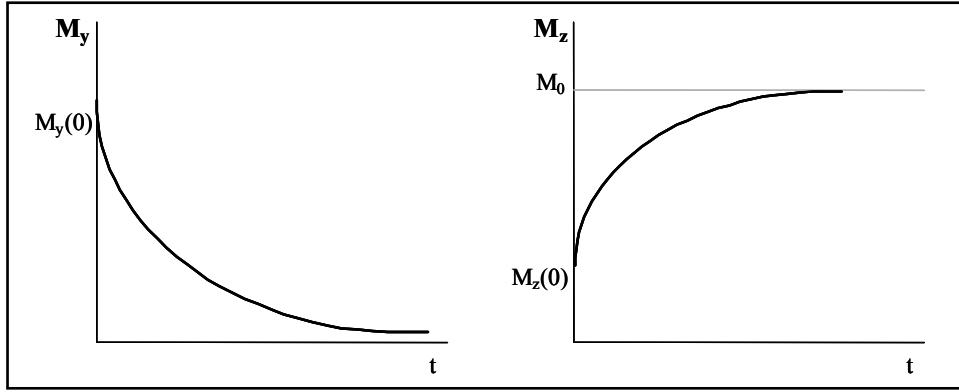


Figura 1. Variação temporal de M_y e M_z .

As equações conhecidas como *Equações de Bloch* associam as contribuições dos campos magnéticos $\vec{B}_0$ e $\vec{B}_1$ e da relaxação para a variação da magnetização com o tempo:

$$\left(\frac{dM_x}{dt} \right) = \gamma (M_y B_0 + M_z B_1 \sin \omega t) - \frac{M_x}{T_2} \quad [13a]$$

$$\left(\frac{dM_y}{dt} \right) = \gamma (M_z B_1 \cos \omega t - M_x B_0) - \frac{M_y}{T_2} \quad [13b]$$

$$\left(\frac{dM_z}{dt} \right) = -\gamma (M_x B_1 \sin \omega t + M_y B_1 \cos \omega t) - \frac{(M_z - M_0)}{T_1} \quad [13c]$$

Se a frequência do pulso de RF coincidir com a Frequência de Larmor numa amostra com uma única frequência de ressonância, a projeção de M_0 no plano $x'y'$ decai exponencialmente para zero com um tempo de relaxação efetivo T_2 e é a responsável pela indução do sinal detectado. Esse sinal, designado como FID (*free induction decay*), ao ser tratado matematicamente por uma Transformada de Fourier, transforma o domínio temporal do sinal para um domínio de frequências, fornecendo um espectro de RMN.^{1-2,4}

O tempo de relaxação spin-spin está intimamente relacionado ao sinal RMN, pois este depende diretamente da variação de M_y com o tempo (dM_y / dt). A taxa com que o sinal surge e desaparece, na vizinhança da condição de ressonância, ou seja, a forma da banda, depende de T_2 . As Equações de Bloch preveem uma banda de forma lorentziana, cuja largura a meia-altura é dada por:

$$\Delta\nu_{1/2} = 1 / \pi T_2^* \quad [14]$$

onde

$$1 / T_2^* = 1 / T_2 + 1 / T_2^{nh} \quad [15]$$

T_2^* é um tempo de relaxação spin-spin efetivo e T_2^{nh} é a contribuição da não-homogeneidade do campo magnético aplicado.¹

1.2.2 MEDIDAS DE T_2 – A SEQUENCIA DE PULSOS CPMG

Na técnica pulsada de RMN, é aplicado um pulso de radiofrequência muito intenso ($\vec{B}_1$ da ordem de 10^{-2} T), num intervalo de tempo muito curto (t_p entre 1 e 50 μ s), em relação a T_1 e T_2 . Esse pulso faz $\vec{M}_0$ se deslocar de um ângulo ϕ da direção z' , denominado ângulo de nutação. Se a frequência do pulso de RF corresponde à situação de ressonância, ou seja, é igual à frequência de Larmor (ν_1), o campo magnético efetivo, ao longo do eixo rotativo x' , é equivalente a $\vec{B}_1$ e a magnetização roda com velocidade angular $\gamma \vec{B}_1$, ao redor do plano $y'z$, definindo ϕ . Se a aplicação de $\vec{B}_1$ em ressonância ocorre durante um tempo t_p , a amplitude de ϕ é dada por:

$$\phi = \gamma B_1 t_p \quad [16]$$

onde γ é a razão magnetogírica do sistema de spins nucleares, qual é característica para cada núcleo magnético.¹

Um campo magnético oscilatório $\vec{B}_1$, com amplitude e duração adequadas para produzir uma rotação ϕ de $\pi/2$ rad, é chamado de pulso de 90° . Se o pulso ajustado para produzir uma rotação de π rad, será designado como pulso de 180° . Desta forma, a variação da duração do pulso de RF aplicado permite que a magnetização seja colocada em qualquer direção escolhida, sem perda da grandeza de $\vec{M}_0$, desde que t_p seja muito menor que T_1 e T_2 . Portanto, o controle de ϕ é a base da técnica utilizada, neste trabalho, para as medidas de T_2 , qual envolve a detecção de ecos de spin através da aplicação de sequência de pulsos de radiofrequência.

As medidas de T_2 , tempo de relaxação utilizado neste trabalho, possuem dificuldades experimentais devido, principalmente, à contribuição da não-homogeneidade do campo magnético $\vec{B}_0$, ao decaimento do sinal FID e à largura da banda a meia-altura. O alargamento das linhas mascara o efeito da relaxação natural T_2 .

Na presença de um campo magnético estático não-homogêneo, o vetor $\vec{M}_0$ é considerado a soma vetorial dos vetores magnetização elementares provenientes de volume suficientemente pequenos da amostra, de forma que nestes volumes o campo seja homogêneo. Esses vetores são denominados *isocromatas de spin*, pois todos os momentos magnéticos nucleares que determinam uma isocromata precessam com a mesma frequência de Larmor. Portanto, nesse caso, existem várias isocromatas de spin m_i caracterizadas por frequências de ressonância ν_i ligeiramente diferentes, referentes aos núcleos situados em regiões diferentes da amostra e que, conseqüentemente, experimentam valores ligeiramente diferentes do campo magnético estático. Devido a essa dispersão de frequências de ressonância, as isocromatas de spin perdem rapidamente a coerência de fase após um pulso de excitação, levando à aceleração do desaparecimento da componente transversal da magnetização.

Entretanto, esse processo de defasagem é reversível, sendo possível efetuar a refocagem das isocromatas de spin utilizando condições apropriadas, como o

controle de t_p . Assim, obtêm-se *ecos do sinal FID*, que é a base da técnica de determinação de T_2 .

Caso a correção para a não-homogeneidade do campo não seja feita, o que se mede é um tempo de relaxação spin-spin efetivo T_2^* , como mostra a Equação 10.

A técnica de aplicação de sequência de pulsos para medir T_2 , foi desenvolvida por Hahn⁷ e aperfeiçoada por Carr, Purcell, Meiboom e Gill,^{5,8} levando o nome dos quatros últimos cientistas.

A sequência de pulsos CPMG, ilustrada na Figura 2, consiste na aplicação primeira de um pulso de 90° na direção x , ou seja, a magnetização é deslocada para o eixo y (Figura 2a). Ao pulso de RF está associado um campo magnético oscilatório $\vec{B}_1$ que oscila no eixo x com a frequência de Larmor. Devido à não-homogeneidade do meio, os núcleos magnéticos da amostra sentem $\vec{B}_1$ com pequenas diferenças e precessam ao redor do eixo z com velocidade angular maior ou menor que do referencial rotativo e de $\vec{B}_1$, movendo-se em sentidos opostos (Figura 2b). O sinal percebido depende da resultante dos vetores magnetização dos grupos de spin e decai com a constante de tempo T_2^* , pois o decaimento combina os efeitos da não-homogeneidade do campo e da relaxação spin-spin. Após um tempo τ , a aplicação de um outro pulso na direção y , porém de 180° , faz os núcleos manterem suas respectivas velocidades, mas inverte seus sentidos no plano xy (Figura 2c). Os vetores continuam a precessar, porém o afastamento das isocromatas começa a diminuir e o sinal resultante começa a crescer para se tornar um eco. Após um tempo correspondente a 2τ , todos os $\vec{\mu}$ da amostra entram em fase, ao longo do eixo y , refocalizando-se o espalhamento angular provocado pela não-homogeneidade do campo e obtendo-se um eco de spins (Figura 2d). O sinal do eco passa a ser atenuado pelo fator $\exp(-2\tau/T_2)$, originado exclusivamente da relaxação spin-spin. Depois do intervalo 2τ , a magnetização continua a precessar e as isocromatas voltam a se separar. Após um tempo correspondente a 3τ , é aplicado novamente um pulso de 180° , ao longo de y (Figura 2e), as isocromatas voltam a se aproximar (Figura 2f) e todos os

$\vec{\mu}$ entram em fase, após 4τ , ao longo do eixo y , quando outro eco de spins é detectado (Figura 2g).

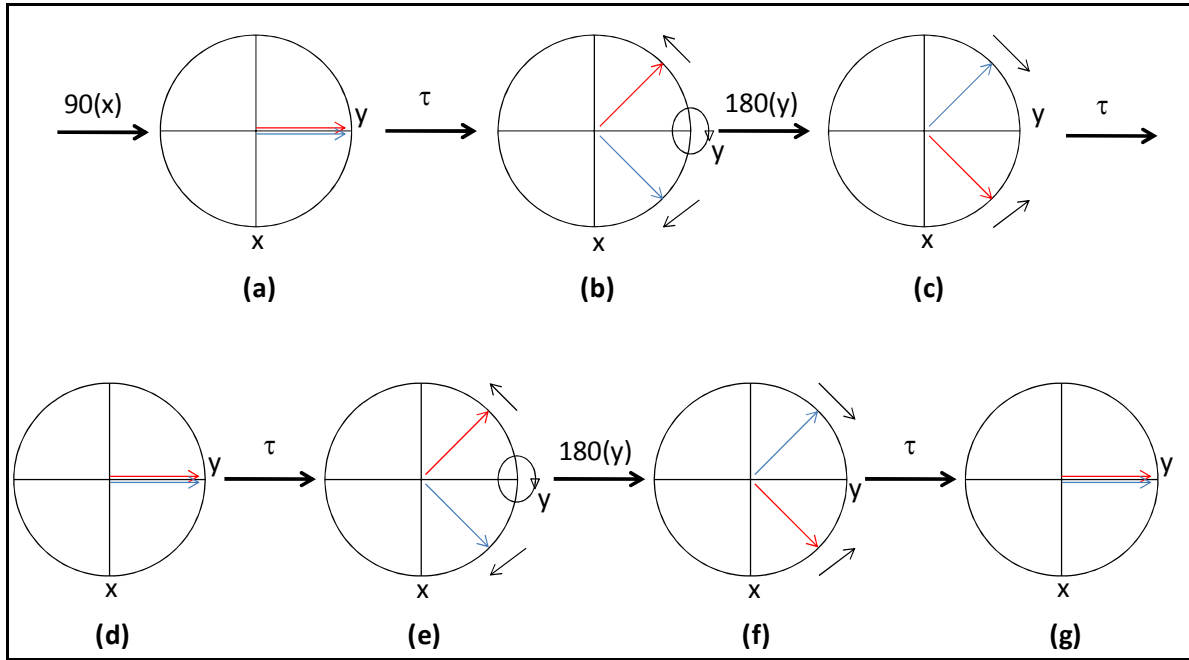


Figura 2. Sequência de pulsos CPMG utilizada para medidas de T_2 : **a)** aplicação de um pulso de 90° na direção x , $\vec{M}_0$ se desloca pra o eixo y ; **b)** isocromatas de spin precessando com velocidades diferentes, devido à não-homogeneidade de $\vec{B}_0$; **c)** aplicação de um pulso de 180° na direção y , após um tempo τ ; **d)** inversão das isocromatas no plano xy , mantendo suas velocidades; **e)** todos os $\vec{\mu}$ entram em fase, após um tempo 2τ , na direção y , o eco é detectado; **f)** aplicação de um pulso de 180° na direção y , após um tempo 3τ ; **g)** todos os $\vec{\mu}$ entram em fase, após um tempo 4τ , no sentido positivo da direção y , e o eco é novamente detectado.

A sequência de pulsos utilizada pode ser repetida n vezes e representada por:^{1,5,8-9}

$$[90^\circ x - \tau - 180^\circ y - \tau - (\text{eco}) - \tau - 180^\circ y - \tau - (\text{eco})]_n$$

Com a remoção de $\vec{B}_1$, após a aplicação do pulso, a magnetização M_y retorna a zero de acordo com o processo de relaxação. Este retorno ao valor de equilíbrio ocorre na forma de um decaimento exponencial de primeira ordem e a taxa com que esta relaxação evolui é dada pela integração de uma das Equações Diferenciais de Bloch, sendo $t = 2\tau$:

$$M_y(t) = M_y(0) \exp(-t / T_2) \quad [17]$$

Desta forma, a transformada de Fourier fornece espectros onde a intensidade dos picos decai em função do tempo e permite a determinação de T_2 . A situação é ilustrada na Figura 3. O método utiliza uma regressão não-linear para determinar T_2 .

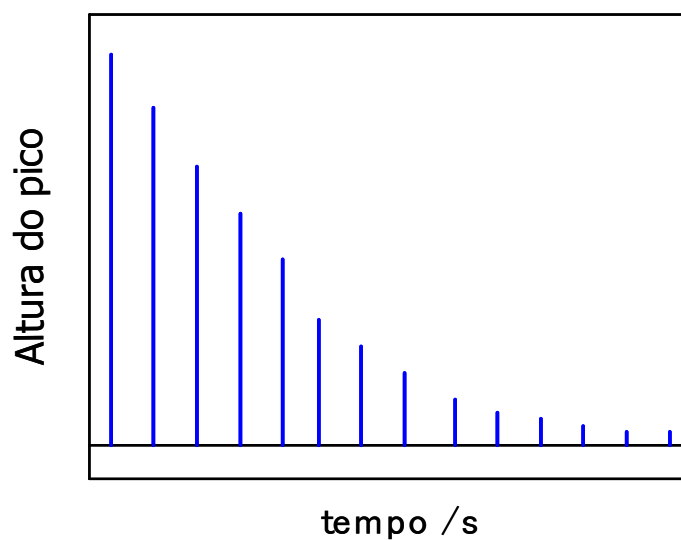


Figura 3. Ilustração do decaimento da altura do pico em função do tempo, cujo ajuste da curva permite a medida de T_2 .

Uma importante característica dessa técnica é a independência entre a intensidade do eco e quaisquer campos locais que tenham permanecido constantes durante os intervalos de tempo entre as aplicações dos pulsos. As isocromatas não alteram suas velocidades com as aplicações dos pulsos de 90° e 180° , pois um aumento na velocidade, adquirida no primeiro pulso, será descontada no segundo. Desta forma, o valor do eco independe da não-homogeneidade do campo magnético, pois esta não é alterada quando τ é suficientemente curto para que o efeito da difusão translacional seja desprezível. A relaxação spin-spin real ocorre devido à flutuação dos campos locais, numa escala de tempo molecular, e não há garantia de um grupo de spins manter sua velocidade durante a refocalização. Por isso, os spins no interior dos grupos se espalham, angularmente, com a constante de tempo T_2 . Ou seja, os efeitos da verdadeira relaxação não são refocalizados, porém o valor do eco de spin decai com o tempo de relaxação spin-spin, de acordo com a Equação 17.^{1,9}

1.2.3 A RELAXAÇÃO DO SOLVENTE

A solvatação de um soluto pode ser estudada por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) através de medidas do tempo de relaxação spin-spin (T_2) do solvente. Os valores de T_2 são diferentes para moléculas de solvente livres e ligadas à superfície do soluto, devido a processos dinâmicos, principalmente a difusão rotacional.

Moléculas livres do solvente apresentam alto grau de mobilidade. Porém, quando o solvente está ligado a uma superfície, o movimento molecular se torna mais anisotrópico e mais restrito, causando a diminuição do T_2 .

Em sistemas onde ocorra troca rápida entre as moléculas de solvente, livres e ligadas ao soluto, o tempo de relaxação pode ser descrito pelo T_2 médio do solvente. Assim, o T_2 é muito sensível à interação do solvente com o soluto, de forma que a presença de um soluto diminui o T_2 das moléculas do solvente diretamente ligadas ao soluto.¹⁰⁻¹¹

1.3 SISTEMAS COLOIDAIS

Consistem de sistemas nos quais, ao menos, um de seus componentes apresenta uma ou mais dimensões dentro do intervalo 1 nm a 1 μ m. Não existe, entretanto, uma nítida separação entre sistemas coloidais e não-coloidais, principalmente no limite superior das dimensões coloidais. Emulsões, tratadas como sistemas coloidais, podem apresentar gotículas de tamanho superior a 1 μ m. Frequentemente, os sistemas coloidais são encontrados em processos industriais como fabricação de tintas e detergentes, na indústria alimentícia e cosmética e na ciência ambiental,. Uma característica desses sistemas é a área superficial ser relativamente grande devido ao pequeno volume dos agregados ou das dispersões. Isso confere aos sistemas coloidais propriedades superficiais, tais como adsorção e dupla camada elétrica.

Devido à grande complexidade desses sistemas, eles não podem ser tratados com a mesma exatidão associada a outros ramos da físico-química. Alguns materiais de composição duvidosa geram considerável incerteza na reprodutibilidade e interpretação de dados. Porém, progressos na compreensão dos princípios fundamentais da química e da física tornaram possível desenvolver teorias mais coerentes e prováveis com respeito a muitos aspectos do comportamento coloidal.

Os sistemas coloidais podem ser classificados em três grupos:

- a) *dispersões coloidais* – sistemas heterogêneos, onde uma fase está dispersa em outra; são termodinamicamente instáveis devido à elevada energia de superfície, e irreversíveis, pois não se reconstituem após a separação de fases. Emulsões, sóis e espumas são exemplos desse grupo.
- b) *soluções verdadeiras de substâncias macromoleculares* – o soluto destas soluções é formado por macromoléculas, naturais ou sintéticas, sendo as soluções homogêneas. São sistemas termodinamicamente estáveis e reversíveis, como por exemplo, uma solução de polímeros.
- c) *colóides de associação* – sistemas termodinamicamente estáveis, onde as moléculas se associam em agregados de dimensões coloidais, como os

surfatantes que formam micelas em solução, a partir de uma determinada concentração.

Na natureza, podem-se encontrar muitos exemplos de sistemas coloidais, como as fibras de celulose, nas plantas, e as proteínas lineares (colágeno, miosina e queratina, por exemplo), nos animais. As proteínas globulares presentes nos fluidos orgânicos se “enovelam” formando partícula corpusculares. O leite é outro exemplo de sistema coloidal, onde gotículas de substâncias graxas estão dispersas em água, assim como o ar com partículas de poeira dispersas.¹²⁻¹⁴

Os estudos de sistemas coloidais são focados, principalmente, em caracterizá-los de acordo com suas dimensões e dinâmica. Os métodos de espalhamento de luz, de nêutrons e de raios-X de baixo ângulo são umas das técnicas mais usuais, juntamente com técnicas de fluorescência. Os métodos de relaxação por RMN fornecem também uma poderosa ferramenta para estudar colóides. Um tipo de solução coloidal que temos especial interesse é a de ciclodextrina. Porém, esses métodos não conseguem combinar a aplicabilidade de um determinado sistema coloidal com uma seletividade química capaz de fornecer dados sobre a composição deste sistema.

A Ressonância Magnética Nuclear, através de medidas de T_2 do solvente, mostra-se uma importante ferramenta para o estudo de sistemas contendo ciclodextrinas.¹⁵⁻¹⁶ Estas moléculas podem se agregar formando estruturas supramoleculares ou complexos de inclusão com polímeros¹⁷⁻¹⁹, os quais podem ser também estudados por medidas do tempo de relaxação spin-spin do solvente.

1.4 AS CICLODEXTRINAS

As moléculas atualmente conhecidas como ciclodextrinas (CD) foram isoladas, pela primeira vez, em 1891 por Villiers²⁰, a partir da descoberta da formação de um oligossacarídeo quando o amido sofre uma clivagem enzimática.

Em 1904, Schardinger confirmou os resultados de Villiers identificando as estruturas de três ciclodextrinas de ocorrência natural (α -, β - e γ -CD) e da enzima responsável pela síntese destes oligossacarídeos cíclicos. Devido a estas

descobertas, as ciclodextrinas eram conhecidas como açúcares ou dextrinas de Schardinger.

Entre 1911 e 1935, Pringsheim, na Alemanha, foi o principal pesquisador nessa área, demonstrando que estes oligossacarídeos são capazes de formar complexos estáveis com outras moléculas em meio aquoso.

Porém, apenas em 1938 a estrutura química correta das ciclodextrinas foi publicada. Freudenberg observou que as unidades de glicose, nesses carboidratos, são conectadas por ligações glicosídicas α -1,4.

Em 1953, Freudenberg, Cramer e Plieninger registraram a primeira patente sobre as ciclodextrinas e seus complexos de inclusão, tendo estudado as possíveis aplicações para estes complexos.²¹

Em meados dos anos 70, cada uma das ciclodextrinas naturais foi caracterizada química e estruturalmente e os estudos com seus complexos de inclusão foram intensificados.²²

As ciclodextrinas, CD, são uma família de oligossacarídeos cíclicos constituídos por unidades de α -D-glicose, opticamente ativas²³, conectadas por ligações glicosídicas α -1,4. São produzidas a partir da amilose do amido pela ação da enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase), qual é produzida por vários microorganismos, como o *Bacillus macerans*. Dessa família de carboidratos, as três ciclodextrinas que apresentam maior disponibilidade são: α -CD (ciclohexaamilose ou ciclomaltohexose), β -CD (cicloheptaamilose ou ciclomaltoheptose) e γ -CD (ciclooctaamilose ou ciclomaltooctose). Essas substâncias são conhecidas como ciclodextrinas nativas e constituídas por seis, sete e oito unidades de glicose, respectivamente.

A ciclização do amido, para produzir as ciclodextrinas, faz estas moléculas adquirirem a forma de um cone truncado. Sendo n o número de unidades glicosídicas das ciclodextrinas em suas estruturas, as n hidroxilas primárias se situam na borda menor do cone e, as $2n$ hidroxilas secundárias, ocupam a borda maior. A cavidade que se forma, nessas estruturas, contém uma sequência de grupos CH dos carbonos C3 e C5 e uma sequência dos oxigênios glicosídicos, ou seja, a cavidade é relativamente hidrofóbica, comparada com o exterior

hidrofílico.²⁴ Uma representação da estrutura da α -CD, e sua correspondente forma pictórica de um cone oco é mostrada na Figura 4.

As ciclodextrinas, por apresentarem uma cavidade apolar, em solução aquosa são capazes de interagir com diversas classes de moléculas, formando complexos estabilizados por ligações não covalentes, denominados compostos de inclusão. Estes complexos são caracterizados pela penetração parcial ou total de moléculas na cavidade das ciclodextrinas, e esta propriedade tem sido principalmente explorada no que diz respeito ao encapsulação de fármacos e na química supramolecular.²⁴⁻²⁶ A Figura 5 fornece as dimensões, em ângstrons, das ciclodextrinas, representadas na forma de um cone oco.

