



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

GISELA CAMILA PAZ SALES

SÍNTESE DE HIDROGÉIS: uma ferramenta para a elucidação estrutural via RMN

RECIFE

2024

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

GI SELA CAMILA PAZ SALES

SÍNTESE DE HIDROGÉIS: uma ferramenta para a elucidação estrutural via RMN

TCC apresentado ao Curso de Química Bacharel da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de bacharel em química.

Orientador(a): Armando Juan Navarro Vázquez
Coorientador(a): Fernando Hallwass

RECIFE

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Sales, Gisela Camila Paz.

Síntese de hidrogéis: uma ferramenta para a elucidação estrutural via RMN /
Gisela Camila Paz Sales. - Recife, 2024.
48 : il., tab.

Orientador(a): Armando Juan Navarro Vázquez

Coorientador(a): Fernando Hallwass

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Química - Bacharelado,
2024.

Inclui referências.

1. Hidrogéis. 2. Polímeros. 3. Meios Fracamente Alinhados. 4.
Espectroscopia de Ressonância Magnética. I. Navarro Vázquez, Armando
Juan. (Orientação). II. Hallwass, Fernando. (Coorientação). IV. Título.

540 CDD (22.ed.)

GISELA CAMILA PAZ SALES

SÍNTESE DE HIDROGÉIS: uma ferramenta para a elucidação estrutural via RMN

TCC apresentado ao Curso de Química Bacharel da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de bacharel em Química.

Aprovado em: 05/03/2024.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dr. Armando Juan Navarro Vázquez (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Denys Santos (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Jorge Neves (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente ao CNPq e à CAPES pelo generoso investimento neste trabalho e pelo reconhecimento de seu potencial. Expresso minha profunda gratidão aos professores orientadores, Armando Navarro-Vázquez e Fernando Hallwass, pela valiosa oportunidade de colaborar neste projeto e pelo apoio contínuo oferecido ao longo de sua realização.

Não posso deixar de expressar minha apreciação aos pós-doutorados Daiane e Danilo Carvalho, cujo acolhimento rápido, ensinamentos durante a pesquisa e prontidão para esclarecer dúvidas e questionamentos foram fundamentais para o progresso deste trabalho.

Minha imensa gratidão se estende a todos os participantes do laboratório NMRdev, do Departamento de Química Fundamental, com destaque especial para Poliana Cristiana, cuja amizade rápida e auxílio foram inestimáveis durante o desenvolvimento deste projeto.

Expresso minha profunda gratidão à minha família por seu apoio incondicional em todas as fases da minha vida, sendo especialmente significativo neste momento crucial. Finalmente, quero estender um agradecimento especial a Eduarda Vitória e Bruna Arcelina, cuja presença constante e apoio inabalável foram verdadeiramente fundamentais para me manter no caminho e compartilhar esta jornada comigo.

RESUMO

Dentre as diversas aplicações dos hidrogéis, este trabalho se concentra na sua atuação para a determinação da estrutura tridimensional de moléculas orgânicas por meios de alinhamento fraco em Ressonância magnética nuclear (RMN). Utilizaram-se equipamentos de RMN com frequências variando de 400 a 600 MHz. Os hidrogéis sintetizados foram preparados por copolimerização dos monômeros vinílicos *N,N*-dimetilacrilamida (DMMA), 1-vinil-2-pirrolidona (NVP) e acetato de vinila (VA) em diferentes proporções, com o 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) (AIBN) atuando como iniciador radicalar e o 1,4-butanodiol diacrilato (BDA) como agente reticulante. Os copolímeros sintetizados foram avaliados quanto ao seu intumescimento em água e capacidade de compressão dos hidrogéis resultantes, sendo considerado inicialmente a homogeneidade e grau de ordem presentes no gel mediante espectroscopia de RMN ^2H . Os acoplamentos dipolares residuais (RDCs) $^1D_{CH}$ para as moléculas de sacarose e *N*-óxido de brucina foram obtidos mediante experimentos de tipo HSQC. Um estudo dos efeitos dos monômeros nos parâmetros avaliados determinou o VA como o mais positivamente significativo em todos, incluindo na obtenção de $^1D_{CH}$. De modo geral, embora os experimentos apresentassem um aspecto limpo, os valores obtidos para os RDCs foram excessivamente pequenos para serem de utilidade prática. O copolímero PDMMAVPVA sintetizado requer, portanto, aprimoramentos para sua aplicação em moléculas pequenas assim como deve ser avaliado para a sua aplicação à obtenção de RDCs em moléculas de maior tamanho como peptídeos cíclicos ou outras.

Palavras-chave: RMN; elucidação estrutural; hidrogel; copolímero; meio de alinhamento fraco.

ABSTRACT

Among the various applications of hydrogels, this work focuses on their role in determining the three-dimensional structure of organic molecules through weak alignment in Nuclear Magnetic Resonance (NMR). NMR equipment with frequencies ranging from 400 to 600 MHz was used. The synthesized hydrogels were prepared by copolymerization of the vinyl monomers *N,N*-dimethylacrylamide (DMMA), 1-vinyl-2-pyrrolidone (NVP), and vinyl acetate (VA) in different proportions, with 2,2'-azobis(2-methylpropionitrile) (AIBN) acting as a radical initiator and 1,4-butanediol diacrylate (BDA) as a cross-linking agent. The synthesized copolymers were evaluated for their swelling in water and compressive capacity of the resulting hydrogels, initially considering the homogeneity and degree of order present in the gel through ^2H NMR spectroscopy. Residual Dipolar Couplings (RDCs) $^1D_{CH}$ for sucrose and brucine *N*-oxide molecules were obtained through HSQC experiments. A study of the effects of monomers on the evaluated parameters determined VA as the most positively significant in all aspects, including obtaining $^1D_{CH}$. Overall, although the experiments presented a clean appearance, the values obtained for the RDCs were excessively small for practical utility. Therefore, the synthesized PDMMAMPVA copolymer requires improvements for its application in small molecules, and it should be assessed for its application in obtaining RDCs in larger molecules such as cyclic peptides or others.

Keywords: NMR; structural elucidation; hydrogel; copolymer; weakly-alignment media.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ilustração de meios isotrópico (vermelho) e anisotrópico (azul).	17
Figura 2 – Tubo de 5mm com o dispositivo New Era instalado.	18
Figura 3 – Ilustração de um gel indutor de alinhamento comprimido, apresentando os pacotes de solução isotrópica presente entre a parede do vidro e o gel.	19
Figura 4 – Aparato utilizado para deformação dos géis poliméricos por meio do estiramento. É constituído por uma mangueira de silicone (A), um tubo de RMN de 5 mm aberto nas duas extremidades (B), uma tampa (C) e um plástico com pregos (D) para manter a posição.	20
Figura 5 – Representação do acoplamento escalar entre núcleos, representados por meio dos subíndices numéricos.	21
Figura 6 – Representação do acoplamento dipolar entre núcleos, representados por meio do subíndice atômico.	21
Figura 7 – Representação do acoplamento dipolar entre dois núcleos (i e j), explicitando a relação com o campo magnético externo.	22
Figura 8 – Estrutura química do poli(dimetilacrilamida-co-vinilpirrolidona).	28
Figura 9 – Espectros de RMN de ^2H da sacarose no hidrogel de PDMAVP 80% com 0,7% reticulante nos estados comprimido (cinza) e relaxado (preto).	30
Figura 10 – Molécula de sacarose com os carbonos identificados, com subíndice g (glicose) e f (frutose).	30
Figura 11 – Espectro de RMN HSQC acoplado em F1 da molécula de sacarose no (A) meio isotrópico e (B) hidrogel de DMMA/NVP com 0,7% de reticulante, intumescido em D_2O no estado comprimido.	31
Figura 12 – Espectro de RMN ^2H do hidrogel de DMMA/NVP com 0,9% de reticulante intumescido em D_2O .	33

Figura 13 – Estrutura molecular do polímero poli(vinilpirrolidona-co-acetato de vinila) (PVAVP). 34

Figura 14 – Hidrogel de NVP/VA, com 0,7% de reticulante, durante o processo de remoção do tubo de síntese (3 mm). 34

Figura 15 – Espectro de RMN de ^2H do hidrogel DMA/VA 40% intumescido em D_2O no estado comprimido. 35

Figura 16 – Molécula de N-óxido de brucina. 37

Figura 17 - Espectro de HSQC da sacarose nos géis (A) 3 e (B) 5 do planejamento de PDMMAVPVA com 0,7% de reticulante, intumescido em D_2O , no estado comprimido. 37

Figura 18 – Efeito dos monômeros e suas interações para o crescimento dos géis produzidos. Os termos A, B e C referem-se aos monômeros DMMA, NVP e VA, respectivamente. 39

Figura 19 – Efeito dos monômeros e suas interações para a compressão dos géis produzidos. Os termos A, B e C referem-se aos monômeros DMMA, NVP e VA, respectivamente. 40

Figura 20 – Espectros de ^2H RMN nos estados relaxados (vermelho) e comprimido (azul) para os hidrogéis (A) 2, (B) 3, (C) 4, (D) 5, (E) 6 e (F) 7. 41

LISTA DE ABREVIACES

AIBN	2,2'-azobis(2-metilpropionitrila)
BDA	1,4-butanodiol diacrilato
DMMA	<i>N,N</i> -dimetilacrilamida
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
IPNs	Redes interpenetrantes
LLCs	Cristais Lquidos liotrpicos
NVP	1-vinil-2-pirrolidona
PAN	Poliacrilonitrila
PDMMAVA	Poli(dimetilmetacrilato-co-acetato de vinila)
PDMMAVP	Poli(dimetilmetacrilato-co-vinilpirrolidona)
PDMMAVPVA	Poli(dimetilmetacrilato-co-vinilpirrolidona-co-acetato de vinila)
PMMA	Polimetilmetacrilato
PVA	Poli(vinllcool)
PVPVA	Poli(vinilpirrolidona-co-acetato de vinila)

RCSA	Anisotropia do deslocamento químico residual
RDC	Acoplamento dipolar residual
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SAG	Géis indutores de alinhamento por tensão
TA	Ácido tânico
TC	Taxa de compressão
TMS	Tetrametilsilano
VA	Ângulos Variáveis
VA	Acetato de Vinila
VASS	Rotação de ângulos variáveis
VP	Vinilpirrolidona
NOE	Efeito nuclear Overhauser

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Hidrogéis.....	16
2.2 Meios Fracamente Alinhados.....	17
2.2.1 Alinhamento por compressão-relaxação reversível.....	18
2.2.2 Alinhamento por alongamento.....	19
2.3 Parâmetros Anisotrópicos.....	20
2.3.1 Acoplamento Dipolar Residual (RDC)	21
2.3.2 Anisotropia do Deslocamento Residual (RCSA)	23
3 OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivos Específicos	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 Síntese.....	26
4.2 Análise.....	26
4.3 Processamento Dos Dados	27
4.4 Planejamento Fatorial Completo.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	28
5.1 Géis de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida e 1-vinil-2-pirrolidona.....	28
5.2 Géis de 1-vinil-2-pirrolidona e Acetato de Vinila	33
5.3 Géis de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida e Acetato de Vinila	34
5.4 Géis de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida, 1-vinil-2-pirrolidona e Acetato de Vinila.....	35
6 CONCLUSÃO	43

REFERÊNCIAS.....44

1 INTRODUÇÃO

A função biológica de uma molécula orgânica está intimamente associada à sua estrutura tridimensional e seus grupos funcionais, desempenhando um papel crucial na investigação e compreensão mais aprofundada de suas propriedades biológicas. Na farmacologia, esse conhecimento é de extrema importância para a garantia da funcionalidade de medicamentos e para conhecer seus efeitos colaterais associados (Moro; Invernizzi, 2017).

Entre as técnicas capazes de realizar essa tarefa, é possível citar a Difração de raios-X (DRX). No entanto, embora sua eficácia na identificação, determinação e ordenação dos átomos seja comprovada, a sua aplicação à determinação estrutural de compostos moleculares está restrita à monocristais (Holder; Schaak, 2019).

