UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

Fernanda de Oliveira Peres

**Estudo da dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de
quitosana e montmorilonita/quitosana**

Exemplar revisado

**O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP**

São Carlos

2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura: *Fernanda Oliveira Peres*
Data: *07/04/2014*

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Peres, Fernanda De Oliveira

Estudo da dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de quitosana e argila montmorilonita. / Fernanda De Oliveira Peres. – São Carlos, 2013.
77 f.

Dissertação (Mestrado em Química Analítica e Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Carlos, 2013.
Edição revisada

Orientadora: Profa. Dra. Carla Cristina Schmitt Cavalheiro

1. Quitosana. 2. Ibuprofeno. 3. Montmorilonita. I. Título.

*Referências Bibliográficas
conferidas pelo SBI/IQSC*

Fernanda de Oliveira Peres

**Estudo da dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de quitosana
e montmorilonita/quitosana**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química Analítica e Inorgânica, no Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Química Analítica e Inorgânica.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientadora: Profa. Dra. Carla Cristina Schmitt
Cavalheiro

São Carlos

2014

**Aos meus queridos pais Antonio e Lucia, ao meu irmão Felipe,
e ao meu namorado Fernando.**

Agradecimentos

À Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força para superar as dificuldades e mostrar o caminho nas horas incertas.

A meus pais Antonio e Lucia e ao meu irmão Felipe pelo apoio, confiança, paciência e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao meu namorado Fernando Marreto pelo seu carinho e amizade, paciência e incondicional apoio que sempre demonstrou, pelas conversas e palavras de coragem nos momentos difíceis, ouvinte das minhas dúvidas, desânimos e sucessos.

A minha orientadora Prof. Dra. Carla Cristina Schmitt Cavalheiro, obrigado por ter aceitado ser minha orientadora, obrigado pelo acompanhamento contínuo, pela experiência, amizade, sabedoria, paciência, atenção e dedicação ao longo do mestrado.

Ao Prof. Dr. Eder Tadeu Gomes Cavalheiro pela amizade, carinho, incentivo, colaboração e pelos momentos de risadas.

Ao Prof. Dr. Gilberto Chierice pela disponibilidade do laboratório, pela amizade e pelos ensinamentos.

A todos os colegas do LATEQS, GQATP e o Grupo de Fotoquímica pela ajuda, conversas e companheirismo.

Aos professores do IQSC/USP por todos os conhecimentos transmitidos

As técnicas do LATEQS Priscila e Ana Paula, muito obrigada por tudo que vocês fizeram por mim.

A técnica Alessandra, obrigado pela ajuda, pelos ensinamentos e pela amizade.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a execução deste trabalho.

Muito Obrigada!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”

Madre Teresa de Calcuta

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que eu era antes”.

Marthin Luther King

Resumo

A quitosana tem se mostrado muito atrativa para a indústria farmacêutica, visando principalmente matrizes de liberação controlada com fármacos amplamente utilizados pela população em altas dosagens ou em períodos prolongada tal como o Ibuprofeno. O uso de combinado de polímeros e materiais como a argila é uma opção interessante, unindo as propriedades de ambos os materiais, minimizando o efeito colateral do fármaco. No presente trabalho descreve-se a preparação de um complexo iônico contendo quitosana e ibuprofeno por meio de uma reação ácido base entre ambos. Em uma segunda etapa, foi preparado um nanocompósito de montmorilonita/quitosana contendo o fármaco ibuprofeno. As matrizes foram caracterizadas por diferentes técnicas, incluindo análise elementar, ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{13}C e ^1H , termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios X (DRX) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O grau de desacetilação (GD) da quitosana obtido por titulação potenciométrica foi de 80,0%. Esses resultados foram confirmados por medidas de RMN ^1H e RMN ^{13}C . O estudo dissociação do fármaco, na presença e na ausência de argila, foi avaliado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e por espectroscopia de absorção eletrônica UV-VIS. A dissociação do fármaco em meio aquoso foi avaliada em pH 2 e 7, que correspondem aos valores encontrados no estômago e no intestino, respectivamente. Os resultados indicaram que a dissociação do ibuprofeno das matrizes é dependente do pH e que a presença da argila retarda a dissociação do fármaco na matriz.

Palavras chave: Quitosana, Ibuprofeno, Montmorilonita.

Abstract

Due to its interesting properties chitosan has attracted interest regarding several applications including drug carrier in pharmaceutical industry, mainly for actives consumed in high doses for long periods, as Ibuprofen. The combined use of materials such as polymers and the clay is an interesting option, combining the properties of both materials while minimizing the side effects of the drug. A chitosan-ibuprofen ionic complex had been prepared from the acid-base reaction between both of them. In a second step a montmorillonite/chitosan nanocomposite containing ibuprofen was also prepared. The complex and the nanocomposite containing ibuprofen had been characterized by several techniques including elemental analysis, ^{13}C e ^1H , nuclear magnetic resonance (NMR), thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The chitosan degree of deacetylation (DD) was determined by potentiometry as 80.0%. These results were confirmed by ^{13}C e ^1H NMR. The dissociation of the pharmaceutical from the complex and nanocomposite was investigated by high performance liquid chromatography (HPLC) and electronic spectroscopy in the UV-vis (UV-vis). The dissociation of the pharmaceutical from the complex in aqueous media was evaluated in pH 2 and 7, corresponding to the stomach and intestines respectively. Results revealed that such dissociation is dependent of the pH of the medium as well as that release of Ibuprofen from the matrices is dependent on the pH and the presence of the clay slows the dissociation of the drug from the matrix.

Keywords : Chitosan , Ibuprofen , Montmorillonite.

Listas de figuras

Figura 1: Fórmula estrutural da unidade de repetição da Quitosana, sendo Gd = fração desacetilada e Ga = fração acetilada, na qual se considera quitosana, quando $Gd \geq 50\%$	14
Figura 2: Possibilidades de modificações na estrutura biopolimérica da quitosana em seu grupo amino livre.....	16
Figura 3: Representação de uma folha (a) tetraédrica e (b) octaédrica vista lateralmente e (c) estrutura de um argilomineral 2:1.....	18
Figura 4: Estrutura molecular do ibuprofeno.....	20
Figura 5: Concentração do fármaco após administração: (a) forma farmacêutica convencional e (b) sistema de liberação controlada.....	26
Figura 6: Gráfico de pH em função de volume de NaOH contendo a curva de titulação potenciométrica e sua primeira derivada da quitosana. A solução padronizada de NaOH $0,09788 \text{ mol L}^{-1}$ e solução padronizada de HCl $0,1238 \text{ mol L}^{-1}$	39
Figura 7: Espectro de RMN ^1H da quitosana, em destaque núcleo de hidrogênio do grupo metila do grupo acetamido (1) e os picos do núcleo de hidrogênio na posição 2 do anel de glicosamino (2).....	41
Figura 8: Representação estrutural do complexo iônico de quitosana e ibuprofeno, considerando 100% de substituição dos grupos amino livres na matriz da quitosana e as águas de hidratação.....	43
Figura 9: Espectros de FTIR da quitosana (CTS), do ibuprofeno (IBU), da mistura física (MF/CTS/IBU) e do complexo (CTS/IBU) em pastilhas de KBr.....	45

Figura 10: Curvas TG, DTG e DTA da quitosana em atmosfera de ar, com vazão de 100 mL min ⁻¹ , massa de amostra em torno de 6 mg, em cadinho de α -alumina e razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹	47
Figura 11: Curvas TG, DTG e DTA do Ibuprofeno em atmosfera de ar, m $\approx$ 6 mg, com vazão de 100 ml min ⁻¹ , em cadinho de α -alumina, razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹	48
Figura 12: Curvas TG e DTA da quitosana, ibuprofeno, mistura física e complexo iônico em atmosfera de ar, m $\approx$ 6 mg, com vazão de 100 ml min ⁻¹ , em cadinho de α -alumina, razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹	49
Figura 13: DSC do Ibuprofeno com ciclos de aquecimento (1° e 3°) e de resfriamento (2°C) com razão de aquecimento de 10°C e vazão de 50 mL min ⁻¹	51
Figura 14: DSC do Ibuprofeno com ciclos de aquecimento (A) e de resfriamento (R) com razão de aquecimento de 2,5; 5 e 10°C min ⁻¹ e vazão de 50 mL min ⁻¹	52
Figura 15: DSC do Ibuprofeno, Mistura física e do Complexo Iônico com razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹ e vazão de 50 mL min ⁻¹ , m $\approx$ 3,5 mg.....	53
Figura 16: Espectros de RMN ¹³ C do ibuprofeno, quitosana e complexo iônico e as estruturas com os carbonos enumerados.....	54
Figura 17: Espectros na região do UV-Vis para o ibuprofeno na concentração de 1,7x10 ⁻³ mol L ⁻¹ em pH 2,0 e pH 7,0.....	55
Figura 18: Gráfico da absorbância (264 nm) em função de diferentes concentrações de ibuprofeno em pH 2.....	56
Figura 19: Gráfico da absorbância (264 nm) em função da concentração de ibuprofeno em pH 7.....	57