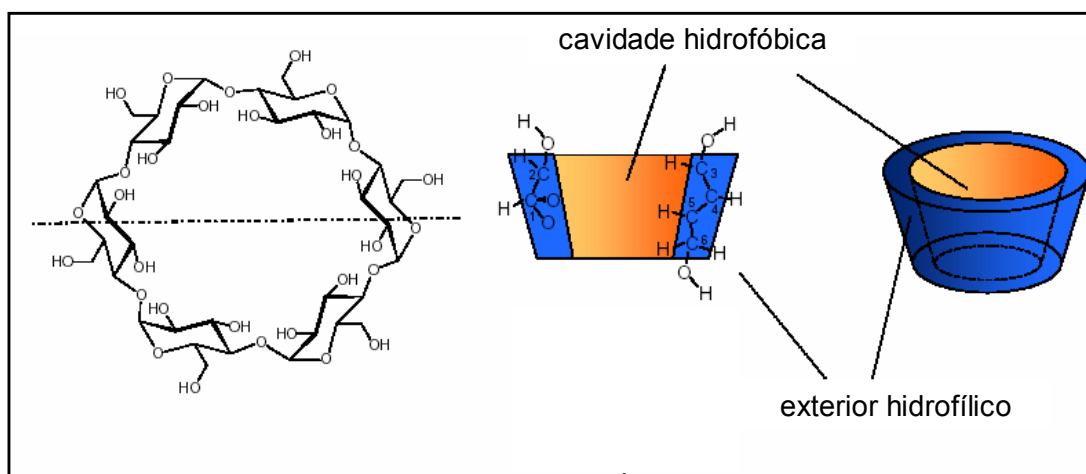


Figura 4. Estrutura molecular da α -ciclodextrina e sua representação pictórica na forma de um cone oco.²⁵

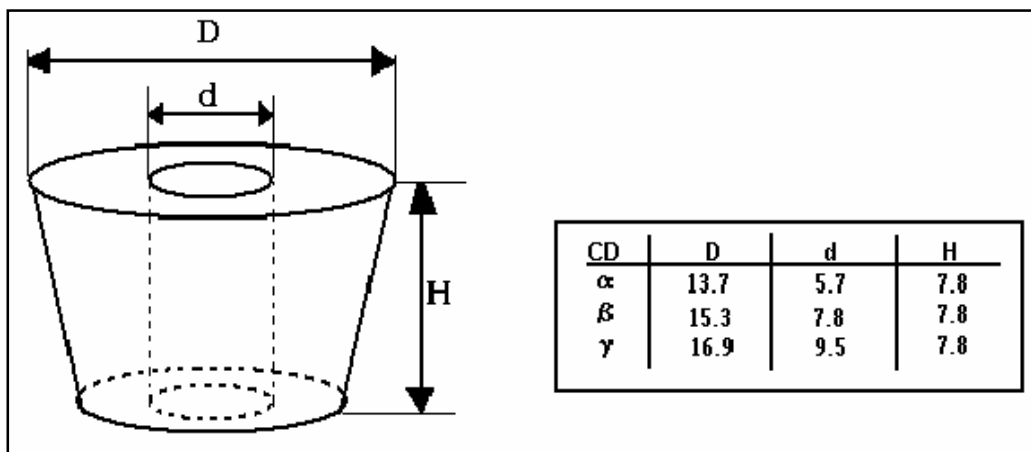


Figura 5. Representação molecular das CD na forma de um cone truncado, com as dimensões aproximadas em ângstrons.²⁷

1.5 AS CICLODEXTRINAS NA QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

A química supramolecular está relacionada com a organização molecular e envolve não apenas os conceitos da química molecular, estrutura e energia, mas também o conceito de informação. Os complexos supramoleculares são caracterizados por se formarem espontaneamente. Os componentes da química supramolecular se “comunicam”, formam associações, possuem “preferências” e “aversões”, “obedecem” a instruções e “passam” as informações. Ou seja, a química supramolecular trata dos arranjos moleculares e das ligações intermoleculares. No centro destas estratégias está o conceito de reconhecimento molecular, isto é, uma molécula é capaz de reconhecer outra de acordo com a forma ou as propriedades que esta apresenta. A interação e associação entre essas moléculas é uma consequência desse reconhecimento.

Os sistemas supramoleculares diferem dos sistemas da química molecular em vários aspectos, como na estrutura e nos tipos de interações. São essas diferenças que permitem a transferência das informações. A organização estrutural tem um papel fundamental nos sistemas supramoleculares, onde grupos de duas ou mais moléculas distintas interagem especificamente para formar um

agregado organizado. Esses sistemas podem ser menores que algumas das moléculas orgânicas mais primorosas sintetizadas atualmente, porém apresentam alto grau de organização estrutural.

Enquanto as moléculas consistem em uma rede contínua de átomos mantidos unidos por ligações covalentes, as supramoléculas compreendem a união de íons e/ou moléculas através de ligações fracas não-covalentes numa unidade discreta com estrutura e dinâmica bem definidas. As forças intermoleculares que levam à formação de estruturas supramoleculares podem ser ligações de hidrogênio, interações de van der Waals, interações doador-receptor (por exemplo, ácido-base de Lewis) ou interações iônicas. Esses tipos de forças são importantes na formação de complexos de inclusão e no controle de estados de agregação. Existem vários campos de aplicação para a química supramolecular, como na construção de receptores, agentes de transportes, modelagem enzimática, liberação controlada de fármacos, sensores químicos e circuitos elétricos moleculares, dentre outros.

Os compostos supramoleculares apresentam três níveis distintos de organização estrutural: a estrutura primária (a nível molecular); a estrutura secundária que consiste da associação de moléculas (entidades supramoleculares que resultam das interações intermoleculares); a estrutura terciária (o empacotamento cristalino das entidades supramoleculares). Essa hierarquia de níveis estruturais, do molecular ao supramolecular, pode ser facilmente encontrada em sistemas complexos da natureza, como os vírus, as células e os tecidos.²⁸⁻³⁰

Nos estudos de reconhecimento molecular, os compostos macrocíclicos, como éteres de coroa, criptanos, ciclofanos e calixarenos foram extensivamente utilizados como hospedeiros moleculares, devido à presença de uma cavidade intramolecular. Entretanto, em muitos casos, os hóspedes moleculares ficavam limitados a moléculas pequenas e íons simples. Tornou-se necessário encontrar hospedeiros moleculares que pudessem reconhecer e responder sensivelmente a moléculas maiores e mais complexas.

Desde sua descoberta, as ciclodextrinas têm sido amplamente empregadas com essa finalidade. Além de se complexarem com vários compostos de baixa massa molar, como hidrocarbonetos e aminas, essas moléculas são capazes de formar complexos de inclusão, com alto grau de seletividade, com uma ampla faixa de moléculas hóspedes através de interações não covalentes em suas cavidades hidrofóbicas.¹⁷⁻¹⁹

Os complexos de ciclodextrina e moléculas pequenas, não poliméricas, são solúveis em água, quirais, apresentam baixa toxicidade e preços, relativamente, baixos, tornando-os de grande interesse para o desenvolvimento de análogos enzimáticos e importância industrial, principalmente na encapsulação, liberação controlada e direcionamento de fármacos.^{18-19,31-34}

Desde a descoberta das ciclodextrinas nativas, foi preparado e caracterizado um número muito grande de complexos de inclusão com CD e compostos orgânicos e inorgânicos de baixa massa molar. Em 1990, Harada e Kamachi³⁵ publicaram, pela primeira vez, estudos sobre a formação de complexos de inclusão em meios aquosos, com α -CD e poli(etileno glicol) (PEG) de massas molares entre 400 e 10000 g mol⁻¹, quais produziram complexos estequiométricos, com alto rendimento, no estado sólido. Atualmente um grande número de complexos envolvendo ciclodextrinas e polímeros são conhecidos.

Os complexos de inclusão entre ciclodextrinas e macromoléculas lineares, como os polímeros, designados polipseudorotaxana, vêm sendo muito estudados por serem precursores para a síntese de tubos de ciclodextrinas não-covalentes e por formarem, em alguns casos, hidrogéis supramoleculares.^{26,28,32,36} Nesse tipo de estrutura, a cadeia polimérica penetra na cavidade de várias moléculas de ciclodextrina e o complexo se mantém estabilizado devido à formação de vários tipos de ligações não-covalentes: van der Waals entre o polímero e as CD; e ligações de H entre os grupos hidroxilas das moléculas de ciclodextrina vizinhas, mediadas por moléculas de água. São, na verdade, os mesmos tipos de ligações que envolvem toda a química supramolecular.³⁷⁻³⁸

A Figura 6 exemplifica a estrutura de uma polipseudorotaxana formada entre α -CD e poli(etileno glicol), onde observa-se a estequiometria 2:1 (dois monômeros da molécula hóspede para cada molécula hospedeira de α -CD).¹⁷

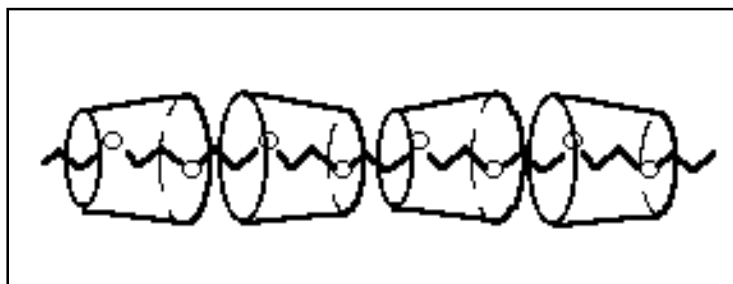


Figura 6. Estrutura supramolecular de estequiometria 2:1 formada entre α -CD e poli(etileno glicol).¹⁷

O diâmetro da cavidade das ciclodextrinas desempenha um papel fundamental na produção das polipseudorotaxanas. Enquanto o poli (etileno glicol) se complexa com a α -CD, o processo não ocorre com a β -CD devido à cavidade deste oligossacarídeo ser muito grande para manter o polímero nela, pois as interações fracas não-covalentes não são capazes de manter a cadeia inserida na cavidade maior da β -CD.

Entretanto, o PEG é capaz de se complexar com a γ -CD, produzindo um sólido cristalino com alto rendimento, como no caso da α -CD, onde a razão estequiométrica é de quatro unidades monoméricas para cada molécula de γ -CD. Esse resultado indica que duas cadeias poliméricas conseguem penetrar na cavidade dessa ciclodextrina.^{35,39}

1.6 OBJETIVOS

Objetiva-se, neste trabalho, avaliar por medidas de relaxação spin-spin, T_2 , como as moléculas de água se comportam na superfície de moléculas como as ciclodextrinas e os polímeros hidrofílicos e na combinação entre polímero e ciclodextrina.

No caso dos sistemas poliméricos, objetiva-se avaliar como a estrutura molecular dos polímeros afeta os tempos de relaxação das moléculas de água.

No caso da combinação entre polímero e ciclodextrina, temos especial interesse no processo de complexação entre a ciclodextrina e o poli(etileno glicol), pois, neste processo, a cadeia polimérica e as hidroxilas das ciclodextrinas são desidratadas e pode ocorrer a formação de um hidrogel supramolecular, no qual as moléculas de água podem ficar confinadas nos seus interstícios. Este confinamento pode, também, ser analisado através da relaxação destas moléculas.

CAPÍTULO 2. A RELAXAÇÃO DO SOLVENTE EM SOLUÇÕES DE CICLODEXTRINAS E DE OUTROS CARBOIDRATOS

Existe um enorme interesse pelas ciclodextrinas como substâncias encapsuladoras e como componentes importantes na química supramolecular. Dentre as forças motrizes que levam à formação de compostos de inclusão, as interações das ciclodextrinas com moléculas de água desempenham um papel fundamental. A Ressonância Magnética Nuclear mostra-se uma importante ferramenta para estudar estas interações através de medidas do tempo de relaxação do solvente em soluções de ciclodextrinas.

A anômala solubilidade da série homóloga das ciclodextrinas nativas (α -CD, β -CD e γ -CD), estudada e discutida na Dissertação de Mestrado *Estudo Sobre a Solvatação de Ciclodextrinas por RMN Através da Relaxação das Moléculas de Água*¹⁵, foi o motivador principal dos estudos tratados neste Capítulo.

A comparação entre as CDs nativas, HP- β -CD (hidroxi-propil- β -CD), DMe- β -CD (dimetil- β -CD), glicose, β -lactose, dextrina e dextrana, quanto à relaxação spin-spin das moléculas de água de suas soluções diluídas, mostra que a disponibilidade dos grupos hidroxila para efetuar a troca química com os hidrogênios da água está intimamente relacionada com a relaxação do solvente.

2.1 METODOLOGIA

Para todas as medidas, foi utilizado um espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Varian 500 MHz, modelo Inova, e a técnica de ecos de spin através da sequência de pulsos CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill)^{1,5,8} com os parâmetros otimizados (Apêndice A). Utilizou-se tubo de RMN com 5 mm de diâmetro interno e uma sonda de detecção indireta. Um capilar de benzeno deuterado contendo tetrametil-silano (TMS) foi colocado no tubo para fornecer uma referencia e um sinal de deutério para travar o campo magnético e a

radiofrequência. A temperatura foi fixada em 25,0 °C. A estimativa dos erros das medidas encontra-se no Apêndice B.

Foi medido o T_2 dos prótons (T_2 ^1H) de água Milli-Q, variando-se a temperatura entre 25 e 40 °C. As medidas também foram feitas com água Milli-Q borbulhada com nitrogênio por 5 minutos.

2.1.1 SOLUÇÕES DE DEXTRINA, DEXTRANA E β -LACTOSE

Foram medidos o T_2 de hidrogênio (T_2 ^1H) do solvente de soluções aquosas de dextrina purificada (de milho, tipo 1, Sigma, lote 73H0041), de dextrana (77000 Da, Sigma lote 66H0839) e β -lactose (Sigma, lote 116K0705), usadas sem purificar. Todas as medidas foram feitas em soluções no intervalo de concentração de 0,08% a 1% (m/m) para cada soluto. Os resultados foram comparados com aqueles já obtidos para soluções de α -CD, β -CD, γ -CD e glicose.

Purificação da dextrina

A purificação da dextrina é necessária para retirarem-se as frações insolúveis que possam estar misturadas a ela. Foi preparada uma solução supersaturada, 5% (m/m), de dextrina em água Milli-Q, qual foi mantida sob agitação em banho termostatizado a $(25,0 \pm 0,1)$ °C por 4 dias para garantir máxima solubilização. A parte superior da solução, a qual não apresentava visivelmente fração sólida, foi recolhida e centrifugada por uma hora a 3300 rpm. O sobrenadante foi separado e levado ao freezer para posterior liofilização. O sólido liofilizado foi utilizado na preparação das soluções para medidas de T_2 do solvente e de viscosidade.

Medidas de Viscosidade das Soluções de Dextrina

Para as medidas de viscosidade, foram preparadas soluções de dextrina purificada em água Milli-Q na faixa de concentração de 0,08% a 1% (m/m), quais foram analisadas em um viscosímetro de Ostwald, com capilar de diâmetro 50 μm , imerso em um banho termostatizado a $(25,0 \pm 0,2)$ °C. Foram determinadas as

viscosidades relativas das soluções em comparação à viscosidade da água Milli-Q, a partir de medidas no tempo de escoamento de cada solução.

2.1.2 SOLUÇÕES DE CICLODEXTRINAS SUBSTITUÍDAS

Os T_2 ^1H de soluções de hidroxipropil- β -CD (HP- β -CD) e de 2,6-dimetil- β -CD (DMe- β -CD), ambas da marca Sigma, foram medidos, no intervalo de concentrações de 0,08 a 0,75% (m/m), para serem comparados com as medidas obtidas para a β -CD.¹⁵

Todas as soluções foram preparadas de três a quatro dias antes das medidas de T_2 serem realizadas e mantidas, durante este período, em banho termostaticado a $25,00 \pm 0,01$ °C. Foi realizada também a medida do T_2 da água pura nesta temperatura.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O tempo de relaxação spin-spin (T_2) dos prótons da água, em soluções aquosas diluídas contendo carboidratos, é, em geral, menor que o valor obtido para a água pura. Os estudos de Halstead e col.⁴⁰ mostram que a difusão de moléculas da água e a troca entre prótons da água e das hidroxilas dos carboidratos são extremamente rápidas nessas soluções, mesmo em regiões próximas a pH=7, garantindo que o decaimento da magnetização transversal seja uma exponencial simples, caracterizada por uma única taxa de relaxação spin-spin, ($R_2 = 1/T_2$), para os prótons do solvente. Como consequência dessa troca, os prótons da água retêm uma “memória” dos vários meios visitados na escala de tempo da relaxação (T_2) e esta relaxação pode servir para monitorar, indiretamente, a dinâmica e outras propriedades do soluto. Os autores utilizaram, nos experimentos, a sequência de pulsos CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) para as medidas de T_2 , discutida no Capítulo 1.

Em soluções aquosas homogêneas de carboidratos, a troca entre os prótons da água e aqueles provenientes dos grupos hidroxila do carboidrato pode ser descrita pelo modelo de dois sítios (prótons do carboidrato e prótons da água) utilizado nos estudos de Halsted e col.⁴⁰ De acordo com esse modelo, a taxa de relaxação do solvente (R_2) é dependente do tempo de vida médio dos prótons no soluto (k_b), da fração de prótons disponíveis para realizar a troca química (P_b) e da taxa de relaxação intrínseca (R_{2b}) dos prótons dos grupos hidroxila do carboidrato e, também, da diferença no deslocamento químico (δ_w) em relação ao deslocamento químico da água do seio da solução. Em soluções aquosas diluídas ($P_b \ll 1$), a taxa de relaxação spin-spin R_2 é dada pela Equação de Swift-Connick:⁴¹⁻⁴³

$$R_2 = P_a R_{2a} + P_b k_b \left[\frac{R_{2b}^2 + R_{2b} k_b + (\delta_w)^2}{(R_{2b} + k_b)^2 + (\delta_w)^2} \right] \quad [18]$$

onde R_{2a} é a taxa de relaxação intrínseca da água livre em solução e $P_a = 1 - P_b$.

Se R_{2b} é grande suficiente para ser possível desconsiderar o termo $(\delta_w)^2$, a Equação 18 se reduz a:

$$R_2 = P_a R_{2a} + P_b / (R_{2b}^{-1} + k_b^{-1}) \quad [19]$$

Sendo $k_b^{-1} \gg R_{2b}^{-1}$, pode-se reescrever a Equação 19 como:

$$R_2 = P_a R_{2a} + P_b k_b \quad [20]$$

Considerando que apenas uma fração F dos prótons dos grupos hidroxila do carboidrato esteja acessível para troca, pode-se reescrever a Equação 20 como:

$$R_2 = P_a R_{2a} + F k_b (P_b)_{\max} \quad [21]$$

onde $(P_b)_{\max}$ é o valor máximo de P_b assumindo que todos os prótons das hidroxilas dos carboidratos estejam disponíveis para troca.

Desta forma, o gráfico de R_2 versus $(P_b)_{\max}$ tem uma forma linear com coeficiente angular igual a Fk_b . Considerando ainda que, para soluções de quaisquer carboidratos, o valor de k_b seja o mesmo, consegue-se determinar F . Os demais $(1-F)$ prótons de hidroxila estão envolvidos em ligações de hidrogênio intramoleculares e não conseguem realizar a troca química com as moléculas de água, de forma a não contribuir com a relaxação spin-spin do solvente.¹⁶

Como $(P_b)_{\max}$ representa uma fração molar, pode-se assumir que a taxa de relaxação spin-spin do solvente é linearmente proporcional à concentração do carboidrato. A inclinação da curva indica quão disponíveis estão os prótons dos grupos hidroxila do carboidrato e reflete a conformação estrutural de suas moléculas.

Os valores obtidos de T_2 do solvente para as soluções analisadas foram convertidos para taxa de relaxação (R_2), a fim de serem analisados segundo o modelo de dois sítios. Para a água pura o valor de R_2 é $0,395 \text{ s}^{-1}$, a 25°C . Este valor é calculado a partir da diminuição do valor da integral do pico a 4,7 ppm (característico do hidrogênio da água).

Para verificar o efeito que o oxigênio (O_2), dissolvido nas soluções estudadas, pudesse causar nas medidas, foram realizados estudos com água Milli-Q sem e com borbulhamento de nitrogênio (N_2).

O O_2 , por ser uma espécie paramagnética, pode afetar as interações magnéticas que ocorrem durante as medidas do tempo de relaxação e diminuir o valor de T_2 . Desta forma, a eliminação desse gás da amostra tornaria a medida mais precisa. Foram feitos estudos em diversas temperaturas, com o objetivo de reduzir a concentração de oxigênio dissolvido na água. Entretanto, observou-se que a presença do oxigênio não altera significativamente a taxa de relaxação, como mostra a Figura 7.

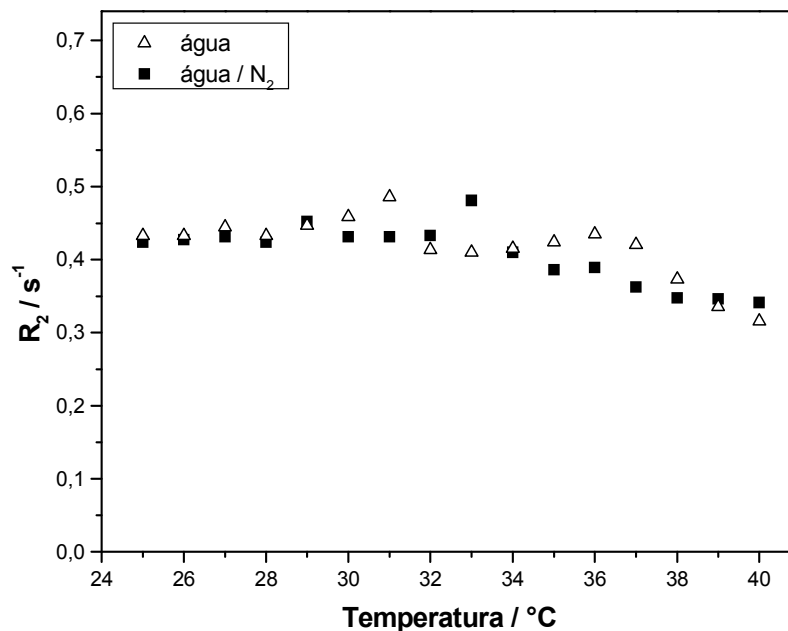


Figura 7. Efeito da presença de oxigênio nos valores da taxa de relaxação da água, em diferentes temperaturas.

Considerando esse resultado, tornou-se irrelevante borbulhar gás nitrogênio nas demais soluções estudadas.

2.2.1 SOLUÇÕES DE DEXTRINA, DEXTRANA E β -LACTOSE

De acordo com o discutido acima, o gráfico de R_2 versus $(P_b)_{\max}$ tem uma forma linear com coeficiente angular igual a Fk_b . Considerando que, para soluções de quaisquer carboidratos, o valor de k_b seja o mesmo, consegue-se determinar F , ou seja, a fração de prótons dos grupos hidroxila do carboidrato acessível para troca química com os prótons do solvente.

