

Artigo

Alginato e seu Uso Como Polímero Sensível a pH**Cacuro, T. A.; Waldman, W. R.****Rev. Virtual Quim.*, 2018, 10 (5), 1607-1617. Data de publicação na Web: 19 de outubro de 2018<http://rvq.sbq.org.br>**Alginate and its Use as pH-Sensitive Polymer**

Abstract: Alginate is a polyanion with the ability to form gels dependent on two conditions: the contact with divalent metal ions, forming ionic gels, and the progressive decrease of its pH, forming acid gels. Much of the application of this polymer is due to its ability to form gels independent of temperature, its biocompatibility and its sensitivity to pH. As application of alginate and hydrogels, in general, its use in controlled release is already consolidated, being used for release of drugs and substances, however, in recent years new applications have been studied, such as its use in gene carriers, as support for cell culture, as a glucose sensor and as carrier and carrier of proteins.

Keywords: Alginate; pH-responsive polymers; smart polymers.

Resumo

O alginato é um poliânion com capacidade de formação de géis que dependente de duas condições: o contato com íons metálicos divalentes, formando gel iônico, e a progressiva diminuição do pH do meio, formando o gel ácido. Grande parte das aplicações deste polímero é devida à sua capacidade de formação de géis independente de temperatura, à sua biocompatibilidade e à sua sensibilidade ao pH. Uma aplicação já consolidada de alginato é em sistemas de liberação controlada. Adicionalmente, nos últimos anos novas aplicações vêm sendo estudadas, como seu uso em *gene-carriers*, como suporte para cultura de células, como sensor de glicose e como suporte e transportador de proteínas.

Palavras-chave: Alginato; polímeros sensíveis ao pH; polímeros inteligentes.

* Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Rodovia João Leme dos Santos, km 110, Itinga, CEP 18052-780, Sorocaba-SP, Brasil.

✉ walter.waldman@gmail.com

DOI: [10.21577/1984-6835.20180109](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180109)

Alginato e seu Uso Como Polímero Sensível a pH

Thiago Aguiar Cacuro, Walter Waldman*

Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Rodovia João Leme dos Santos, km 110, Itinga, CEP 18052-780, Sorocaba-SP, Brasil.

* walter.waldman@gmail.com

Recebido em 15 de agosto de 2018. Aceito para publicação em 8 de outubro de 2018

1. Introdução

1.1. Formação de géis (Gelificação)

2. Polímeros Inteligentes

2.1. Polímeros sensíveis ao pH

3. Aplicações do Alginato Como Polímero Sensível ao pH

3.1. Drug delivery

3.2. Gene carrier

3.3. Sensor de glicose

4. Conclusão

1. Introdução

O alginato é um polímero natural extraído de fonte orgânica, observado pela primeira vez em 1883 pelo químico inglês E.C.C. Stanford, que ao fazer uma maceração em algas marrons, isolou a substância que ele nomeou *algin*.¹ O alginato também pode ser obtido a partir de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Azotobacter* presentes no solo.

O alginato é um copolímero aniônico, constituído pelos monômeros ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G) que se organizam em blocos sequenciais de apenas um dos monômeros (-M-M-M-G-G-G-) ou em blocos em que os monômeros se

alternam (-M-G-M-G-M-G-),² como pode ser visualizado na Figura 1.

A variação na distribuição dos monômeros e a quantidade relativa de cada monômero influem diretamente nas características do alginato, em especial em sua capacidade de gelificação e nas características do gel.³

Como um biomaterial, o alginato possui uma grande variedade de aplicações, especialmente nas áreas médica, biomédica e de engenharias, devido principalmente à sua alta biocompatibilidade e a sua capacidade de formar géis de maneira rápida, fácil e em temperatura ambiente.⁴ Muitas das aplicações do alginato podem ser atribuídas à esta capacidade de gelificação e por ser um biomaterial biodegradável e atóxico.⁵