Figura 20: Gráfico da dissociação cumulativa do ibuprofeno em função do tempo na concentração 1 g L^{-1} do complexo iônico em 264 nm a 37°C	58
Figura 21: Curva analítica do IBU em pH 2,0. Equação de regressão linear: $y = 2349,47 + 571152,31X$ e coeficiente de correlação linear (r), $r = 0,982$	59
Figura 221: Curva analítica do IBU em pH 7,0. Equação de regressão linear: $y=28609,14 + 5,95 \times 10^6 X$ e $r = 0,999$	59
Figura 23: Comparação da concentração do Ibuprofeno em função do tempo, utilizando $0,1 \text{ g L}^{-1}$ do complexo iônico, no comprimento de onda de 220 nm, a 37°C	60
Figura 24: Esquema da dissociação do complexo iônico CTS/IBU.....	61
Figura 25: Difrátogramas de raios-X das amostras montmorilonita, ibuprofeno, híbrido MMT/IBU, mistura física da MMT/IBU, quitosana, do compósito com IBU e da mistura física do compósito MMT/CTS/IBU.....	63
Figura 26: Espectros de absorção na região do infravermelho das amostras da argila montmorilonita, ibuprofeno, híbrido MMT/IBU, mistura física da MMT/IBU, quitosana, do compósito com IBU e da mistura física do compósito MMT/CTS/IBU.....	66
Figura 27: Curvas TG e DTA das amostras ibuprofeno, montmorilonita, híbrido MMT/IBU, da mistura física MMT/IBU, da quitosana, do compósito CTS/MMT/IBU e da mistura física CTS/MMT/IBU em atmosfera de ar, com vazão de 100 mL min^{-1} , massa de amostra em torno de 6 mg, em cadinho de α -alumina e razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$	68
Figura 28: Comparação da dissociação cumulativa do Ibuprofeno em função do tempo, em pH 2,0 e 7,0, utilizando $0,1 \text{ g L}^{-1}$ do compósito, no comprimento de onda de 220 nm, a 37°C	69

Lista de tabelas

Tabela 1: Reagentes utilizados e a procedência dos mesmos.....	30
Tabela 2: Variação nas concentrações de H^+ e nas relações de concentração $[Ibu^-]:[HIbu]$ e $[CTS]:[HCTS^+]$, em função do pH, segundo a Equação de Handerson e Hasselbach*.....	42
Tabela 3: Resultados de análise elementar do ibuprofeno, quitosana e o complexo iônico.....	44
Tabela 4: Intervalos de perdas de massa e temperatura da amostra de quitosana.....	47
Tabela 5: Perda de massa e intervalos de temperatura das amostras de CTS, Ibu, CI e MF.....	49
Tabela 6. Distância interlamelar e valores de 2θ para a argila MMT e MMT/IBU, mistura física, e dos nanocompósitos MMT/CTS/IBU.....	64

Lista de Abreviaturas e siglas

5-FU	5-fluoracil
AFM	Microscopia de Força Atômica
C I	Complexo Iônico
CTS	Quitosana
CTS/MMT/IBU	Quitosana/montmorillonita/ibuprofeno
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
DRX	Difração de Raios X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria Derivada
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier
GA	Grau de acetilação
GD	Grau de desacetilação
IBU	Ibuprofeno
ICTAC	Conselho da Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria
MMT	montmorillonita
MMT/IBU	Montmorillonita/Ibuprofeno
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TG	Termogravimetria
UV-Vis	Espectroscopia na região do Ultravioleta Vísivel

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Quitosana.....	14
1.2 Argila Montmorilonita.....	17
1.3 Ibuprofeno.....	20
1.4 Matrizes de quitosana com fármacos.....	23
1.5 Uso combinado de polímeros e fármacos para a liberação controlada de fármacos.....	24
2 OBJETIVO.....	29
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	30
3.1 Materiais e Métodos.....	30
3.1.1 Reagentes e soluções.....	30
3.2 Metodologia experimental.....	30
3.2.1 Purificação da quitosana.....	30
3.2.2 Obtenção do Complexo Iônico Quitosana-Ibuprofeno (CTS/IBU).....	31
3.2.3 Obtenção do híbrido montmorillonita/ibuprofeno (MMT/IBU).....	31
3.2.4 Obtenção da matriz quitosana/montmorillonita/ibuprofeno (CTS/MMT/IBU).....	31
3.3 Caracterização.....	32
3.3.1 Determinação do Grau de Desacetilação Titulação Potenciométrica.....	32
3.4 Técnicas.....	33
3.4.1 Análise elementar.....	33
3.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier.....	34
3.4.3 Análise Térmica.....	34
3.4.3.1 Medidas termogravimétricas (TG).....	35
3.4.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	35
3.4.5 Ressonância Magnética Nuclear ¹ H e ¹³ C.....	36
3.3.6 Dissociação do complexo iônico CTS/IBU.....	37
3.3.7 Difração de raio X (DRX).....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 Determinação do Grau de Desacetilação (GD) da Quitosana por Titulação Potenciométrica.....	39

4.2 Determinação do Grau de Acetilação e Grau de Desacetilação (GD) da Quitosana por RMN de ^1H	40
4.3 Obtenção do Complexo iônico CTS/IBU.....	41
4.4 Análise Elementar.....	44
4.5 Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR).....	45
4.6 Análise Térmica.....	46
4.6.1 Curvas TG/DTG e DTA da quitosana, ibuprofeno e do complexo iônico.....	46
4.6.2 Calorimetria Exploratória Diferencial.....	50
4.7 RMN ^{13}C	53
4.8 Estudos da Dissociação do complexo iônico CTS/IBU utilizando a Espectroscopia na região do UV-Vis.....	55
4.9 Estudos da Dissociação do Ibuprofeno utilizando Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE).....	58
4.10 Caracterização do nanocompósito montmorilonita-quitosana contendo ibuprofeno.....	62
4.10.1 Difração de Raios – X.....	62
4.10.2 Espectroscopia de absorção de infravermelho com transformada de Fourier.....	65
4.10.3 Termogravimetria.....	67
4.10.4 Estudos da dissociação do compósito de MMT/CTS/IBU.....	69
5 CONCLUSÃO.....	71
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 Quitosana

A quitosana, cuja estrutura molecular é apresentada na Figura 1, é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina em soluções alcalinas concentradas (GONÇALVES JR *et al*, 2010; MAJETI; KUMAR, 2000; SANTOS *et al*, 2003), sendo solúvel em ácidos diluídos como o ácido acético, ácido fórmico e ácido láctico, entre outros (MAJETI; KUMAR, 2000; SANTOS, 2003). Entretanto, a solubilidade depende de fatores como o grau de desacetilação, devido à quantidade de grupos amino protonados, pois, quanto maior a quantidade destes grupos, maior repulsão de cargas na cadeia polimérica, aumentando o poder de solvatação em água, além da concentração do biopolímero, viscosidade, massa molar e da força iônica (SANTOS *et al*, 2003; SANTOS, 2004).

Figura 1: Fórmula estrutural da unidade de repetição da Quitosana, sendo Gd = fração desacetilada e Ga = fração acetilada, na qual se considera quitosana, quando $Gd \geq 50\%$.

A quitina pode ser encontrada em exoesqueletos de crustáceos como camarões, caranguejos, lagostas e outros artrópodes, em alguns fungos e gládios de lulas. É um polissacarídeo de cadeia linear e catiônico em soluções ácidas (SIGNINI; FILHO, 1998, SANTOS, 2004).

Os copolímeros 2-amino-2-desoxi-*D*-glicose e 2-acetamido-2-desoxi-*D*-glicose representam o termo quitosana, nos quais o grau médio de desacetilação (GD) (SANTOS *et al*, 2003), que representa a percentagem de grupos NH_2 livres, é maior que 50%. (SANTOS, 2004)

O grau médio de acetilação (GA) é usado para caracterizar o conteúdo médio de unidades de N-acetil-*D*-glicosamina de quitina e quitosana. Dependendo do processo de desacetilação podem-se obter quitosanas com grande variedade de GA, alterando as propriedades físico-químicas como pK_a , solubilidade e viscosidade. Quitosana com

elevado grau de desacetilação é difícil de ser obtida, pois, conforme este grau aumenta a possibilidade de degradação do polímero também é aumentada (SILVA, SANTOS, FERREIRA, 2006).

As características físico-químicas como solubilidade, viscosidade, grau de acetilação, entre outros, podem ser determinadas por vários métodos, como a espectroscopia de absorção na região do infravermelho, espectroscopia na região do ultravioleta visível, espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , titulação potenciométrica, análise elementar, entre outras (HORN, 2008; SANTOS *et al*, 2003). Devido à grande polidispersividade, os fabricantes referem-se principalmente à viscosidade em vez de massa molecular, pois essa é deduzida a partir da viscosimetria ou da cromatografia de exclusão de tamanho (CROISIER; JEROME, 2013).

A quitosana pode ser aplicada em diversas áreas como no tratamento de água agindo como um floculante e coagulante, na remoção de metais pesados (BRANT, 2008); em fotografias devido a sua resistência à abrasão, às suas características ópticas e à capacidade de formação de filmes (MAJETI; KUMAR, 2000). Também nos cosméticos, uma vez que este biopolímero se torna viscoso ao ser neutralizado com ácido, podendo ser usado como loções e até em esmaltes (MAJETI; KUMAR, 2000; BRANT, 2008); no desenvolvimento de substratos para a substituição de pele (MAJETI; KUMAR, 2000; BRANT, 2008); na oftalmologia, devido às características como claridade óptica, estabilidade mecânica, correção óptica, permeabilidade ao gás oxigênio e compatibilidade imunológica (MAJETI; KUMAR, 2000); na agricultura, como agente antifúngico no controle de doenças de plantas (BRANT, 2008); na veterinária, como aditivo para alimentos de animais (BRANT, 2008); na indústria de papel e têxtil, para acabamentos (BRANT, 2008); na liberação controlada de fármacos, em que a quitosana desperta grande interesse (MAJETI; KUMAR, 2000; BRANT, 2008); na indústria alimentícia, como aditivo alimentar e agente antimicrobiano entre outros (SHAHIDI; ARACHCHI; JEON, 1999).