Os resultados obtidos encontram-se nos gráficos da Figura 8.

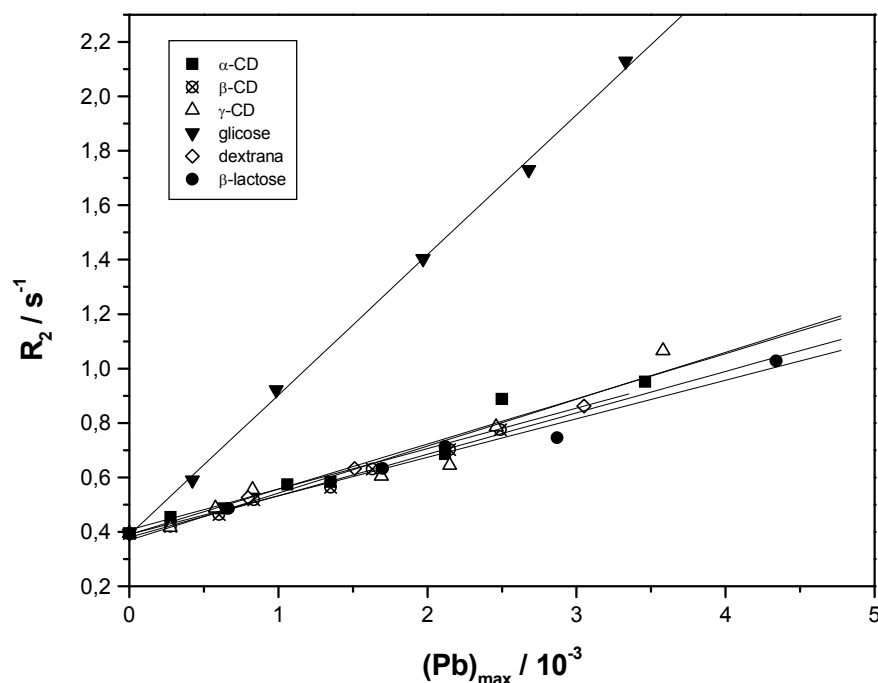


Figura 8. Taxas de relaxação do solvente em soluções de alguns carboidratos em função de suas frações máximas de prótons intercambiáveis.

Na Figura 8, encontram-se também dados referentes aos carboidratos: α -CD, β -CD, γ -CD e glicose, obtidos anteriormente¹⁵, quais são utilizados como base para comparação. Em uma concentração mássica específica dos carboidratos estudados, o número de unidades glicosídicas é, aproximadamente, o mesmo.

Como o aumento na concentração do carboidrato reflete em um maior número de moléculas de água envolvidas na solvatação dos grupos hidroxila, comparações entre os valores de R_2 dos carboidratos podem fornecer informações sobre a hidratação dos mesmos.

A maioria das interações intermoleculares da água é rápida, caracterizada por um curto tempo de correlação, relacionado à reorientação das moléculas de água. Entretanto, em soluções de carboidratos, as moléculas de água ligadas aos grupos hidroxila apresentam um tempo de correlação maior, refletindo em uma maior taxa de relaxação do solvente.⁴⁴

Os valores obtidos de Fk_b para os carboidratos foram comparados com o valor obtido para a glicose (Figura 9), qual foi assumida ter todos os prótons dos grupos hidroxila disponíveis para troca.

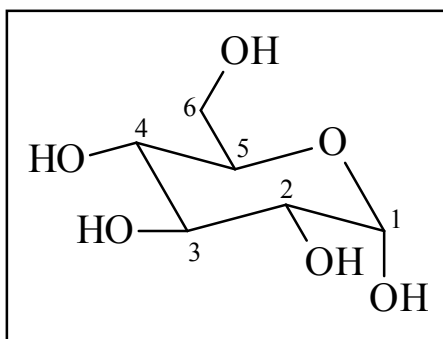


Figura 9. Estrutura molecular da glicose (α -D-glicose) com a numeração nos átomos de carbono.

Os valores calculados de F dos carboidratos estudados, comparados ao da glicose, encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Valores calculados de F para os carboidratos estudados.

Carboidrato	Número Total de grupos -OH por unidade monomérica	Fk_b / s^{-1}	F
dextrana	3	149	0,3
β -lactose	4	142	0,3
α -CD	3	167	0,3
β -CD	3	129	0,3
γ -CD	3	177	0,3
glicose	5	570	1

De acordo com a Tabela 1, todos os carboidratos, com exceção da glicose, possuem aproximadamente 30% de seus prótons de hidroxila acessíveis para troca.

As ciclodextrinas mantêm a estrutura molecular de cone truncado oco (Figura 10) estabilizada por ligações de hidrogênio intramoleculares entre os grupos hidroxila secundária, conforme apresentado no Capítulo 1, de forma que apenas os prótons das hidroxilas primárias (correspondentes a 1/3 do total) estejam acessíveis para troca com os prótons do solvente.

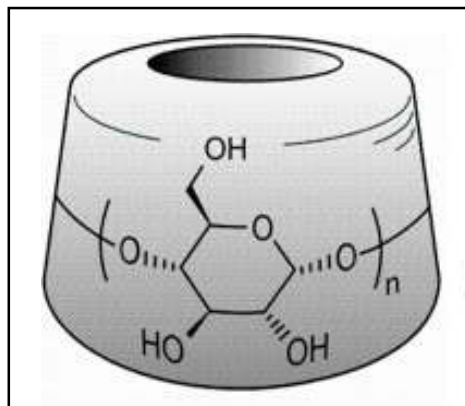


Figura 10. Estrutura molecular das ciclodextrinas ($n = 6, 7$ ou 8)

A dextrana é um polímero constituído por unidades de α -D-glicose ligadas através de ligações glicosídicas α -1,6⁴⁵ (Figura 11), podendo se enovelar de modo a formar ligações de hidrogênio intramoleculares através de seus grupos hidroxila. Nesta conformação, apenas 30% de seus prótons de hidroxila apresentam-se disponíveis para troca química com o solvente.

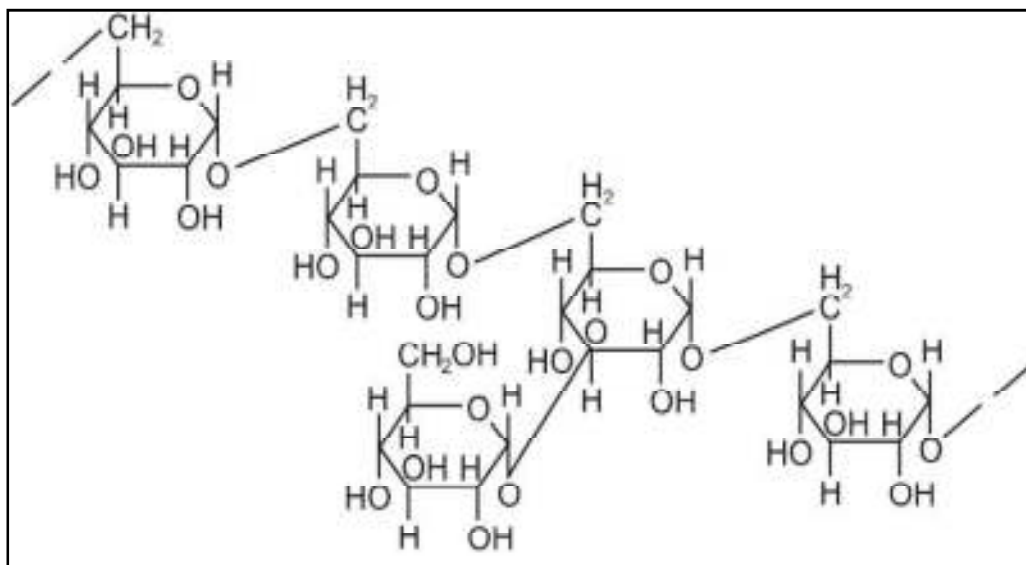


Figura 11. Estrutura molecular da dextrana na forma linear (não enovelada).

Um resultado intrigante foi obtido para a β -lactose. Uma vez que esse carboidrato é constituído por dois monômeros, um de β -D-glicose e outro de β -D-galactose⁴⁵ (Figura 12), ligados por ligação glicosídica $\beta(1-4)$ ⁴⁵, esperava-se que todos seus prótons de hidroxilas estivessem disponíveis para troca. Entretanto, encontrou-se um valor de F igual a 0,3, indicando que apenas 30% dos hidrogênios podem realizar troca com prótons da água. A explicação de tal resultado pode ser obtida dos estudos de dinâmica molecular de Almond⁴⁶ para oligossacarídeos. Nesse trabalho, mostra-se que unidades sacarídeas ligadas através de ligações $\beta(1-3)$ e $\beta(1-4)$ apresentam ligações de hidrogênio intramoleculares fortes e podem, em menor grau, estarem envolvidas em ligações do tipo ponte de água, na qual duas hidroxilas interagem por ligação de hidrogênio com uma molécula de água em comum. Portanto, transpondo tais resultados para a β -lactose, pode-se explicar, ainda que parcialmente, a concordância dos resultados de dinâmica molecular com os dados de relaxação do solvente.

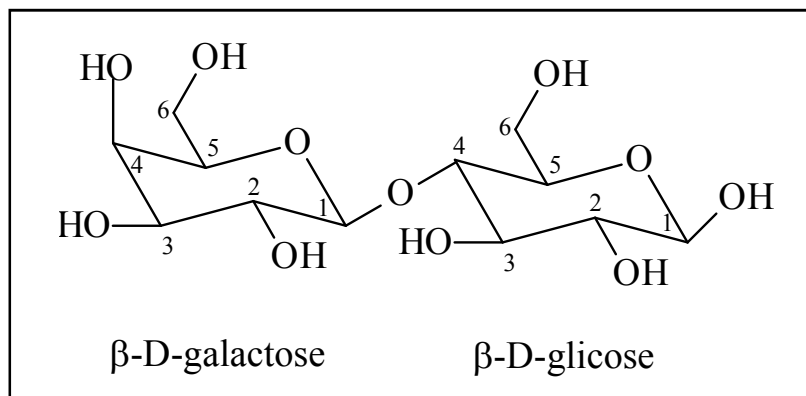


Figura 12. Estrutura molecular da β -lactose.

Na dextrina, as unidades glicosídicas são ligadas por ligações α -1,4⁴⁵ (Figura 13).

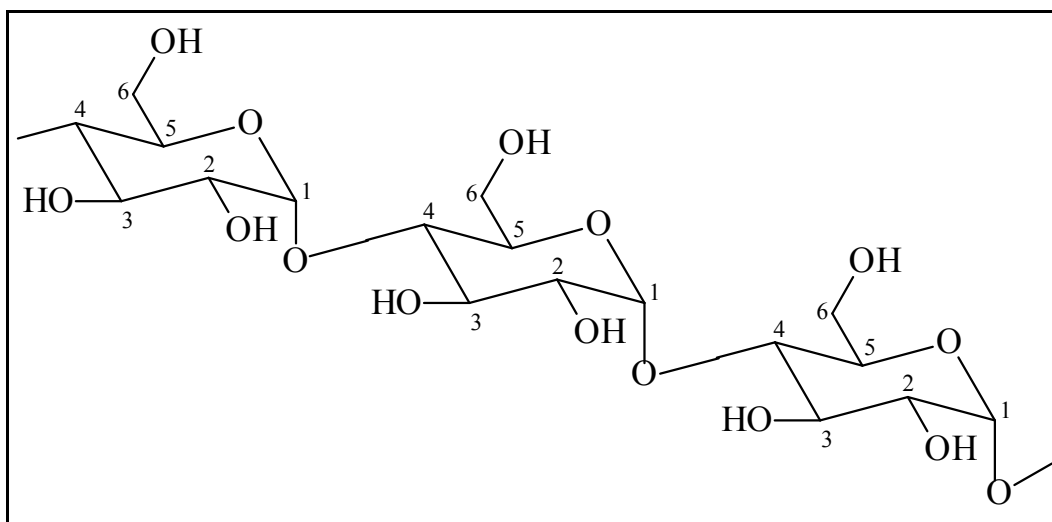


Figura 13. Estrutura molecular da dextrina.

Esperava-se, portanto, que os valores obtidos de R_2 nas soluções desse carboidrato estivessem na mesma região que da dextrana e ciclodextrinas, mas observou-se um comportamento diferenciado para R_2 em função de $(P_b)_{\max}$, como

mostra o gráfico da Figura 14. O resultado sugere a existência de duas regiões com taxas de relaxações distintas.

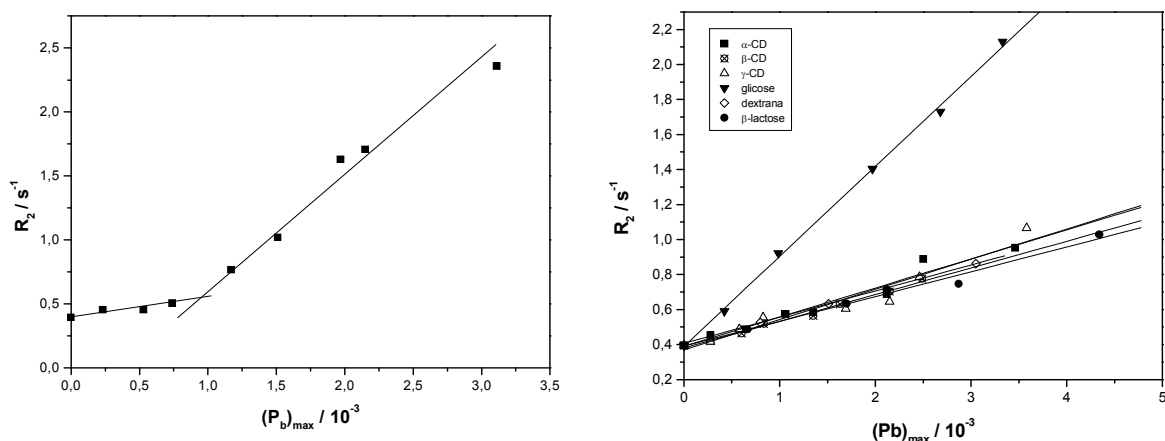


Figura 14. Taxas de relaxação do solvente em soluções de dextrina em função de suas frações máximas de prótons intercambiáveis (a esquerda). Na figura da direita, é repetido o gráfico com os outros carboidratos para comparação.

Uma possível justificativa para esse comportamento seria um acentuado aumento na viscosidade da solução acima de 0,25% (m/m), entretanto, não foi observada uma variação brusca na viscosidade relativa (η_{rel}) com o aumento da concentração, como mostra o gráfico da Figura 15.

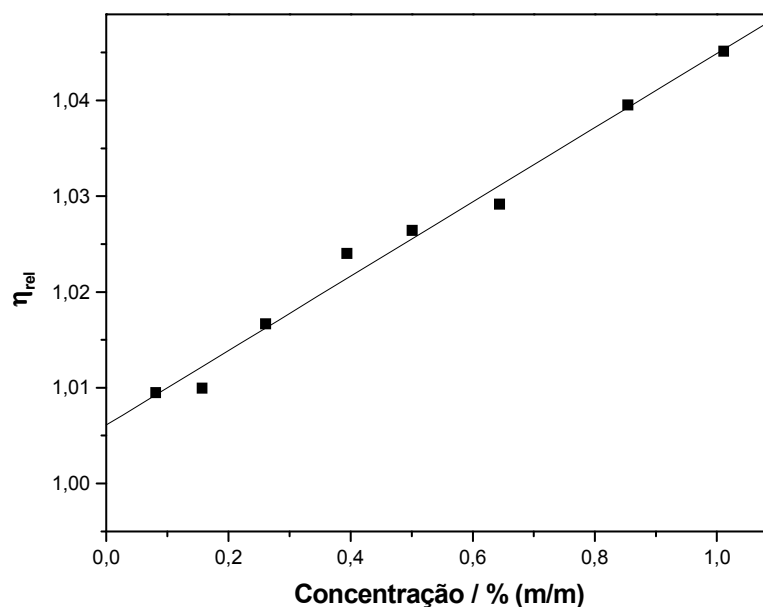


Figura 15. Viscosidade relativa de soluções de dextrina em função da concentração.

É possível que a dextrina ainda contenha partículas dispersas, não observáveis a olho nu, que possam afetar grandemente a taxa de relaxação da água. A presença das partículas pode não afetar significativamente a viscosidade, mas é suficiente para causar grande variação em T_2 . Um outro ponto a ser considerado é o confinamento de moléculas do solvente na rede polimérica quando a concentração aumenta. As moléculas do solvente com menor mobilidade apresentam maior taxa de relaxação.

2.2.2 SOLUÇÕES DE CICLODEXTRINAS SUBSTITUÍDAS

Estudos de dinâmica molecular⁴⁷⁻⁴⁸ mostraram que a ciclodextrina que induz mais fortemente a estruturação das moléculas de água ao seu redor (β -CD) é, portanto, menos solúvel, devido a perda entrópica. Observa-se que as moléculas de água estão mais estruturadas ao redor e no interior da cavidade da β -CD do que nas outras ciclodextrinas. Desta forma, estabelece-se uma estreita relação entre a solubilidade e o grau de interferência das moléculas de ciclodextrina na estrutura da água líquida. A flexibilidade dessas moléculas está associada ao movimento interno de cada unidade glicosídica e às distorções na estrutura do

macrociclo, refletindo em sua acomodação no meio líquido. Ou seja, a estruturação da água afeta diretamente o movimento interno e a acomodação das moléculas de ciclodextrina no líquido.^{15,47-48}

As ciclodextrinas nativas são macrociclos que, no estado sólido, apresentam geometria bem definida, onde os átomos do oxigênio envolvidos nas ligações glicosídicas (O4) são coplanares, com desvios menores que 0,25 Å do plano médio formado entre eles. A distância O4...O4' é aproximadamente constante para as três espécies, enquanto o ângulo O4...O4'...O4'' aumenta com o número de unidades glicosídicas, mas são as ligações de hidrogênio que desempenham o papel principal para o estabelecimento dessa geometria (veja Figura 16).

Além das ligações de hidrogênio entre as hidroxilas O-H...O-H, é comum ocorrer em carboidratos ligações de hidrogênio do tipo C-H...O-H, quais representam cerca de 25% do total. Elas ocorrem quando um átomo de oxigênio não satisfaz todo seu potencial receptor de ligações de hidrogênio e existem átomos de hidrogênio de grupos -CH com suficiente potencial doador de ligações de hidrogênio.⁴⁹

No caso das ciclodextrinas, esse tipo de ligação não apenas ajuda a estabilizar as interações em um complexo de inclusão, como também contribui para a estabilização do arranjo cristalino e da conformação do macrociclo.⁴⁹

As ligações de hidrogênio intramoleculares entre hidroxilas de unidades monoméricas vizinhas, O2...O3', são as responsáveis pela estabilidade da estrutura cristalina das ciclodextrinas, qual nem sempre é um cone truncado perfeito. A α -CD.6H₂O apresenta todas as moléculas de água extremamente ordenadas, porém o macrociclo desta ciclodextrina sofre uma pequena distorção devido à ligeira rotação de uma unidade glicosídica, que se desalinha das outras cinco. Esta rotação leva à ruptura de duas das seis ligações de hidrogênio O2...O3'. Dessa forma, a hidroxila primária desse monômero se aproxima do centro da α -CD para fazer uma ligação de hidrogênio com uma das duas moléculas de água contidas na cavidade do carboidrato, estabilizando o complexo aquoso. Esta conformação distorcida para a α -CD é observada somente quando a água é a molécula hóspede. Com outros solventes, os complexos formados

apresentam as seis ligações de hidrogênio O2...O3' e não há distorções no macrociclo.

A γ -CD também forma uma estrutura circular mantida por ligações de hidrogênio O2...O3' intramoleculares, possuindo a menor distância O2...O3' dentre as três ciclodextrinas e ligações de hidrogênio O2...O3' mais efetivas. A geometria formada pelas oito unidades glicosídicas é semelhante à geometria da β -CD,^{23,49} discutida a seguir, porém a estrutura do macrociclo é mais flexível que as estruturas da α -CD e β -CD.⁴⁷

No anel macrocíclico da β -CD, as sete ligações de hidrogênio O2...O3' são estabelecidas, mantendo a estrutura do macrociclo rígida, pois as unidades glicosídicas sofrem distorções muito menores que a α -CD, semelhante à γ -CD. A distância O2...O3' é menor para a β -CD, em relação à α -CD, o que torna a ligação de hidrogênio mais efetiva, neste caso, e reduz a liberdade rotacional em torno da ligação glicosídica. Como consequência, a complexação da β -CD não afeta significativamente a conformação do macrociclo.^{23,50} Uma outra evidência da maior força das ligações de hidrogênio na β -CD foi observada por Casu e col.,⁵¹ através das constantes de equilíbrio de troca do hidrogênio por deutério nas hidroxilas secundárias da α -CD e β -CD (0,65 para a β -CD e 0,75 para a α -CD).

O dodecaidrato de β -CD, β -CD.12H₂O, possui sete moléculas de água em sua cavidade e, as outras cinco moléculas, em seu exterior. As moléculas de água na cavidade são desordenadas e ocupam parcialmente onze sítios possíveis. Estudos de difração de nêutrons com β -CD com todas as hidroxilas deuteradas e com água deuterada, mostrou que das 53 ligações de hidrogênio da unidade cristalina, 35 eram do tipo O-($\frac{1}{2}$ D)...($\frac{1}{2}$ D)-O, que representam o equilíbrio dinâmico D-O...D-O $\leftrightarrow$ O-D...O-D, denominadas ligações de hidrogênio "flip-flop".⁵²⁻⁵³

Essas ligações de hidrogênio ocorrem devido a uma desordem no cristal β -CD.12H₂O e são encontradas em todas as sete ligações de hidrogênio intramoleculares O2...O3', como mostra a Figura 16.