Adicionalmente, é comum utilizar as técnicas convencionais de RMN. Por meio de métodos que exploram o acoplamento escalar (J), o deslocamento químico (δ) e os experimentos bidimensionais, como o efeito Nuclear Overhauser (NOE), torna-se possível realizar a elucidação estrutural e estereoquímico de moléculas em solução (Cavalli *et al.*, 2007; Makriyannis; Pavlopoulos, 2017; Markwick; Malliavin; Nilges, 2008). Entretanto, é importante observar que a aplicação dessa abordagem apresenta também limitações: o NOE se restringe a correlação entre núcleos com distâncias de até $\approx 5 \text{ \AA}$ (Gryk; Hoch, 2008); e o J apresenta baixa magnitude e é um parâmetro de difícil extração, em alguns casos, por causa da sobreposição de sinais (Lin, Y. *et al.*, 2018). Atuando de forma complementar, a espectroscopia de infravermelho e a espectrometria de massas permitem obter informações estruturais importantes, que, quando combinados, auxiliam o processo.

Para moléculas pequenas, a técnica de meios de alinhamento fraco em RMN permite solucionar problemas estruturais de difícil resolução mediante técnicas convencionais (Sánchez-Pedregal; Santamaría-Fernández; Navarro-Vázquez, 2009). Nela, o meio indutor de alinhamento gera uma anisotropia no meio (i.e., a dependência das propriedades magnéticas dos núcleos com a direção) a partir do alinhamento das moléculas em relação ao campo magnético externo. A partir desse processo, é possível extrair parâmetros anisotrópicos de RMN, principalmente os acoplamentos dipolares residuais, (RDCs, do inglês *Residual Dipolar Couplings*), os quais são responsáveis por informações quanto à orientação dos vetores internucleares (Venturi *et al.*, 2023; Yan *et al.*, 2004).

Além dos RDCS, outro parâmetro anisotrópico recentemente empregado em elucidação estrutural de moléculas orgânicas é a anisotropia do deslocamento residual (RCSA, do inglês *Residual Chemical Shift Anisotropy*), sendo obtido a partir dos dados de deslocamento químico dos núcleos em relação a um composto de referência – geralmente tetrametilsilano (TMS). O RCSA atua de forma complementar ao RDC, possibilitando a obtenção de informações quanto à orientação relativa dos tensores de blindagem de cada núcleo, principalmente ^{13}C (Hallwass *et al.*, 2011) mas também ^1H (Nath *et al.*, 2020) da molécula.

Os meios de alinhamento fraco classificam-se em duas famílias: a primeira formada por diversos cristais líquidos liotrópicos (LLCs), os quais se orientam espontaneamente na presença de um campo magnético externo; e géis poliméricos, preparados por intumescimento em diferentes solventes de polímeros reticulados, onde o ordenamento acontece por meio de forças mecânicas que causam a deformação do gel (Thiele, 2008).

Os meios de alinhamento baseados em géis poliméricos, denominados SAG, do inglês *Strain-induced Alignment Gel*, requerem a aplicação de tensão mecânica para induzir a anisotropia. Esse processo pode ser realizado através de dispositivos de compressão ou estiramento, permitindo o ajuste do grau de alinhamento das moléculas conforme a variação da força aplicada. Diferentes polímeros e solventes podem ser empregados na preparação desses géis (Deloche; Samulski, 1981; Luy *et al.*, 2005; Luy; Marino, 2001).

Nesse contexto, destacam-se os polímeros de intumescimento em água, conhecidos como hidrogéis, devido à sua relevância em diversas aplicações além da RMN (Goding *et al.*, 2019). Esses hidrogéis podem ser homopoliméricos ou copoliméricos, sendo uma categoria especial representada pelos géis de cadeias interpenetrantes (IPNs), nos quais as cadeias estão intricadamente interligadas (Madduma-Bandaragea; Madihally, 2021).

Os hidrogéis vêm ganhando espaço entre as pesquisas das diversas áreas graças a sua biocompatibilidade, em especial no tratamento de doenças crônicas, como o câncer e diabetes, por sua eficácia como *drug delivery*, garantindo a redução da exposição dos medicamentos a áreas paralelas ao tratamento (isto é, evitando que outras partes saudáveis sejam afetadas) e mantendo a liberação da droga por longos períodos de tempo, como horas, dias e até semanas (Correa *et al.*, 2021).

No presente estudo focaremos na síntese de novos hidrogéis como meios de alinhamento fraco em RMN, com aplicação na elucidação estrutural de moléculas pequenas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Hidrogéis

Os hidrogéis são notáveis pela alta capacidade de retenção de água, que pode alcançar até cerca de 20% do seu peso. Esta capacidade baseia-se na natureza e arranjo dos monômeros constituintes, bem como no método sintético empregado. A classificação destes materiais leva em consideração a presença de cargas iônicas e o tipo de reticulação envolvida, seja ela química ou física. Enquanto processos como cristalização e ligações de hidrogênio caracterizam a reticulação física, a reticulação química ocorre por meio de ligações covalentes, muitas vezes facilitadas por agentes reticulantes (Mehta; Sharma; Devi, 2023).

Os hidrogéis com reticulação química podem ser sintetizados por duas rotas de polimerização. A rota por cadeia envolve a ativação dos monômeros por iniciadores radicais, utilizando luz ou calor para gerar radicais reativos, resultando em uma rápida produção de alta massa molar. Por outro lado, a rota por etapas implica que os grupos funcionais dos monômeros reajam entre si para formar ligações covalentes (Dhand; Galarraga; Burdick, 2021).

No caso dos IPNs, eles apresentam dois caminhos de produção: a rota sequencial, cujas cadeias poliméricas são sintetizadas separadamente e, posteriormente colocadas em contato; e a rota simultânea, na qual as cadeias são produzidas ao mesmo tempo, no mesmo recipiente. Esses métodos requerem o uso de um agente reticulante, pois, com sua ausência, o uso da rota sequencial resulta em um semi-IPN – duas ou mais cadeias que estão entrelaçadas no espaço, mas não conectadas (Madduma-Bandarage; Madihally, 2021).

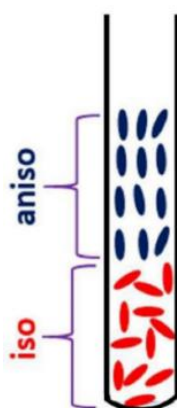
Um exemplo dessa abordagem é o trabalho de Wang *et al.*, publicado em 2016, no qual foi sintetizado um semi-IPN de poli(vinilalcool) e poli(ácido acrílico-co-amida acrílica) por meio da polimerização por radical livre, utilizando banho ultrassônico. O hidrogel produzido demonstrou sensibilidade ao pH, revelando um aumento em sua capacidade de retenção à medida que este aumentava, atingindo seu valor máximo em um meio neutro. Esse padrão foi observado de maneira semelhante durante a transição do solvente em estudo para soluções salinas (Wang, Xiaohong *et al.*, 2016).

Pouco tempo depois, em 2019, Chen e sua equipe produziram géis de reticulação física envolvendo poli(vinilálcool) e ácido tânico (PVA-TA). Para além do processo de síntese, a biocompatibilidade desses géis foi validada por meio de sua aplicação na sutura do coração de um rato (Chen *et al.*, 2019).

2.2 Meios Fracamente Alinhados

Na espectroscopia de ressonância magnética, as propriedades estudadas são obtidas em conjunto dos dados isotrópicos e anisotrópicos. No entanto, quando em meio isotrópico, as propriedades magnéticas não variam com a direção, e as informações de RMN provindas da anisotropia igualam-se a zero. Para a recuperação parcial das propriedades anisotrópicas, é necessário primeiro aplicar um meio de alinhamento, de forma que as moléculas de interesse tenham um alinhamento preferencial a respeito do campo magnético externo (*Figura 1*).

Figura 1 – Ilustração de meios isotrópico (vermelho) e anisotrópico (azul).



Fonte: Fuentes Monte-Verde *et al.* (2023)

Em 1963, Saupe *et al.* realizaram o alinhamento de moléculas por meio da utilização de cristais líquidos em fase nemática. Contudo, a aplicação desse material resultou em um elevado grau de alinhamento, gerando um espectro com múltiplos sinais, e de difícil interpretação. Assim, a técnica ficou principalmente limitada ao estudo de moléculas pequenas e simétricas (Saupe; Englert, 1963).

Para a aplicação a problemas comuns de elucidação estrutural em biomoléculas e moléculas pequenas foi necessária a aparição dos meios de alinhamento fraco, cujo grau de alinhamento reduz os parâmetros anisotrópicos obtidos de MHz a dezenas de Hz, denominando-se estes valores “residuais”. Algumas

características são desejadas em um bom meio de alinhamento fraco em RMN, são elas: ser compatível com determinado solvente, se possível ter um grau de alinhamento ajustável; interagir sem reagir com a amostra; não possuir sinais de RMN que interfiram na extração dos parâmetros (Schmidts, 2017).

Os géis poliméricos apresentam estas características, mas o seu uso requer a aplicação de uma tensão no material (Deloche; Samulski, 1981). A direção de aplicação de força resulta na categorização dos géis em dois tipos distintos: géis de compressão-relaxação, preferivelmente reversível, e géis de estiramento.

2.2.1 Alinhamento por compressão-relaxação reversível

O uso destes géis é comumente feito colocando-os em um tubo de vidro de 5 mm de diâmetro – específico para RMN e compatível com o dispositivo de compressão New Era – junto com a solução contendo a molécula de interesse (*Figura 2*). Dessa forma, o gel absorve o líquido, promovendo o intumescimento do material e permitindo a penetração da molécula em solução em sua estrutura reticular (Thiele, 2008).

Figura 2 – Tubo de 5mm com o dispositivo New Era instalado.

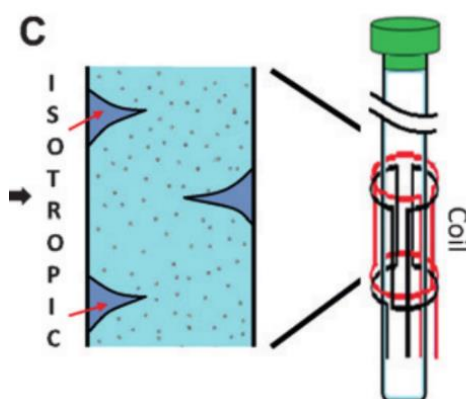


Fonte: A autora (2024)

Para obter os parâmetros de RMN, RDCs ou RCSAs, as análises devem ser feitas primeiro no o gel relaxado, quando a amostra se encontra exclusivamente no meio isotrópico, eliminando diferenças entre as amostras contidas na matriz do gel e na solução externa; em seguida, no meio comprimido onde os parâmetros de RMN provenientes do analito no interior do gel apresentam uma contribuição anisotrópica.

Nestes géis compressíveis deve-se destacar a presença de uma camada de solvente isotrópico mesmo no estado comprimido (*Figura 3*) (Hellemann *et al.*, 2016). A coexistência desses meios, isotrópico e anisotrópico, pode introduzir complexidade na medição, mas também possibilita a medição dos parâmetros anisotrópicos em um único experimento. Este fenômeno possibilita a aplicação destes géis compressíveis à medida de RCSAs de ^{13}C mediante correção das mudanças induzidas pela compressão do gel na parte isotrópica do deslocamento químico (Hallwass *et al.*, 2011).

Figura 3 – Ilustração de um gel indutor de alinhamento comprimido, apresentando os pacotes de solução isotrópica presente entre a parede do vidro e o gel.