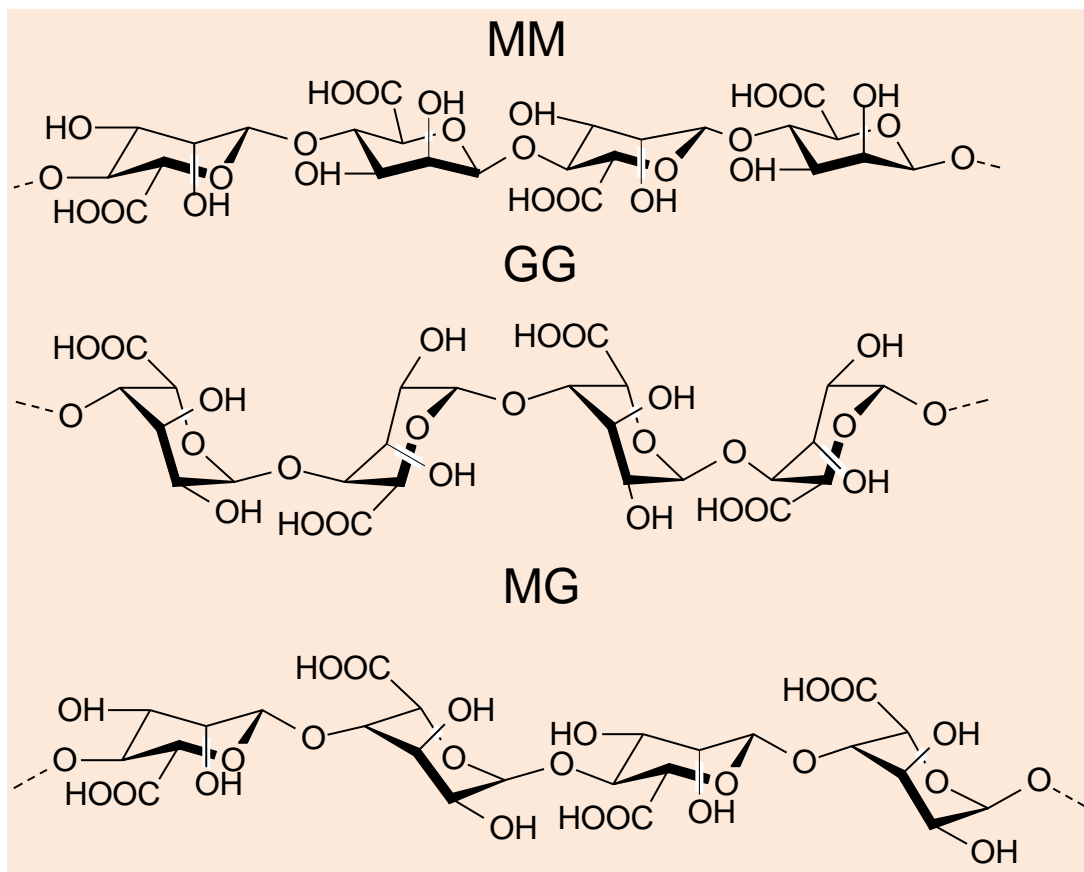


Figura 1. Estruturas químicas das unidades monoméricas do alginato distribuídas em diferentes sequencias de monômeros, com blocos MM (superior), blocos de monômeros GG (centro) e blocos de monômeros alternados MG (inferior)

1.1. Formação de géis (Gelificação)

Dois diferentes tipos de gel de alginato podem ser formados a partir do alginato, o gel iônico e o gel ácido. Cada um destes géis tem diferentes características e especificidades.⁶

1.1.1. Gel iônico de alginato

O gel iônico de alginato é formado a partir do contato da solução de alginato com soluções de íons bivalentes metálicos, tais como o Ca^{2+} , o Ba^{2+} e o Cu^{2+} . Esta interação entre os monômeros do alginato com os íons promove o comprometimento entre cadeias lineares dos monômeros G do alginato (ácido

α -L-gulurônico). A progressiva interação entre monômeros G e os íons metálicos resulta na formação de pontos de reticulação e causam a sua gelificação³. Os pontos de reticulação formados pela ligação entre os monômeros G e os íons metálicos formam uma estrutura tridimensional denominada *egg-box*^{3,7} (Figura 2).

Diversos são os fatores que podem influenciar na formação das estruturas *egg-box* e portanto na formação do gel iônico de alginato, entre eles podemos citar a concentração e a natureza do metal bivalente, a concentração de alginato, a proporção entre monômeros G e M presentes na amostras de alginato e o tempo de exposição do alginato à solução de metal bivalente.²

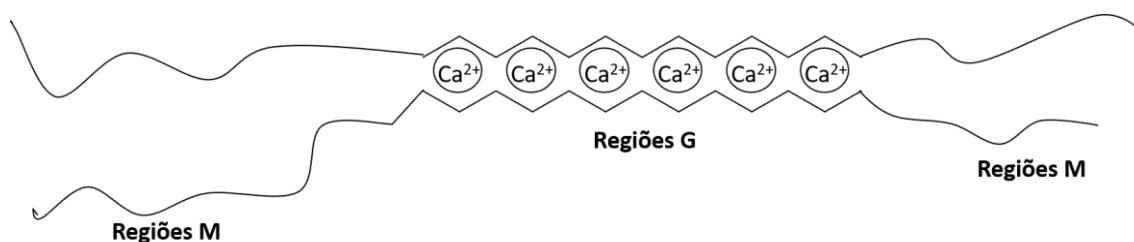


Figura 2. Representação esquemática das ligações entre os monômeros formando a estrutura do ponto de reticulação (crosslink) chamada de *egg-box*

A gelificação iônica do alginato tem a limitação de depender da presença dos íons carboxilato desprotonados, o que não acontece em pHs menores que 3,5 aproximadamente. Nesta faixa de concentração de íons H^+ , com pH menor que o pKa das unidades monoméricas (3,38 para o M e 3,65 para o G)⁸ ocorre a formação de ácido algínico. Sem a carga negativa do íon carbonilato, não há a formação de pontos de reticulação iônicos, com estruturas egg-box e, portanto, não é possível a formação do gel iônico.