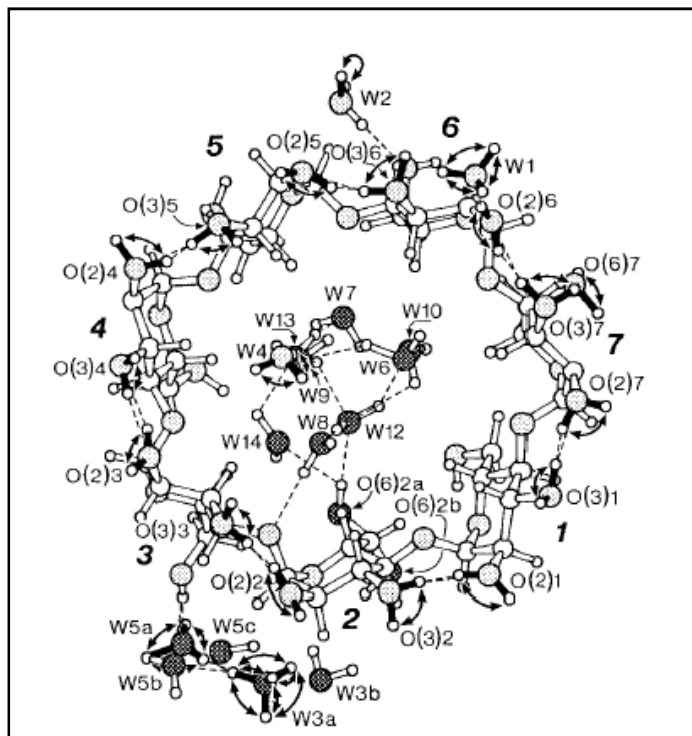


Figura 16. Secção da estrutura cristalina da β -CD.12D₂O deuterada, onde as ligações de hidrogênio são indicadas pelas linhas tracejadas e, as ligações de hidrogênio “flip-flop”, pelas setas curvas.⁴⁹

A desordem dos grupos D-O apresenta uma vantagem energética para o cristal e é um comportamento característico da β -CD, podendo ocorrer também na γ -CD, mas não na α -CD. Essa afirmação é comprovada por análises de raios-X, as quais permitem observar a localização dos átomos de hidrogênio das hidroxilas secundárias apenas no cristal de α -CD, onde eles estão ordenados. Entretanto, os átomos de hidrogênio das hidroxilas secundárias não podem ser localizados nos cristais de β -CD e γ -CD, provavelmente devido à desordem destes átomos.

A desordem “flip-flop” está confinada aos anéis de sete e oito unidades glicosídicas por causa da geometria entre estas unidades otimizar a estabilização das ligações de hidrogênio O2...O3', uma vez que as distâncias O2...O3' são similares para a β -CD e γ -CD, enquanto é muito maior para a α -CD. Como a geometria na α -CD é diferente devido à maior curvatura do macrociclo, as condições para a ocorrência de desordem “flip-flop” são menos adequadas que

para as outras duas ciclodextrinas. Por razões entrópicas, uma rede de desordem “flip-flop” é mais favorável que uma rede ligações de hidrogênio ordenadas e permite uma melhor estabilização estrutural do macrociclo.⁴⁹

Em solução, as ciclodextrinas são moléculas bastante flexíveis e abrangem uma ampla faixa de conformações, algumas das quais se afastam consideravelmente de uma alta simetria.²⁴ Em frente disso, assume-se que a ciclodextrina de estrutura cristalina mais rígida, β -CD, apresentará menor número de conformações quando em solução.

A substituição de alguns grupos hidroxila na β -CD diminui o número de ligações de hidrogênio nesta molécula, aumentando sua flexibilidade e solubilidade, como consequência. Ao realizar os estudos de relaxação com soluções de HP- β -CD e DMe- β -CD, almejou-se observar essa variação na solubilidade através de diferenças na solvatação dos oligossacarídeos. Entretanto, os dados obtidos para essas soluções é semelhante aos obtidos para soluções de β -CD¹⁵, como se observa na Figura 17. Portanto, as medidas de taxa de relaxação da água indicam que, dentro do limite da técnica, a estruturação das moléculas de água ao redor das moléculas de ciclodextrinas é muito parecida.

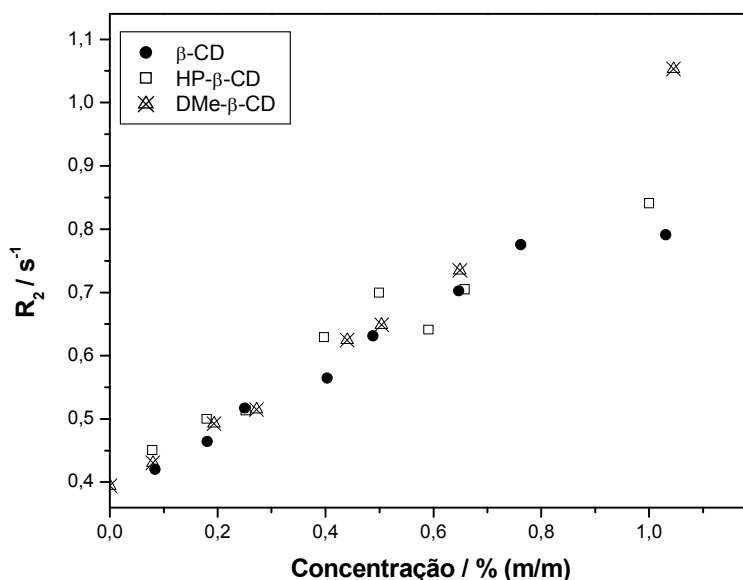


Figura 17. Taxa de relaxação da água em soluções de β -CD, HP- β -CD e DMe- β -CD em função de suas concentrações em % (m/m).

Entretanto, o modelo de dois sítios, quando aplicado aos dados obtidos de R_2 para β -CD, HP- β -CD e DMe- β -CD, consegue distinguir entre as espécies. Os resultados obtidos pelo modelo de dois sítios encontram-se na Figura 18.

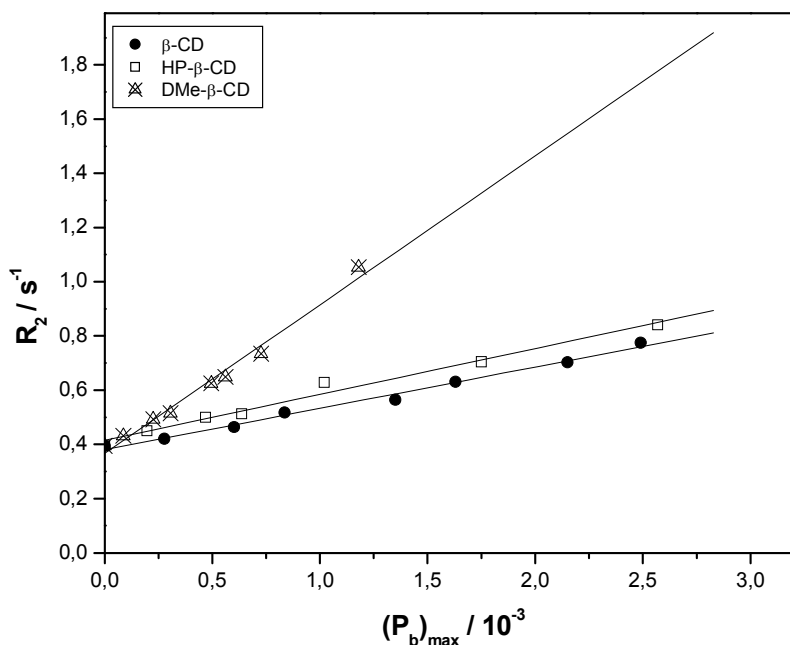


Figura 18. Taxas de relaxação do solvente em soluções de β -CD, HP- β -CD e DMe- β -CD em função de suas frações máximas de prótons intercambiáveis.

Como resultado da substituição de alguns grupos hidroxila da β -CD, ocorre a quebra das ligações de hidrogênio formadas entre as hidroxilas secundárias (situadas em uma das bordas da molécula de CD), levando a uma maior interação entre as moléculas de água e as hidroxilas não substituídas. A possibilidade de troca dos prótons destas hidroxilas com os da água passa a afetar o valor de R_2 . A maior interação dos grupos hidroxilas também leva a um consequente aumento na solubilidade das espécies modificadas.

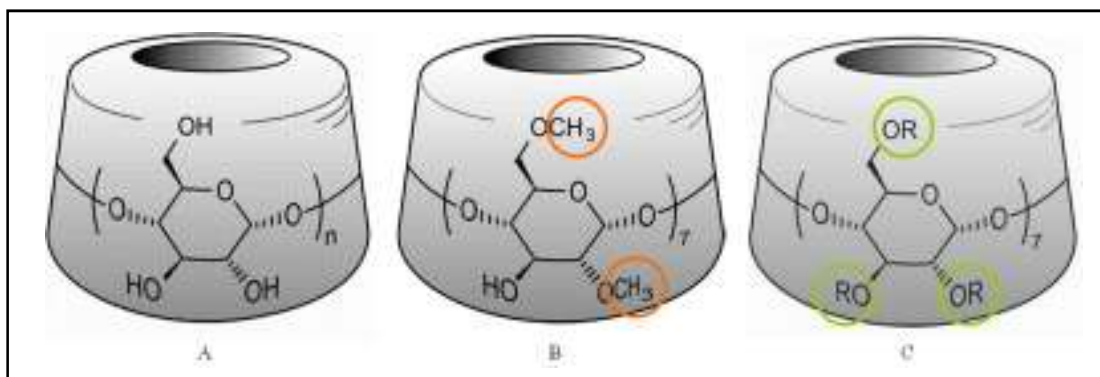


Figura 19. Estruturas moleculares das espécies: **A)** ciclodextrinas ($n = 6, 7$ ou 8); **B)** DMe- β -CD; **C)** HP- β -CD ($R = H$ ou $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_3$).

Observa-se na Figura 18 que a inclinação da reta para a HP- β -CD é praticamente a mesma que para a β -CD, ou seja, ambas apresentam Fk_b com valores muito próximos (164 e 129, respectivamente). Calculando-se o valor de F , em comparação com a glicose, para ambas o valor obtido é de 0,3, indicando que a substituição não rompe totalmente as ligações de hidrogênio da molécula. Como o grau de substituição da HP- β -CD utilizada é de 5,25 a 6,65 ¹⁶, a amostra é composta por uma distribuição de β -CD modificadas com 5,25 a 6,65 grupos hidroxipropil por molécula. Em média, cada unidade glicosídica possui três grupos hidroxila, como a β -CD, dois ligados a átomos de carbono do anel de glicose e um pertencente ao substituinte (hidroxipropil).

A DMe- β -CD possui apenas um grupo hidroxila por unidade de glicose, o que impede a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares. Desta forma, todos os prótons das hidroxilas da molécula estão disponíveis para troca com a água, refletindo em um F igual a 1, comparado ao valor encontrado para a glicose.

CAPÍTULO 3. POLÍMEROS HIDROFÍLICOS

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR) é uma técnica muito utilizada na investigação da estrutura e da dinâmica molecular em solução e medidas de relaxação em NMR são capazes de fornecer informações complementares a respeito da dinâmica molecular de soluto e solvente.

Como visto no Capítulo 2, no caso de soluções aquosas de carboidratos, é possível obter informações estruturais do soluto a partir da relaxação spin-spin dos prótons do solvente, qual é alterada pela presença dos grupos hidroxila no carboidrato. O modelo proposto para descrever tal comportamento considera a troca química entre os prótons dos grupos hidroxila e da água como mecanismo principal da relaxação do solvente e é dependente da disponibilidade dos grupos hidroxila do carboidrato para realizar a troca química com a água.

Os resultados obtidos para carboidratos motivaram os estudos com polímeros lineares hidrofílicos, os quais possuem hidrogênios lábeis em suas estruturas, ou seja, hidrogênios capazes de realizar a troca química com a água. Estes hidrogênios são provenientes de grupos hidroxila, amida e/ou ácido carboxílico. Para comparação, polímeros hidrofílicos lineares que não possuem tais hidrogênios também foram estudados para investigar como a relaxação do solvente é afetada nesses casos e sua relação com a estrutura molecular das cadeias poliméricas.

3.1 METODOLOGIA

Foi medido o T_2 da água das soluções abaixo descritas nas condições experimentais especificadas no item 2.1.

3.1.1 EFEITO DA PRESENÇA DE GRUPOS HIDROFÍLICOS

Foram preparadas soluções aquosas entre 0,08 e 1% (m/m) dos seguintes polímeros: poli(etileno glicol) 400Da (lote 05105PZ), poli(etileno glicol) dimetil éter PEGdME 250 Da (lote 02711MU), poli(álcool vinílico) PVA 13.000 Da (lote 08225JN) e 85.000 Da (lote 12702CN), poli(acrilamida-co-ácido acrílico) co-PAM 5.000.000 Da 1,5 % hidrolisado (lote 00111TF), poli(ácido acrílico) PAA 2.000 Da (lote 08715AQ) e poli(vinilpirrolidona) PVP 10.000 Da (lote 04031MG) Sigma-Aldrich®; poli(acrilamida) PAM 5.000.000 Da (lote 565015) Polysciences, Inc; PEG 300 Da (lote 807484) Merck-Schuchardt OHG; PEG 6.000 Da (lote 630171180) Riedel de Häen.

Soluções aquosas de entre 0,08 e 2,5 % (m/m) de PEG 200Da (lote 67H1558) Sigma-Aldrich® foram preparadas para estudos comparativos com soluções de PEG 300, 400 e 6.000 Da na mesma faixa de concentração. As medidas foram realizadas nas condições experimentais do item 2.1. Paralelamente, PEG 200 e 300 Da secos com peneira molecular foram analisados por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) utilizando um calorímetro TA Instruments 2910 MDSC com taxa de aquecimento e resfriamento de 5 °/min na faixa de temperatura de -120 a 30 °C.

3.1.2. INFLUÊNCIA DO pH EM SOLUÇÕES DE PAA

Água Milli-Q foi ajustada em diversos pH (entre 2 e 10) utilizando soluções de NaOH e HCl. Alíquotas da água em todos os pH foram analisadas através de medidas do T_2 do solvente utilizando os mesmos parâmetros citados no item 2.1. O procedimento foi repetido em uma solução 1% (m/m) de PAA 2.000 Da. Para analisar o efeito da adição de íons, provenientes do HCl e do NaOH, repetiu-se o procedimento substituindo a água Milli-Q por uma solução 0,1 mol l⁻¹ de NaCl, para manter a força iônica constante (0,1 mol l⁻¹). Os T_2 da água dessas soluções foram medidos nas mesmas condições e comparados entre si.

3.1.3 EFEITO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO SOL-GEL

Foram realizadas medidas do T_2 da água em soluções 5% (m/m) de poli(N-isopropil-acrilamida) PNIPAAm 20.000 Da (Sigma, lote 12631EH) e 20% (m/m) de Pluronic® F127 (BASF) nas faixas de temperatura 27 a 34 °C e 24 a 31°C, respectivamente.

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os valores de T_2 do solvente foram convertidos para taxa de relaxação (R_2), também neste conjunto de experimentos, para poder utilizar o modelo de dois sítios.

3.2.1 EFEITO DA PRESENÇA DE GRUPOS HIDROFÍLICOS

Abaixo são listadas as estruturas e os nomes dos polímeros utilizados neste trabalho.

Tabela 2. Estruturas e nomes dos polímeros estudados.

Estrutura	Nome
$\text{H}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{OH}$	poli(etileno glicol)
$\text{H}_3\text{C}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{OCH}_3$	poli(etileno glicol) dimetil éter
$\begin{array}{c} \text{---}(\text{CH}_2\text{CH})_n\text{---} \\ \\ \text{OH} \end{array}$	Poli(álcool vinílico)
$\begin{array}{c} \text{---}(\text{CHCH}_2)_n\text{---} \\ \\ \text{CONH}_2 \end{array}$	poli(acrilamida)
$\begin{array}{cc} \text{---}(\text{CHCH}_2)_n\text{---} & \text{---}(\text{CHCH}_2)_m\text{---} \\ & \\ \text{CONH}_2 & \text{COOH} \end{array}$	poli(acrilamida-co-ácido acrílico)
$\begin{array}{c} \text{---}(\text{CHCH}_2)_n\text{---} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	poli(ácido acrílico)
$\begin{array}{c} \text{---}(\text{CHCH}_2)_n\text{---} \\ \\ \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	poli(vinilpirrolidona)
$\text{H}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{106}-(\text{OCHCH}_2)_{70}-\text{OH}$ $\quad \quad \quad $ $\quad \quad \quad \text{CH}_3$	Pluronic® F127
$\begin{array}{c} \text{---}(\text{CH}_2\text{CH})_n\text{---} \\ \\ \text{O}=\text{C} \quad \text{NH} \\ \quad \quad \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	poli(N-isopropil-acrilamida)

No caso dos polímeros, não foi realizado o cálculo do $(P_b)_{\text{max}}$. Como este parâmetro representa uma fração molar, pode-se assumir que a taxa de relaxação spin-spin do solvente é linearmente proporcional à concentração do polímero. A inclinação da curva indica quão disponíveis estão os prótons dos grupos hidroxila do polímero e reflete a conformação estrutural de suas cadeias. A Figura 20

mostra como a relaxação spin-spin do solvente varia com a concentração de alguns polímeros hidrofílicos.

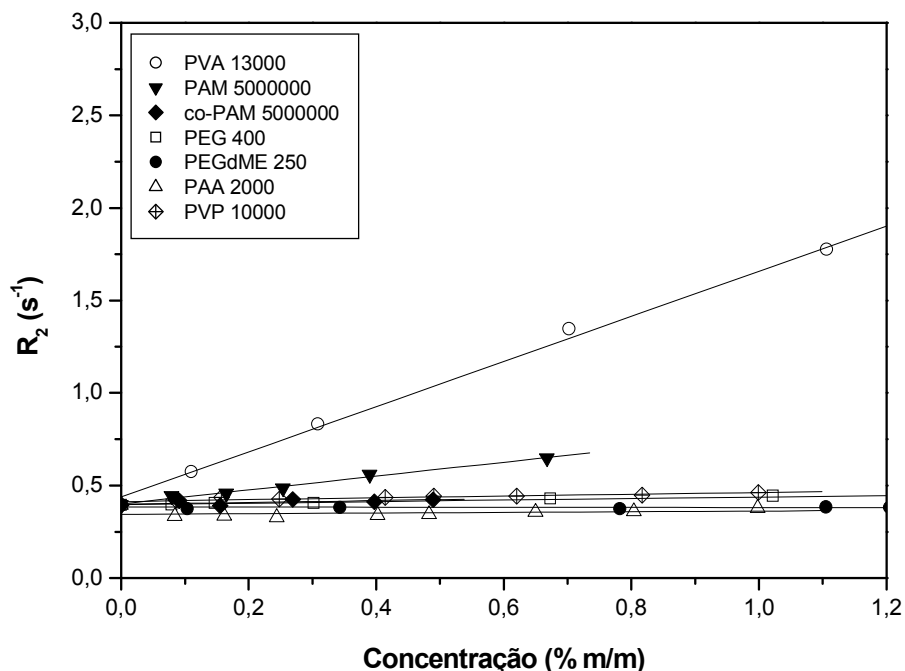


Figura 20. Taxas de relaxação do solvente em soluções de alguns polímeros hidrofílicos em função da concentração a 25 °C.

O PVA é o polímero que causa a maior alteração no R_2 do solvente, dentre os polímeros estudados, devido ao seu elevado número de grupos hidroxila. A acentuada inclinação da curva indica que uma considerável fração dos prótons de hidroxila está realizando a troca química com as moléculas de água, enquanto que os demais grupos hidroxila estão envolvidos em ligações de hidrogênio intramoleculares.

Na estrutura da PAM existem muitos grupos amida, quais realizam a troca química com as moléculas de água e podem estabelecer ligações de hidrogênio intramoleculares. Observa-se, então, que a PAM também afeta a relaxação da água, porém em menor grau que o PVA, como mostra a menor inclinação de sua curva. Deve-se considerar, no entanto, que é possível que a elevada massa molecular da PAM possa ter influenciando nesse resultado. Estudos com PAM de maior massa molecular estão sendo realizados para esclarecer este ponto.

Comparativamente com a PAM, o estudo com o co-PAM (de mesma massa molecular) mostra que, independente da concentração do polímero, a R_2 do solvente não é alterada. Os grupos ácidos aleatórios presentes nesse polímero estabelecem ligações de hidrogênio com os grupos amida muito mais efetivas que entre os grupos amida da PAM. Como resultado, a cadeia polimérica do co-PAM torna-se menos expandida que a cadeia da PAM o que pode ser confirmado pelos valores medidos de viscosidade intrínseca dos dois polímeros (8 dL g^{-1} e 116 dL g^{-1} , para co-PAM e PAM, respectivamente). Como os grupos ácido e amida estão envolvidos em ligações de hidrogênio intramoleculares, apenas uma fração muito pequena deles está acessível para a troca química com as moléculas de água. Essa fração não é suficiente para alterar de forma significativa a relaxação da água.

Os estudos das soluções de polímeros que não possuem grupos hidroxila ou amida em suas estruturas (PEGdME, PAA e PVP) mostram que a relaxação da água não é afetada pela presença do soluto na faixa de concentração utilizada. A indisponibilidade ou ausência de grupos como hidroxila e amida para realizar a troca química com os hidrogênios da água faz com que a relaxação do solvente não seja alterada, em relação ao solvente puro, de forma significativa.^{16,41-43,54} Resultado semelhante foi obtido para as soluções de PEG 400 Da, apesar deste polímero possuir grupos hidroxila em sua cadeia. Uma possível explicação será apresentada adiante.

A R_2 da água em soluções de PVA apresenta uma dependência com a massa molar da cadeia polimérica (Figura 21). Para uma mesma concentração mássica dos polímeros, existe o mesmo número de monômeros, entretanto, para a cadeia de PVA maior, é possível que a maior concentração local dos meros permita a formação de pontes de hidrogênio intramolecular, diminuindo o maior número total de grupos hidroxila na cadeia carbônica livre para trocar prótons com as moléculas de água, refletindo em uma menor taxa de relaxação.

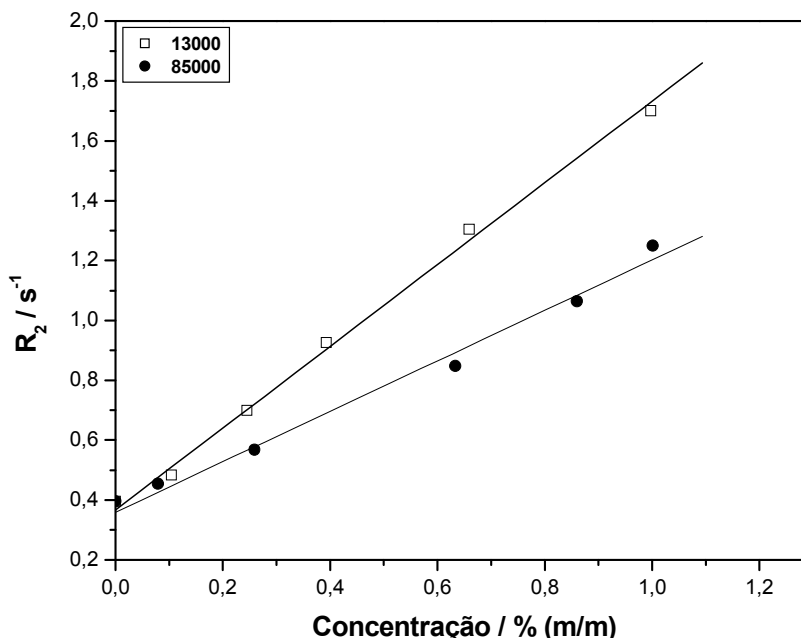


Figura 21. Taxas de relaxação do solvente em soluções de PVA 13000 e 85000 Da em função da concentração a 25 °C.

Comparando-se as inclinações das duas retas da Figura 21, pode-se estimar que a fração de hidroxilas livres no caso do PVA 13000 é cerca de 1,6 vezes maior que no PVA 85000 Da.

O PEG 400 Da, apesar de possuir em suas extremidades grupos hidroxila, não altera significativamente a taxa de relaxação da água, como mostra a Figura 20. Para elucidar esse comportamento, foram estudadas, comparativamente, soluções de PEG de massas molares distintas (200, 300 e 6.000 Da).