Em 2011, Tavaría e colaboradores destacaram as atividades biológicas da quitosana, entre elas, a atividade anti-fúngica e antimicrobiana, cicatrizações de feridas, antioxidante, anti-inflamatório, anti- carcinogênico e anti-coagulante (TAVARIA *et al*, 2011).

Os biopolímeros quitosana e quitina tem chamado atenção devido à sua potencialidade como bioativo natural, apresentando biocompatibilidade,

biodegradabilidade e baixa toxicidade. (LARANJEIRA: FAVERE, 2009). Além dessas propriedades também se deve considerar a mucoadesividade, devido à forte atração eletrostática que a quitosana apresenta, frente à proteína do muco, a mucina (SOGIAS *et al.*, 2012).

Além da estrutura da cadeia polimérica ser flexível, a quitosana apresenta grupos funcionais muito reativos, como grupos amino ($-NH_2$) e vários grupos hidroxila primários e secundários, que apresentam forte afinidade com a água. As modificações nestes grupos podem ser usadas em diversas aplicações, tanto em atividades de pesquisa quanto como industrial. Os grupos amino na quitosana, protonados em $pH \approx 3$ e com a cadeia polimérica positivamente carregada permitem a solubilização da mesma, formando soluções viscosas. Sendo assim, a solubilidade é dependente da concentração de grupos protonados ($-NH_3^+$) na cadeia polimérica (SANTOS, 2004).

Na Figura 2, observam-se diferentes modificações que podem ser utilizadas na matriz biopolimérica pelo seu grupo amino livre.

Figura 2: Possibilidades de modificações na estrutura biopolimérica da quitosana em seu grupo amino livre.

Fonte: SANTOS, J. E. Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos de cobre. 2004. 124f. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica), Departamento de Química - Universidade Federal De São Carlos, São Carlos, 2004.

1.2 Argila Montmorilonita

Minerais do tipo argilas apresentam propriedades, tais como inchamento, adsorção, propriedades reológicas e coloidais, plasticidade, entre outras. Seu uso e aplicações se estendem desde as indústrias de cerâmica, petrolífera, de papel, até as de metalúrgica por essa razão são amplamente utilizados como matéria-prima e de grande importância para a agricultura e indústria (ZHANH *et al*, 2010).

Determinadas propriedades são importantes para caracterizar os argilominerais. Dentre estas se podem destacar: a estrutura em camadas com uma dimensão em escala nanométrica; com espessura das camadas variando de 0,7 nm a 1,0 nm, anisotropia das camadas ou partículas, facilidade com que a superfície externa e também a interna podem ser modificada (por adsorção, troca iônica, ou enxerto); plasticidade e endurecimento por secagem, o que se aplica a maioria dos argilomineraias (BERGAYA; THENG; LAGALY, 2006).

A argila montmorilonita, MMT, Figura 3, é um argilomineral, cuja fórmula química geral é $M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$, tendo sua estrutura organizada em folhas ou camadas. Por serem muito finas, tendem a se agregar no processo de secagem e quando colocadas em meio aquoso, apresentam boa capacidade de delaminação. As montmorilonitas pertencem ao grupo dos filossilicatos 2:1, na qual lamelas são caracterizadas por estruturas constituídas por duas folhas tetraédricas, com uma folha central octaédrica.

As folhas tetraédricas são formadas por tetraedros de silício e oxigênio ligados entre si covalentemente, resultando em um arranjo onde seus ápices se encontram todos na mesma posição, e suas bases estão todas em um mesmo plano (Figura 3a). Os átomos de silício podem ser trocados por átomos de alumínio, formando assim, uma carga negativa na folha tetraédrica (VAN OLPHEN, 1977).

As folhas octaédricas (Figura 3b) originam-se pela condensação de octaedros $Mg(OH)_6^{-4}$ ou $Al(OH)_6^{-3}$. Cada átomo é compartilhado por três octaedros, porém dois octaedros podem compartilhar somente dois átomos de oxigênio vizinhos. Nestas folhas, os octaedros estão arranjados de modo a formar uma rede hexagonal, que é repelida para formar a folha. Esta folha é densamente empacotada, sendo composta de um plano denso de átomos de Mg ou Al intercalados entre dois planos de oxigênios/hidroxilas.

Os arranjos dos átomos nas folhas tetraédricas e octaédricas ajustam-se entre si, formando camadas ou lamelas de espessura nanométrica e dão origem a uma série de argilominerais. (Figura 3c).

Figura 3: Representação de uma folha (a) tetraédrica e (b) octaédrica vista lateralmente e (c) estrutura de um argilomineral 2:1.

Fonte: Adaptado de Thomas JK – Chem. Rev., 93:301, 1993.

Uma propriedade importante das argilas está relacionada à presença de uma carga líquida negativa em suas camadas. A substituição de átomos de Si^{4+} das folhas tetraédricas por átomos de Al^{3+} ou a substituição de Al^{3+} por Mg^{2+} nas folhas octaédricas, resulta em um excesso de carga negativa. Este excesso é compensado pela adsorção de cátions nas superfícies externas das camadas. Devido ao tamanho dos átomos serem similares estas substituições não acarretam na distorção da estrutura interlamelar e são chamadas de substituições isomórficas.

O grau da substituição isomórfica, correspondente à magnitude das cargas nas camadas. Essa magnitude é medida pela quantidade de cátions adsorvidos com o intuito de neutralizar as cargas negativas nas camadas do material. Esta medida é chamada de capacidade de troca catiônica (CTC).

A superfície da argila carregada negativamente exibe uma acentuada preferência por cátions orgânicos comparados a cátions inorgânicos. Geralmente, a interação entre os cátions inorgânicos e as camadas da argila se principalmente através de forças eletrostáticas. Quando cátions orgânicos estão presentes a interação ocorre também por forças não eletrostáticas.

Quando as argilas são modificadas pela troca do cátion inorgânico, geralmente Na^+ ou Ca^+ , por cátions orgânicos, obtém-se um complexo cátion orgânico-argila, com propriedades distintas do material de partida. (VAN OLPHEN, 1977; THOMAS, 1993).

O objetivo da modificação de argilas está direcionado à ciência dos materiais, na obtenção de argilas organofílicas para aplicação em nanocompósitos poliméricos. (PAIVA; MORALES; DÍAZ, 2008).

A MMT apresenta mucoadesividade para atravessar a barreira gastrointestinal e adsorver toxinas bacterianas e metabólicas. MMT é comumente usada como excipiente em formulações farmacêuticas, nas quais os fármacos catiônicos podem ser intercalados em MMT por troca iônica e a regulação da quantidade e da taxa de liberação do fármaco é difícil quando a droga é intercalada por permuta iônica (HUA *et al*, 2010).

A quitosana pode formar nanocompósitos com a argila MMT, na forma de filmes e nanopartículas, e seu uso na liberação de drogas tem chamado atenção nos últimos anos (HUA *et al*, 2010).

Há um grande número de trabalhos que trata da interação de quitosana-montmorillonita. A interação se dá pela troca do sal sódio da argila pelo biopolímero de quitosana. As características da quitosana (massa molar e grau de desacetilação) podem gerar compostos que possuem diferentes características para promover adsorção de compostos orgânicos (LERTSUTTHIWONG *et al*, 2012).

A capacidade da MMT de formar complexos de moléculas orgânicas intercaladas, de interesse farmacêutico tem sido amplamente estudada. (FORTEZA; GALAN; CORNEJO, 1989). Existem muitos produtos farmacêuticos no mercado que incluem argilas como excipientes em suas formulações, por exemplo, Mebendazol, Deltaflan, Calferon, entre outros (TEIXEIRA NETO; TEIXEIRA-NETO, 2009).

Lin e colaboradores, estudaram o 5-fluoracil (5-FU) com a montmorillonita intercalando 5-FU na argila otimizando-se temperatura, tempo, pH, concentração. Foi feita a caracterização por Espectroscopia na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis), FTIR (Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier), difração de raios X (DRX), Termogravimetria (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA). Obteve-se um compósito que poderá, segundo os autores, ser utilizado no tratamento do câncer (LIN *et al*, 2002).

O fármaco carvedilol foi intercalado na MMT por Lakshmi e colaboradores. O híbrido de Carvedilol/Montmorillonita foi preparado por três métodos diferentes: “*Solution intercalation*”, “*Melt intercalation*” e o “*Grinding intercalation*” entre eles o

de solução, sendo estes caracterizados por análise elementar, FTIR, DRX, TG, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e microscopia de transmissão. Os estudos mostraram que o método de preparo em solução para intercalar o carvedilol em MMT foi o mais satisfatório (LAKSHMI *et al*, 2010).

A intercalação de ibuprofeno (IBU) em MMT foi investigada como um transportador na liberação controlada de fármacos. Os compostos de intercalação foram caracterizados por diferentes técnicas entre elas: XRD e FTIR. O espaçamento basal de montmorilonita aumentou indicando que houve intercalação do IBU. Os experimentos de liberação *in vitro* revelaram que o IBU foi liberado na MMT de forma constante e dependente do pH (ZHENG *et al*, 2005).

1.3 Ibuprofeno

O ibuprofeno, cuja estrutura molecular é apresentada na Figura 4, quimicamente denominado como ácido 2-(4-isobutilfenil)-propionico, ácido α -metil-4-(2-metilpropil) benzenoacético ou ácido p-isobutilhidratópico, é um sólido cristalino e incolor, pouco solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos e em soluções aquosas de hidróxidos alcalinos e carbonatos (FERRAZ, 1993).