1.1.2. Gel ácido de alginato

O gel ácido de alginato é formado na ausência de íons metálicos bivalentes, quando o alginato é exposto a soluções ácidas com pH inferior ao pKa dos monômeros presentes no alginato (3,38 para o M e 3,65 para o G).⁸ Nestas condições, os grupos carboxilato na cadeia do alginato se tornam protonados e a repulsão entre cadeias diminui.⁹ Com a menor repulsão entre as cadeias do polímero, ocorrem a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares entre as cadeias^{8,10-12} (Figura 3). Como resultado é formado um gel fraco de alginato,^{10,11} conhecido como gel ácido de alginato.

Em seu trabalho, Atkins *et al.*¹¹ propuseram que a formação do gel ácido de alginato ocorre por meio de arranjos antiparalelos, em cadeias semelhantes a fita empacotadas em conjunto e ligadas em folhas pelas ligações de hidrogênio. O gel ácido de alginato assim como o gel iônico tem como principal elemento de construção os blocos do ácido gulurônico (G) no entanto, diferente das estruturas formadas no gel iônico, que usam predominantemente o monômero G, o gel ácido de alginato também tem como elementos de formação os blocos de ácido manurônico (M). Os blocos M, embora com menor eficiência, também são protonados e interagem, suportando a formação do gel de ácido em conjunto com os monômeros G.⁸ O gel ácido de alginato também se diferencia do iônico pelo seu menor coeficiente de elasticidade.⁸

Aplicações biomédicas do alginato são extensivamente estudadas na literatura, principalmente devido à semelhança estrutural dos géis de alginato com matrizes extracelulares de tecidos vivos.⁹ Podem ser destacadas as pesquisas de aplicações em cicatrização de feridas,¹³ *delivery* de agentes bioativos,¹⁴ na substituição de tecidos afetados⁹ e no transplante de células em pesquisas de engenharia de tecidos,¹⁵ sendo uma das aplicações mais estudadas a liberação controlada de ativos devido a sua sensibilidade a certos pH's.^{4,9,16}

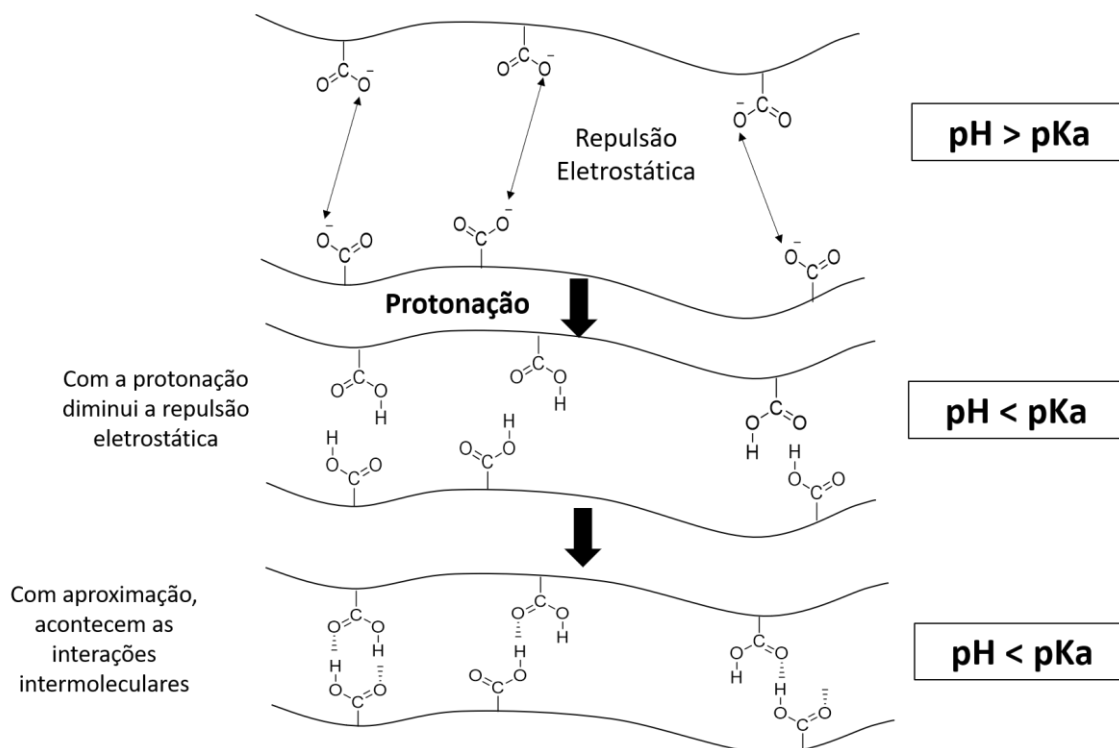


Figura 3. Ilustração da formação do gel ácido de alginato, começando com sua protonação e diminuição da repulsão entre as cargas iguais e a formação das ligações intermoleculares