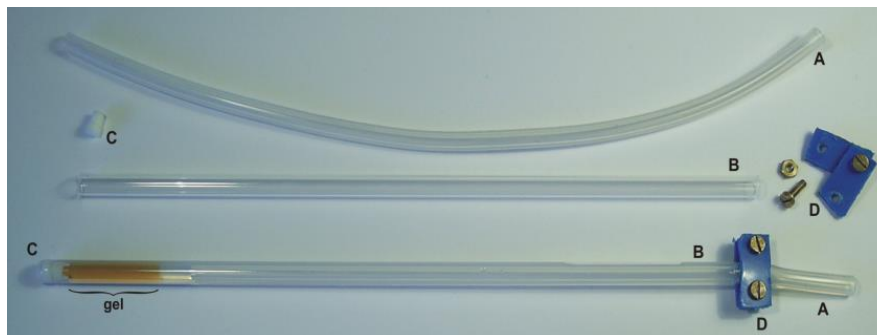


Fonte: Hellemann *et al.* (2016)

2.2.2 Alinhamento por alongamento

A técnica de alongamento pode ser aplicada mediante esticamento do gel em um tubo de RMN convencional, porém este método precisa de tempos de equilibração mecânico do gel. O estiramento pode ser realizado também com um tubo cujas extremidades são abertas, utilizando uma mangueira de silicone. No tubo, adiciona-se a mangueira e em seguida o gel seco e o solvente para intumescimento, quando finalizado, estica-se a mangueira, resultando no estiramento gradual do polímero (*Figura 4*) até atingir o grau de ordem desejado.

Figura 4 – Aparato utilizado para deformação dos géis poliméricos por meio do estiramento. É constituído por uma mangueira de silicone (A), um tubo de RMN de 5 mm aberto nas duas extremidades (B), uma tampa (C) e um plástico com pregos (D) para manter a posição.



Fonte: Kummerlowe *et al.* (2008)

O esticamento do gel dentro da mangueira não modifica a relação solvente/polímero permitindo portanto a medição direta de RCSAs uma vez que toda a solução se encontra dentro do gel, independentemente do grau de estiramento. No entanto, sua maior desvantagem é o baixo valor da razão sinal-ruído dos espectros (Liu *et al.*, 2019).

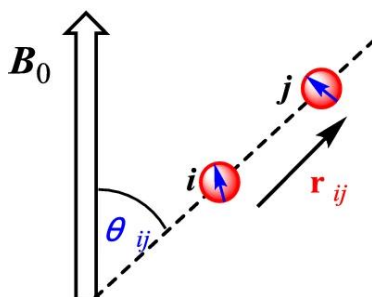
2.3 Parâmetros Anisotrópicos

Quando uma molécula é analisada por espectroscopia de RMN, seus núcleos interagem com o campo magnético gerado pelo equipamento. O deslocamento químico varia de acordo com a densidade da nuvem eletrônica do átomo em questão. Núcleos associados a uma nuvem eletrônica densa são "blindados", ou seja, menos afetados pelo campo magnético, enquanto aqueles com uma nuvem eletrônica mais dispersa são "desblindados" e experimentam uma influência mais intensa desse campo (Saitô; Ando; Ramamoorthy, 2010).

Além do deslocamento químico, outra propriedade observável é o acoplamento spin-spin. Esse fenômeno ocorre quando dois núcleos com spins diferentes de zero interagem, resultando em interferências mútuas nos campos magnéticos. Existem dois tipos principais de acoplamento: escalar e dipolar. Essa interação entre spins contribui para a complexidade dos espectros de RMN, fornecendo informações valiosas sobre a conectividade e a estrutura molecular.

O acoplamento escalar ocorre quando os momentos magnéticos de dois núcleos interagem não diretamente, mas através dos elétrons presentes na molécula

Figura 7 – Representação do acoplamento dipolar entre dois núcleos (i e j), explicitando a relação com o campo magnético externo.



Fonte: Adaptado de Li, G. W. *et al.* (2018)

Sabendo que o acoplamento escalar tem uma dependência pequena com o grau de orientação, particularmente para núcleos leves, o acoplamento dipolar (D) pode-se determinar mediante a diferença entre o desdobramento total (T) no meio orientado e o desdobramento J no meio isotrópico (*Equação 2*) (Kramer *et al.*, 2004).

$$T = J + D \quad [2]$$

O conjunto de acoplamentos dipolares medidos permite – para moléculas rígidas e, se houver um número mínimo deles, a determinação do chamado tensor de alinhamento e a partir dele os acoplamentos dipolares D esperados –, a comparação entre os valores esperados e os experimentais para diversas estruturas. Dessa forma, permite determinar a estrutura molecular partindo de uma série de possíveis geometrias moleculares pertencentes a determinada constituição, configuração ou conformação (Chen, K.; Tjandra, 2012).

Para uma molécula pequena (rígida ou semirrígida), apenas o uso do $^1D_{CH}$ – RDCs das ligações saturadas entre carbono e hidrogênio – é suficiente; e são facilmente obtidos por meio do espectro de 1H acoplado *Heteronuclear Single Quantum Correlation* (HSQC) (Trigo-Mouriño *et al.*, 2011). No entanto, caso não seja possível realizar a elucidação estrutural, adiciona-se os dados das medidas de ligações duplas ($^2D_{CH}$) e triplas ($^3D_{CH}$).

No caso de moléculas semirrígidas é possível ainda considerar que existe um único tensor de alinhamento molecular comum às diferentes conformações da molécula – esta é a chamada aproximação de tensor único (Sánchez-Pedregal; Santamaría-Fernández; Navarro-Vázquez, 2009). Porém em moléculas de maior

flexibilidade – ou quando existem uma mudança drástica entre a forma espacial das diferentes conformações – esta aproximação pode não ser válida (Sun *et al.*, 2011).

2.3.2 Anisotropia do Deslocamento Residual (RCSA)

Embora sua obtenção requiera apenas o espectro desacoplado $^1\text{D}-^{13}\text{C}$, o RCSA passou a ser utilizado apenas recentemente. Isso porque a extração dos seus valores é dificultada com a aplicação dos meios alinhados, visto que este causa uma variação no deslocamento químico iso- e anisotrópico (Nath *et al.*, 2016). Diversos trabalhos buscam métodos que possam ser aplicados em conjunto com a técnica de meios de alinhamento para obtenção dos valores de RCSA de forma precisa, uma vez que esse parâmetro tem alta sensibilidade e pode ser aplicado para o estudo de carbonos quaternários ou ligações C-H que estão aproximadamente paralelos, cujos valores de RDCs extraídos são insuficientes (Liu, Y. *et al.*, 2017).

Entre as formas de obter esse parâmetro pode-se mencionar a utilização do RMN contendo rotação de ângulos variáveis (VASS) e ângulos variáveis (VA) (do inglês *variable-angle spinning* e *variable-angle*, respectivamente), as quais embora práticas, são custosas. No entanto, Hallwass e colaboradores desenvolveram um método de obtenção das medidas de RCSA, cujo efeito do meio aplicado é minimizado. Para isso, utilizam-se dois graus de alinhamento cuja dupla diferença é chamada de $\Delta\Delta\text{RCSA}$. Isto é, considera-se o deslocamento químico nestes dois graus de alinhamento (δ^1 e δ^2), fazendo a subtração destes pelo deslocamento químico de um referencial (δ^{ref}), escrita matematicamente por meio da *Equação 3* (Hallwass *et al.*, 2011).

$$\begin{aligned}\Delta\Delta\text{RCSA}_k(\text{ppm}) &= (\delta^{(1,k)} - \delta^{(1,\text{ref})}) - (\delta^{(2,k)} - \delta^{(2,\text{ref})}) \\ &= \sum_{i=x,y,z} \sum_{j=x,y,z} (A_{ji}^{(1)} - A_{ji}^{(2)}) (\delta_{ji}^{\text{CSA}_k} - \delta_{ji}^{\text{CSA}_{\text{ref}}}),\end{aligned}$$

onde k é um spin-nuclear, 1 e 2 são os dois graus de alinhamento escolhidos para molécula e *ref* o grau de alinhamento referencial.

Atualmente, a aplicação da técnica de meios fracamente alinhados carece de materiais abrangentes, sendo notável a escassez dos hidrogéis nesse contexto – uma vez que a aplicação de líquidos cristalinos para moléculas hidrofílicas mostra-se

comum (Knoll *et al.*, 2022). A necessidade urgente reside na definição de uma metodologia de síntese reprodutível, capaz de proporcionar resultados consistentes. Essa abordagem é vital para a identificação de estruturas hidrofílicas, desempenhando um papel crucial no avanço da ciência e na promoção da inovação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Sintetizar hidrogéis aptos para aplicação como meios fracamente alinhados para refinamento e elucidação estrutural de moléculas.

3.2 Objetivos Específicos

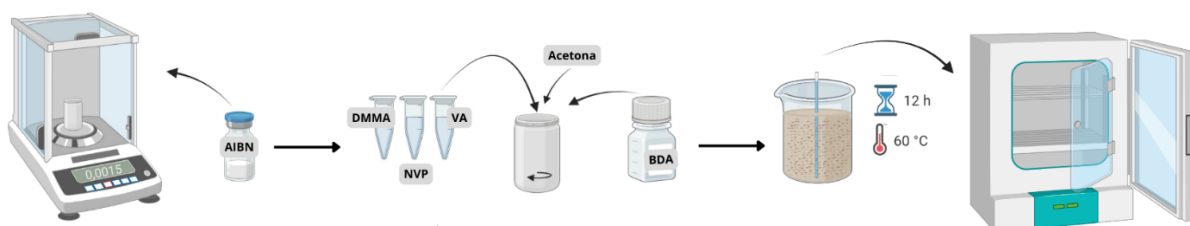
- Sintetizar hidrogéis indutores de alinhamento;
- Realizar o planejamento e otimização dos hidrogéis;
- Analisar os materiais utilizando a Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear;
- Avaliar os hidrogéis quanto a sua taxa de compressão e intumescimento;
- Validar a aplicação como meio fracamente alinhado por meio dos RDCs da sacarose e N-óxido de brucina.

4 METODOLOGIA

4.1 Síntese

Em um eppendorf contendo 1,5 mg de AIBN adicionaram-se 250 μ L de acetona. Em seguida, adicionaram-se os monômeros VA, DMMA e NVP com proporções entre 0-90% do volume total, previamente filtrados com óxido de alumínio. À mistura foram acrescentados o agente reticulante BDA e o recipiente foi agitado. A solução final foi transferida para um tubo de 3 mm de diâmetro, previamente silanado com Sigmacote®, utilizando uma pipeta Pasteur. O tubo foi selado a fogo e levado à estufa em 60 °C por 12 horas, contido dentro de um béquer contendo areia para uniformizar a temperatura (*Esquema 1*). Após esse período, o vidro foi quebrado para retirada do gel sintetizado.

Esquema 1 – Processo de síntese dos hidrogéis.

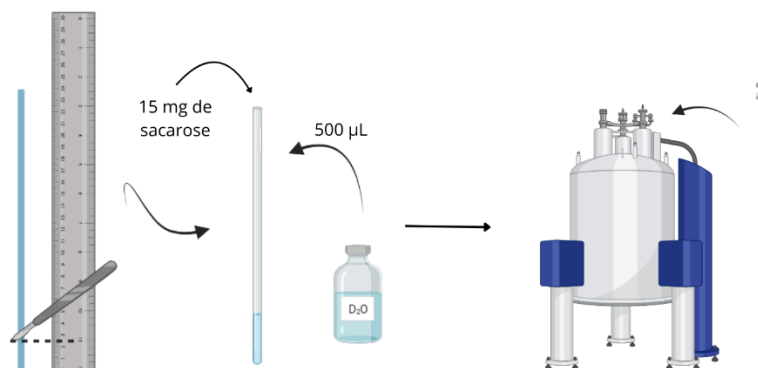


Fonte: A autora (2024)

4.2 Análise

Cortou-se um cilindro de 2,5 cm de comprimento de cada gel sintetizado e o mesmo foi transferido para um tubo de análise de RMN de 5 mm de diâmetro. Uma solução contendo 15 mg do composto a ser analisado em 500 μ L de água deuterada foi acrescentada ao tubo e aguardou-se até o completo intumescimento do material. O tubo foi então levado para análise de RMN dos núcleos de ^1H , ^2H , ^{13}C e aquisição dos experimentos de HSQC acoplados na dimensão direta (F2) ou indireta (F1). Em seguida, instalou-se no tubo um dispositivo de compressão com o dispositivo New Era® para compressão máxima do gel, e os mesmos experimentos foram repetidos na condição comprimida (*Esquema 2*).