De acordo com a Figura 22, observa-se que apenas o PEG 200 Da altera a significativamente a relaxação da água, inclusive mais que o observado para o PVA 13000. De acordo com o modelo proposto, no qual a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares entre os grupos hidroxila indisponibiliza estes hidrogênios para a troca química, a primeira explicação encontrada foi associar o resultado com a impossibilidade de formação de ligações de hidrogênio intramoleculares pelas hidroxilas deste polímero. A explicação foi racionalizada considerando que o PEG 200 é o mais curto entre os PEG estudados. Nos

demais sistemas, essas ligações poderiam ser estabelecidas, pois haveria tamanho e geometria favorável para ocorrerem. A formação desse tipo de ligações entre as cadeias (interações intermoleculares) não foi considerada pois as medidas foram realizadas em regime diluído.

Segundo esta proposta, devido às ligações de hidrogênio intramoleculares formadas nas soluções de PEG 300, 400 e 6.000 Da, a fração de hidroxilas disponíveis para a troca química com o solvente seria reduzida a ponto de não afetar, consideravelmente, a relaxação das moléculas de água.

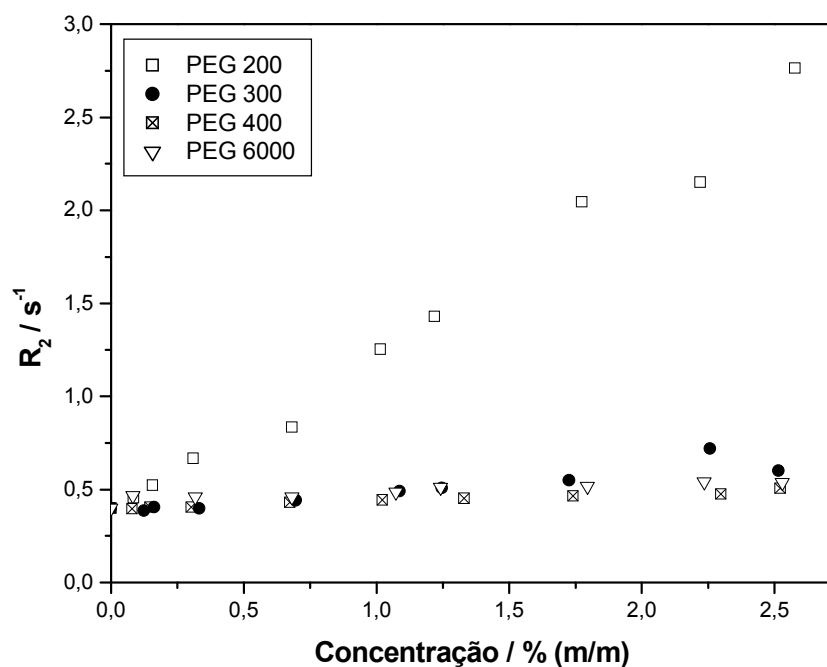


Figura 22. Taxas de relaxação do solvente em soluções de PEG 200, 300, 400 e 6.000 Da em função da concentração a 25 °C.

A drástica diferença de comportamento entre o PEG 200 e o 300 Da, nos motivou a desenvolver outras estudos comparativos dos dois polímeros. Foi estudado o comportamento térmico dos dois polímeros puros, através de medidas de DSC, procurando avaliar os efeitos de transições como a fusão dos mesmos.

Os resultados obtidos para os PEG 200 e 300 Da secos, por DSC (Fig. 23 e 24), ajudam a sustentar a hipótese de não formação de ligações de hidrogênio intramoleculares no PEG 200, devido ao tamanho da cadeia polimérica.

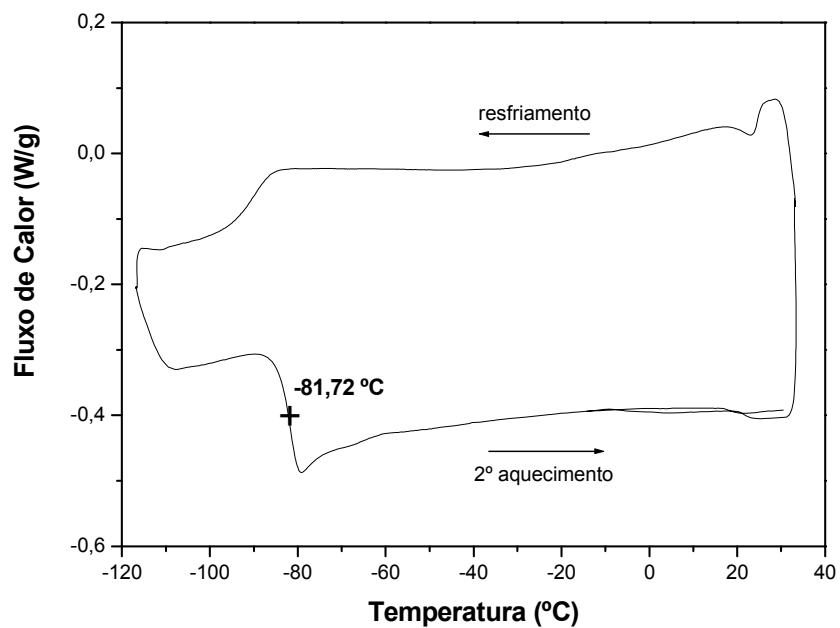


Figura 23. Termograma (DSC) de resfriamento e 2º aquecimento do PEG 200 Da.

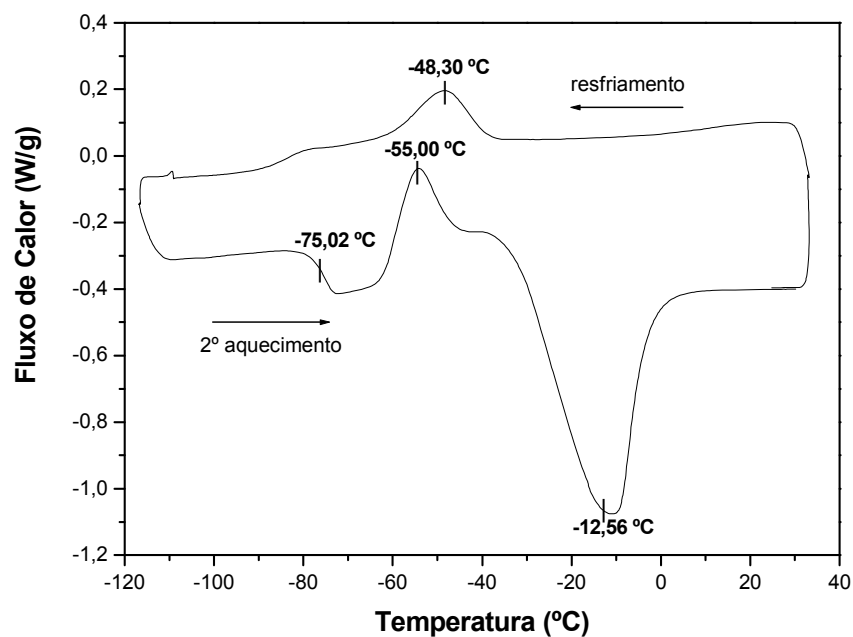


Figura 24. Termograma (DSC) de resfriamento e 2º aquecimento do PEG 300 Da.

Para o PEG 200 Da, é observada a $-84,14\text{ }^{\circ}\text{C}$ uma transição, referente à transição vítrea, e nenhum pico de cristalização e de fusão é observado. Para o PEG 300, a transição vítrea ocorre a $-75,02\text{ }^{\circ}\text{C}$, a $-55,00\text{ }^{\circ}\text{C}$ um pico exotérmico indica a cristalização e um intenso pico endotérmico a $-12,56\text{ }^{\circ}\text{C}$ é observado, atribuído à fusão do polímero. Esses dados revelam que o PEG 200 Da tem características mais próximas de um álcool que de um polímero por formar uma matriz vítrea sem cristalizar⁵⁵, ou seja, a importância dos grupos hidroxila neste polímero é maior que nos homólogos de maiores massa molares. Com base neste resultado, ficava reforçada a hipótese de que o PEG 200 afeta mais as moléculas de água e, portanto R_2 , pelo fato de ter as hidroxilas livres. Entretanto, esta explicação para a relaxação anômala da água na solução de PEG 200 Da pode ser facilmente refutada pela montagem de uma cadeia deste polímero utilizando modelos moleculares didáticos. Observa-se que é possível que esta cadeia polimérica adquira geometria favorável a formar ligações de hidrogênio intramoleculares entre suas hidroxilas terminais.

A elucidação do comportamento observado no gráfico da Fig. 22 foi encontrada através de estudos de dinâmica molecular em um trabalho de colaboração do Prof. Dr. Munir S. Skaf (IQ – Unicamp) e de suas orientandas, Denise C. Melo e Érica T. Prates.

Através de estudos computacionais de simulações de dinâmica molecular é possível corroborar dados experimentais e elucidar comportamentos de soluções sob uma perspectiva molecular. Nos estudos destes pesquisadores, foram realizadas simulações de dinâmica molecular de polímeros em solução aquosa variando-se suas massas moleculares e suas terminações. Foram simuladas quatro situações distintas: um polímero de 200 Da e 4 monômeros, aproximadamente, com terminação hidroxilada (PEG 200), outro de mesma massa molecular, porém com terminações metiladas (PEGdME 200) e os massa molecular próximo a 400 Da e 8 monômeros, com terminações hidroxiladas e metiladas (PEG 400 e PEGdME 400, respectivamente).

As configurações iniciais foram termalizadas a 298 K e são mostradas na Figura 25.

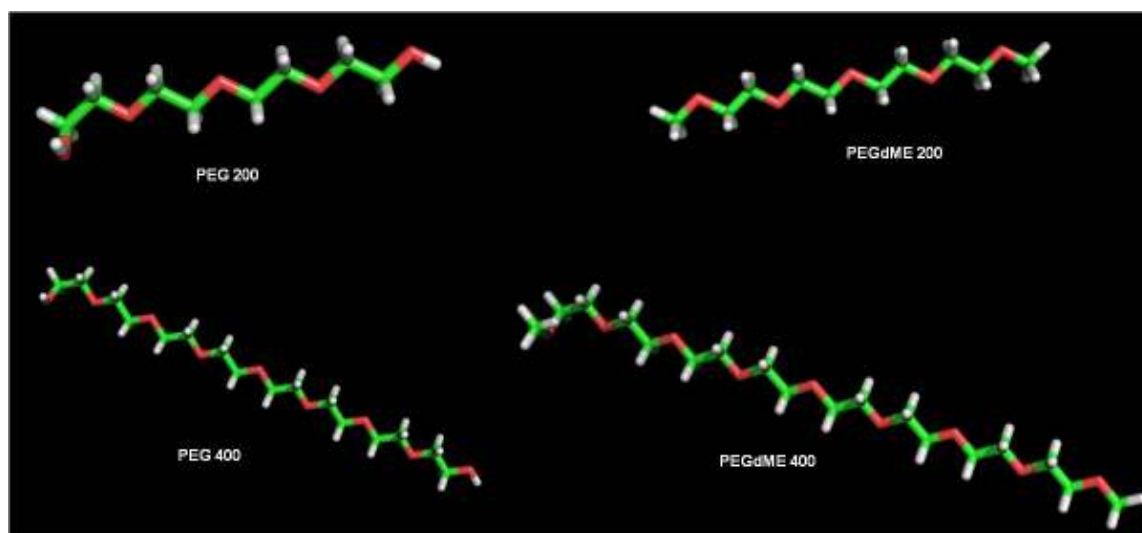


Figura 25. Esquema dos polímeros usados na simulação e suas respectivas denominações. Em verde, os átomos do carbono; em branco, os átomos de hidrogênio; em vermelho, os átomos de oxigênio.

As Figuras 26, 27, 28 e 29 mostram os alinhamentos dos *frames* (conjunto de imagens) tomando a conformação inicial como referência, de maneira que todas as figuras possuem o mesmo número de *snapshots* (“fotos instantâneas”). Foram considerados sete átomos centrais de cada cadeia para o alinhamento, de modo que os átomos restantes se posicionassem de acordo com sua mobilidade na simulação. Os átomos mais flexíveis foram coloridos de vermelho; os mais rígidos, de azul; e, os intermediários, de branco.

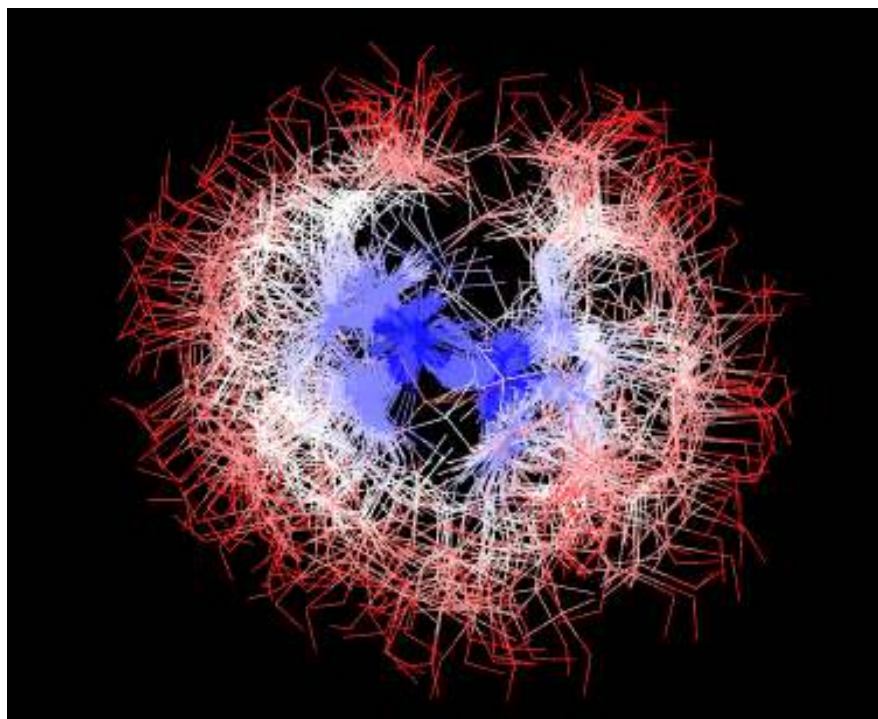


Figura 26. *Snapshots* da trajetória alinhados para o PEG 200 Da.

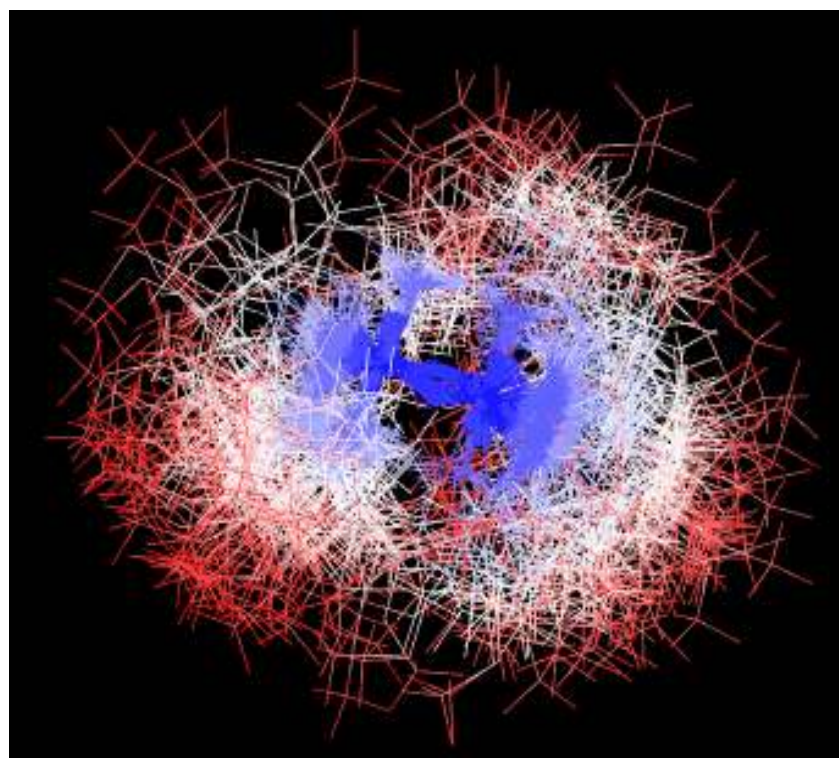


Figura 27. *Snapshots* da trajetória alinhados para o PEGdME 200 Da.

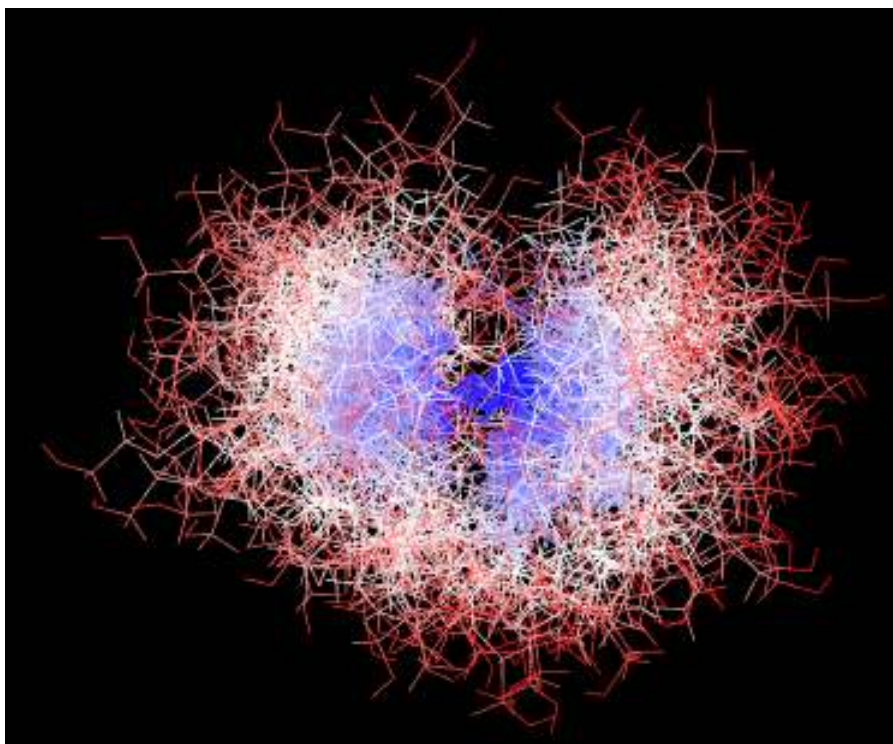


Figura 28. *Snapshots* da trajetória alinhados para o PEG 400 Da.

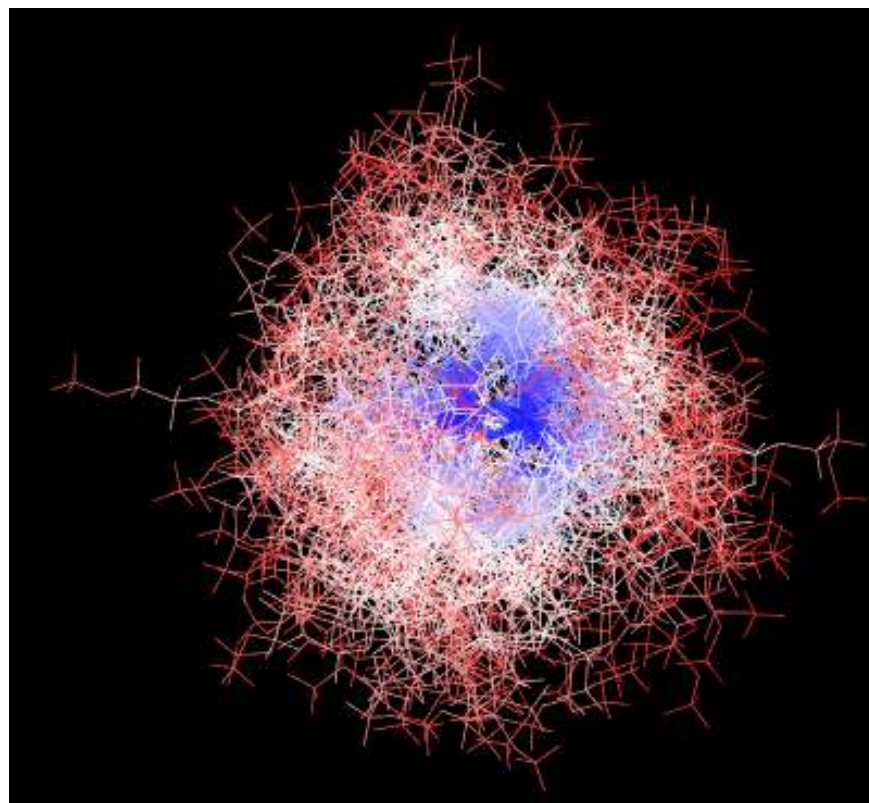


Figura 29. *Snapshots* da trajetória alinhados para o PEGdME 400 Da.

As conformações observadas nas Figuras 26, 27, 28 e 29 são bastante diferentes entre si. Nos dois casos do PEG 200 (Fig. 26 e 27), é bastante evidente que a mobilidade dos segmentos é menor que nos casos dos PEG maiores. A mobilidade é também comparativamente maior se as hidroxilas são metiladas. Isto indica que cada polímero em solução aquosa possui uma solvatação distinta. A hidratação dos polímeros pode ser estimada por uma função de probabilidade de sobrevivência, conhecida como função de probabilidade de Impey⁵⁶. Esta calcula o tempo médio de residência das moléculas do solvente para a primeira camada de solvatação do polímero, como mostra a equação 22.

$$n_w(t) = \sum_{j=1}^{N_w} \langle p_j(0)p_j(t) \rangle \quad [22]$$

A molécula de água j tem uma função $p_j(t) = 1$ se j for adjacente ao polímero continuamente no intervalo $[0;t]$. Caso contrário, esta função apresentará valor zero.

Denomina-se critério de adjacência entre a água e o polímero a distância interatômica entre os oxigênios da água (σ_w) e os carbonos ou oxigênios do polímero (σ_p). Se esta distância for menor que a média aritmética dos raios de van der Waals, $r_c = (\sigma_w + \sigma_p) / 2$, considera-se as moléculas adjacentes.

A figura 30 mostra os resultados de $n_w(t)$, onde $n_0 \equiv n_w(t=0)$, que corresponde ao número médio das águas de solvatação de cada sistema. Quanto maior for a mobilidade das moléculas de água, mais elas se distanciarão e o decaimento de sua função de probabilidade de sobrevivência se tornará maior. O ajuste desta função pode ser realizado por funções multiexponenciais, como a equação 23.

$$C_1 = a_1 e^{-\frac{t}{t_1}} + a_2 e^{-\frac{t}{t_2}} \quad [23]$$

Os parâmetros a_1 e a_2 representam a fração de moléculas que deixam a primeira camada de hidratação dentro dos tempos característicos t_1 (tempos longos) e t_2 (tempos curtos), respectivamente.