2. Polímeros Inteligentes

Polímeros inteligentes são polímeros que respondem a estímulos e podem ser definidos como “...polymers that may overcome dramatic property changes responding to small changes in the environment”.¹⁷ Diversos são os estímulos externos estudados e entre os mais reportados na literatura temos: pH,^{16,18–20} força iônica,^{21–25} luz,^{26–28} temperatura,^{28–32} e estímulos magnéticos.^{32,33} Junto com os polímeros sensíveis à temperatura, os polímeros sensíveis ao pH (pH-sensitive, em inglês) foram o grupo de polímeros inteligentes mais estudados nos últimos anos.³⁴

A resposta dos polímeros inteligentes ocorre devido à presença de certos grupos funcionais distribuídos ao longo de suas cadeias poliméricas, que são sensíveis a estímulos externos provocando mudanças químicas ou físicas, com reflexos em propriedades macroscópicas, como volume, cor ou morfologia. Estas mudanças conferem

aos polímeros com estes diferentes grupos funcionais uma sensibilidade às condições e variações do meio que os cerca.³⁵

2.1. Polímeros sensíveis ao pH

Polímeros sensíveis ao pH ou sistemas ativados por pH são materiais inteligentes que possuem sensibilidade às variações do pH do meio, podendo ser específicos a pH ácido, básico ou neutro ou até mesmo reagir de diferentes formas à diferentes pH's.³⁶ Este tipo de polímeros possui ao longo de sua cadeia polimérica grupos ácidos (p. ex. carboxilas ou ácidos sulfônicos) ou grupos básicos (p.ex. aminas ou amidas). Estes grupos recebem ou liberam os prótons (íons H^+) e mudam sua carga líquida, alterando sua capacidade de interagir com outras moléculas. Esta capacidade apresentada pelos grupos ácidos ou básicos, de aceitar ou doar prótons de acordo com o pH do meio, permite que estes polímeros “respondam” a mudanças no pH.³⁷

Diversos são os tipos de materiais com sensibilidade às mudanças do pH, entre estes os hidrogéis como o alginato^{19,29,38,39} são os materiais mais utilizados. Hidrogéis são polímeros com alta capacidade absorviva de água, estruturalmente compostos por redes hidrofílicas poliméricas com organização tridimensional.⁴⁰ Hidrogéis compostos por

polieletrólitos podem apresentar sensibilidade ao pH do meio³⁷ por apresentar diferença no distanciamento entre grupos químicos de acordo com a protonação ou desprotonação, influenciando no seu intumescimento de acordo com o pH do meio em que se encontram⁴¹ (Figura 4).

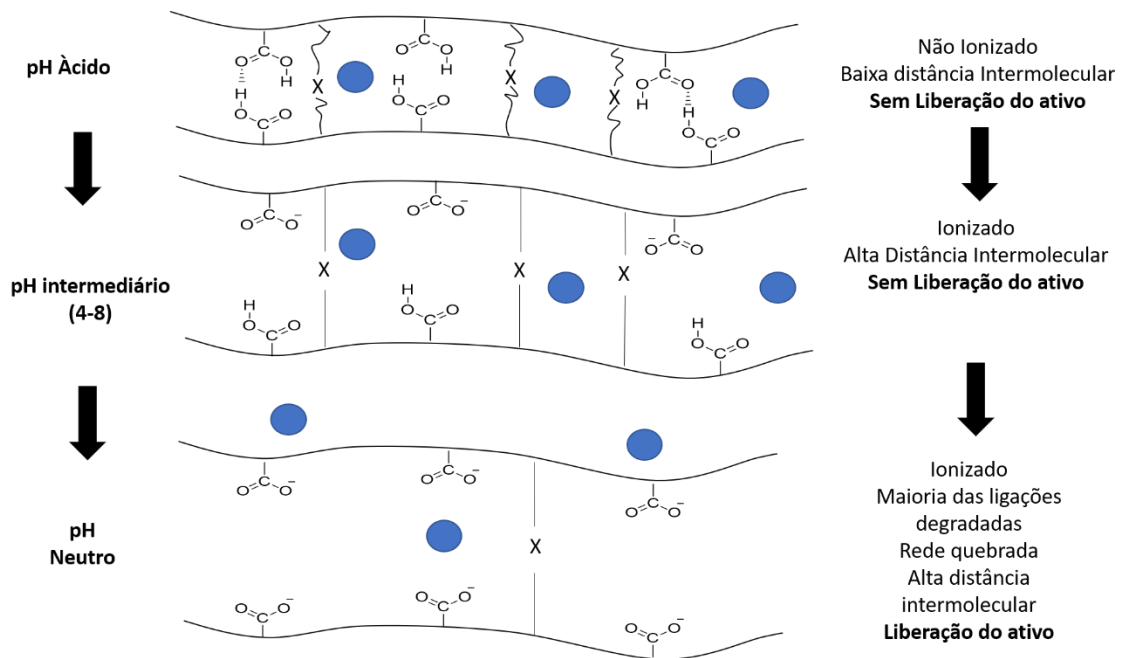


Figura 4. Esquema representativo de intumescimento de hidrogel para formulações de liberação de drogas usando hidrogéis sensíveis a pH. As reticulações estão representadas por -X- e o ativo pela esfera azul