Esquema 2 – Preparação das amostras para análise por RMN.



Fonte: A autora (2024)

4.3 Processamento Dos Dados

Utilizou-se o software MestReNova para processamento dos espectros, assim como para a obtenção dos parâmetros isotrópico e anisotrópico.

4.4 Planejamento Fatorial Completo

Realizou-se um planejamento fatorial completo 2^3 para a síntese do hidrogel de poli(dimetilacrilamida-co-vinilpirrolidona-co-acetato de vinila) (PDMMAVPVA) cujos parâmetros e níveis estão apresentados na *Tabela 1*. O processamento dos dados obtidos foi realizado por meio do software Minitab 19.

Tabela 1 – Parâmetros e níveis definidos para a realização do planejamento 2^3 do hidrogel de PDMMAVPVA.

Parâmetros	Nível inferior	Nível Superior
DMMA	100 µL	300 µL
NVP	100 µL	300 µL
VA	100 µL	300 µL

Fonte: A autora (2024)

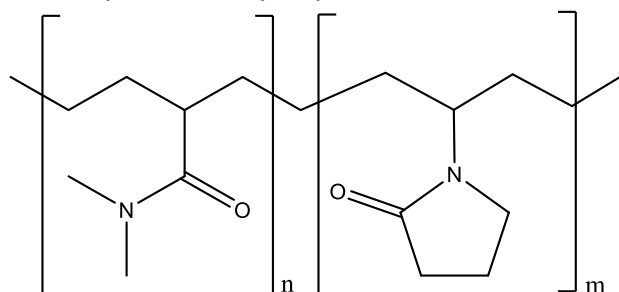
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A síntese dos hidrogéis seguiu a metodologia previamente aplicada por (Carvalho, 2019) para produzir os copolímeros indutores de alinhamento de poli(acrilonitrila) (PAN) e polimetilmetacrilato (PMMA). Como o processo de copolimerização é uma forma de obter-se diferentes propriedades químicas e físicas a partir da combinação de duas ou mais unidades base (Scott; Penlidis, 2017), a seleção dos monômeros deu-se, em grande parte, pela vantajosa interação entre os compostos e a água.

5.1 Géis de *N,N*-dimetilacrilamida e 1-vinil-2-pirrolidona

Os primeiros experimentos visaram a síntese do poli(vinilpirrolidona-co-dimetilacrilamida) (*Figura 8*) em diferentes proporções de volume (*Tabela 2*). Essa combinação de monômeros foi escolhida por apresentar alta capacidade de retenção de água, sendo essa uma das principais características por trás da sua utilização na medicina para substituição do corpo vítreo do olho (Lai; Valint, 1996).

Figura 8 – Estrutura química do poli(dimetilacrilamida-co-vinilpirrolidona).



Fonte: A autora (2024)

Tabela 2 – Volumes utilizados em cada experimento, definidos a partir da porcentagem volumétrica de acordo com a solução final de 500 μL .

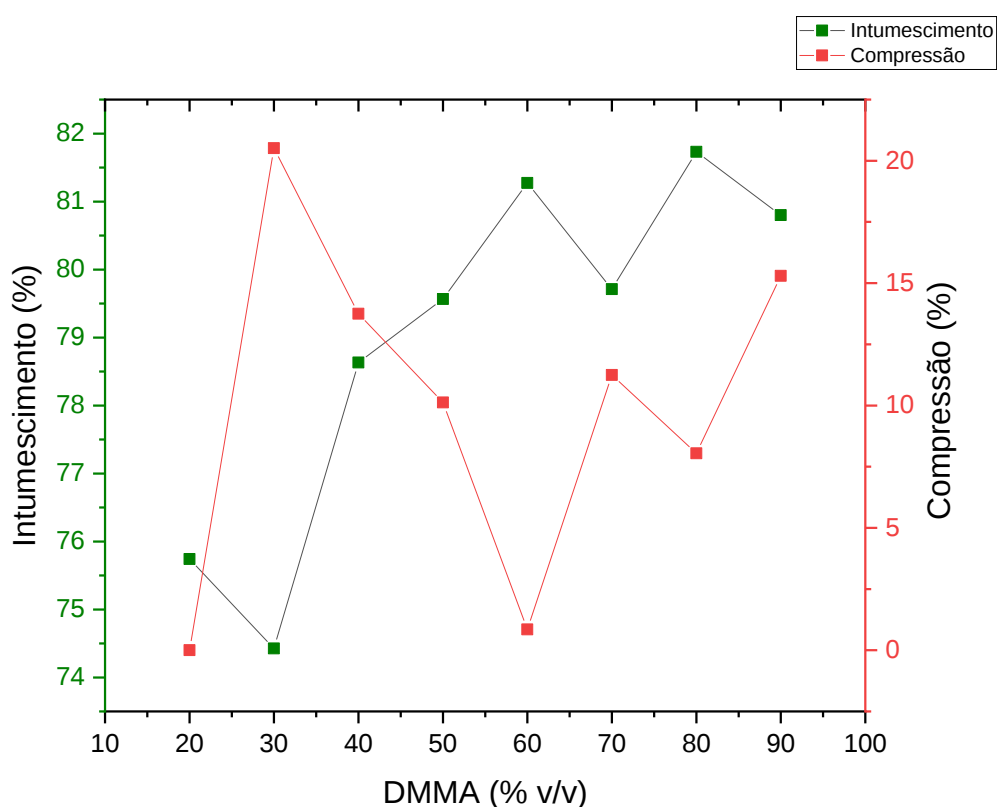
% v/v DMMA	DMMA	NVP	% v/v DMMA	DMMA	NVP
5	475 μL	25 μL	50	250 μL	250 μL
10	450 μL	50 μL	60	200 μL	300 μL
15	425 μL	75 μL	70	150 μL	350 μL
20	400 μL	100 μL	80	100 μL	400 μL
30	350 μL	150 μL	90	50 μL	450 μL
40	300 μL	200 μL			

Fonte: A autora (2024)

O método de avaliação dos géis sintetizados deu-se pela taxa de intumescimento, seguindo a *Equação 4*; e a taxa de compressão, sendo definido como a razão entre o tamanho no estado comprimido pelo relaxado, subtraindo-o do inteiro (*Gráfico 1*).

$$\text{Taxa de Intumescimento}(\%) = \left(\frac{\text{Massa}_{gel\ intumescido} - \text{Massa}_{gel\ seco}}{\text{Massa}_{gel\ intumescido}} \right) \cdot 100 \quad [4]$$

Gráfico 1 – Taxas de compressão e intumescimento referente aos géis sintetizados de DMMA/NVP, considerando % v/v do DMMA.



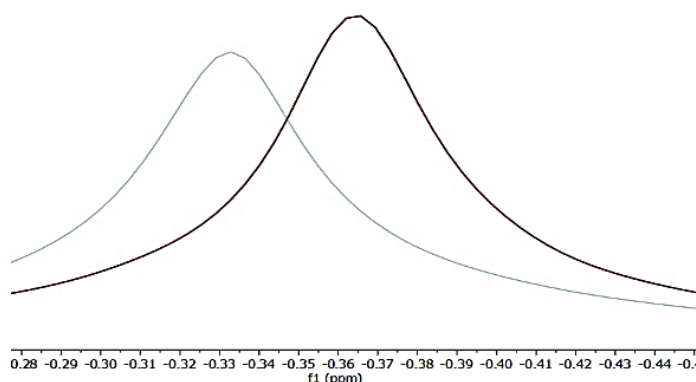
Fonte: A autora (2024)

Assim como observado por Alencar de Queiroz e colaboradores, o aumento da proporção de vinilpirrolidona (VP) na composição resulta na redução da hidrofiliidade do material (Alencar de Queiroz; Gallardo; San Román, 2000). Adicionalmente, pode-se observar que o menor valor obtido para a taxa de compressão (TC= 0%) refere-se à composição com 80% NVP, e, convém mencionar também que os géis com ainda mais quantidade deste reagente apresentaram maior rigidez quando secos, mas grande fragilidade ao serem intumescidos – resultando em sua quebra durante o processo de compressão, especificamente para os géis de 5, 10 e 15% v/v de DMMA.

Embora o gel de 90% DMMA tenha se mostrado um material promissor considerando as taxas obtidas, não foi possível estudá-lo, visto que o hidrogel se partiu após o teste de compressão. Assim, o foco foi o gel de 80% DMMA, por seu alto valor de intumescimento perante os outros materiais.

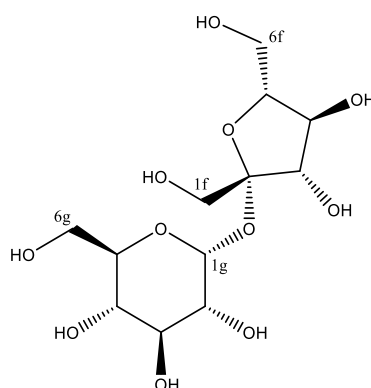
Sabe-se que em virtude da utilização de um meio alinhado, ao realizar-se a aquisição do espectro de RMN ^2H , espera-se obter o desdobramento do sinal do solvente – nesse caso, a água – como resultado da anisotropia no meio. Todavia, esse fenômeno não se fez presente no espectro do gel de 80% (*Figura 9*), indicando que, caso o alinhamento esteja ocorrendo, a intensidade é extremamente pequena, de forma que a anisotropia não seja observável. Para evidenciar essa suposição, a molécula de sacarose (*Figura 10*) foi submetida a análise bidimensional HSQC.

Figura 9 – Espectros de RMN de ^2H da sacarose no hidrogel de PDMAVP 80% com 0,7% reticulante nos estados comprimido (cinza) e relaxado (preto).



Fonte: A autora (2024)

Figura 10 – Molécula de sacarose com os carbonos identificados, com subíndice g (glicose) e f (frutose).

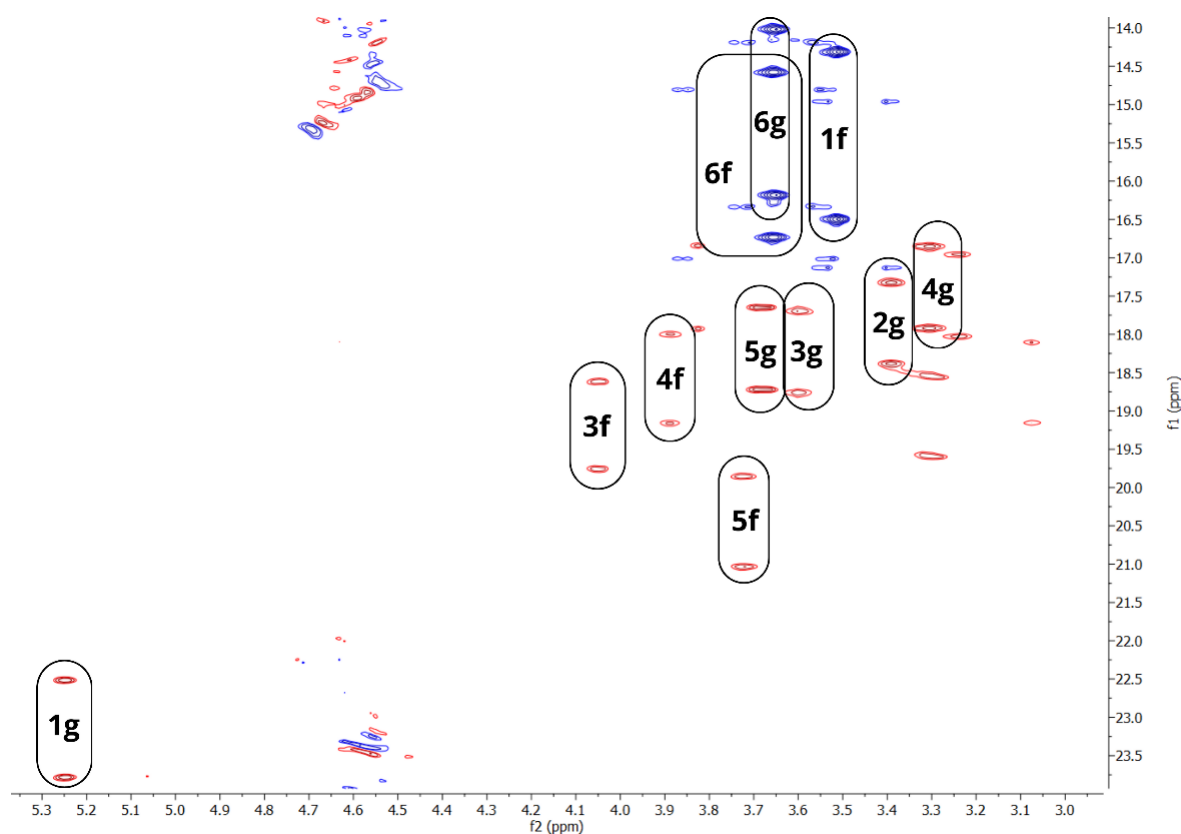


Fonte: A autora (2024)