Trata-se de um agente antiinflamatório não-esteróide, pertencente à classe do ácido propiônico, usado para reduzir a inflamação, febre e dor. É indicado ainda no alívio da dor após procedimentos cirúrgicos (MOTRIM, 2012, GERALDO, 2008), ou no tratamento da artrite reumatoide e na osteoartrite (ZHENG *et al*, 2007).

Figura 4: Estrutura molecular do ibuprofeno.

Entretanto, o ibuprofeno causa efeitos colaterais no trato gastrointestinal, causando úlceras, hemorragias e disfunção renal (GERALDO, 2008), além de efeitos no sistema nervoso (ZHENG *et al*, 2007). Em adição, o estudo da liberação controlada do ibuprofeno pode ter como consequência, o seu uso em menores dosagens, minimizando sua quantidade em efluentes, o que causa um bioacúmulo e danos no meio ambiente. (MENDES *et al*, 2010). Por isso, a liberação controlada do ibuprofeno tem sido muito estudada a fim de minimizar os efeitos colaterais.

Diversos fármacos que estão em uso apresentam limitações, devido a efeitos colaterais, que muitas vezes são consequências de altos níveis plasmáticos após a administração de formulações convencionais. Em sistemas de liberação controlada, a concentração desejada de fármaco pode ser mantida sem alcançar o nível tóxico maior, ou cair abaixo do nível mínimo necessário para sua eficácia. Para o efeito de liberação, a interação do fármaco com um biopolímero como a quitosana pode ser uma maneira de minimizar estes efeitos. (GRIFFIN, 1998).

A atividade anti-inflamatória do ibuprofeno e a maioria dos seus outros efeitos farmacológicos estão relacionadas com a inibição da conversão de ácido araquidônico para prostaglandinas, que são mediadores do processo inflamatório. O ibuprofeno é um potente inibidor da ciclo-oxigenase (Cox), *in vitro* e *in vivo*, reduzindo desse modo a síntese de prostaglandinas, prostaciclina e produtos de tromboxano (TITA *et al*, 2010). Parte da ação anti-inflamatória é justificada pela diminuição das prostaglandinas nos tecidos inflamados. A ação analgésica se deve também a atividade das prostaglandinas, a ação antitérmica por ação no centro hipotalâmico de regulação de calor, as ações anti-reumática e antigotosa por mecanismos anti-inflamatórios e analgésicos (não há estimulação do eixo hipófise-suprarenal e nem ação corretora da hiperucemia (BPR, 2010)

Tita e colaboradores em 2010, estudaram o comportamento térmico e a cinética do ibuprofeno, sob condições não isotérmicas. Observou-se que o ibuprofeno se decompõe após a fusão, em uma única etapa, sob atmosfera de nitrogênio, de acordo com a cinética de primeira ordem. Os valores dos parâmetros cinéticos foram determinados por métodos diferenciais e integrais. Os autores concluíram que o estudo da cinética da decomposição térmica pode ser usado para avaliar a qualidade do produto, pois através do ponto de fusão do fármaco, caracteriza-se a pureza (TITA *et al*, 2010).

Dudognon e colaboradores em 2008 propuseram um trabalho para pesquisar a existência de uma forma cristalina polimórfica do ibuprofeno, utilizando as técnicas de DRX para identificar novas fases cristalinas e DSC, para acompanhar a evolução termodinâmica das formas em função da temperatura. Os resultados obtidos indicam que a forma cristalina convencional apresenta a fusão em 349 K e nova fase polimórfica funde em 290 K. Através do diagrama de energia observou-se a estabilidade termodinâmica de dois polimorfos. Concluiu-se que o ibuprofeno pode existir em duas fases cristalinas diferentes, constituindo um sistema monotrópico, de uma nova forma meta estável.(DUDOGNON et al, 2008).

Já Feiteira em 2010, cristalizou o ibuprofeno em diferentes solventes tais como acetona, n-hexano e submeteu as amostras a análises de DSC, DRX e FTIR. A partir dos resultados obtidos por DSC, observou-se que a amostra cristalizada em acetona e em n-hexano, ambas em temperatura ambiente, apresentavam um pico de fusão composto, sendo indicativo de polimorfismo. Entretanto através dos estudos por DRX e FTIR esta hipótese não foi suportada, pois a divisão dos picos deve-se ao tamanho das partículas formadas durante o crescimento dos cristais. O autor diz que esta hipótese deve ser confirmada em outro trabalho e destacou a importância de utilizar diferentes técnicas no estudo de polimórficos (FEITEIRA, 2010).

Rodriguez e colaboradores, 2003, estudaram o ibuprofeno associado com polímeros catiônicos como celulose, goma guar, observando as interações. Estudaram-se as dispersões aquosas. As moléculas da droga interagem fracamente com os polímeros através de interações hidrofóbicas e iônicas. Quando um surfactante foi adicionado a estes sistemas, os coeficientes de difusão diminuiram ainda mais, o que sugere a formação de novas estruturas associadas. com um processo de liberação dependente do pH. Em pH ácido, a afinidade de fármaco-polímero é mantida, impedindo a liberação do fármaco. Por outro lado, em pH 8, as interações são quebradas e o processo de liberação é sustentado por mais de 4 horas. Sendo assim, as interações ibuprofeno com polissacarídeos catiônicos determinam fortemente o desempenho de suas dispersões aquosas e hidrogéis (RODRIGUEZ; ALVAREZ-LORENZO; CONCHEIRO, 2003).

1.4 Matrizes de quitosana com fármacos

O biopolímero quitosana tem sido alvo constante de investigação devido à sua aplicação em diferentes áreas da ciência, inclusive seu uso farmacêutico, pois se trata de um material orgânico de baixa toxicidade.

A combinação dos termos de busca “quitosana e transporte de drogas” no Web of Science leva a mais de 10.000 artigos, tornando inviável uma revisão bibliográfica com tais termos. Alguns exemplos representativos são apresentados a seguir. Entretanto, associando o termo quitosana ao fármaco ibuprofeno e à análise térmica, há uma restrição significativa nesse volume de publicação.

A quitosana pode formar complexos de ibuprofeno com vários compostos, como alginato, enzimas, β -ciclodextrina e carboximetilcelulose, glutaraldeído e carragenina. (CHUNYIN; LIU, 2012; BALAU; AELENEI; POPA, 2009; WIN *et al.*, 2005; JI *et al.*, 2011, LIU; HE; QIAN, 2011, RASSOL, *et al.*, 2010) Estes complexos podem ser caracterizados através de diversas técnicas, entre elas: Difração de raio X (JI *et al.*, 2011), FT-IR (CHUNYIN; LIU, 2012; BALAU; AELENEI; POPA, 2009; JI *et al.*, 2011; QANDIL, *et al.*, 2009), ressonância magnética nuclear no estado líquido ^1H (QANDIL, *et al.*, 2009; LIU, 2010), espectroscopia no UV-Vis (JI *et al.*, 2011), microscopia de força atômica (AFM) (BALAU; AELENEI; POPA, 2009) e espalhamento dinâmico de luz (DLS) (BALAU, 2009). Além destas, existem estudos reológicos como viscosidade (BODEK, 2000), a influência do pH (BALAU; AELENEI; POPA, 2009; RASOOL *et al.*, 2010; LIU, 2010), estudos biológicos (SAKKINEN *et al.*, 2003; RASOOL *et al.*, 2010) e estudos *in vitro* (JI *et al.*, 2011).

Rasool *et al.* desenvolveram um gel de quitosana com ibuprofeno para uso tópico, num sistema de liberação controlada, acompanhada por CLAE (RASOOL *et al.*, 2010).

Entretanto, poucos artigos envolvem análise térmica na caracterização dos complexos com o ibuprofeno. Particularmente, a análise térmica foi usada para caracterizar alguns carregadores como são descritos nos seguintes trabalhos.

Balau e colaboradores registraram curvas termogravimétricas que possibilitaram a caracterização dos processos de degradação de um complexo de quitosana-alginato de sódio e ibuprofeno, e concluíram que o mecanismo de degradação é fortemente influenciado pela metodologia pela qual o complexo é preparado (BALAU; AELENEI; POPA, 2009).

Qandil e colaboradores prepararam complexos de quitosana de alta e baixa massa molecular com ibuprofeno. Foi observada interação do fármaco com os diferentes tipos de quitosana. Seus resultados mostraram que a complexação se dá por interação iônica com o ânion carboxilato do ibuprofeno, confirmando que a complexação é mais eficiente, quando se usa quitosana de baixa massa molecular. Foram obtidas curvas DSC para o complexo ibuprofeno/quitosana e também para a mistura física. Quando é feita apenas uma mistura física da droga com a matriz, os picos observados são os mesmos, que são observados quando os componentes estão isolados, já quando se trata do complexo, o pico característico do ibuprofeno não é mais observado (QANDIL *et al.*, 2009).

Liu e colaboradores. através de um derivado de quitosana com o carboximetil-hexanol quitosana, prepararam um hidrogel com o ibuprofeno para liberação controlada, estudando a influência dos substituintes no inchamento da quitosana e suas consequências na liberação da droga. DSC foi utilizado como ferramenta para avaliar a presença de água nos hidrogéis (LIU *et al.*, 2010).

Popa e colaboradores prepararam microesferas de quitosana/alginato com diferentes drogas como a ciprofloxacina, cetoprofeno, ibuprofeno e ácido tânico, em que se avaliou o comportamento térmico dos fármacos isolados e na presença das matrizes. Foi observado que no caso alginato/ibuprofeno/quitosana a presença do alginato diminuiu significativamente a energia de ativação para a etapa de degradação. (POPA; LISA; AELENEI, 2008).