No caso das ligações feitas por reticulação, a partir do momento em que as redes são estabelecidas não é possível a redissolução, no entanto, no caso das ligações físicas, a redissolução é possível através de estímulos externos provocando o distanciamento ilustrado pela Figura 4 após uma mudança no pH do meio.

3. Aplicações

São diversas as possíveis utilizações de hidrogéis de alginato sensíveis ao pH e de sistemas sensíveis ao pH em geral. Entre as principais utilizações encontradas na

literatura podemos citar as de *drug delivery*, as de *gene carrier* e as de sensor de glicose.

3.1. Drug delivery

Sendo umas das aplicações mais consolidadas do alginato, a utilização em sistemas de liberação controlada como *drug-delivery* (entrega de drogas, em português) pode ser largamente encontrada na literatura.^{33,40,42,43} O uso de polímeros sensíveis ao pH, como o alginato, em sistemas *drug-delivery* se faz especialmente vantajoso devido à sua biocompatibilidade e à possibilidade de entrega de medicamentos

em sítios específicos do organismo. Um exemplo é a sua utilização como um polímero que resiste à degradação em meio ácido durante a passagem de um medicamento pelo estômago e liberação de seu conteúdo no cólon, com pH neutro.²⁵

O uso do alginato como encapsulante de substâncias já foi largamente estudado e diversos protocolos estão presentes na literatura.⁴⁴⁻⁴⁶ O processo é simples e envolve a preparação do alginato, a adição do ativo e seu gotejamento em solução de CaCl₂.

A maior dificuldade de utilização do alginato em liberação controlada é a liberação contínua do ativo quando em solução. Essa dificuldade pode ser eliminada pela adição de uma camada de outro polieletrólito de carga oposta na superfície das *beads*, como por exemplo a quitosana.⁴⁷

Os hidrogéis de alginato e quitosana quando juntos permitem um efetivo encapsulamento da substância, sem o problema de liberação contínua do ativo e ainda mantendo sua sensibilidade ao pH. Meng *et al.*,⁴⁰ utilizaram com sucesso hidrogéis de alginato e quitosana para liberação de moléculas de carvedilol em pH's alcalinos. Além da adição da quitosana, outros autores estudaram outros mecanismos de liberação. El-Ghaffar *et al.*¹⁶ utilizaram o alginato gelificado com cálcio para encapsulamento e liberação controlada de riboflavinas, no entanto, relataram problemas com a liberação continuada da substância mesmo nos pH's não desejados. Em outro exemplo, Zhang *et al.*⁴⁸ fizeram *beads* híbridas de alginato com LDH (*Layered double hydroxides*), conseguindo um aumento na capacidade de encapsulamento do alginato, mantendo sua sensibilidade ao pH e resolvendo o problema de liberação contínua do alginato.

3.2. Gene carrier

Embora ainda não seja tão estudada quanto os exemplos anteriores, hidrogéis como o alginato podem ser usados também

em sistemas carregadores de genes (*gene-carrier* em inglês),⁴⁹⁻⁵² à partir de seu uso conjunto com policátions que condensam o DNA em nanopartículas com cargas equilibradas, que podem então ser transportadas para compartimentos das células. A maior vantagem do uso do polímero nesta área, é a possibilidade de ser usado como um *gene-carrier* de origem não viral, biocompatível, diminuindo assim os riscos e custos do sistema.⁴⁹

3.3. Sensor de glicose

Por fim, um exemplo de diversificação do uso do alginato é sua aplicação como sensor de glicose.⁵³ O uso dos polímeros para este fim se baseia no fato da oxidação da glicose no organismo acarretar uma diminuição do pH do sangue de 7,4 para até 5,2. Devido a esta diminuição do pH é possível usar polímeros sensíveis a esta faixa de pH, carregados com insulina, liberando o hormônio apenas quando o pH está baixo. Estes polímeros agem como adjuvantes no monitoramento da glicose no sangue, contribuindo para uma melhor liberação da insulina de forma controlada pelo pH do sangue, somente quando necessário.^{53,54} Importante destacar que para este tipo de aplicação o gel utilizado é o iônico. Isto ocorre porque nesta faixa de pH ocorre a desprotonação do ácido algínico, formando o poliânion alginato, sendo possível apenas a formação de gel iônico.