A análise por HSQC correlaciona o deslocamento químico de dois tipos de núcleo que estão a uma ligação de distância, geralmente ^1H - ^{13}C , com os eixos F2 e

F1, respectivamente (Emwas *et al.*, 2013). Entre as diversas vantagens em sua utilização, menciona-se a diferenciação entre os acoplamentos por coloração, isto é, CH e CH₃ apresentam-se em vermelho e CH₂ em azul. Em um meio anisotrópico, este espectro apresenta os sinais desdobrados, isto é, duplicados. Quando acoplados em F1, este desdobramento é apresentado na vertical; quando em F2, na horizontal. Assim, o espectro de HSQC da molécula de sacarose contida no gel de PDMMAVP (Figura 11) apresenta esse fenômeno.

Figura 11 – Espectro de RMN HSQC acoplado em F1 da molécula de sacarose no (A) meio isotrópico e (B) hidrogel de DMMA/NVP com 0,7% de reticulante, intumescido em D₂O no estado comprimido.



Fonte: A autora (2024)

Observa-se que todos os acoplamentos C-H e C-H₂ apresentaram uma boa resolução, fazendo-se possível a obtenção de seus valores tanto no estado relaxado quanto no comprimido, e permitindo assim a determinação dos acoplamentos dipolares residuais (Tabela 3). Percebe-se ainda a presença do sinal da água em 4,65 ppm (Weitzel *et al.*, 2020) e a existência de poucos sinais referentes ao material. Mesmo assim, considerando a ausência do desdobramento no espectro de ²H – e

consequentemente da anisotropia no meio –, não houve surpresa quanto aos valores de RDCs extraídos serem extremamente baixos, principalmente quando comparados aos obtidos anteriormente (Carvalho, D. S. *et al.*, 2023). Apesar disso, a comparação permite identificar algumas semelhanças entre os resultados, como: os valores de RDCs de maior e menor valor serem para o acoplamento entre o C5_r-H5_r e C6_r-H6_r, respectivamente; e a proximidade em magnitude e igualdade na orientação da dipolar do 3g. Esta última observação tem baixa confiabilidade, visto que todos os outros resultados difeririam drasticamente. De fato, a molécula de sacarose é bastante rígida, resultando em erros nas medições (Effemey; Lang; Kowalewski, 2000). Assim, percebendo-se o potencial desse material, buscou-se aprimorá-lo e descartou-se a utilização desse açúcar para as validações.

Tabela 3 – Valores experimentais das constantes dos acoplamentos escalar (*J*) e total (*T*) da sacarose e de RDCs (*D*) obtidos por meio da aplicação do gel de DMA/NVP 80% intumescido em D₂O.

Índice	¹ <i>J</i> _{CH} (Hz)	¹ <i>T</i> _{CH} (Hz)	¹ <i>D</i> _{CH} (Hz)	
			Experimental	Literatura
1g	171,2	169,2	-2,0	-8,0
2g	143,1	141,6	-1,5	-4,3
3g	144,4	141,6	-2,8	-2,9
4g	144,2	142,5	-1,7	-3,0
5g	144,0	143,4	-0,6	-3,0
6g	144,0	144,9	0,9	-1,6
1f	144,1	145,4	1,3	0,7
3f	149,4	151,4	2,0	7,4
4f	156,2	155,3	-0,9	3,5
5f	152,9	157,6	4,7	10,7
6f	144,0	143,7	0,3	-0,2

Fonte: A autora (2024)

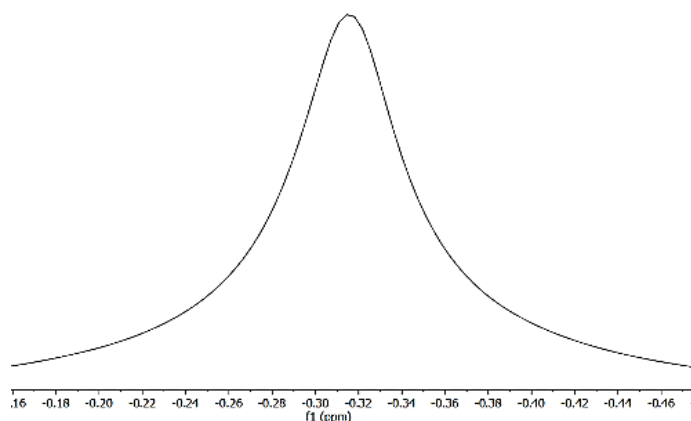
Nota: A coluna literatura refere-se aos dados obtidos por Carvalho et al. (2023)

Diante dos resultados obtidos, hipotetizou-se que ao aumentar a reticulação do material a rede apresentaria uma maior habilidade de aprisionamento da molécula, dificultando sua saída e melhorando a entrada; analogamente, propôs-se que a

redução resultaria na facilitação do adentramento das moléculas. De forma a testar ambas as hipóteses, realizou-se experimentos com o volume de reticulante em 0,5% e 0,9%.

Perante a redução da reticulação, a resistência mecânica do hidrogel foi severamente comprometida e o material se partiu durante o teste de compressão – sendo a hipótese descartada. Felizmente, o hidrogel com 0,9% de agente reticulante não apresentou tais desvantagens e o espectro de ^2H do gel no estado comprimido foi obtido (*Figura 12*). No entanto, não foi observado o desdobramento ou indícios do fenômeno, visto que o pico se apresentou alto e estreito.

Figura 12 – Espectro de RMN ^2H do hidrogel de DMMA/NVP com 0,9% de reticulante intumescido em D_2O .



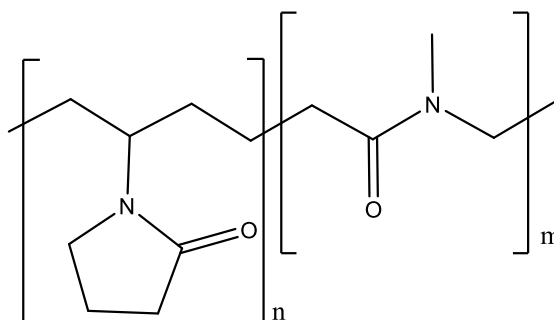
Fonte: A autora (2024)

Por fim, durante o processo de estudo dessa combinação monomérica, os polímeros apresentaram capacidade de intumescimento não só em água, mas também solventes orgânicos como metanol e clorofórmio, embora em menores proporções.

5.2 Géis de 1-vinil-2-pirrolidona e Acetato de Vinila

Os hidrogéis sintetizados variaram na composição em % v/v de NVP de 40 à 60, mantendo o agente reticulante em 0,7% e a sua estrutura molecular é apresentada na *Figura 13*. A utilização dessa combinação aparentava ser uma grande oportunidade para obter maiores magnitudes de RDC, visto que o poli(acetato de vinila) apresenta altos valores de desdobramento quadrupolar (Freudenberger *et al.*, 2005).

Figura 13 – Estrutura molecular do polímero poli(vinilpirrolidona-co-acetato de vinila) (PVAVP).



Fonte: A autora (2024)

Embora esse material seja vendido mundialmente e haja comprovação quanto a sua utilização para dispersão de medicamentos hidrofóbicos (Wu; Mooter, 2023), os géis sintetizados apresentaram diversos aspectos negativos para sua utilização como meio indutor de alinhamento fraco, como alta elasticidade e adsorvidade, se assemelhando bem mais à uma gelatina (*Figura 14*). Essas características dificultaram a remoção do hidrogel do tubo de síntese, sendo impossível o corte do material para realizar a análise, visto que ele estava completamente grudado ao vidro. Afim de testar as condições experimentais, aumentou-se a reticulação para 0,9%, mas não houveram diferenças significativas nestes aspectos.

Figura 14 – Hidrogel de NVP/VA, com 0,7% de reticulante, durante o processo de remoção do tubo de síntese (3 mm).



Fonte: A autora (2024)

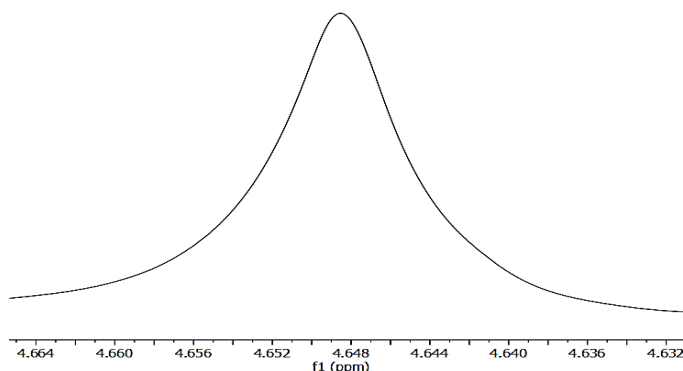
5.3 Géis de *N,N*-dimetilacrilamida e Acetato de Vinila

De forma análoga, a síntese dos hidrogéis de poli(dimetilacrilamida-co-acetato de vinila) (PDMAVA) foi realizado variando a porcentagem volumétrica de DMMA em 40 a 60%. Entretanto, diferentemente do ocorrido na seção anterior, os polímeros

foram sintetizados efetivamente e não apresentaram obstáculos na sua remoção do tubo de síntese. Mas, durante a realização do teste de compressão, observou-se grande rigidez do material, tornando-o incompressível, e causando danos na extremidade superior do gel, o qual está em contato direto com o dispositivo responsável pela tensão mecânica.

Para os testes seguintes, utilizou-se uma menor porcentagem de reticulante, cerca de 0,5%, de forma a reduzir a proximidade entre as cadeias poliméricas da rede e permitir a compressão. O polímero apresentou um crescimento de 1,3 cm e compressão até 0,6 cm, podendo ser submetido a aquisição de RMN ^2H em ambos estados necessários. Todavia, não apresentou desdobramento do pico da água (*Figura 15*). ou indicação de sobreposição de sinal, logo, não se mostrou necessário realizar a análise bidimensional.

Figura 15 – Espectro de RMN de ^2H do hidrogel DMA/VA 40% intumescido em D_2O no estado comprimido.



Fonte: A autora (2024)

5.4 Géis de *N,N*-dimetilacrilamida, 1-vinil-2-pirrolidona e Acetato de Vinila

Após consideração das interações anteriormente estudadas entre os monômeros selecionados para o processo, notou-se a possibilidade de unir as vantajosas características descobertas: a ótima taxa de intumescimento e alta capacidade de reticulação alcançada com o gel de PDMMAVA; com a clareza dos espectros e sua taxa de deformação reversível proveniente do hidrogel de PDMMAVP. Todavia, como visto previamente, a combinação de PVPVA não se provou frutífera, demandando cautela na realização dessa tarefa.