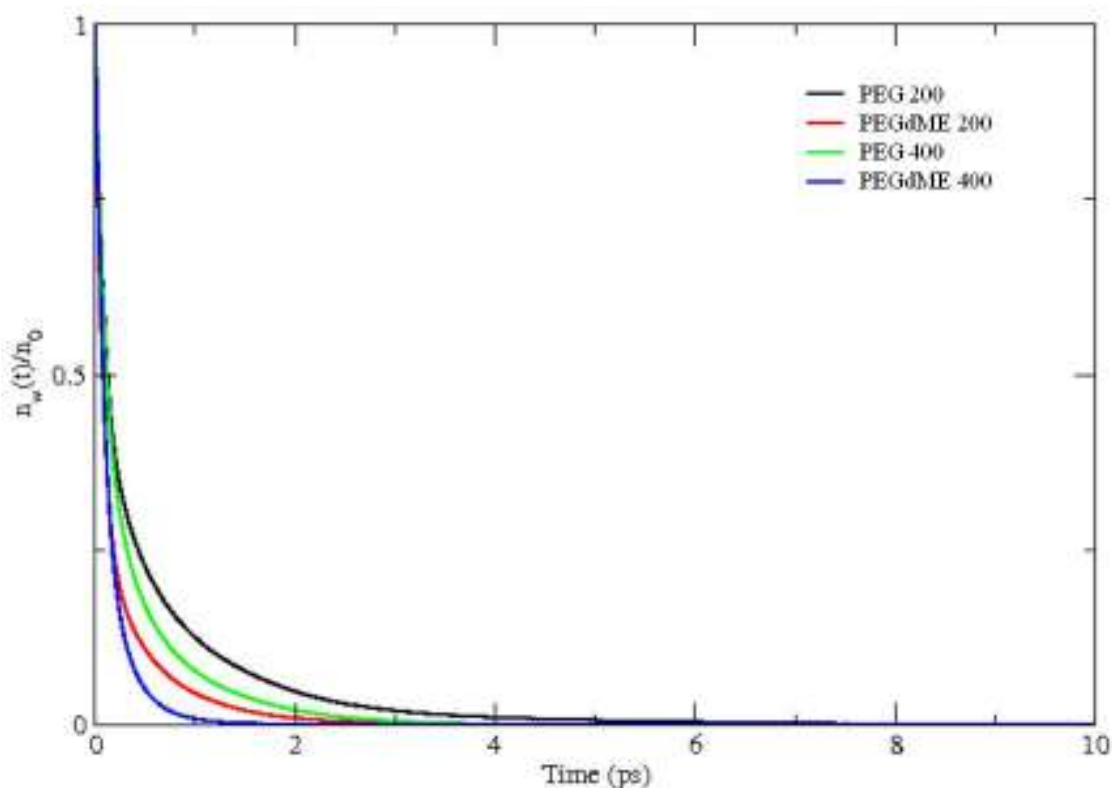


Figura 30. Função de probabilidade de sobrevivência das moléculas de água a 4 Å de cada polímero.

Observa-se na Fig. 30 que os valores do número médio das águas de solvatação do polímero (n_0) são próximos nos quatro casos, apesar do número total de moléculas de água da simulação (N_w) dos sistemas com 8 monômeros ser quase 3,5 vezes maior que daqueles com 4 monômeros. A diferença nos decaimentos observados para os polímeros deve estar na dinâmica destas moléculas.

O maior decaimento da função foi para o sistema contendo PEGdME 400 e, o menor, para o sistema contendo PEG 200. Este resultado indica que as moléculas de água no sistema de PEG 200 estão muito mais presas que as do

sistema de PEGdME 400. O componente mais rápido (t_2) para o sistema de PEG 200 é responsável por cerca de 60% do decaimento inicial, enquanto que, para o sistema de PEGdME 400, o mesmo componente é responsável por 76% do decaimento inicial.

Desta forma, pode-se explicar os resultados de relaxação do PEG 200 Da (Fig. 22) pelo aprisionamento maior das moléculas de água de solvatação. Isto aumenta o tempo de correlação dos hidrogênios do solvente, refletindo em uma variação crescente de R_2 em função da concentração deste polímero.

3.2.2. INFLUÊNCIA DO pH EM SOLUÇÕES DE PAA

O PAA, particularmente, apresenta a função ácido carboxílico em seus meros, quais poderiam realizar troca química com a água através dos grupos $-OH$ presentes. Porém, o resultado obtido evidencia a indisponibilidade de tais grupos. Em água, os grupos ácido do PAA se dissociam formando suas bases conjugadas $-COO^-$, quais apresentam um efeito repulsivo entre si e não mais possuem os hidrogênios capazes de realizar a troca química com as moléculas de água. O efeito do pH do meio na R_2 da água em água Milli-Q e em solução de PAA pode ser evidenciada na Figura 31. No experimento análogo, onde foi mantida a força iônica constante, os dados obtidos são muito semelhantes, indicando que o comportamento observado não depende da variação da força iônica do meio.

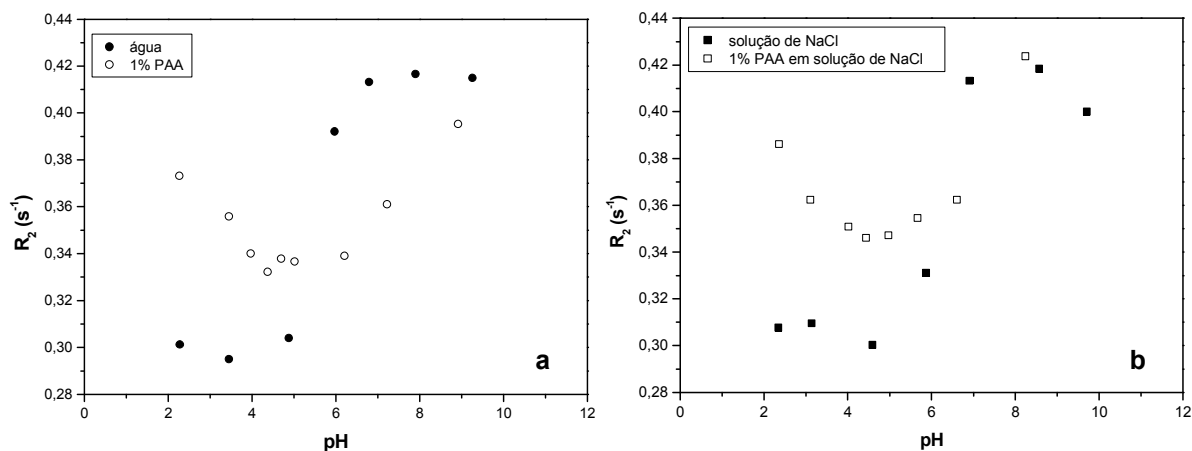


Figura 31. Efeito do pH na relaxação spin-spin do solvente a 25 °C **a)** em água Milli-Q e em solução 1% (m/m) de PAA em água Milli-Q e **b)** em solução 0,1 mol l⁻¹ de NaCl e em solução 1% (m/m) de PAA em solução salina 0,1 mol l⁻¹.

Observa-se que a água, na ausência do polímero, apresenta uma variação em sua taxa de relaxação com o aumento do pH muito maior que na presença do PAA. Nas vizinhanças de pH 4,5, ocorre uma diminuição da R_2 do solvente nas soluções de PAA, provavelmente devido a ser a região do pKa para ácidos carboxílicos (4,74).⁵⁷ Nessas soluções, em pH baixo e alto, a R_2 da água é muito próxima da R_2 do solvente puro. Ainda muito provavelmente, as medidas de R_2 refletem a titulação dos grupos OH do PAA, pois a taxa de relaxação é maior quando os grupos carboxilas estão protonados e menor quando desprotonados, sendo que a transição é observada na região próxima a do pKa.

3.2.3 EFEITO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO SOL-GEL

A formação de hidrogéis poliméricos, a partir de suas soluções aquosas, pode ser estudada por medidas de relaxação. No gráfico da Figura 32, observa-se a transição sol-gel do polímero F127 e separação de fase para o PNIPAM, a partir do aumento da temperatura.

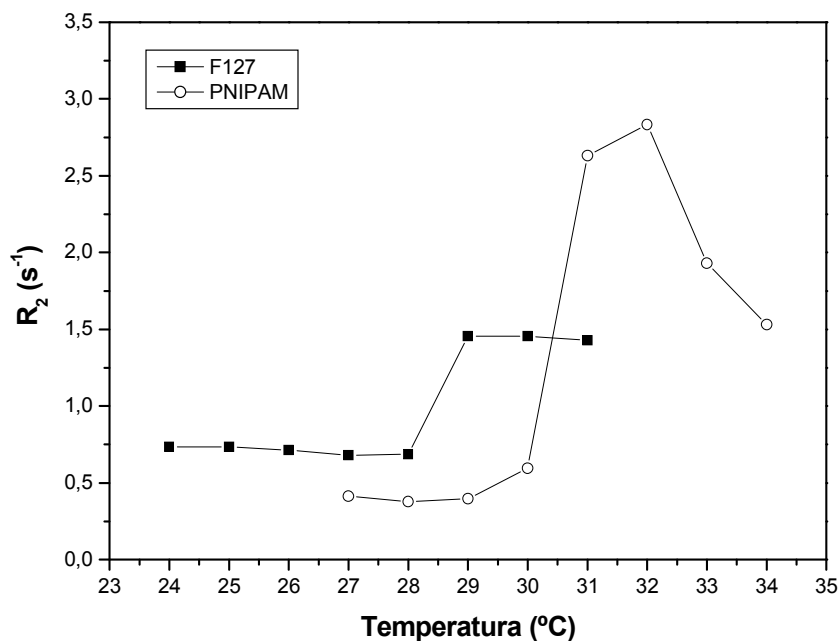


Figura 32. Efeito da temperatura na relaxação da água durante a transição sol-gel de soluções de F127 20% (m/m) e PNIPAM 5% (m/m).

A relaxação de spins é um processo dinâmico associado a flutuações no campo magnético e dependente do movimento térmico das moléculas, portanto a temperatura afeta diretamente os valores de R_2 .^{1,58-59} Neste estudo, não havia o interesse nessa variação, pois o confinamento das moléculas da água nas redes dos hidrogéis tem maior relevância. Desta forma, não foram medidos os tempos de relaxação da água pura nas temperaturas estudadas.

Fernández-Barbero e cols.⁵⁸ mostraram como a gelação do PNIPAM pode ser analisada por medidas de T_2 do solvente. Os resultados obtidos são bastante concordantes com aqueles publicados, onde a transição de fase ocorre em cerca de 30 °C. Quando as moléculas do solvente estão aprisionadas em um sistema, sua taxa de relaxação torna-se maior, comparativamente ao 0,395 s^{-1} do solvente livre. Em uma rede polimérica entrelaçada, assim como na superfície de outros solutos coloidais^{11,60}, as moléculas de água apresentam dois estados físicos diferentes: (i) água ligada, que interage fisicamente com o soluto através de ligações de hidrogênio e apresenta alta taxa de relaxação spin-spin, (ii) água livre,

localizada no bulk da solução ou, no caso de redes poliméricas, no interior da rede dependendo do grau de intumescimento, e possui baixa R_2 . A taxa de relaxação do solvente depende da quantidade de moléculas de água em cada um desses estados e, portanto, seu valor pode ser entendido como uma média das taxas de relaxação da água ligada e livre ponderada por suas respectivas populações. Esta consideração é válida em sistemas onde ocorra troca rápida entre as moléculas de água nos dois estados.

Ao atingir a temperatura de transição de fase, ocorre um aumento pronunciado no valor de R_2 , pois as moléculas começam a ficar confinadas na malha polimérica. Após a gelação, R_2 diminui discretamente para o F127 e acentuadamente para o PNIPAM. No processo de gelação do F127, ocorre a desidratação dos grupos EOs ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$) deste polímero. Sendo assim, moléculas de água, antes confinadas, são liberadas alterando a taxa de relaxação da água medida. Com o aumento da temperatura, R_2 tende a diminuir devido à maior mobilidade das moléculas do solvente e este comportamento é mais pronunciado para o PNIPAM.

Pode-se observar que a magnitude da transição de fase é maior para o PNIPAM, em comparação com o F127. Uma possível explicação para tal observação é a maior restrição das moléculas de água na malha polimérica enquanto o gel de PNIPAM é formado.

A transição de fase do F127 ocorreu em uma temperatura maior que os 20 °C, característicos da concentração utilizada [20 %(m/m)] quando é utilizado o espalhamento de nêutrons a baixo ângulo (SANS).⁶¹

CAPÍTULO 4. COMPLEXOS DE INCLUSÃO ENTRE CICLODEXTRINAS E POLI(ETILENO GLICOL)

4.1 HIDROGÉIS SUPRAMOLECULARES

Hidrogéis poliméricos são de grande interesse como biomateriais, principalmente devido à biocompatibilidade.⁶²⁻⁶³ A possibilidade de reter grande conteúdo de água os tornam atrativos para a liberação de delicados agentes bioativos.⁶⁴⁻⁶⁶ Um dos hidrogéis de interesse é formado a partir de poli(etileno glicol), PEG, reticulado.⁶⁶⁻⁶⁹ De forma geral, a reticulação do hidrogel traz alguns inconvenientes, como o longo tempo necessário para a sorção do princípio ativo e a redução da capacidade de ser biodegradado. No caso da reticulação conjunta do polímero contendo o princípio ativo, a integridade química da droga pode ser prejudicada.⁷⁰

Na década de 90, Harada e cols.⁷¹ descobriram que PEG linear forma complexos com ciclodextrina em soluções aquosas e, em certas condições, é possível obter hidrogéis físicos. Leong e cols.⁷⁰ mostraram que estes hidrogéis poderiam ser utilizados para a liberação controlada de drogas, com algumas vantagens adicionais baseadas nas suas propriedades tixotrópicas, que os tornam injetáveis através de agulhas, e, principalmente, no fato dos dois componentes, PEG e ciclodextrina, serem bastante biocompatíveis.

A presença de cavidade torna as moléculas de CD extremamente atraentes, principalmente pelo fato de que o exterior da molécula é bastante hidrofílico, enquanto que a cavidade tem caráter hidrofóbico.

A mistura de solução aquosa de PEG e α -CD leva à formação espontânea do complexo supramolecular conhecido por polipseudorotaxana. Na formação do complexo, a cadeia do polímero entra na cavidade da α -CD, formando uma estrutura conhecida como “colar molecular”, como representado na Figura 6 do Capítulo 1. Tais estruturas são interessantes, pois podem ser precursoras na geração de tubos moleculares.^{26,72}

As moléculas de α -CD somente são inseridas na cadeia do polímero pelas suas extremidades. Desta forma, a cinética de formação do complexo e a proporção entre polímero e α -CD são fortemente dependentes da massa molar do PEG.³⁶ Dependendo da extensão das cadeias de PEG complexadas, pode ocorrer uma intensa interação entre as mesmas, resultando na separação de fase. Dependendo da massa molar do PEG, uma fase cristalina (para pequena massa molar) ou um gel (para massas molares maiores) pode ser produzido. No ultimo caso, as moléculas de α -CD complexadas em diferentes cadeias interagem (ocorre um processo de micro-cristalização) entre si, formando estruturas colunares, e passam a atuar como pontos de reticulação (Figura 33).^{36,73}

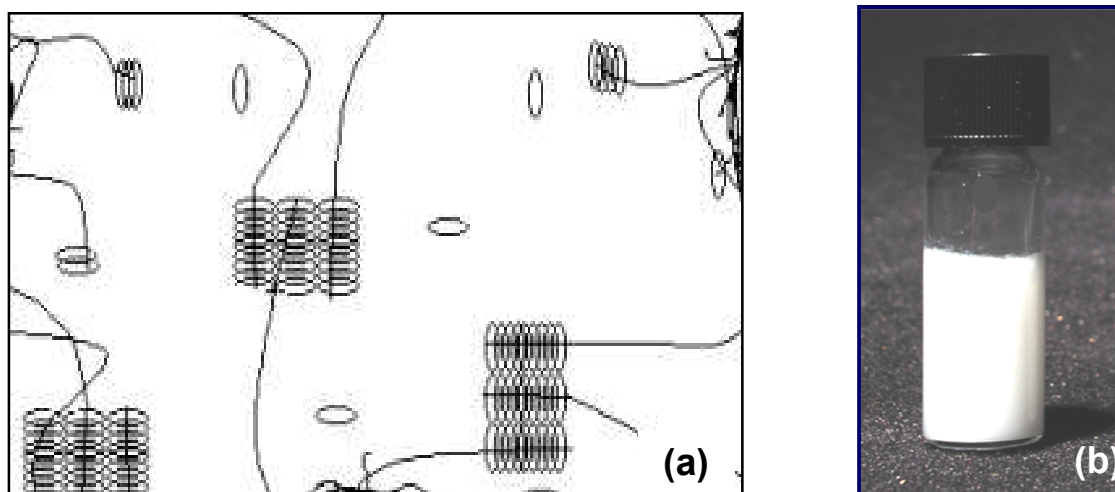


Figura 33. **a)** Representação dos pontos de reticulação em hidrogéis supramoleculares de α -CD e PEG. A microcristalização das moléculas de ciclodextrinas forma estruturas colunares, que atuam como agentes de reticulação. **b)** Aspecto visual do hidrogel supramolecular (adaptado da ref. 36)

Neste trabalho, são apresentados estudos sistematizados sobre a estruturação e a cinética de formação de hidrogéis supramoleculares de PEG e α -CD através de medidas do T_2 da água destes sistemas.

4.2 METODOLOGIA

A α -CD utilizada nos experimentos seguintes foi purificada segundo a ref. 44. PEG 6.000, 10.000, 20.000 e 100.000 Da, PEG-estrela 631 (154.000 Da, Shearwater Polymers, Inc. lote 041780113).e PEG 1.470 Da ($M_w/M_n = 1,05$, Polymer Laboratories lote 20706-1) foram utilizados sem qualquer processo de purificação.

Para as medidas de T_2 , foram utilizados dois espectrômetros de Ressonância Magnética Nuclear, um Varian 500 MHz e um Varian de 80 MHz, e a técnica de ecos de spin através da sequência de pulsos CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) com os parâmetros otimizados (Apêndice A). Utilizou-se, nas medidas a 500 MHz, um tubo coaxial contendo benzeno deuterado (C_6D_6) com pequena quantidade de tetrametilsilano (TMS), nas mesmas condições descritas no item 2.1. Para as medidas a 80 MHz, não houve a necessidade do solvente deuterado e da referência, TMS.

4.2.1 ESTEQUIOMETRIA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM D_2O

Nos estudos de formação do gel, utilizou-se D_2O , fixou-se a concentração dos polímeros em 0,5% e variou-se a concentração de α -CD de 0 a 6%, medindo-se a massa de gel formada no equilíbrio (após sete dias). Todas as concentrações estão representadas em porcentagem mássica.

4.2.2 CINÉTICA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM D_2O

Também foi estudado como a produção do gel ocorria ao longo do tempo em D_2O . Para isso, foram preparados sistemas com concentração de polímeros de 3% e de α -CD 8%. A massa de gel formado foi pesada em intervalos de tempo variáveis entre 20 e 150 minutos.

4.2.3 ESTRUTURAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM H₂O

Foram preparadas soluções de 0,5% (m/m) de PEG 6.000 Da com α -CD, variando-se as concentrações desta entre 6% e 10% (m/m). Repetiu-se o processo utilizando 1% de PEG 6.000 Da. O mesmo foi feito para o PEG 10.000 Da nas concentrações 0,5% e 1% (m/m). As estruturas dos hidrogéis formados, a partir das soluções, foram analisadas por medidas do T₂ da água desses sistemas. Da mesma forma, foi analisada a estrutura do hidrogel formado a partir de uma solução 8% (m/m) de α -CD e 0,5% de PEG-estrela 631.

4.2.4 CINÉTICA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM H₂O

Foram preparados sistemas com PEG 6.000 Da a 0,5%, 1% e 2% (m/m) e α -CD a 6%(m/m). Nessa etapa, foi monitorado o T₂ da água de cada sistema a partir do momento da preparação destes até a completa formação dos hidrogéis. Essa cinética foi realizada a 13 °C no espectrômetro de 80 MHz sem a utilização de C₆D₆ com TMS.

4.2.5 QUANTIFICAÇÃO DO NÚMERO DE MOLÉCULAS DE α -CD POR MOLÉCULA DE PEG NO HIDROGEL FORMADO EM H₂O

Foram preparadas soluções aquosas de 0,5% (m/m) de PEG 1.470 Da M_w/M_n = 1,05 com α -CD, variando-se as concentrações do sacarídeo entre 1% e 8% (m/m). Após 15 dias, os sistemas foram centrifugados a 5000 rpm por 2 horas e os sobrenadantes analisados por Polarimetria e ¹H-RMN para a determinação das concentrações de α -CD e PEG, respectivamente. Subtraindo-se os valores obtidos daqueles iniciais, encontram-se as concentrações das espécies no hidrogel. Para a análise polarimétrica utilizou-se uma curva de calibração e, para a análise por RMN, uma amostra padrão do polímero a 0,5% (m/m). Utilizou-se, para a obtenção dos espectros ¹H-RMN, o espectrômetro de 500 MHz e um tubo coaxial contendo C₆D₆ com TMS.

Para efeito comparativo, foi realizado um cálculo teórico utilizando a Distribuição de Poisson para determinar o número mínimo de moléculas de α -CD necessário para que ocorra a complexação com o PEG. Estes cálculos foram baseados em sistemas contendo PEG 1.470 Da a 0,5% e concentração de α -CD variável de 1% a 9%.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As medidas de T_2 do solvente, em uma solução, dependem da mobilidade relativa das moléculas livres e ligadas ao soluto. Para moléculas pequenas de solvente, o $^1\text{H } T_2$ (tempo de relaxação do hidrogênio do solvente) é proporcional ao inverso do tempo de correlação (τ_c), que está relacionado com processos dinâmicos moleculares, como a rotação.

Em um modelo para partículas no qual são consideradas duas populações distintas de moléculas de solvente, as moléculas livres se movem isotropicamente na solução, apresentando τ_c relativamente pequeno e T_2 da ordem de segundos. Em contrapartida, as moléculas de solvente ligadas ao soluto perdem a alta mobilidade e se movem anisotropicamente, o que aumenta o τ_c e faz o T_2 diminuir. Em um sistema onde ocorra troca rápida entre as moléculas de solvente, livres e ligadas, o tempo de relaxação é descrito pelo R_2 (inverso de T_2) médio destas moléculas, de acordo com a Equação 24:

$$R_2 = R_{2l} (1 - p) + R_{2s} p \quad [24]$$

onde R_2 é a taxa de relaxação média, R_{2l} e R_{2s} são as taxas de relaxação para as moléculas de solvente livres e ligadas ao soluto, respectivamente, p é definido como a quantidade de solvente ligado à superfície do soluto dividida pela quantidade total do solvente no sistema:

$$p = k [\text{solute}] / [\text{solvente}] \quad [25]$$

onde k é a concentração do solvente ligado à superfície do soluto por unidade de concentração de partículas de soluto.