Além dos exemplos citados, outras utilizações podem ser citadas, como o uso de hidrogéis na confecção de compósitos com carbono, formando materiais sensíveis ao pH com uso em micro interruptores para músculos artificiais,⁵⁵ na formação de hidrogéis citotóxicos condicionados por pH, adjuvantes no combate do câncer,⁵⁶ na formação de polímeros condutivos sensíveis ao pH,⁵⁷ na utilização como substratos em culturas de células,²⁷ na imobilização e transporte de proteínas^{9,58} e recentemente na produção de hidrogéis *self-healing*.⁵⁹⁻⁶¹

4. Conclusão

O alginato é um material polimérico de origem biológica com ampla gama de aplicações já consolidadas e com várias aplicações sendo desenvolvidas usando suas propriedades de sensibilidade a estímulos envolvendo a variação de pH do meio.

Agradecimentos

TAC agradece à bolsa Capes DS processo 1615445 e WRW agradece à Fapesp projeto 2016/24396-3.

Referências Bibliográficas

- ¹ Stanford, E. C. . On algin: a new substance obtained from some of the commoner species of marine algae. *The Chemical News* **1883**, *47*, 254.
- ² Fu, S.; Thacker, A.; Sperger, D. M.; Boni, R. L.; Buckner, I. S.; Velankar, S.; Munson, E. J.; Block, L. H. Relevance of rheological properties of sodium alginate in solution to calcium alginate gel properties. *AAPS PharmSciTech* **2011**, *12*, 453. [CrossRef] [PubMed]
- ³ Braccini, I.; Pérez, S. Molecular Basis of Ca²⁺-Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited. *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 1089. [CrossRef]
- ⁴ Gombotz, W. R.; Wee, S. F. Protein release from alginate matrices. **1998**, *31*, 267.
- ⁵ Lisboa, M. S.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2011. [Link]
- ⁶ De Celis Alonso, B.; Rayment, P.; Ciampi, E.; Ablett, S.; Marciani, L.; Spiller, R. C.; Norton, I. T.; Gowland, P. A. NMR relaxometry and rheology of ionic and acid alginate gels. *Carbohydrate Polymers* **2010**, *82*, 663. [CrossRef]
- ⁷ Li, L.; Fang, Y.; Vreeker, R.; Appelqvist, I.; Mendes, E. Reexamining the egg-box model in calcium - Alginate gels with X-ray diffraction. *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 464. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸ Draget, K. I.; Skjåk-Bræk, G.; Stokke, B. T. Similarities and differences between alginic acid gels and ionically crosslinked alginate gels. *Food Hydrocolloids* **2006**, *20*, 170. [CrossRef]
- ⁹ Lee, K. Y.; Mooney, D. J. Alginate : properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science* **2013**, *37*, 106. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰ Atkins, E. D. T.; Nieduszynski, I. A.; Mackie, W.; Parker, K. D.; Smolko, E. E. Structural components of alginic acid. I. The crystalline structure of poly-Apha-D-mannuronic acid. Results of X-ray diffraction and polarized infrared studies. *Biopolymers* **1973**, *12*, 1865. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹ Atkins, E. D. T.; Mackie, W.; Parker, K. D.; Smolko, E. E. Crystalline structures of poly-D-manuronic and poly-L-gluronic acid. *Polymer Letters* **1971**, *9*, 311. [CrossRef]
- ¹² Draget, K. I.; Skjåk-Bræk, G.; Christensen, B. E.; Gåserød, O.; Smidsrød, O. Swelling and partial solubilization of alginic acid gel beads in acidic buffer. *Carbohydrate Polymers* **1996**, *29*, 209. [CrossRef]
- ¹³ Boateng, J. S.; Matthews, K. H.; Stevens, H. N. E.; Eccleston, G. M. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2008**, *97*, 2892. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴ Gao, C.; Liu, M.; Chen, S.; Jin, S.; Chen, J. Preparation of oxidized sodium alginate-graft-poly((2-dimethylamino) ethyl methacrylate) gel beads and in vitro controlled release behavior of BSA. *International Journal of Pharmaceutics* **2009**, *371*, 16. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁵ Lee, J. W.; Park, Y. J.; Lee, S. J.; Lee, S. K.; Lee, K. Y. The effect of spacer arm length of an adhesion ligand coupled to an alginate gel on