A combinação desses três monômeros deu-se por meio de um planejamento fatorial completo 2^3 , cujos parâmetros foram seus volumes, sendo os níveis inferior (-

1) e superior (+1) equivalente a 100 μL e a 300 μL , respectivamente (*Tabela 4*). Para estes, foram mantidos a porcentagem de agente reticulante em 0,5 (%n/n), de forma que seja possível a realização de novos experimentos variando este parâmetro. Os valores dos níveis estão diretamente relacionados ao volume suportado no tubo de síntese, o qual é 750 μL , do qual 250 μL refere-se ao solvente, restando, portanto, 500 μL para ser distribuídos entre os géis.

Tabela 4 – Planejamento 2^3 para síntese dos hidrogéis de DMMA/NVP/VA, mantendo a porcentagem de reticulação em 0,5%.

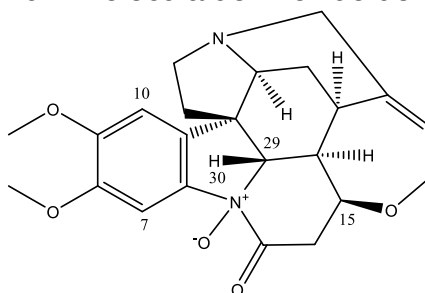
Gel	Parâmetros		
	DMMA	NVP	VA
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1

Fonte: A autora (2024)

As respostas foram dadas de acordo com o tamanho final do crescimento e da compressão do material. O seu processamento foi feito por meio do software Minitab 21, o qual produziu gráficos que apresentam os efeitos dos parâmetros e de suas interações. A interpretação destes é feita de forma diferente do comum, isto é, no gráfico de pareto, considera-se significativo aquele que ultrapassar a linha vermelha – a qual marca o início do intervalo de confiança. Já no gráfico das interações, a significância é avaliada de acordo com a inclinação da reta, assim como o seu sentido – positivo ou negativo.

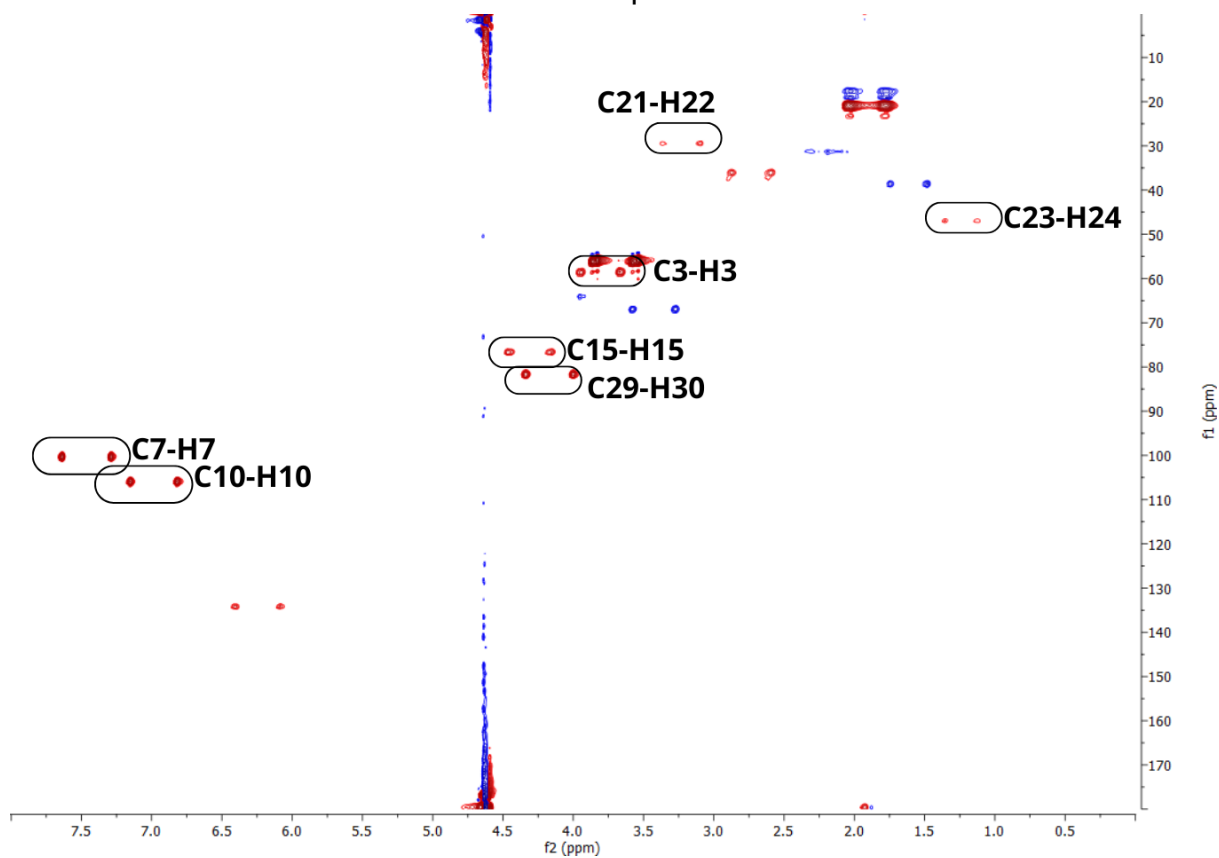
Almejava-se estudar os parâmetros em função dos valores de RDCs da molécula de N-óxido de brucina (*Figura 16*), mas por causa de problemas com a manutenção do equipamento, apenas dois géis foram submetidos para aquisição de HSQC (*Figura 17*).

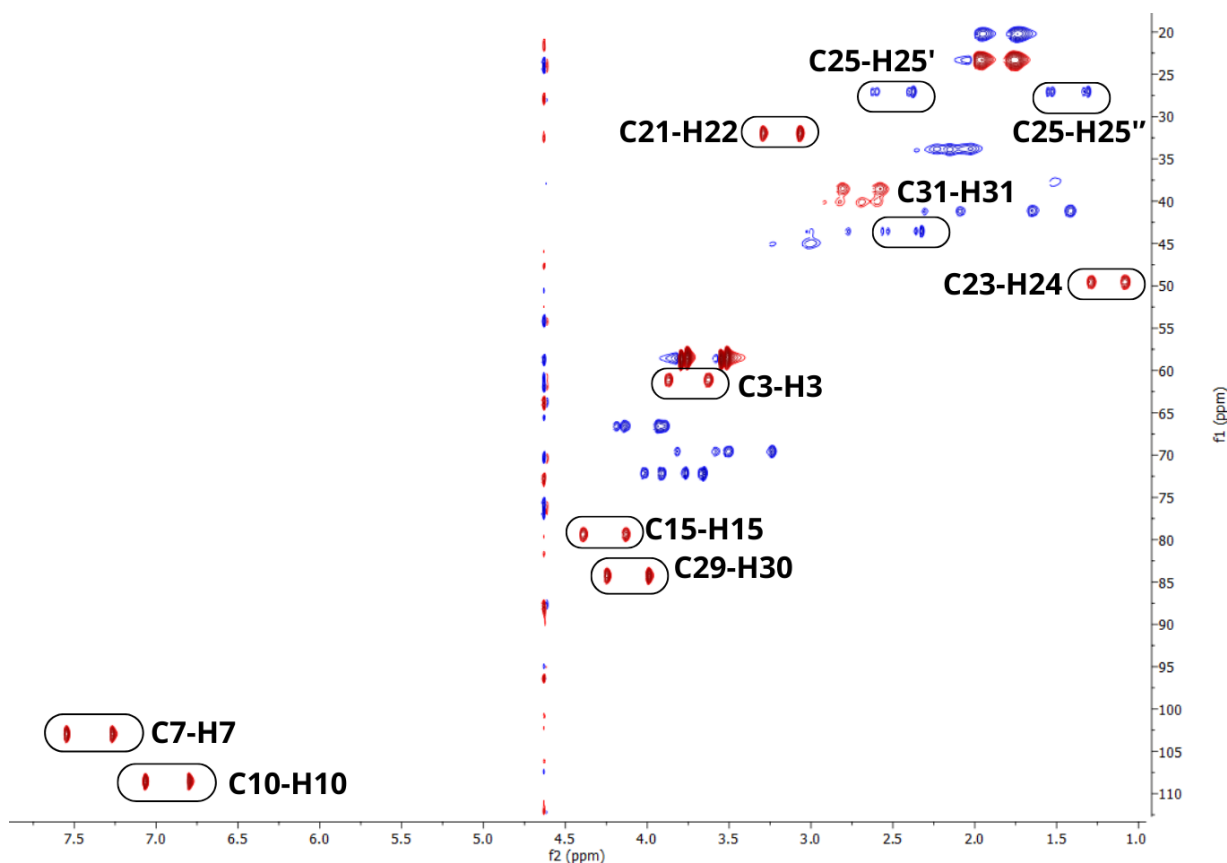
Figura 16 – Molécula de N-óxido de brucina.



Fonte: A autora (2024)

Figura 17 - Espectro de HSQC da sacarose nos géis (A) 3 e (B) 5 do planejamento de PDMMVPVA com 0,7% de reticulante, intumescido em D₂O, no estado comprimido.



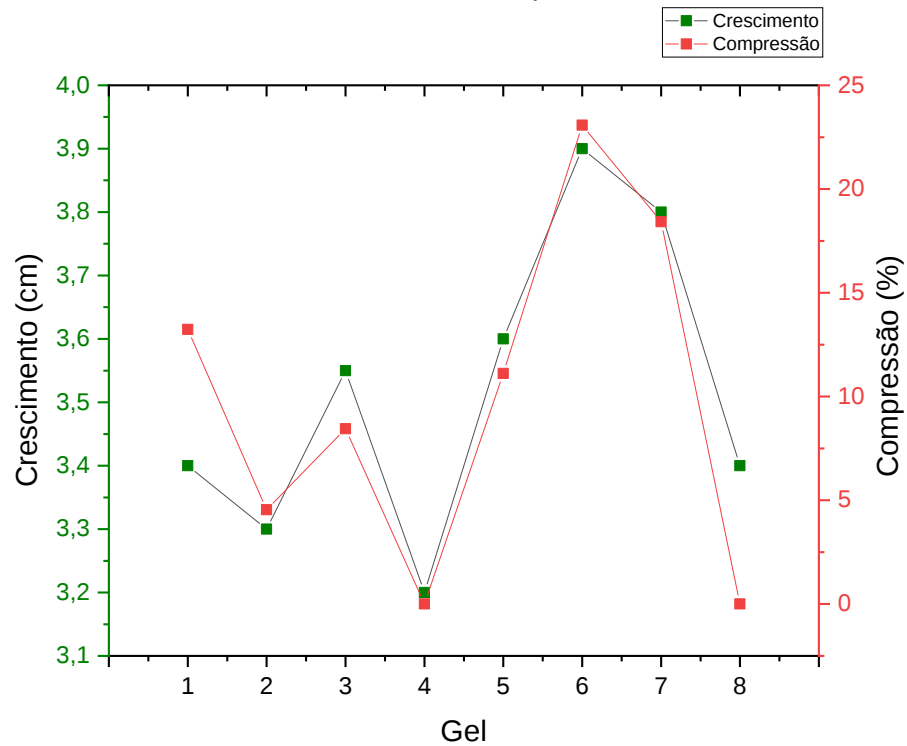


Fonte: A autora (2024)

Por meio do *Gráfico 2*, observa-se que o gel com excesso de DMMA e VA (gel 6) apresentou o melhor crescimento, chegando a aumentar 56,8% do tamanho inicial. Nota-se também que o hidrogel com as menores taxas foi o gel 4, o qual apresenta excesso dos monômeros de DMMA e NVP, um resultado inesperado ao considerarmos o comportamento dos géis de PDMMAMP estudados. No entanto, é provável que este resultado esteja associado com a menor quantidade de agente reticulante adicionado, assim como a de iniciador radicalar – o qual foi mantido 1,5 mg, independente do volume total.