É comum representar R_2 pela taxa de relaxação específica (R_{2sp}), relacionada com a taxa de relaxação constante do solvente puro (R_2°) e definida como:

$$R_{2sp} = R_2 / R_2^\circ - 1 \quad [26]$$

Uma relação linear do inverso de T_2 do solvente com a concentração da solução, pode ser obtida da combinação das Equações 26 e 27:⁷⁴

$$R_{2sp} = (k [\text{solute}] / [\text{solvente}]) (R_{2s} / R_2^\circ - 1) \quad [27]$$

4.3.1 ESTEQUIOMETRIA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM D₂O

Nos estudos utilizando D₂O, a escolha deste solvente é justificada pela pretensão de utilizá-lo como o solvente deuterado para as medidas de T_2 . Entretanto, o modelo que explica satisfatoriamente os resultados obtidos leva em consideração a troca rápida entre as moléculas de água livre e ligadas ao soluto. Desta forma, passou-se a utilizar água Milli-Q como solvente.

De acordo com o gráfico obtido (Fig. 34), em D₂O, existe uma concentração crítica de α -CD, para todos os sistemas analisados, onde a produção do hidrogel começa a ocorrer. Mantendo-se a concentração de polímero fixa a 0,5%, a concentração crítica de α -CD é 2%. Entretanto, um pequeno deslocamento desse valor para 2,7% é observado para o PEG 100.000, possivelmente devido ao menor número de extremidades por massa de polímero. É nas extremidades que ocorre o processo de complexação e, portanto, ao se reduzir o número de extremidades, reduz-se a probabilidade de encontro com as moléculas de CD. Assim, na medida em que se forma o gel, a mobilidade sofre considerável redução e, assim, maior quantidade de CD é requerida. O gráfico da Figura 34 permite de

forma inequívoca, concluir que existe uma região comum (crítica) a partir da qual é observada a formação do hidrogel, independente do tamanho ou forma da cadeia de PEG.

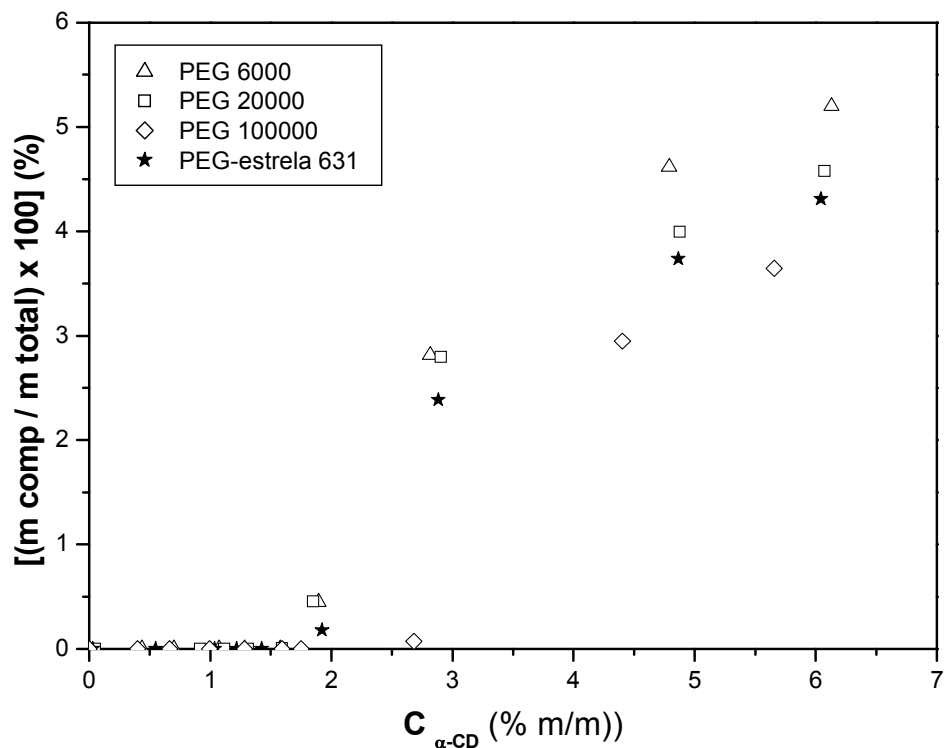


Figura 34. Rendimento dos hidrogéis formados em D₂O para diferentes concentrações de α-CD com diferentes PEGs, nos quais a concentração foi mantida fixa em 0,5 %.

4.3.2 CINÉTICA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM D₂O

Segundo a cinética de gelação em D₂O, a formação do gel diminui com o aumento da massa molar, pois o número de extremidades de cadeia diminui, para uma mesma concentração mássica. Para o PEG 100.000 Da, a taxa de produção do gel é muito menor em comparação com o PEG 20.000 (Fig. 35).

Curiosamente, a taxa de produção do hidrogel a partir do sistema contendo PEG-estrela (154.000 Da) é maior, comparada ao sistema formado por PEG 100.000 Da. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que a molécula do PEG-estrela possui várias extremidades capazes de se complexarem com a α -CD.

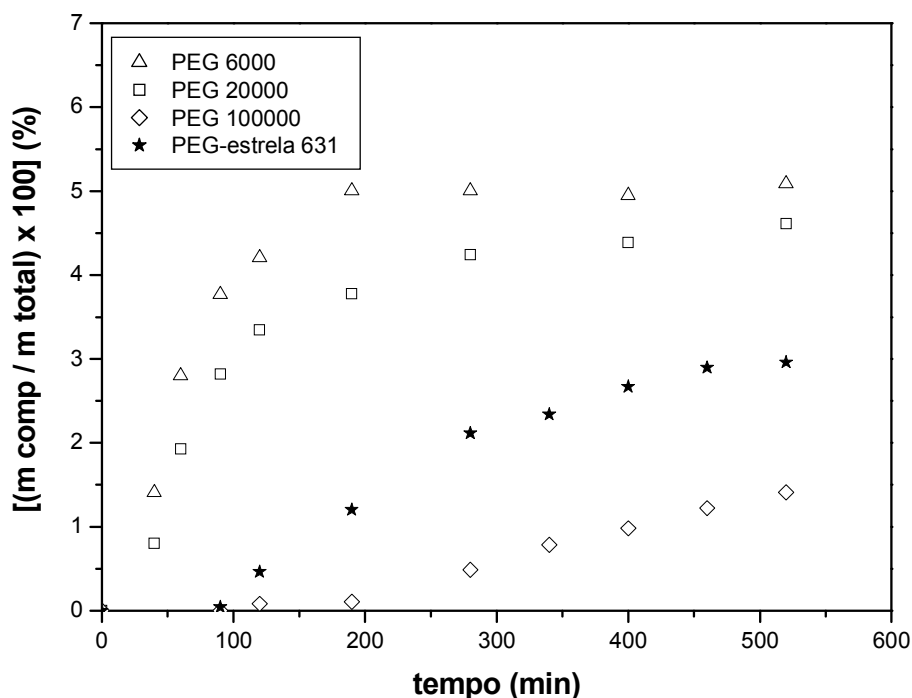


Figura 35. Cinética de formação dos hidrogéis em D₂O com variação da massa molar do PEG.

4.3.3 ESTRUTURAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM H₂O – ESTUDOS DE RELAXAÇÃO DAS MOLÉCULAS DE ÁGUA

A estrutura interna dos hidrogéis foi estudada através da relaxação spin-spin dos prótons das moléculas de água presentes nos mesmos.

De acordo com a Figura 36, observa-se que a estrutura do hidrogel é dependente da massa molar e da concentração de polímero, evidenciando géis de maior ou menor reticulação.

O PEG 6.000 forma géis com maior (maiores valores de R_2) ou menor reticulação (menores valores de R_2), dependendo da concentração do polímero. Esta análise se baseia no fato de que a relaxação é maior no hidrogel que se assemelha mais ao *solid-like*, com maior grau de reticulação. A menor mobilidade das moléculas de água torna a taxa de relaxação maior. O mesmo não é observado para o PEG 10.000, cuja estrutura interna parece não depender da concentração do PEG. Isto pode estar relacionado com o maior tamanho da cadeia, em que o grau de complexação não altera a estrutura interna dos hidrogéis formados para este polímero.

Na formação do complexo, as moléculas de α -CD são inseridas na cadeia do polímero apenas pelas suas extremidades.³⁶ Assim, quanto maior o número de extremidades, numa mesma concentração mássica, maior será a probabilidade de entrada das moléculas de CD. No entanto, a sucessão de moléculas que entram, reduzem a probabilidade de entrada de outras, pois o deslizamento dos anéis ao longo da cadeia polimérica vai se tornando cada vez mais difícil. Desta forma, o número de pontos de reticulação será menor para o PEG 10.000 em relação ao 6.000. Um gel mais reticulado restringe o movimento das moléculas de água e apresenta valores altos de R_2 da água.³⁶

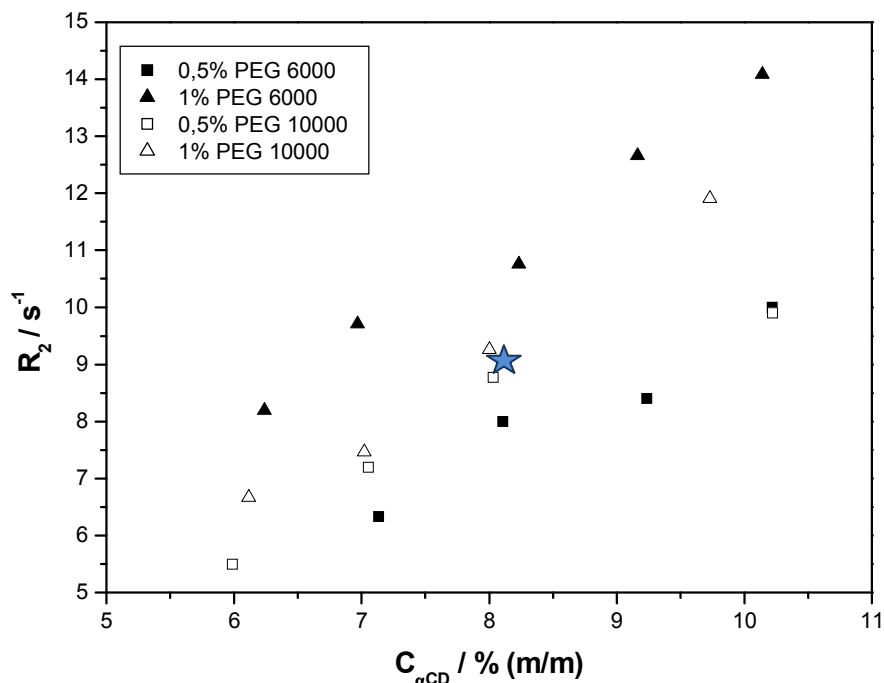


Figura 36. Taxa de relaxação dos prótons das moléculas de água em hidrogéis supramoleculares variando-se a concentração de α -CD. Em destaque o hidrogel formado com 8% α -CD e 0,5 % PEG-estrela 631.

Para efeito de comparação, o hidrogel formado a partir da solução 8% α -CD e 0,5 % PEG-estrela 631 possui R_2 do solvente igual a 8,93 s^{-1} , comparável aos hidrogéis formados com PEG 10.000 Da na mesma concentração de α -CD ou ao hidrogel formado com 1% PEG 6.000 Da e 6,5% α -CD.

Estes resultados mostram que o hidrogel formado com o PEG-estrela, nas concentrações utilizadas, possui uma estruturação semelhante aos hidrogéis formados com PEG lineares de menores massas molares devido ao número de braços por molécula do polímero (pontos de complexação). O PEG-estrela 631 é um polímero graftado na forma de uma estrela, o qual possui 15 braços.⁷⁵

A complexação do PEG-estrela com α -CD ocorre através da entrada de moléculas do carboidrato nas extremidades dos braços e os pontos de reticulação são formados entre as porções complexadas de moléculas distintas, da mesma forma que no PEG linear.

4.3.4 CINÉTICA DE FORMAÇÃO DO HIDROGEL SUPRAMOLECULAR EM H₂O

As curvas cinéticas obtidas nesta etapa estão representadas na Figura 37. Nestes experimentos, o tempo zero corresponde ao instante em que as duas soluções aquosas são misturadas e homogeneizadas.

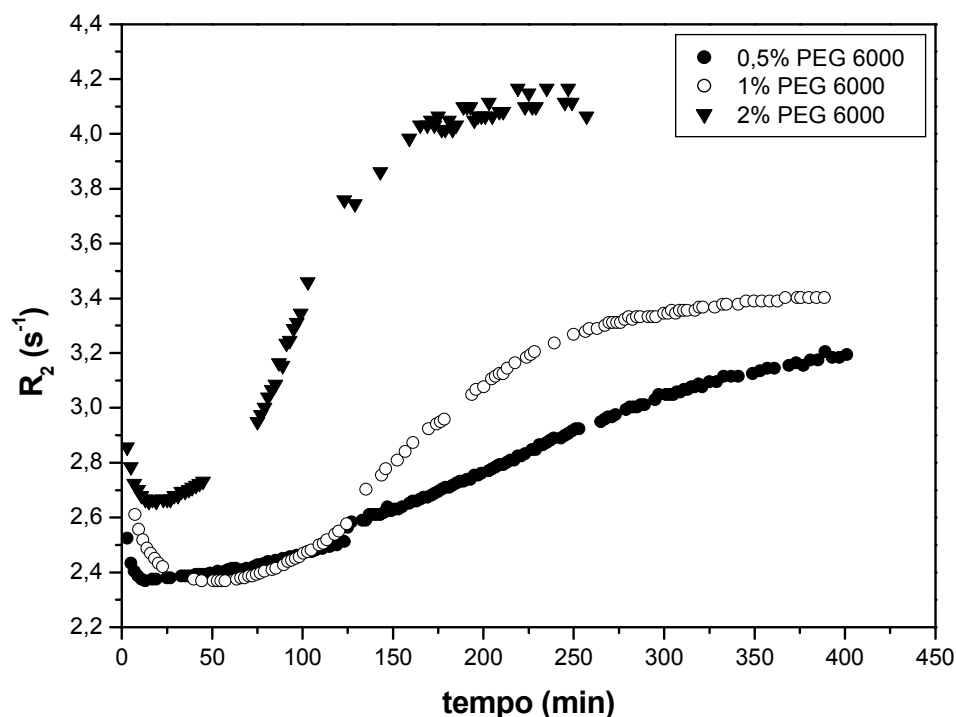


Figura 37. Cinética de formação dos hidrogéis com variação de concentração de PEG 6.000 Da. Os estudos se baseiam na taxa de relaxação dos prótons das moléculas de água.

Podem-se observar, nas curvas cinéticas, regiões distintas (três) uma inicial, onde ocorre uma diminuição nos valores de R_2 do solvente, e uma segunda, de aumento destes valores e uma terceira na qual a relaxação tende a um patamar.

A primeira região está associada ao processo de complexação entre α -CD e PEG, como já discutido. Ao formar o complexo, ocorre a remoção de moléculas de α -CD da solução aumentando o número de moléculas de água livres (provenientes da dessolvatação das moléculas de carboidrato complexados) e, portanto, os valores de R_2 do solvente decrescem.

Conforme ocorre a formação do hidrogel, as moléculas de água começam a ficar aprisionadas entre as cadeias poliméricas complexadas, perdendo sua mobilidade. Como consequência, ocorre um aumento no tempo de correlação (τ_c), associado a processos dinâmicos e, portanto, o R_2 da água aumenta.^{36,62} Na terceira região, o gel está em fase de consolidação, isto é, a maior parte dos pontos de reticulação estão formados.

Para o PEG 6.000 Da, a formação do hidrogel é afetada pelo aumento da concentração do polímero em virtude do número de extremidades da cadeia ser maior. Como consequência, a cinética torna-se mais rápida devido ao aumento no número de pontos de reticulação, ou seja, o grau de reticulação torna-se maior. Nota-se também que o a região correspondente ao patamar é maior para o caso em que as concentrações de PEG e ciclodextrinas são maiores. Este é o hidrogel mais reticulado, pois as moléculas de água possuem menor mobilidade devido a seu confinamento nos interstícios do hidrogel.^{36,62}

4.3.5 QUANTIFICAÇÃO DO NÚMERO DE MOLÉCULAS DE α -CD POR MOLÉCULA DE PEG NO HIDROGEL FORMADO EM H_2O

O resultado mostrado na Figura 34 instiga a se perguntar se existe um número crítico de moléculas de ciclodextrina que é incorporada na cadeia do PEG, que leva a separação de fase. No caso da Figura 34, isto é observado quando a concentração de ciclodextrina é da ordem de 2% e a de PEG 0,5%.

Diferentes concentrações de α -CD e PEG 1% foram mantidas juntas até que o equilíbrio fosse atingido. Utilizou-se neste experimento PEG de baixíssima polidispersidade, com o objetivo de determinar com precisão quantas moléculas de α -CD complexam-se com a cadeia polimérica antes de iniciar a separação de fase do complexo supramolecular.

A partir de uma curva de calibração para α -CD (Figura 38), utilizando Polarimetria, foi possível determinar a concentração deste carboidrato no sobrenadante das amostras (que foram isotermicamente centrifugadas) e, por subtração das concentrações iniciais (adicionadas aos sistemas), encontrar suas concentrações no hidrogel (moléculas complexadas).

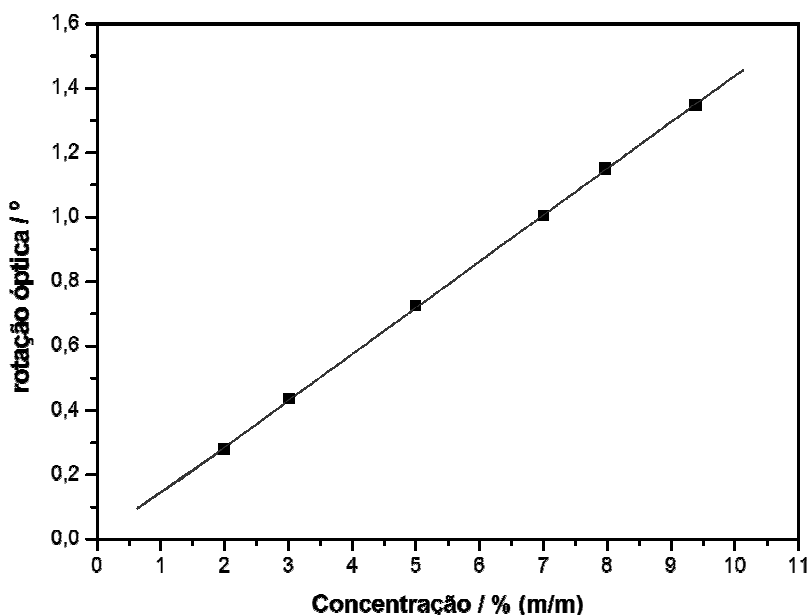


Figura 38. Curva de calibração para determinação da concentração de α -CD no sobrenadante de amostras do hidrogel por Polarimetria.

As concentrações de PEG no sobrenadante foram determinadas por RMN a partir dos picos em 3,7 ppm dos espectros de hidrogênio das amostras. As concentrações de PEG nos hidrogéis foram calculadas de forma semelhante às concentrações de α -CD, isto é, por subtração das quantidades iniciais.

A partir das concentrações dessas espécies no hidrogel, foi possível encontrar o número de moléculas de α -CD complexadas por molécula de PEG, admitindo-se que todas as moléculas de carboidrato e polímero presentes no hidrogel estivessem complexadas. A Figura 39 mostra os resultados obtidos, onde está expresso o número de moléculas de α -CD por molécula de PEG no hidrogel em função da concentração relativa inicial de α -CD e PEG.

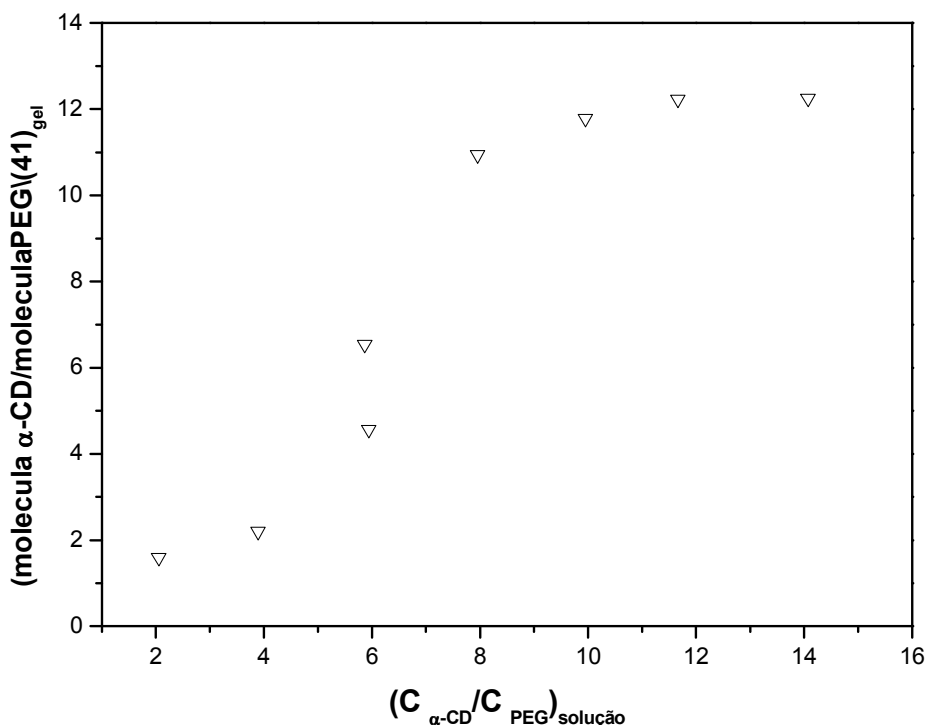


Figura 39. Número de moléculas de α -CD por molécula de PEG no hidrogel versus a concentração relativa inicial de α -CD.

Observa-se que, a partir da concentração relativa 4 (correspondente a 2% de α -CD na solução inicial), ocorre uma acentuada produção do hidrogel, qual atinge um máximo na concentração relativa 12 (recobrimento máximo da cadeia do PEG). Ou seja, a partir do ponto em que 2 moléculas de α -CD se complexam com uma cadeia de PEG, a complexação torna-se mais intensa, levando à formação do hidrogel. Como o polímero possui duas extremidades, para que a α -CD possa se complexar, em média, 1 molécula do carboidrato em cada extremidade do PEG inicia o processo de separação de fase, que antecede a gelação.

No máximo da curva, em média, existem 6 moléculas de α -CD complexadas com cada extremidade de uma cadeia de PEG ($\alpha\text{-CD}_{\text{gel}}/\text{PEG}_{\text{gel}} = 12$). Sabendo-se que cada molécula de α -CD se complexa com duas unidades monoméricas²⁶ e que o PEG 1.470 Da possui aproximadamente 33 unidades de óxido de etileno, o recobrimento máximo da cadeia necessitaria de 16 unidades de α -CD. Entretanto, esse número não é atingido na faixa de concentração utilizada.