- the control of fibroblast phenotype. *Biomaterials* **2010**, *31*, 5545. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Abd El-Ghaffar, M. A.; Hashem, M. S.; El-Awady, M. K.; Rabie, A. M. PH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release. *Carbohydrate Polymers* **2012**, *89*, 667. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁷ Lu, Y.; Chen, B.; Yu, M.; Han, J.; Wang, Y.; Tan, Z.; Yan, Y. Simultaneous separation/enrichment and detection of trace ciprofloxacin and lomefloxacin in food samples using thermosensitive smart polymers aqueous two-phase flotation system combined with HPLC. *Food Chemistry* **2016**, *210*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁸ Guan, X.; Guo, Z.; Lin, L.; Chen, J.; Tian, H.; Chen, X. Ultrasensitive pH Triggered Charge/Size Dual-Rebound Gene Delivery System. *Nano Letters* **2016**, *16*, 6823. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ Yang, J.; Chen, J.; Pan, D.; Wan, Y.; Wang, Z. PH-sensitive interpenetrating network hydrogels based on chitosan derivatives and alginate for oral drug delivery. *Carbohydrate Polymers* **2013**, *92*, 719. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ Yuba, E.; Yamaguchi, A.; Yoshizaki, Y.; Harada, A.; Kono, K. Bioactive polysaccharide-based pH-sensitive polymers for cytoplasmic delivery of antigen and activation of antigen-specific immunity. *Biomaterials* **2017**, *120*, 32. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Vllasaliu, D.; Exposito-Harris, R.; Heras, A.; Casettari, L.; Garnett, M.; Illum, L.; Stolnik, S. Tight junction modulation by chitosan nanoparticles: Comparison with chitosan solution. *International Journal of Pharmaceutics* **2010**, *400*, 183. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² Makhlof, A.; Tozuka, Y.; Takeuchi, H. Design and evaluation of novel pH-sensitive chitosan nanoparticles for oral insulin delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2011**, *42*, 445. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ George, M.; Abraham, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan - a review. *Journal of Controlled Release* **2006**, *114*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Shu, X. Z.; Zhu, K. J.; Song, W. Novel pH-sensitive citrate cross-linked chitosan film for drug controlled release. *International Journal of Pharmaceutics* **2001**, *212*, 19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁵ Aguilar, M. R.; Román, J. S.; *Smart Polymers and their Applications*, Woodhead Publishing: Cambridge, 2014.
- ²⁶ Wells, L. A.; Sheardown, H. Photosensitive controlled release with polyethylene glycol-anthracene modified alginate. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2011**, *79*, 304. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁷ Li, Q.; Yang, D.; Ma, G.; Xu, Q.; Chen, X.; Lu, F.; Nie, J. Synthesis and characterization of chitosan-based hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules* **2009**, *44*, 121. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁸ Gil, E. S.; Hudson, S. M. Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates. *Progress in Polymer Science* **2004**, *29*, 1173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁹ Ju, H. K.; Kim, S. Y.; Lee, Y. M. pH/temperature-responsive behaviors of semi-IPN and comb-type graft hydrogels composed of alginate and poly(N-isopropylacrylamide). *Polymer (Guildf)*. **2001**, *42*, 6851. [[CrossRef](#)]
- ³⁰ Shi, J.; Alves, N. M.; Mano, J. F. Drug release of pH/temperature-responsive calcium alginate/poly(N-isopropylacrylamide) semi-IPN beads. *Macromolecular Bioscience* **2006**, *6*, 358. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Qiu, Y.; Park, K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2012**, *64*, 49. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² Prabakaran, M.; Mano, J. F. Stimuli-responsive hydrogels based on polysaccharides incorporated with thermo-responsive polymers as novel biomaterials. *Macromolecular Bioscience* **2006**, *6*, 991. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³³ Rani, M.; Agarwal, A.; Negi, Y. S. Review: Chitosan based Hydrogel polymeric beads - as