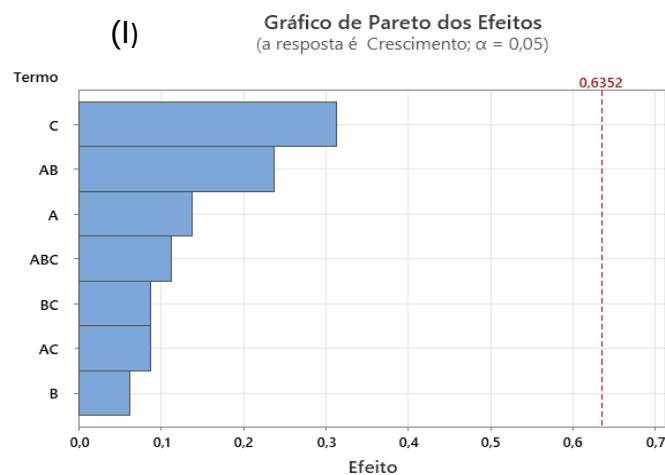
Esse resultado é esperado quando se estuda os efeitos dos monômeros, visto que tanto o crescimento (*Figura 18*) quanto a compressão (*Figura 19*) são afetados positivamente por esses reagentes. Adicionalmente, outro fator importante é a redução no volume de NVP, visto que ele afeta negativamente o crescimento do material.

Gráfico 2 – Resposta do planejamento 2^3 quanto ao tamanho máximo de crescimento e compressão.



Fonte: A autora (2024)

Figura 18 – Efeito dos monômeros e suas interações para o crescimento dos géis produzidos. Os termos A, B e C referem-se aos monômeros DMMA, NVP e VA, respectivamente.



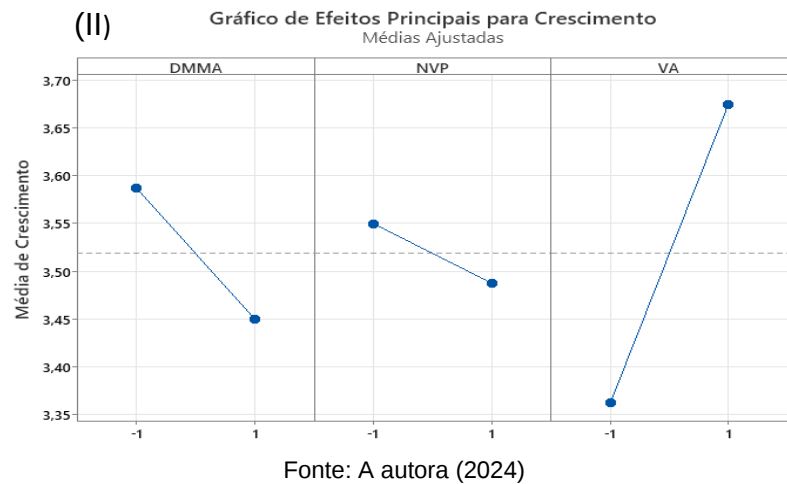
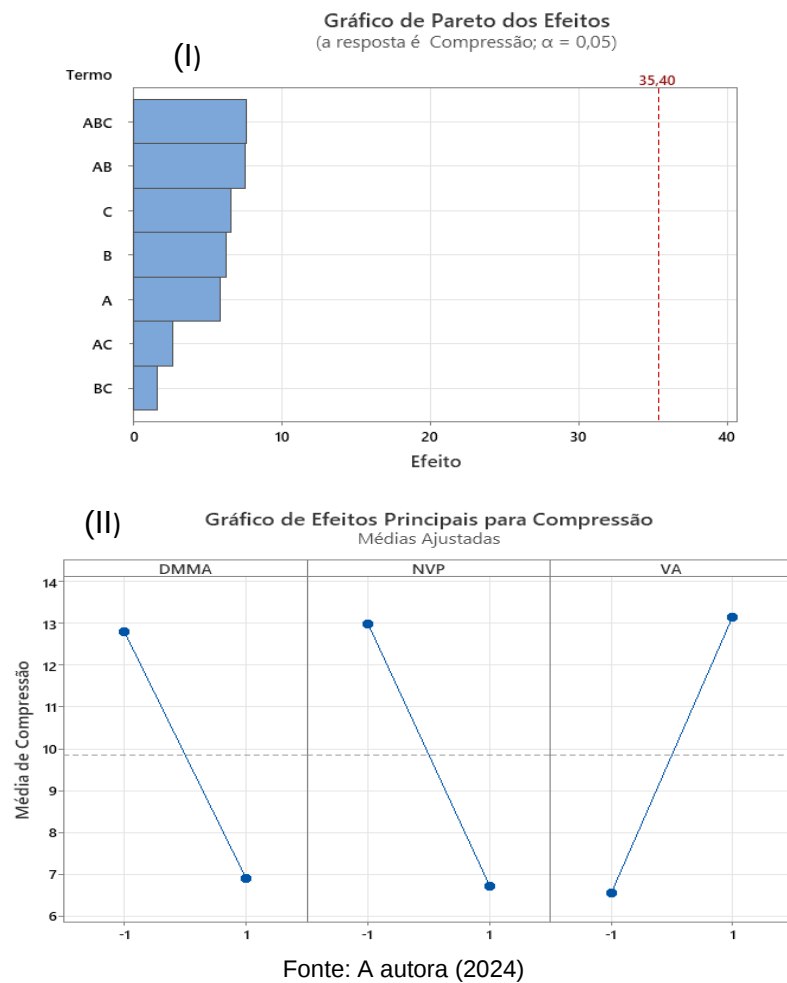


Figura 19 – Efeito dos monômeros e suas interações para a compressão dos géis produzidos. Os termos A, B e C referem-se aos monômeros DMMA, NVP e VA, respectivamente.

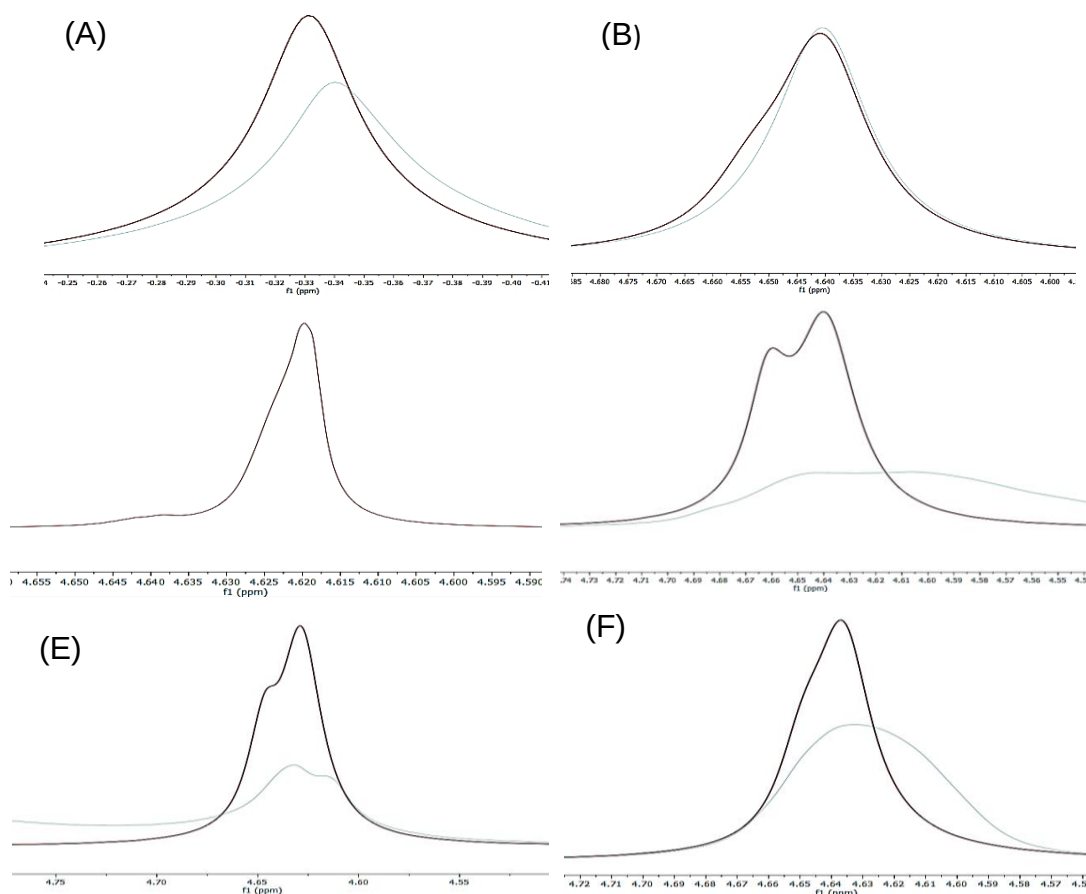


Adicionalmente, é possível notar que o gel 6 obteve a melhor taxa de compressão, o qual pode ser explicado pela presença de VA em excesso. Ainda, é

possível observar como a interação entre NVP e VA afetaram negativamente o crescimento e a compressão, assim como obtido durante a síntese do gel de PVPVA. Ademais, o comportamento do VA condiz com o esperado, dado que ele é o maior responsável pelo crescimento do material e também de sua compressão (Brunel *et al.*, 2024).

Os espectros de ^2H RMN foram adquiridos para todos os géis – exceto para o primeiro, por não ter produzido material suficiente para análise. A partir de seus espectros (*Figura 20*) pôde-se inferir que os géis 5, 6 e 7 apresentaram os melhores sinais visualmente, destacando-se a presença de pequenos indícios de desdobramento, isto é, uma leve divisão em seu sinal ou um aspecto largo – característico de sobreposição de sinais. Observou-se ainda que, embora tenha apresentado os melhores valores de RDC, o espectro do gel 3 não foi um dos géis destaques mencionados, assim como também não obteve a melhor taxa de compressão nem a de intumescimento.

Figura 20 – Espectros de ^2H RMN nos estados relaxados (vermelho) e comprimido (azul) para os hidrogéis (A) 2, (B) 3, (C) 4, (D) 5, (E) 6 e (F) 7.



Fonte: A autora (2024)

Os valores de RDCs para os hidrogéis 3 e 5 (*Tabela 4*) foram bastante diferentes entre si, com este primeiro apresentando as melhores magnitudes. E de fato, é possível inferir isto pela clareza dos sinais no seu espectro de HSQC. De fato, este comportamento pode estar associado tanto a redução do acetato de vinila quanto ao excesso de 1-vinil-2-pirrolidona, no entanto, não há resultados suficientes para considera-lo confiável.

Tabela 3 – Valores dos acoplamentos dipolares extraídos dos espectros bidimensionais de HSQC.

Gel	Acoplamentos Dipolares (Hz)				
	C7-H7	C10-H10	C15-H15	C29-C30	C23-H34
3	6,3	5,6	2,8	14,4	0
5	1,2	-4,8	-3,6	-1,1	-4,2

Fonte: A autora (2024)

Na realidade, como nenhum dos parâmetros ultrapassou a linha pontilhada em vermelho presente nos gráficos de Pareto assim como suas interações, eles não são significativos para a resposta final, seja no crescimento, compressão ou nas magnitudes de dipolares. Todavia, é possível observar que alguns afetam mais que outros, como no caso do VA, o qual manteve-se entre os três monômeros que mais influenciam positivamente nas respostas.

Dessa forma, entre as composições estudadas, admite-se que o mais promissor é o hidrogel 6, tendo obtido resultados positivos tanto nas taxas de intumescimento e compressão quanto nos espectros de ^2H RMN.

6 CONCLUSÃO

A combinação, em duplas, dos monômeros de NVP, DMMA e VA, apresentaram bons resultados, com exceção do hidrogel PVPVA. Mesmo assim, as análises de ^2H desses materiais revelaram a ausência de desdobramento e, por conseguinte, anisotropia. Logo, evidencia-se a necessidade de aprimoramentos para otimizar sua aplicabilidade como meio indutor de alinhamento e a validação dos géis utilizando macromoléculas.