Estudos realizados anteriormente, mostraram a preparação do sal de captopril, um antihipertensivo diurético, com a quitosana, e a avaliação do efeito do pH na liberação do fármaco, utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência. Este sal de quitosana e captopril foi caracterizado por FTIR, TG, entre outras técnicas (LUPPI, 2009), mostrando grande dependência da liberação em função do pH do meio.

1.5 Uso combinado de polímeros e fármacos para a liberação controlada de fármacos

A nanotecnologia possibilita entender e manipular materiais em escala de átomos e moléculas, atuando em diversas áreas como robótica, biológica, química, física e medicina. Assim, a nanotecnologia está presente na medicina, principalmente em sistemas de liberação controlada de fármacos. Esses sistemas de liberação

controlada de fármacos surgiram em 1970, com o objetivo de liberar quantidades determinadas de fármacos por um período de tempo. Assim, a administração desses sistemas possibilita a liberação dos fármacos em locais específicos, tais como tumores ou tecidos doentes, a fim de minimizar os efeitos colaterais indesejados dos fármacos em outros tecidos (SAFARI; ZARNEGAR, 2012).

Os sistemas de liberação controlada de fármacos apresentam uma série de vantagens quando comparados a outros, de dosagem convencional, tais como diminuição significativa da toxicidade e aumento no tempo de permanência na circulação, maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco, a partir da degradação da matriz, natureza e composição dos veículos variada e sem predomínio de mecanismos de instabilidade e decomposição do fármaco, administração segura, sem reações inflamatórias locais, sendo atrativo, devido ao menor número de doses, direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas, tanto substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas podem ser incorporadas, com menor dosagem (AZEVEDO, 2002).

Assim, as formas farmacêuticas de liberação controlada requerem administrações menos frequentes em relação as formas convencionais, onde a concentração do fármaco apresenta um aumento na corrente sanguínea, em que atinge um máximo e depois diminui (LYRA, *et al*, 2007).

As vantagens destes sistemas de liberação são o risco de acúmulo, caso a velocidade de eliminação do fármaco seja lenta, maior custo inicial do que a forma convencional, dificuldade de interromper o tratamento em caso de intoxicação ou de intolerância, dependência entre a cinética de liberação e a forma farmacêutica (SOUSA, 2009).

Deste modo, as formas farmacêuticas usuais apresentam algumas limitações, entre elas a baixa acumulação do fármaco no sítio de ação que não proporciona uma adequada absorção do mesmo e, finalmente, o fato de serem formas farmacêuticas pouco eficazes para proteger a droga de uma metabolização e a excreção prematura. Assim, existem duas maneiras para controlar a liberação, e consequente absorção dos fármacos. Uma delas é baseada na sua modificação, a outra é baseada na modificação da forma farmacêutica (ALMEIDA, 2009)

Figura 5: Concentração do fármaco após administração: (a) forma farmacêutica convencional e (b) sistema de liberação controlada (SOUSA, 2009).

Fonte: Sousa, A. Híbridos de Gel Polimérico em Sílica Mesoporosa Estruturalmente Ordenada para Liberação Controlada de Fármacos. Tese de Doutorado em Engenharia Química. UFMG, 2009.

Diversos tipos de materiais podem ser utilizados na liberação controlada de fármacos tais como: nanopartículas inorgânicas metais e sílicas mesoporosas, nanopartículas baseadas em polímeros, entre outros. Dentre os metais, o ouro se destaca pelas propriedades ópticas e eletrônicas. (SAFARI; ZARNEGAR, 2013).

Lee e colaboradores estudaram clusters de monocamadas de ibuprofeno com ouro derivatizado com tiol, foram preparados por amidação de ibuprofeno com álcool ou aminofenol. Os compostos foram caracterizados por RMN de ^{13}C e ^1H , UV-Vis, FTIR e microscopia. Através dos resultados obtidos os autores acreditam que o ibuprofeno com nanopartículas de ouro pode ser um candidato promissor no tratamento da artrite reumatóide (LEE; SHENG; HUANG, 2013).

As sílicas mesoporosas são interessantes, devido à estabilidade dos poros, o que facilita a encapsulação de fármacos, proteínas e outras moléculas, sendo as mais utilizadas as sílicas M41S, SBA, MSU e HMS (SAFARI; ZARNEGAR, 2013).

Hwang e colaboradores, em 2010, sintetizaram sílica SBA-15 funcionalizadas com diferentes grupos funcionais, tais como amino, diamina, e os grupos de ácido

sulfônico para utilizar como materiais de suporte na liberação de fármacos. As partículas foram caracterizadas através de microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e medidas de potencial zeta. Usando o ibuprofeno como uma droga modelo, verificou-se que a taxa de liberação aumentou, com o aumento do pH. A diferença na velocidade de liberação está relacionada com a interação eletrostática entre o fármaco e a superfície de partícula, que foi causado pela funcionalização de superfície. (HWANG *et al*, 2010)

Sistemas baseados em polímeros são interessantes, devido às suas propriedades. Para o uso de polímeros em liberação controlada de fármacos, ele deve possuir características como ser biocompatível, biodegradável sem a formação de subprodutos que sejam tóxicos, solúvel em vários solventes, entre outros. Podem-se utilizar diferentes tipos de estruturas poliméricas, tais como: micelas poliméricas, nanopartículas poliméricas, dendrímeros (SAFARI; ZARNEGAR, 2013; MISHRA *et al*, 2010).

Podem-se usar também lipossomos e nanopartículas de lipídeos sólidos e nanotubos de carbono.

Existe uma série de carregadores que podem ser utilizados na liberação controlada de fármacos, entre eles, destacam-se as nanocápsulas poliméricas do tipo reservatório, nas quais a substância encontra-se envolvida por uma membrana polimérica, isolando o núcleo do meio externo e as nanoesferas poliméricas em que o fármaco encontra-se homogeneamente disperso ou solubilizado no interior da matriz (AZEVEDO, 2002).

Os biopolímeros, como a quitosana, permitem diminuir ou eliminar inconvenientes como a sensibilidade gastrointestinal, que determinados fármacos apresentam (SILVA *et al*, 2006).

Dentre os métodos de preparação para os sistemas de liberação controlada, destacam-se homogeneização de alta pressão, coacervação, co-precipitação, *salting out*, nanoprecipitação, solvente emulsificação-difusão e métodos utilizando o fluido supercrítico (MISHRA *et al*, 2010).

O método de coacervação, os complexos iônicos são formados espontaneamente em um processo a partir de 2 fases líquidas, em que resulta na interação de dois polieletrólitos com cargas opostas, sob agitação em solução aquosa. Este processo leva à formação de partículas micrométricas e nanométricas, dependendo do pH, temperatura, peso molecular, força iônica e concentração dos polieletrólitos. Entretanto,

este método apresenta baixa estabilidade do fármaco e da eficiência no seu carregamento, melhorando através de intercruzamento no complexo, tais como o glutaraldeído (MISHRA *et al*, 2010).

Dessa maneira este trabalho propõe a preparação de complexos iônicos entre a quitosana e o fármaco ibuprofeno e também um compósito com a argila do tipo montmorilonita, visando contribuir com o entendimento do comportamento do fármaco em solução aquosa dissociando-se das matrizes, sendo uma contribuição ao desenvolvimento e entendimento de sistemas de liberação controlada.

2 OBJETIVO

O trabalho objetiva a preparação de um complexo iônico formado por quitosana e ibuprofeno, pela reação de neutralização entre ambos a fim de se obter uma matriz para um sistema de liberação controlada.

Com a finalidade de dissociar o fármaco lentamente da matriz de quitosana foi preparado um nanocompósito de montmorilonita/quitosana contendo ibuprofeno, compondo uma matriz.

Caracterizar as amostras preparadas usando técnicas espectroscópicas (FTIR, DRX) e termoanalíticas (TG/DTG, DTA e DSC).

Avaliar o comportamento dos sistemas preparados em solução aquosa, com ênfase na dissociação do fármaco a partir dos suportes.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais e Métodos

3.1.1 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico. A quitosana passou por um processo de purificação de acordo com a literatura (SIGNINI; CAMPANA FILHO, 1998).

As procedências dos reagentes são descritos na tabela abaixo:

Tabela 1: Reagentes utilizados e a procedência dos mesmos.

Reagentes	Procedência	Grau de Pureza
Quitosana	Aldrich	-
Ibuprofeno	Purifarma	comercial
Acido acético	Mallinckrodt	PA
Hidróxido de sódio	Spectrum	PA
Ácido clorídrico	J. T. Baker	PA
Ácido fosfórico	Mallinckrodt	PA
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	Spectrum	PA
KH ₂ PO ₄	J. T. Baker	PA
Montmorillonita	Clay Minerals	-
SWy-1	Society	

3.2 Metodologia experimental

3.2.1 Purificação da quitosana

A quitosana fornecida pela Aldrich[®] proveniente de cascas de caranguejos, com massa molar baixa ($M_w \sim 160 \text{ g mol}^{-1}$).

Inicialmente, a quitosana (CTS) foi purificada dissolvendo-se o produto comercial em solução de ácido acético 1% sob agitação durante 18 horas. Em seguida, a solução foi filtrada em um funil de vidro sinterizado de porosidade de 5 μ m.

Posteriormente foi adicionado NH₄OH concentrado para a precipitação da quitosana sendo o precipitado lavado com água deionizada até alcançar o pH = 7, em seguida lavado com etanol absoluto. O precipitado foi seco em temperatura ambiente e armazenado em dessecador (SIGNINI; CAMPANA FILHO, 1998).