- drug delivery system. *BioResources* **2010**, *5*, 2765. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁴ Kalia, S.; *Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials*, Springer International Publishing: Berlin, 2016.
- ³⁵ Albertsson, A.; Qu, X.; Wirse, A. Novel pH-sensitive chitosan hydrogels: swelling behavior and states of water. *Polymer* **2000**, *41*, 4589. [CrossRef]
- ³⁶ Falamarzian, M.; Varshosaz, J. The effect of structural changes on swelling kinetics of polybasic/hydrophobic pH-sensitive hydrogels. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **1998**, *24*, 667. [CrossRef].
- ³⁷ Qiu, Y.; Park, K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, *53*, 321. [CrossRef]
- ³⁸ Chen, S. C.; Wu, Y. C.; Mi, F. L.; Lin, Y. H.; Yu, L. C.; Sung, H. W. A novel pH-sensitive hydrogel composed of N,O-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipin for protein drug delivery. *Journal of Controlled Release* **2004**, *96*, 285. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁹ Lopes, C. M.; Lobo, J. M. S.; Costa, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **2005**, *41*, 143. [CrossRef]
- ⁴⁰ Meng, X.; Li, P.; Wei, Q.; Zhang, H.-X. pH sensitive alginate-chitosan hydrogel beads for carvedilol delivery. *Pharmaceutical Development and Technology* **2011**, *16*, 22. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴¹ Yoshida, T.; Lai, T. C.; Kwon, G. S.; Sako, K. pH- and ion-sensitive polymers for drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery* **2013**, *10*, 1497. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴² Lacerda, L.; Parize, A. L.; Fávere, V.; Laranjeira, M. C. M.; Stulzer, H. K. Development and evaluation of pH-sensitive sodium alginate/chitosan microparticles containing the antituberculosis drug rifampicin. *Materials Science and Engineering: C* **2014**, *39*, 161. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴³ Sashiwa, H.; Aiba, S. I. Chemically modified chitin and chitosan as biomaterials. *Progress in Polymer Science* **2004**, *29*, 887. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁴ Paula, H. C. B. De; Oliveira, E. F. De; Abreu, F. O. M. S.; Paula, R. C. M. De; Morais, S. M. De; Forte, M. M. C. Esferas (beads) de alginato como agente encapsulante de óleo de croton zehntneri Pax et Hoffm. *Polímeros* **2010**, *20*, 112. [CrossRef]
- ⁴⁵ Haeberle, S.; Naegele, L.; Burger, R.; Stetten, F. Von; Zengerle, R.; Ducree, J. Alginate bead fabrication and encapsulation of living cells under centrifugally induced artificial gravity conditions. *Journal of Microencapsulation* **2008**, *25*, 267. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁶ Baysal, S. H. Alginate beads encapsulation matrix for urease and polyethyleneglycol-urease. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology* **2007**, *35*, 457. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁷ Bagre, A. P.; Jain, K.; Jain, N. K. Alginate coated chitosan core shell nanoparticles for oral delivery of enoxaparin: In vitro and in vivo assessment. *International Journal of Pharmaceutics* **2013**, *456*, 31. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁸ Zhang, J. P.; Wang, Q.; Xie, X. L.; Li, X.; Wang, A. Q. Preparation and swelling properties of pH-sensitive sodium alginate/layered double hydroxides hybrid beads for controlled release of diclofenac sodium. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. **2010**, *92*, 205. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁹ Godbey, W. T.; Mikos, G. Recent progress in gene delivery using non-viral transfer complexes. *Journal of Controlled Release* **2001**, *72*, 115. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁰ Borchard, G. Chitosans for gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, *52*, 145. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵¹ Corsi, K.; Chellat, F.; Yahia, L.; Fernandes, J. C. Mesenchymal stem cells, MG63 and HEK293 transfection using chitosan-DNA nanoparticles. *Biomaterials* **2003**, *24*, 1255. [CrossRef] [PubMed]

- ⁵² Amiji, M. M.; *Polymeric Gene Delivery: Principles and Applications*, CRC Press: Flórida, 2004.
- ⁵³ Chan, A. W.; Neufeld, R. J. Tuneable semi-synthetic network alginate for absorptive encapsulation and controlled release of protein therapeutics. *Biomaterials* **2010**, *31*, 9040. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁴ Silva, C. M.; Ribeiro, A. J.; Ferreira, D.; Veiga, F. Insulin encapsulation in reinforced alginate microspheres prepared by internal gelation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2006**, *29*, 148. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁵ Alam, A.; Meng, Q.; Shi, G.; Arabi, S.; Ma, J.; Zhao, N.; Kuan, H. C. Electrically conductive, mechanically robust, pH-sensitive graphene/polymer composite hydrogels. *Composites Science and Technology* **2016**, *127*, 119. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁶ Tsai, J. L.-L.; Zou, T.; Liu, J.; Chen, T.; Chan, A. O.-Y.; Yang, C.; Lok, C.-N.; Che, C.-M. Luminescent platinum(II) complexes with self-assembly and anti-cancer properties: hydrogel, pH dependent emission color and sustained-release properties under physiological conditions. *Chemical Science* **2015**, *6*, 3823. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁷ Da Silva, L. B. J.; Oréface, R. L. Synthesis and electromechanical actuation of a temperature, pH, and electrically responsive hydrogel. *J. Polym. Res.* **2014**, *21*, 466. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁸ Taqieddin, E.; Amiji, M. Enzyme immobilization in novel alginate-chitosan core-shell microcapsules. *Biomaterials* **2004**, *25*, 1937. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁹ Wang, L.; Zhou, W.; Wang, Q.; Xu, C.; Tang, Q.; Yang, H. An injectable, dual responsive, and self-healing hydrogel based on oxidized sodium alginate and hydrazide-modified poly (ethyleneglycol). *Molecules* **2018**, *23*, 546. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁰ Alegre-Requena, J. V.; Häring, M.; Herrera, R. P.; Díaz Díaz, D. Regulatory parameters of self-healing alginate hydrogel networks prepared via mussel-inspired dynamic chemistry. *New Journal of Chemistry* **2016**, *40*, 8493. [[CrossRef](#)]
- ⁶¹ Pettignano, A.; Häring, M.; Bernardi, L.; Tanchoux, N.; Quignard, F.; Díaz Díaz, D. Self-healing alginate–gelatin biohydrogels based on dynamic covalent chemistry: elucidation of key parameters. *Materials Chemistry Frontiers* **2017**, *1*, 73. [[CrossRef](#)]