A criação de um planejamento para a síntese dos hidrogéis de poli(dimetilacrilamida-co-vinilpirrolidona-co-acetato de vinila) foi realizada visando a obtenção das melhores taxas de intumescimento e compressibilidade, assim como de magnitudes de RDCs. Todavia, o processo de otimização não foi finalizado, mas, apenas com a primeira etapa, já foi possível obter notáveis resultados quanto a suas capacidades: 82% de crescimento máximo e 24% de compressibilidade reversível máxima. Além disso, o estudo de suas interações permitiu identificar os monômeros que influenciam positivamente e negativamente no crescimento, na compressão e nos valores de RDCs. Os espectros de deutérios do hidrogel intumescido em água deuterada foram bastante promissores

Ao explorar a análise HSQC das moléculas de sacarose e n-óxido de brucina, ficou claro que os hidrogéis sintetizados, mesmo não resultando em valores elevados de RDCs, exibem boa resolução e mínima interferência em seus sinais. Sendo materiais promissores, com destaque ao hidrogel de PDMMAVPVA.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR DE QUEIROZ, A. A.; GALLARDO, A.; SAN ROMÁN, J. Vinylpyrrolidone–N,N'-dimethylacrylamide water-soluble copolymers: synthesis, physical–chemical properties and proteic interactions. **Biomaterials**, Aug. 2000. v. 21, n. 16, p. 1631–1643.
- BRUNEL, F. *et al.* In situ SAXS investigation of vinyl acetate polymerization-induced self-assembly. **Polymer Chemistry**, 2024.
- BRUNNER, E. Residual dipolar couplings in protein NMR. **John Wiley & Sons, Inc.**, 2001. v. 13, n. 4, p. 238–259.
- CARVALHO, D. De S. **Géis poliméricos aplicados a elucidação estrutural de moléculas orgânicas em RMN**. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.
- CARVALHO, D. S. *et al.* An Acrylonitrile-Based Copolymer Gel as an NMR Alignment Medium for Extraction of Residual Dipolar Couplings of Small Molecules in Aqueous Solution. **ChemPlusChem**, 13 Feb. 2023. v. 88, n. 2.
- CAVALLI, A. *et al.* Protein structure determination from NMR chemical shifts. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 5 Jun. 2007. v. 104, n. 23, p. 9615–9620.
- CHEN, K.; TJANDRA, N. **The use of residual dipolar coupling in studying proteins by NMR. Topics in Current Chemistry**.
- CHEN, W. *et al.* Superstrong and Tough Hydrogel through Physical Cross-Linking and Molecular Alignment. **Biomacromolecules**, 9 Dec. 2019. v. 20, n. 12, p. 4476–4484.
- CORREA, S. *et al.* Translational Applications of Hydrogels. **Chemical Reviews**, 22 Sep. 2021. v. 121, n. 18, p. 11385–11457.
- DELOCHE, B.; SAMULSKI, E. T. Short-range nematic-like orientational order in strained elastomers: a deuterium magnetic resonance study. **Macromolecules**, 1 May. 1981. v. 14, n. 3, p. 575–581.
- DHAND, A. P.; GALARRAGA, J. H.; BURDICK, J. A. Enhancing Biopolymer Hydrogel Functionality through Interpenetrating Networks. **Trends in Biotechnology**, May. 2021. v. 39, n. 5, p. 519–538.
- EFFEMEY, M.; LANG, J.; KOWALEWSKI, J. Multiple-field carbon-13 and proton relaxation in sucrose in viscous solution. **Magnetic Resonance in Chemistry**, Dec. 2000. v. 38, n. 12, p. 1012–1018.

- ELLIOTT, S. J. *et al.* Nuclear singlet relaxation by scalar relaxation of the second kind in the slow-fluctuation regime. **Journal of Chemical Physics**, 14 Feb. 2019. v. 150, n. 6.
- EMWAS, A.-H. M. *et al.* NMR-based metabolomics in human disease diagnosis: applications, limitations, and recommendations. **Metabolomics**, 3 Oct. 2013. v. 9, n. 5, p. 1048–1072.
- FREUDENBERGER, J. C. *et al.* Stretched Poly(vinyl acetate) Gels as NMR Alignment Media for the Measurement of Residual Dipolar Couplings in Polar Organic Solvents. **Angewandte Chemie International Edition**, 7 Jan. 2005. v. 44, n. 3, p. 423–426.
- GODING, J. *et al.* Considerations for hydrogel applications to neural bioelectronics. **Journal of Materials Chemistry B**, 2019. v. 7, n. 10, p. 1625–1636.
- GRYK, M. R.; HOCH, J. C. Local knowledge helps determine protein structures. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 25 Mar. 2008. v. 105, n. 12, p. 4533–4534.
- HALLWASS, F. *et al.* Residual Chemical Shift Anisotropy (RCSA): A Tool for the Analysis of the Configuration of Small Molecules. **Angewandte Chemie International Edition**, 26 Sep. 2011. v. 50, n. 40, p. 9487–9490.
- HELLEMANN, E. *et al.* Mechanical Behavior of Polymer Gels for RDCs and RCSAs Collection: NMR Imaging Study of Buckling Phenomena. **Chemistry – A European Journal**, 7 Nov. 2016. v. 22, n. 46, p. 16632–16635.
- HOLDER, C. F.; SCHAAK, R. E. Tutorial on Powder X-ray Diffraction for Characterizing Nanoscale Materials. **ACS Nano**, 23 Jul. 2019. v. 13, n. 7, p. 7359–7365.
- KNOLL, K. *et al.* A supramolecular and liquid crystalline water-based alignment medium based on azobenzene-substituted 1,3,5-benzenetricarboxamides. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 24 Jun. 2022. v. 60, n. 6, p. 563–571.
- KRAMER, F. *et al.* Residual dipolar coupling constants: An elementary derivation of key equations. **Concepts in Magnetic Resonance Part A**, 11 Mar. 2004. v. 21A, n. 1, p. 10–21.
- KUMMERLOWE, G. *et al.* Precise Measurement of RDCs in Water and DMSO Based Gels Using a Silicone Rubber Tube for Tunable Stretching. **The Open Spectroscopy Journal**, 24 Jul. 2008. v. 2, n. 1, p. 29–33.
- LAI, Y.-C.; VALINT, P. L. Control of properties in silicone hydrogels by using a pair of hydrophilic monomers. **Journal of Applied Polymer Science**, 19 Sep. 1996. v. 61, n. 12, p. 2051–2058.
- LI, G. W. *et al.* **Residual Dipolar Couplings in Structure Determination of Natural Products. Natural Products and Bioprospecting.** Springer.

LIN, Y. *et al.* High-resolution methods for the measurement of scalar coupling constants. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, Dec. 2018. v. 109, p. 135–159.

LIU, Y. *et al.* Unequivocal determination of complex molecular structures using anisotropic NMR measurements. **Science**, 7 Apr. 2017. v. 356, n. 6333.

_____*et al.* Application of anisotropic NMR parameters to the confirmation of molecular structure. **Nature Protocols**, 1 Jan. 2019. v. 14, n. 1, p. 217–247.

LUY, B. *et al.* Orientational Properties of Stretched Polystyrene Gels in Organic Solvents and the Suppression of Their Residual ^1H NMR Signals. **Journal of the American Chemical Society**, 1 May. 2005. v. 127, n. 17, p. 6459–6465.

_____; MARINO, J. P. Measurement and application of ^1H - ^{19}F dipolar couplings in the structure determination of 2'-fluorolabeled RNA. **Journal of Biomolecular NMR**, 2001. v. 20, n. 1, p. 39–47.

MADDUMA-BANDARAGE, U. S. K.; MADIHALLY, S. V. **Synthetic hydrogels: Synthesis, novel trends, and applications**. **Journal of Applied Polymer Science**. John Wiley and Sons Inc.

MAKRIYANNIS, A.; PAVLOPOULOS, S. Structural Chemistry Using NMR Spectroscopy, Pharmaceuticals. **Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry**. [S.l.]: Elsevier, 2017, p. 306–315.

MARKWICK, P. R. L.; MALLIAVIN, T.; NILGES, M. Structural Biology by NMR: Structure, Dynamics, and Interactions. **PLoS Computational Biology**, 26 Sep. 2008. v. 4, n. 9, p. e1000168.

MEHTA, P.; SHARMA, M.; DEVI, M. Hydrogels: An overview of its classifications, properties, and applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, 1 Nov. 2023. v. 147.

MORO, A.; INVERNIZZI, N. **A tragédia da talidomida: A luta pelos direitos das vítimas e por melhor regulação de medicamentos**. **Historia, Ciencias, Saude - Manguinhos**. Fundação Oswaldo Cruz.

NATH, N. *et al.* Determination of Relative Configuration from Residual Chemical Shift Anisotropy. **Journal of the American Chemical Society**, 3 Aug. 2016. v. 138, n. 30, p. 9548–9556.

_____*et al.* Relative configuration of micrograms of natural compounds using proton residual chemical shift anisotropy. **Nature Communications**, 1 Sep. 2020. v. 11, n. 1, p. 4372.

SAITÔ, H.; ANDO, I.; RAMAMOORTHY, A. Chemical shift tensor – The heart of NMR: Insights into biological aspects of proteins. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, Aug. 2010. v. 57, n. 2, p. 181–228.

SÁNCHEZ-PEDREGAL, V. M.; SANTAMARÍA-FERNÁNDEZ, R.; NAVARRO-VÁZQUEZ, A. Residual Dipolar Couplings of Freely Rotating Groups in Small

Molecules. Stereochemical Assignment and Side-Chain Conformation of 8-Phenylmenthol. **Organic Letters**, 2 Apr. 2009a. v. 11, n. 7, p. 1471–1474.

_____; _____. Residual Dipolar Couplings of Freely Rotating Groups in Small Molecules. Stereochemical Assignment and Side-Chain Conformation of 8-Phenylmenthol. **Organic Letters**, 2 Apr. 2009b. v. 11, n. 7, p. 1471–1474.

SAUPE, A.; ENGLERT, G. High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Orientated Molecules. **Physical Review Letters**, 15 Nov. 1963. v. 11, n. 10, p. 462–464.

SCHMIDTS, V. Perspectives in the application of residual dipolar couplings in the structure elucidation of weakly aligned small molecules. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 14 Jan. 2017. v. 55, n. 1, p. 54–60.

SCOTT, A. J.; PENLIDIS, A. Copolymerization. **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**. [S.l.]: Elsevier, 2017.

SUN, H. *et al.* Challenge of Large-Scale Motion for Residual Dipolar Coupling Based Analysis of Configuration: The Case of Fibrosterol Sulfate A. **Journal of the American Chemical Society**, 21 Sep. 2011. v. 133, n. 37, p. 14629–14636.

THIELE, C. M. Residual Dipolar Couplings (RDCs) in Organic Structure Determination. **European Journal of Organic Chemistry**, 13 Dec. 2008. v. 2008, n. 34, p. 5673–5685.

TRIGO-MOURIÑO, P. *et al.* Structural Discrimination in Small Molecules by Accurate Measurement of Long-Range Proton-Carbon NMR Residual Dipolar Couplings. **Angewandte Chemie International Edition**, 8 Aug. 2011. v. 50, n. 33, p. 7576–7580.

VENTURI, L. *et al.* Residual Dipolar Coupling Based Conformational Analysis Allows the Configurational Assessment of Steroids with up to Eight Stereocenters. **ChemPlusChem**, 15 May. 2023. v. 88, n. 5.

WANG, Xiaohong *et al.* A novel semi-IPN hydrogel: Preparation, swelling properties and adsorption studies of Co (II). **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 25 Sep. 2016. v. 41, p. 82–90.

WEITZEL, A. *et al.* Robust Metabolite Quantification from J-Compensated 2D 1H-13C-HSQC Experiments. **Metabolites**, 7 Nov. 2020. v. 10, n. 11, p. 449.

WU, J.; MOOTER, G. Van Den. The influence of hydrogen bonding between different crystallization tendency drugs and PVPVA on the stability of amorphous solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, Nov. 2023. v. 646, p. 123440.

YAN, J. *et al.* Complete Relative Stereochemistry of Multiple Stereocenters Using Only Residual Dipolar Couplings. **Journal of the American Chemical Society**, 1 Apr. 2004. v. 126, n. 15, p. 5008–5017.