A Distribuição de Poisson foi usada para avaliar o processo de complexação. A distribuição é bastante apropriada, pois ela descreve a probabilidade discreta de um certo número de eventos ocorrerem num dado período de tempo. O pré-requisito para esta distribuição é que estes ocorram com uma taxa média conhecida e que cada evento seja independente do tempo decorrido desde o anterior. Tal distribuição segue a seguinte equação:⁷⁶

$$P_n = \frac{< N >^n}{n!} \exp - < N > \quad [28]$$

Que adaptada para o caso específico, significa: P_n é a probabilidade de n moléculas de α -CD estarem complexadas com o polímero; n é o número de moléculas de α -CD complexadas ($0 \leq n \leq 40$); $<N>$ é a fração molar relativa entre α -CD e PEG. No caso da complexação, pode-se considerar que cada molécula de ciclodextrina se insere na cadeia de PEG independente. De forma que, para certa quantidade de PEG, o número de moléculas de ciclodextrinas que se inserem na cadeia (n) terá maior probabilidade (P_n), na medida em que a concentração do carboidrato aumenta. A fração molar relativa é definida pela razão entre α -CD ($n_{\alpha\text{-CD}}$) e PEG (n_{PEG}), como mostrado na Equação 29. O valor de n_{PEG} deve ser multiplicado pelo fator 2, pois cada molécula do polímero possui dois pontos de entrada para a α -CD (as extremidades de sua cadeia).

$$< N > = \frac{n_{\alpha\text{-CD}}}{2 n_{\text{PEG}}} \quad [29]$$

Ou rearranjada na forma da Equação 30:

$$< N > = \frac{\frac{m_{\alpha\text{-CD}}}{MM_{\alpha\text{-CD}}}}{\frac{m_{\text{PEG}}}{MM_{\text{PEG}}}} \quad [30]$$

Assim, a probabilidade P_0 , de nenhuma molécula de ciclodextrina entrar na cadeia do PEG é dada por:

$$P_0 = \exp - \langle N \rangle \quad [31]$$

Pode-se então pensar na probabilidade de outras distribuições para a faixa de concentrações estudadas. Considerando 100 g de solução, $1 \text{ g} \leq m_{\alpha\text{-CD}} \leq 9 \text{ g}$ e $m_{\text{PEG}} = 0,5 \text{ g}$. As massas molares de $\alpha\text{-CD}$ ($MM_{\alpha\text{-CD}}$) e de PEG (MM_{PEG}) são, respectivamente, 972 e 1.470 g mol^{-1} .

A partir dos resultados dos cálculos realizados, variando-se $m_{\alpha\text{-CD}}$ de 1g a 9 g, construiu-se o gráfico apresentado na Fig. 40.

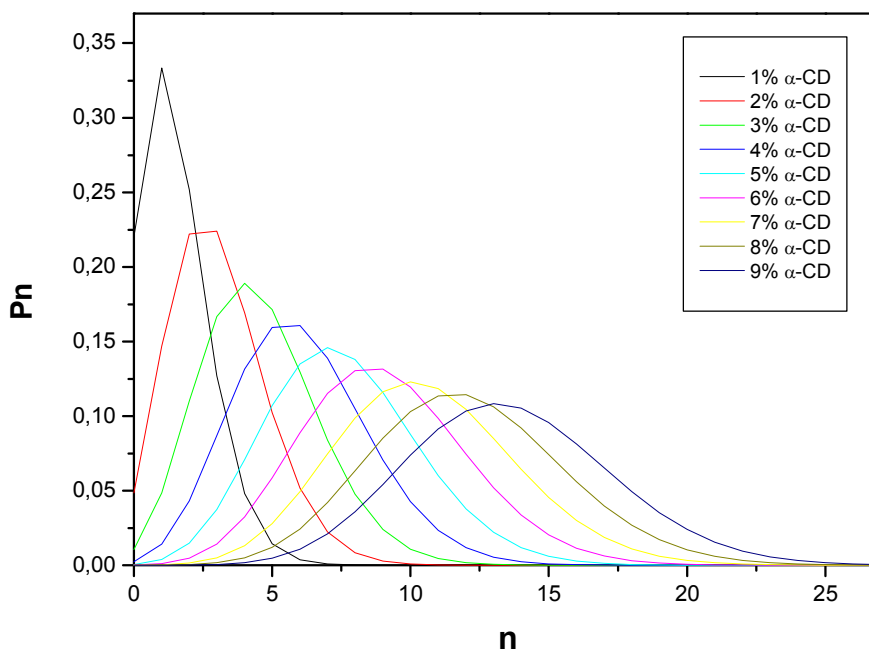


Figura 40. Distribuição de Poisson para variadas concentrações de $\alpha\text{-CD}$: cálculo teórico da estequiometria de complexação.

Experimentalmente, observou-se que, fixando a concentração de PEG em 0,5 %, a partir da concentração de $\alpha\text{-CD}$ 2%, começa a ocorrer a complexação. Nesta

proporção, existe em média (de acordo com a Figura 39) uma molécula de α -CD por extremidade de cadeia polimérica.

Segundo a Distribuição de Poisson, para a concentração de α -CD 2% (2 g /100 g de solução), P_n máximo corresponde a $n = 2,4$, ou seja, existem aproximadamente 2 moléculas de α -CD complexadas com cada molécula de polímero. Portanto, a Distribuição de Poisson é condizente com os resultados experimentais, como pode ser observado no gráfico da Figura 41, no qual são sobrepostos os valores obtidos experimentalmente com os máximos previstos pela distribuição de Poisson.

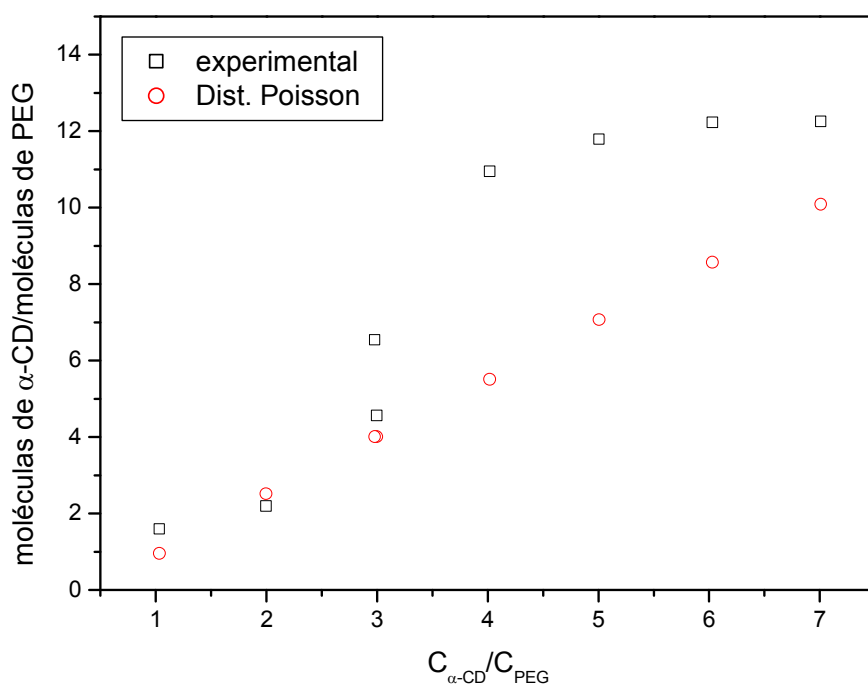


Figura 41. Gráfico onde são sobrepostos os valores experimentais e previstos pela distribuição de Poisson, referentes ao número de moléculas de α -CD complexadas por molécula de PEG, em toda a faixa de concentração estudada.

Como se pode observar na Figura 41, abaixo da concentração relativa 3, a distribuição estatística se aproxima dos valores experimentais e, portanto, descreve bem o início da complexação.

Após este ponto, o número de moléculas complexadas, do ponto de vista experimental, é superior ao previsto pela distribuição de Poisson, pois ainda é possível que mais moléculas de α -CD consigam se complexar, apesar de não corresponder ao P_n máximo.

Experimentalmente, observa-se que a complexação é máxima a partir da entrada de 12 moléculas de α -CD por molécula de PEG, Em média, 6 moléculas de α -CD por extremidade da cadeia polimérica.

CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES

Os valores encontrados para taxa de relaxação da água nas soluções de dextrana e β -lactose, em comparação aos dados obtidos para α -CD, β -CD, γ -CD e β -D-glicose, mostraram como os prótons dos grupos hidroxila destes carboidratos estão disponíveis para a troca com os prótons da água, segundo o modelo de dois sítios. A relaxação spin-spin da água em uma solução de carboidrato é influenciada pela estrutura molecular do soluto.

A estrutura molecular das ciclodextrinas, mantida pelas ligações de hidrogênio que ocorrem entre os grupos hidroxila secundários das unidades glicosídicas, disponibiliza uma fração de seus grupos hidroxila para a troca química com a água, aproximadamente 30 %. Ou seja, estão disponíveis apenas as hidroxilas primárias, não envolvidas em ligações de hidrogênio intramoleculares.

No caso da dextrana, a estrutura polimérica pode estabelecer ligações de hidrogênio intramoleculares, reduzindo o número de hidroxilas disponíveis. O valor encontrado mostra que 70 % das hidroxilas da dextrana estão envolvidas em ligações de hidrogênio intramoleculares. Para a β -lactose, a fração de prótons de hidroxila disponíveis é de apenas 30 %. Atribui-se este resultado à possível presença de pontes de água que pode estar presente em dissacarídeos.

No caso da DMe- β -CD, comparativamente à β -CD, verificou-se que todas as hidroxilas estavam disponíveis, enquanto para a HP- β -CD, os grupos hidroxila presentes no substituinte ainda conseguem estabelecer ligações de hidrogênio, de forma que apenas 30% das hidroxilas desta molécula podem realizar a troca com a água.

O PVA e a PAM possuem hidrogênios lábeis em seus grupos hidroxila e amida, respectivamente. Dessa forma, causam o aumento da taxa de relaxação spin-spin do solvente, R_2 , em relação ao valor obtido para a água pura, conforme aumenta a concentração dos polímeros. Polímeros que não possuem hidrogênios lábeis, como o PVP e o PEGdME não alteram significativamente o R_2 do solvente, pois o mecanismo de troca química não é estabelecido. Entretanto, os polímeros co-PAM, PEG e PAA apresentam grupos com hidrogênios lábeis, mas não afetam

significativamente a relaxação do solvente. Isso é devido à formação de ligações de hidrogênio intramoleculares que ocorre nesses polímeros, o que torna os hidrogênios, possivelmente lábeis, indisponíveis para a troca química com o solvente. As ligações de hidrogênio intramoleculares também estão presentes no PVA e na PAM, mas em menor grau que no co-PAM, PEG e PAA. A relaxação de soluções de PAA é dependente do pH do meio, mas o processo ainda não possui uma interpretação clara.

Particularmente, o PEG 200 Da afeta a relaxação da água numa dependência linear da taxa de relaxação com a concentração. A simulação de dinâmica molecular mostra maior aprisionamento nas moléculas de água de solvatação neste polímero, em relação ao PEG 400 Da, o que causa o aumento de R_2 do solvente em função da concentração do polímero.

O processo de transição sol-gel em sistemas poliméricos também pode ser estudado e explicado através da relaxação do solvente, qual é dependente das frações de moléculas de água livre e ligada à superfície do gel. Conforme o gel é formado, as moléculas de água ficam confinadas em sua malha e a taxa de relaxação do solvente sofrem um acentuado aumento.

Hidrogéis supramoleculares formados entre PEG e α -CD dependem das concentrações de seus constituintes e da massa molar do polímero. Quanto maior a massa molar do polímero, até certo limite, menor o número de pontos de reticulação e mais frágil será o hidrogel. Hidrogéis pouco reticulados permitem às moléculas de água ficarem menos aprisionadas e exibem menores taxas de relaxação do solvente. O PEG-estrela 631, de alta massa molar, por possuir muitos “braços” por molécula, forma hidrogel supramolecular com a α -CD altamente reticulado, com estrutura semelhante a hidrogéis de PEG lineares de massas molares menores.

A partir da entrada de 2 moléculas de α -CD em uma cadeia de PEG linear 1.470 Da, a complexação torna-se mais intensa, levando à formação do hidrogel. Na faixa de concentração de α -CD estudada, o máximo de moléculas do açúcar que se complexam com o polímero é 12, em média 6 moléculas de α -CD por extremidade de cadeia de PEG.

O estudo da cinética de gelação por medidas de T_2 do solvente forneceu um perfil de curva que pode explicar o processo de complexação entre α -CD e PEG. A complexação entre as espécies produz a liberação de moléculas de água inicialmente. Como consequência, ocorre um aumento nos valores de T_2 da água, que, após um valor máximo, decai em decorrência da formação do hidrogel.

Por fim, com base nos resultados obtidos, pode se concluir que a técnica de relaxação spin-spin usando as moléculas do solvente é extremamente sensível a variações na estrutura molecular dos solutos hidrofílicos bem como quando forma estruturas complexas.

BIBLIOGRAFIA

1. Gil, V. M. S.; Geraldès, C. F. G. C. *Ressonância Magnética Nuclear Fundamentos, Métodos e Aplicações*, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **1987**.
2. Hore, P. J. *Nuclear Magnetic Resonance*, Oxford University Press, **1995**.
3. Freitas, J. C. C.; Bonagamba, T. J. *Fundamentos e Aplicações da Ressonância Magnética Nuclear*, Associação de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear, Rio de Janeiro, **1999**.
4. Keeler, J. *Understanding NMR Spectroscopy* – versão eletrônica <http://www-keeler.ch.cam.ac.uk/lectures/Irvine/index.html>, em 15 de maio de 2007.
5. Meiboom, S., Gill, D. *Rev. Sci. Instrum.* **1958**, 29, 688.
6. Bernadó, P.; de la Torre, G.; Pons, M. *J. Mol. Recognit.* **2004**, 17, 397.
7. Hahn, E. L. *Phys. Rev.* 1950, 80, 580.
8. Carr, H. Y.; Purcell, E. M. *Phys. Rev.* 1954, 94, 630.
9. Atkins, P. W. *Físico Química*, 6ª ed, vol. 2, LTC Editora S.A., Rio de Janeiro, 1999.
10. Mears, S. J.; Cosgrove, T.; Thompson, L.; Howell, I. *Langmuir* **1998**, 14, 997.
11. Nelson, A.; Jack, K. S.; Cosgrove, T.; Kozak, D. *Langmuir* **2002**, 18, 2750.
12. Shaw, D. J. *Introdução à Química dos Colóides e de Superfícies*, Editora Edgard Blucher Ltda., São Paulo, **1975**.
13. Evans, F.; Wennerström, H. *The Colloidal Domain - Where Chemistry, Biology and Technology Meet*, VCH Publishers, New York, **1994**.
14. Levitz, P. E. *Magnetic Resonance Imaging* **2005**, 23, 147.
15. Egídio, F. C., *Estudo Sobre a Solvatação de Ciclodextrinas por RMN Através da Relaxação das Moléculas de Água*, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2005.
16. Sabadini, E.; Egídio, F. C.; Fujiwara, F. Y.; Cosgrove, T. *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112, 3328.
17. Harada, A. *Supramol. Sci.* **1996**, 3, 19.
18. Hamdan, A. A.; Bugnon, P.; Sandan, C.; Lye, G. P.; Merbach, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 592.
19. Rusa, C. C.; Luca, C.; Tonelli, A. E. *Macromolecules* **2001**, 34, 1318.
20. Villiers, A. *Rend. Acad. Sci.* **1891**, 112, 536.
21. K. Freudenberg, F. Cramer; H. Plieninger, *German patent No. 895, 769*, **1953**.
22. van den Boogaard, M. *Cyclodextrin-containing supramolecular structures from pseudo-polyrotaxanes towards molecular tubes, insulated molecular wires and topological networks*, Ph.D. Thesis, University of Groningen, The Netherlands, 2003.
23. Harata, K. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1803.
24. Connors, K. A. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1325.
25. Wacker Basis, 2000.
26. Harada, A. *Coord. Chem. Rev.* **1996**, 148, 115.
27. Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1743.

28. Hall, N. *The New Chemistry*, Cambridge University Press, United Kingdom, **2000**.
29. Lehn, J. M. *Science* **1985**, 227, 849.
30. Conn, M. M.; Rebek Jr., J. *Chem Rev.* **1997**, 97, 1647.
31. Shuai, X.; Merdan, T.; Unger, F.; Kissel, T. *Bioconjugate Chem.* **2005**, 16, 322.
32. Ohira, A.; Sakata, M.; Tanigushi, I.; Hirayama, C.; Kunitake, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5057.
33. Gafni, A.; Cohen, Y. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 120.
34. Sigurdsson, H. H.; Stéfansson, E.; Gudmundsdóttir, E.; Eysteinnsson, T.; Thorsteinsdóttir, M.; Loftsson, T. *J. Control. Rel.* **2005**, 102, 255.
35. Harada, A.; Kamachi, M. *Macromolecules* **1990**, 23, 2821.
36. Sabadini, E.; Cosgrove, T.; Taweepreda, W. *Langmuir* **2003**, 19, 4812.
37. Topchieva, I. N.; Tonelli, A. E.; Panova, I. G.; Matuchina, E. V.; Kalashnikov, F. A.; Gerasimov, V. I.; Rusa, C. C.; Rusa, M.; Hunt, M.A. *Langmuir* **2004**, 20, 9036.
38. Ceccato, M.; Lo Nostro, P.; Baglioni, P. *Langmuir* **1997**, 13, 2436.
39. Panova, I. G.; Gerasimov, V. I.; Kalashnikov, F. A.; Topchieva, I. N. *Vysok. Soed. B* **1998**, 40, 2077.
40. Fabri, D.; Williams, M. A. K.; Halstead, T. K. *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 889.
41. Carver, J. P.; Richards, R. E. *J. Mag. Res* 1972, 6, 105.
42. Hills, B. P.; Takacs, S. F.; Belton, P. S. *Mol. Phys.* **1989**, 67, 919.
43. Swift, T. J.; Connick, R. E. *J. Chem. Phys.* **1962**, 37, 320.
44. Sabadini, E.; Cosgrove, T.; Egídio, F. C *Carbohydrate Research* **2006**, 341 (2), 270.
45. Bobbio, F. O.; Bobbio, P. A. *Introdução à Química de Alimentos*, 2ª ed, Livraria Varela Ltda., São Paulo, **1989**.
46. Almond, A. *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 907.
47. Naidoo, K. J.; Chen, J. Y.; Jansson, J. L. M.; Widmalm, G.; Maliniak, A. J. *Phys. Chem. B* **2004**, 108, 4236.
48. Linert, W.; Margl, P.; Renz, F. *Chem. Phys.* **1992**, 161, 327.
49. Saenger, W.; Jacob, J.; Gessler, K.; Steiner, T.; Hoffmann, D.; Sanbe, H.; Koizumi, K.; Smith, S. M.; Takaha, T. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1787.
50. Casu, B.; Reggiani, M.; Gallo, G. G.; Vigevari, A. *Tetrahedron* **1966**, 22, 3061.
51. Casu, B.; Gallo, G. G.; Reggiani, M.; Vigevari, A. *J. Chem. Soc., Spec. Publ.*, **1968**, 23, 217.
52. Saenger, W.; Betzel, Ch.; Hingerty, B.; Brown, G. M. *Nature* **1982**, 296, 581.
53. Betzel, Ch.; Saenger, W.; Hingerty, B.; Brown, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 7545.
54. Hills, B. P.; Cano, C.; Belton, P. S. *Macromol.* **1991**, 24, 2950.
55. Sabadini, E., *Estudo Físico-Químico de Polietileno Glicol com Água e Solventes Aromáticos*, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 1993.
56. Impey, R. W.; Madden, P. A.; McDonald, I. R. *J. Phys. Chem.* **1983**, 87, 5071.
57. Streitwieser, A.; Heathcock, C. H.; Kosower, E. M.; *Introduction to Organic Chemistry*, 4th ed., Macmillan Publishing Company, New York, **1992**.
58. Sierra-Martín, B.; Romero-Cano, M. S.; Cosgrove, T.; Vincent, B.; Fernández-Barbero, A. *Colloids Surf. A* **2005**, 270-271, 296.

59. Okada, R.; Matsukawa, S.; Watanabe T. *J. Mol. Structure* **2002**, 602-603, 473.
60. Bhattacharyya, S. M.; Wang, Z.; Zewail, A. H. *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 13218.
61. Wanka, G.; Hoffmann, H.; Ulbricht, W. *Macromol.* **1994**, 27, 4145.
62. Park, H.; Park, K. *Pharm. Res.* 1996, 13, 1770.
63. Kim, S.W.; Bae, Y. H.; Okano, T. *Pharm. Res.* 1992, 9, 283.
64. Heller, J. *Adv. Drug. Del. Rev.* 1993, 10, 163.
65. Kamath, K. R.; Park, K. *Adv. Drug. Del. Rev.* 1993, 11, 59.
66. Hubbel, J. A. *J. Controlled Release* 1996, 39, 305.
67. Stringer, J. L.; Peppas, N. A. *J. Controlled Release* 1996, 42, 195.
68. Bromberg, L. *J. Appl. Polym. Sci.* 1996, 59, 459.
69. Zhao, X.; Harris, J. M. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 1450.
70. Li, J.; Ni, X.; Leong, K. W. *J. Biomedical Materials Research (part A)* 2002, 65, 196.
71. Harada, A.; Li, J.; Kamachi, M. *Nature* 1999, 397, 417.
72. Fujita, H.; Ooya, T.; Yui, N. *Macromolecules* 1999, 32, 2534.
73. Li, J.; Harada, A.; Kamachi, M. *Polym. J.* 1994, 26, 1019.
74. Hummer, G.; Garde, S.; García, A. E.; Pratt, L. R. *Chem. Phys.* **2000**, 258, 349.
75. Sabadini, E.; Cosgrove, T. *Langmuir* **2003**, 19, 9680.
76. Green, J. R. *Statistical Treatment of Experimental Data*, 2nd ed., Elsevier Science Publisher B. V., The Netherlands, **1978**.

APÊNDICE A

PARÂMETROS OTIMIZADOS UTILIZADOS NAS MEDIDAS DE T_2 PARA A SEQUÊNCIA DE PULSOS CPMG

d_1 = 5,000 s (tempo para o sistema voltar ao equilíbrio após a sequência de pulsos)

d_2 = 0,001 s (tempo entre as aplicações dos pulsos de 90° e 180°)

p_w = 6,8 μ s (duração do pulso de 90°)

p_1 = 13,6 μ s (duração do pulso de 180°)

bt = variável de acordo com a amostra, com número de valores entre 10 e 15. É o tempo total da relaxação transversal.

at = 3 s (tempo de aquisição)

nt = 4 (número de transientes)

APÊNDICE B

ESTIMATIVA DO ERRO NAS MEDIDAS DE R_2 A PARTIR DOS VALORES OBTIDOS PARA A ÁGUA PURA

Número de medidas = 5

Valores medidos = 0,39; 0,42; 0,40; 0,37; 0,40 s^{-1}

R_2 médio = 0,40 s^{-1}

Desvio padrão = 0,02 s^{-1}

Erro = 0,01 s^{-1}

* valores obtidos a partir de análise estatística realizada pelo programa computacional Origin, versão 5.0.