3.2.2 Obtenção do Complexo Iônico Quitosana-Ibuprofeno (CTS/IBU)

Quantidades apropriadas do fármaco e da quitosana foram adicionadas em 50,0 mL de água e o sistema mantido sob agitação durante 72 horas a temperatura de 40°C. Após esse período o produto da reação foi lavado com água, e seco em estufa a 50°C.

A mistura física do complexo iônico foi preparada misturando quantidades adequadas na proporção 1:1 (*m/m*), sendo macerada em um pistilo e almofariz.

3.2.3 Obtenção do híbrido montmorillonita/ibuprofeno (MMT/IBU)

O ibuprofeno foi dissolvido em solução aquosa em pH ajustado a 8 com NaOH 0,1 mol L⁻¹. A argila foi dispersa em 2 litros de água em pH 8. A solução de argila foi agitada durante aproximadamente 15 horas para completa dispersão. Em seguida, a solução de ibuprofeno foi gotejada com auxílio de bureta na suspensão de argila. A suspensão de argila contendo ibuprofeno permaneceu sob agitação, por cerca de mais 15 horas. Então, centrifugada durante 30 minutos a 3500 rpm e em seguida liofilizada (ZHENG *et al*, 2007).

A mistura física do híbrido MMT/IBU foi preparada misturando quantidades adequadas na proporção 1:1 (*m/m*), sendo macerada em um pistilo e almofariz.

3.2.4 Obtenção da matriz quitosana/montmorillonita/ibuprofeno (CTS/MMT/IBU)

A incorporação da quitosana na argila seguiu a metodologia descrita por KEVADIYA *et al*, 2012 modificada. A preparação do sistema quitosana/argila envolve a suspensão de quantidades adequadas de argila em água por 24h. O biopolímero foi dissolvido em solução de ácido acético 1%.

Em seguida o pH da solução de quitosana foi ajustado para 5,5 e adicionada uma suspensão de montmorilonita, com auxílio de uma bomba peristáltica para um gotejamento lento e controlado. A mistura foi agitada por 48h a 50°C. O compósito resultante foi obtido por centrifugação. O material foi lavado e centrifugado até as águas de lavagem estarem livres de acetato. Segundo a metodologia descrita por KEVADIYA *et al* a melhor proporção quitosana:montmorilonita é de 4:1 (*m/m*). Sendo essa mesma proporção escolhida no presente trabalho.

Pesou-se 1,25 g de compósito de quitosana/montmorilonita foi suspenso em 500 mL de água por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se de 200 mL uma solução de ibuprofeno 5 g L⁻¹. O material permaneceu sob agitação durante 24h a temperatura controlada em banho termostático à 25°C. Decorrido esse tempo o material resultante foi lavado e recolhido por centrifugação e liofilizado.

A mistura física do compósito CTS/MMT/IBU foi preparada misturando-se quantidades adequadas na proporção 1:0,25:1 (*g/g*), sendo macerada em um pistilo e almofariz.

3.3 Caracterização

3.3.1 Determinação do Grau de Desacetilação Titulação Potenciométrica

A literatura descreve diversas metodologias para determinar o grau de desacetilação (GD) (SANTOS, *et al*, 2003; SIGNINI; FILHO, 1998; NIETO, PENICHE-COVAS, PADRÓN, 1991; RAYMOND, MORIN, MARCHESSAULT, 1993.), podendo-se destacar a titulação potenciométrica como uma das mais utilizadas por ser um método simples, de baixo custo, não destrutivo e utilizar um pHmetro com eletrodo de vidro. Essa técnica permite determinar o ponto de equivalência entre o número de mols de OH⁻ ou (H₃O⁺) que esteja presente no analito (SKOOG *et al*, 2006). Como é necessário se conhecer a massa de quitosana para reagir estequiometricamente com o ibuprofeno, foi realizado o experimento de titulação potenciométrica para a determinação do grau de desacetilação e assim foi possível calcular a massa molar média da quitosana, estimando a massa do biopolímero necessária para reagir estequiometricamente com o fármaco.

A partir dos dados experimentais determinou-se a primeira derivada da curva de titulação. A partir dessa curva determinou-se o volume de base que foi utilizado para calcular o grau médio de desacetilação conforme descrito na Equação 1.

$$GD = \left[\frac{V_{NaOH} \cdot m_{NaOH}}{(V_{NaOH} \cdot m_{NaOH}) + \frac{(m_Q - (V_{NaOH} \cdot m_{NaOH} \cdot 161,22))}{203,22}} \right] \cdot 100 \quad (1)$$

Na qual, V_{NaOH} é o volume da base, m_{NaOH} é a concentração da base em mol L^{-1} , m_Q é a massa de quitosana utilizada na titulação, 161,22 é a massa molar da unidade desacetilada e 203,22 corresponde a massa molar da unidade acetilada.

Para a determinação do grau de desacetilação utilizou-se a metodologia adaptada de Tolaimate *et al.* Cerca de 300 mg de quitosana foram adicionados em 20 mL de solução padronizada de ácido clorídrico ($0,1238 \text{ mol L}^{-1}$) sob agitação contínua até a total dissolução da amostra. Em seguida a solução foi titulada com solução padronizada de hidróxido de sódio ($0,09788 \text{ mol L}^{-1}$). As variações do pH foram acompanhadas durante a titulação com um pHmetro contendo eletrodo de vidro Corning pH meter 430 (TOLAIMATE *et al.*, 2000)

Em razão da quitosana ser higroscópica foi levado em consideração o teor de água obtido pela curva TG para a determinação da massa de biopolímero necessária para reagir estequiometricamente (1:1) com o fármaco.

3.4 Técnicas

3.4.1 Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio da amostra de quitosana e do fármaco foram investigados por análise elementar. As diferenças nos teores dos elementos C, N e H foram úteis para determinar a presença do fármaco na matriz, quando comparados com a quitosana.

Foram pesadas cerca de 2 mg de amostra e analisadas em um analisador elementar da marca CE Instruments, modelo EA 1110, CNHS-O, utilizando o Hélio como gás de arraste.

3.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier

Espectros na região do infravermelho foram registrados em um Bomem MB-102 na região de 400-4000 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos utilizando pastilhas preparadas a partir do KBr, previamente seco em estufa, e a mistura da amostra foi homogeneizada em um almofariz. Em seguida a mistura foi prensada em uma prensa hidráulica para formar uma pastilha.

3.4.3 Análise Térmica

A definição de Análise Térmica adotada pelo Conselho da Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) em 2006 e publicada por Rouquerol em 2007:

“Análise Térmica é o estudo da relação entre uma propriedade da amostra e sua temperatura, enquanto a amostra é aquecida ou resfriada de maneira controlada” (ROUQUEROL; WADSON; HAINES, 2007).

A termogravimetria (TG) é a técnica termoanalítica que acompanha as variações da massa em função da temperatura. Seus resultados permitem avaliar a estabilidade térmica, teor de massa perdida durante o aquecimento, teores de água e cinzas, intermediários de decomposição, oxidação, entre outros (IONASHIRO, 2005)

Na termogravimetria derivada (DTG), a derivada da variação de massa em relação ao tempo (dm/dt) é registrada em função da temperatura ou do tempo. As vantagens da DTG, são apresentar com exatidão as temperaturas do início em que a velocidade de reação é máxima, distinguir reações sucessivas, que não são facilmente observadas pela curva TG e em determinações quantitativas em que as áreas dos picos correspondem exatamente ao ganho ou perda de massa (IONASHIRO, 2005).

A análise térmica diferencial (DTA) é a técnica na qual se medida a diferença de temperatura entre um material de referencia termicamente inerte e a amostra, à medida que ambos são aquecidos ou resfriados em um forno. Estas medições de temperatura são diferenciais, pois se registra a diferença entre a temperatura da referência, T_r , e a da amostra T_a , ou seja, $\Delta T = T_r - T_a$, em função da temperatura ou do tempo, no qual o

aquecimento ou resfriamento são sempre feitos linearmente ($dT/dt = \text{Cte}$) (IONASHIRO, 2005).

Portanto, é de se esperar que resultados importantes possam ser obtidos em relação à composição e várias propriedades físicas e químicas de um material, usando-se tais técnicas.

3.4.3.1 Medidas termogravimétricas (TG)

As medidas termogravimétricas foram realizadas no Q600 da TA Instruments, utilizando cerca de 7 mg de amostra, suporte de amostra de platina, razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, sob atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1} .

3.4.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) permite avaliar as variações energéticas às quais a amostra está sendo submetida sob uma programação controlada de temperatura. Neste caso, fusões, transições de fase e outros eventos térmicos, que não envolvem perda de massa podem ser avaliados, além de estudos do comportamento a baixas temperaturas (IONASHIRO, 2005).

As medidas de calorimetria exploratória diferencial foram realizadas no Q10 da TA Instruments, utilizando cerca de 3 mg de amostra, razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, sob atmosfera de nitrogênio, com vazão de 50 mL min^{-1} . O suporte de amostra utilizado foi um cadinho de alumínio com tampa. Um suporte de amostra vazio foi utilizado como referencia.

Tanto a amostra como a referencia foram resfriados até -30°C utilizando nitrogênio líquido. Submeteu-se a amostra a um ciclo de aquecimento de -30°C até 100°C em N_2 com vazão de 50 mL min^{-1} e razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

Estudos complementares foram feitos sob as seguintes condições: ciclos de aquecimento (A) e de resfriamento (R) com razão de aquecimento de 2,5; 5 e $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e vazão de 50 mL min^{-1} .

3.3.5 Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das técnicas mais utilizadas na determinação do grau de desacetilação por utilizar pequenas quantidades de amostra em cada análise. Além disso, permite a investigação tanto em estado líquido (^1H) como em sólido (^{13}C).

RMN ^{13}C

Equipamento: Bruker Avance III-400, operando num campo magnético de 9.4T (399.94 MHz para o núcleo de hidrogênio), equipado com uma sonda para análise de amostras em estado sólido com giro em torno do ângulo mágico (MAS-4mm).

Preparo da amostra: as amostras (em pó) foram empacotadas em um rotor de 4mm de zircônia. O rotor foi girado em torno do ângulo mágico a uma rotação de 5KHz.

A análise foi feita em temperatura ambiente (23°C)

Experimento realizado: a sequencia de pulsos utilizada foi a de polarização cruzada com supressão de bandas laterais (CPTOSS), com observação do núcleo de carbono-13 (frequência de 100.575MHz). Em ambas as amostras (CTS e CTS/IBU) esta sequência de pulsos foi aplicada com os seguintes parâmetros: tempo de reciclo de 3s, tempo de contato de 2ms, tempo de aquisição de 34ms, janela espectral de 295,9ppm. Para a amostra de CTS foram feitas 2048 varreduras e para a amostra CTS/IBU foram acumuladas 5120 varreduras.

RMN ^1H

Equipamento: Bruker Avance III-400, operando num campo magnético de 9.4T (400.132 MHz para o núcleo de hidrogênio), equipado com uma sonda para análise de amostras em solução, equipado com uma sonda de detecção indireta para tubos de 5mm autossintonizável e com gradiente máximo em z de 53,5 G/cm.

Preparo da amostra: uma massa de 10mg do material foi dissolvido em uma mistura de 595uL de água deuterada e 5uL de HCl (600uL no total). A temperatura foi controlada em 70°C.

Experimento realizado: foi utilizada uma sequência com pré-saturação do sinal do solvente com um tempo de reciclo de 1s, tempo de aquisição de 4.1s e janela espectral de 20ppm. Foram acumuladas 64 varreduras.

3.3.6 Dissociação do complexo iônico CTS/IBU

Para acompanhar a dissociação do fármaco da matriz de quitosana utilizaram-se duas técnicas experimentais. A primeira foi a técnica de UV-Vis e a segunda foi através da técnica de cromatografia líquida, do inglês *High Performance/Pressure Liquid Chromatography* (HPLC). Para esses estudos as soluções do fármaco foram preparadas com soluções: tampão fosfato pH 7,0 e ácido clorídrico pH 2,0.

As soluções para a curva de calibração foram feitas em pH 2,0 e 7,0, sendo que em pH 2 o fármaco foi dissolvido numa quantidade mínima em etanol e depois o volume completado com ácido clorídrico, sendo a quantidade de etanol desprezível. Em pH 7,0 o fármaco foi diluído em tampão fosfato pH 7,0.

Os espectros de UV-Vis foram obtidos em um espectrofotômetro Multispec 1501 da Shimadzu. Foram retiradas alíquotas da cela termostaticada (37°C) em intervalos regulares de tempo, durante 9 horas de acompanhamento.

Os cromatogramas das amostras foram obtidos num cromatógrafo líquido modelo LC-20AD Shimadzu, coluna C18 Phenomenex 5,0µm, 250 mm x 4,6 mm.

O complexo iônico CTS/IBU foi dissolvido em soluções de tampão fosfato à pH 7 e solução de HCl à pH 2, as soluções contendo os complexos foram colocadas em uma cela termostaticada a 37°C e mantidas sob agitação constante durante o tempo de estudo da dissociação (180 min). Foram retiradas alíquotas, que foram filtradas utilizando-se filtro cromatográfico para seringa (Simplepure, 0,45 µm), em intervalos regulares de tempo. As diferentes alíquotas foram analisadas técnicas de UV-Vis e CLAE para determinar o perfil de dissociação do complexo iônico CTS/IBU, visando quantificar o teor do fármaco livre.

Os métodos propostos para determinação pela técnica de CLAE foram adaptados dos métodos descritos por Rasool *et al*, 2010 e por Battu e Reddy, 2009. Em pH 2, o método utilizou a fase móvel H₃PO₄ 0,01 mol L⁻¹ e acetonitrila (55:45) com o fluxo de 2 mL min⁻¹ e o volume da injeção de 20 µL. O detector ultravioleta (UV) foi utilizado no comprimento de onda de 220 nm e o tempo de foi de 17 minutos para o Ibuprofeno. Em pH 7, o método utilizou a fase móvel Tampão Fosfato pH 7 e acetonitrila (55:45) com o fluxo de 1 mL min⁻¹ e o volume da injeção de 20 µL, no comprimento de onda de 220 nm e o tempo de retenção foi de 3,7 minutos para a amostra analisada de Ibuprofeno.

3.3.7 Difração de raio X (DRX)

Para as medidas de raios X, foi utilizado um Difratorômetro de raios X RigakuRotaflex, modelo RU 200B, operado a 40 kV e 30 mA. A radiação de cobre foi utilizada como fonte, com $\lambda=0,154$ nm.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação do Grau de Desacetilação (GD) da Quitosana por Titulação Potenciométrica

A Figura 6 apresenta o gráfico da primeira derivada das titulações de quitosana realizadas como descrito na parte experimental item 3.3.1. A partir da curva da primeira derivada foi possível determinar os pontos de inflexão que correspondem ao início e término da desprotonação dos grupos aminos, 5 mL e 21 mL respectivamente. A titulação ocorre em duas etapas, na primeira a titulação leva à neutralização dos íons hidrogênio em excesso, no ponto em que ocorre a neutralização verifica-se o aumento acentuado do pH (primeiro pico). Na segunda etapa, ocorre a neutralização dos prótons dos grupos amina da quitosana, e quando a neutralização é atingida ocorre outro aumento acentuado do pH (segundo pico). As titulações são equivalentes, sendo a principal diferença o volume de base necessária para desprotonação dos grupos amino. O grau médio de desacetilação determinado pela titulação potenciométrica, de acordo com a Eq. 1, foi de 80,03% e o grau de acetilação foi de 19,97%, com desvio padrão de 3,34 e massa média de 0,2363 g.

Figura 6: Gráfico de pH em função de volume de NaOH contendo a curva de titulação potenciométrica e sua primeira derivada da quitosana. A solução padronizada de NaOH 0,09788 mol L⁻¹ e solução patronizada de HCl 0,1238 mol L⁻¹.

4.2 Determinação do Grau de Acetilação e Grau de Desacetilação (GD) da Quitosana por RMN de ^1H

A fim de comparar os resultados obtidos na titulação potenciométrica, utilizou-se a espectroscopia de RMN ^1H , pois esta é quantitativa nas análises de amostras de quitosana em relação aos valores de GA (grau de acetilação) e GD (grau de desacetilação).

A Figura 7 apresenta o gráfico de RMN ^1H da Quitosana. O sinal de deslocamento químico dos hidrogênios correspondentes aos carbonos anoméricos dos monômeros desacetilados aparecem em aproximadamente 5,4 ppm (H^1) e os sinais correspondentes ao hidrogênio dos monômeros acetilados corresponde a 5,0 ppm (H^4). A região de 4,2 até 4,5 apresentam sinais correspondentes aos hidrogênios ligados aos carbonos 3, 4 e 5 e 6 da unidade polimérica, e o sinal localizado em 3,6 ppm (H^2) corresponde ao hidrogênio ligado O grau de acetilação médio foi determinado por RMN ^1H da quitosana, utilizando a área do pico na região de 2 ppm atribuído aos núcleos de hidrogênio da metila do grupo acetamido (A_{CH_3}) e a área do pico em 3,2 ppm atribuído ao núcleo de hidrogênio na posição 2 do anel de glicosamino (A_{H_2}), conforme a equação 2. (SIGNINI; CAMPANA FILHO, 1998).

$$\% \text{GA} = (A_{\text{CH}_3} / 3A_{\text{H}_2}) \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{GD} = 100 - [(A_{\text{CH}_3} / 3A_{\text{H}_2}) \times 100] \quad (3)$$

Figura 7: Espectro de RMN ^1H da quitosana, em destaque núcleo de hidrogênio do grupo metila do grupo acetamido (1) e os picos do núcleo de hidrogênio na posição 2 do anel de glicosamino (2).

A relação de áreas representada pela Equação 2 estão relativamente livres das influências do pico de HOD ($\delta = 3,8$ ppm), por isso, utiliza-se as áreas relativas a núcleos dos grupos metila presentes no grupo acetamido e ao núcleo na posição 2 do anel de glicosamino, (SANTOS *et al*, 2003).

Através da Equação 2, o grau de acetilação calculado foi de 19,44% e o grau de desacetilação de 80,56%. A determinação do grau médio de desacetilação, GD, por titulação potenciométrica apresentou concordância com os valores de GD obtidos por RMN ^1H .

4.3 Obtenção do Complexo iônico CTS/IBU

O complexo iônico (CI), foi obtido através da reação da quitosana com o ibuprofeno em meio aquoso, com base nos seguintes equilíbrios:

Esses equilíbrios mostram que é possível promover uma reação de neutralização entre a forma ácida do ibuprofeno e a os grupos $-\text{NH}_2$ livres da quitosana, com formação de um complexo iônico nos sítios desacetilados do biopolímero, conforme representado na Eq. 6. Em termos experimentais foi possível verificar que o valor de pH do meio reacional contendo quitosana e ibuprofeno, na mesma solução aquosa, variou de pH 6 para pH 5 após 72 h de reação. Essa diminuição de pH sugere que a quitosana teria sido protonada, formando o complexo iônico, enquanto o excesso de Ibuprofeno presente no meio reacional liberaria H^+ , pelo equilíbrio representado na Eq. 4, pois seu pK_a é menor que o da HCTS.

A Equação de Henderson Hasselbalck (Eq. 7), permite avaliar a relação de concentrações de ácido e base conjugados presente em solução, considerando seu pK_a .

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log [\text{A}^-]/[\text{HA}] \quad (7)$$

Usando essa equação foram calculadas as relações de $[\text{Ibu}^-]:[\text{HIbu}]$ e $[\text{CTS}]:[\text{HCTS}^+]$, presentes em diferentes valores de pH, conforme se apresenta na Tabela 2. Assim, foi possível prever a reação em meio aquoso, visto que a reação começou em pH 6 e ao término da reação o pH estava em 5.

Tabela 2: Variação nas concentrações de H^+ e nas relações de concentração $[\text{Ibu}^-]:[\text{HIbu}]$ e $[\text{CTS}]:[\text{HCTS}^+]$, em função do pH, segundo a Equação de Handerson e Hasselbach*

pH	$[\text{H}^+] / 10^{-7} \text{mol L}^{-1}$	$[\text{Ibu}^-]:[\text{HIbu}]$	$[\text{CTS}]:[\text{HCTS}^+]$
7,5	0,316	1000: 1	10:1
6,5	3,16	100:1	1:1
6	10,0	31,6:1	1:3,16
5,5	31,6	10:1	1:10
5	100	3,16:1	1:31,6
4,5	316	1:1	1:100

*Considerando os pK_a 's de 4,5 e 6,5 para o IBU e CTS, respectivamente.

De acordo com os dados da Tabela 2, é possível observar que em pH 5 a quantidade de HIbu é maior que em pH 6.

A Figura 8 representa um modelo de como ocorreria a formação do complexo iônico envolvendo o ibuprofeno e o biopolímero quitosana. A interação ocorreria entre o grupo carboxílico do ibuprofeno ($-\text{COOH}$) e o grupo amina da quitosana ($-\text{NH}_2$). Esta reação é dificultada pela baixa solubilidade do fármaco, entretanto com o aumento da temperatura e o tempo de reação foi possível promovê-la, tendo como base os equilíbrios representados nas Eqs. 4-6.

Figura 8: Representação estrutural do complexo iônico de quitosana e ibuprofeno, considerando 100% de substituição dos grupos amino livres na matriz da quitosana e as águas de hidratação.

Além da formação do complexo iônico, outras interações podem agir em um sistema desse tipo. Segundo Rodriguez, Alvarez-Lourenzo e Concheiro, a presença de regiões apolares e os grupos amônio nos polissacarídeos catiônicos podem aumentar a intensidade da interação tanto com o anel aromático do fármaco, quanto com seu grupo carboxílico, tornando possível combinar a hidrofobicidade e as forças de Coulomb (RODRIGUEZ; ALVAREZ-LOURENZO; CONCHEIRO, 2003).

4.4 Análise Elementar

Os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio da amostra de quitosana, do fármaco e dos produtos de reação, foram determinados por análise elementar para avaliar a formação do complexo iônico.

A Tabela 3 apresenta os teores de N, C e H dos compostos de partida e do complexo iônico formado.

Tabela 3: Resultados de análise elementar do ibuprofeno, quitosana e o complexo iônico.

Amostra	Elemento / %, exp(calc) ^a		
	N	C	H
Ibuprofeno	0(0)	77,1 (75,8)	8,7 (8,8)
Quitosana	7,4 (8,3)	40,0 (42,6)	7,3 (6,5)
CI 72 h (aquoso)	4,6 (3,7)	57,7 (59,8)	7,9 (7,6)

a- exp = teores obtidos experimentalmente; calc. = valores calculados

Por meio da análise elementar foi confirmada a massa molar para o complexo iônico (MM_{CI}) calculada utilizando-se a Equação 8. Para esse cálculo, considerou-se o grau de desacetilação da quitosana como sendo 100% de substituição dos grupos amino livres. O teor de água na quitosana foi determinado por termogravimetria, sendo da ordem de 12,48% (sessão 4.6). Uma proposta da estrutura do complexo iônico (CI) é apresentada na Figura 8.

$$MM_{CI} = [(MM_{Ibu} \times G_d) + (MM_{Quitosana \text{ desacetilada}} \times G_d) + (MM_{quitosana \text{ acetilada}} \times G_a)] / 0,8752 \quad (8)$$

Tendo em vista que o teor de carbono e hidrogênio no ibuprofeno são maiores em relação à quitosana, deve-se esperar que haja aumento nos teores desses elementos, quando o ibuprofeno é incorporado à matriz do biopolímero. Já o teor de nitrogênio

deve ser menor no complexo iônico em relação ao composto de partida, pois ele está presente apenas na quitosana.

4.5 Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR)

A Figura 9 apresenta os espectros de FTIR obtidos para a quitosana, ibuprofeno, mistura física de quitosana e ibuprofeno e o complexo iônico CTS/IBU.

Figura 9: Espectros de FTIR da quitosana (CTS), do ibuprofeno (IBU), da mistura física (MF/CTS/IBU) e do complexo (CTS/IBU) em pastilhas de KBr.

Na Figura 9, observaram-se as bandas características da quitosana tais como, a banda de estiramento axial de OH centrada em 3480 cm^{-1} . Essa banda é sobreposta à banda de estiramento N-H (3360 cm^{-1}). A deformação axial C=O da amida é observada em 1671 cm^{-1} ; a deformação angular de N-H encontra-se em 1594 cm^{-1} ; a deformação angular simétrica em 1383 cm^{-1} é atribuída ao CH_3 ; a deformação axial de -CN de amida e a deformação axial de -CN de grupos amino são encontradas em 1429 cm^{-1} e

1318 cm^{-1} , respectivamente. Além de bandas de estruturas polissacarídicas na região de 890 a 1156 cm^{-1} (BRUGNEROTTO *et al*, 2001; SANTOS *et al*, 2003)

Para o ibuprofeno as principais bandas observadas foram: uma banda de estiramento intensa e característica em 1718 cm^{-1} da carbonila C=O do ácido carboxílico, o estiramento do C-H aromático em 3089 cm^{-1} , o estiramento do CH₃ em 2954 cm^{-1} e o estiramento do CH₂ em 2924 cm^{-1} (BANNACH *et al*, 2010).

Comparando-se o espectro da quitosana com o complexo iônico de Quitosana/Ibuprofeno, observou-se que a banda referente à carbonila C=O (1665 cm^{-1} na quitosana) é deslocada para 1637 cm^{-1} no complexo iônico. Segundo Qandil *et al.*, quando ocorre a formação da interação eletrostática entre o fármaco e a quitosana a banda da carbonila do Ibuprofeno deixa de ser observada e ocorre um deslocamento da carbonila da quitosana para números de onda menores, indicando a formação do complexo iônico CTS/IBU. Quando o pico da carbonila aparece em torno de 1720 cm^{-1} , é uma indicação de que o ibuprofeno está livre na forma ácida e considera-se que a complexação não foi completa (QANDIL *et al*, 2009).

4.6 Análise Térmica

4.6.1 Curvas TG/DTG e DTA da quitosana, ibuprofeno e do complexo iônico

A Figura 10 apresenta o comportamento térmico da quitosana, em relação às curvas TG, DTG e DTA.

Figura 10: Curvas TG, DTG e DTA da quitosana em atmosfera de ar, com vazão de 100 mL min^{-1} , massa de amostra em torno de 6 mg, em cadinho de α -alumina e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

Analisando a curva TG da quitosana pode-se observar três perdas de massa. O primeiro corresponde à desidratação, o segundo da decomposição do biopolímero, e o terceiro a queima do material carbonizado (SANTOS *et al*, 2003). O detalhamento dos intervalos de temperatura, perdas de massa e picos DTA, são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Intervalos de perdas de massa e temperatura da amostra de quitosana

$\Delta m_1(\%)/^\circ\text{C}$	$\Delta m_2(\%)/^\circ\text{C}$	$\Delta m_3(\%)/^\circ\text{C}$	Resíduo
12,48 (21-180°C)	42,37(180-400°C)	45,15 (400-660°C)	0 (660-1000°C)

Na curva TG do ibuprofeno (Fig. 11), pode-se observar apenas uma perda de massa entre 120°C até 250°C , sem resíduo no cadinho ao final do experimento. Através da curva DTA, observou-se a fusão do fármaco, representada por um pico endotérmico em $74,85^\circ\text{C}$, o qual concorda com os resultados descritos por BANNACH *et al* (BANNACH *et al*, 2010).

Após a perda de massa, a curva DTA mostra um evento endotérmico em $296,73^\circ\text{C}$ e outro exotérmico em $679,93^\circ\text{C}$, referentes à decomposição de resíduos e queima de traços de material carbonizado, respectivamente.

Figura 11: Curvas TG, DTG e DTA do Ibuprofeno em atmosfera de ar, $m \approx 6$ mg, com vazão de 100 ml min^{-1} , em cadinho de α -alumina, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

A Figura 12 apresenta os perfis termogravimétricos dos produtos obtidos pela mistura física da quitosana e do ibuprofeno na relação 1:1 (m/m) e daquele proveniente da reação em meio aquoso por 72h, juntamente com as curvas TG dos precursores para comparação.

Figura 12: Curvas TG e DTA da quitosana, ibuprofeno, mistura física e complexo iônico em atmosfera de ar, $m \approx 6$ mg, com vazão de 100 ml min^{-1} , em cadinho de α -alumina, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

Comparando-se os resultados obtidos para os precursores e produtos, observa-se que na curva TG da mistura física, os eventos térmicos são bem definidos em 4 etapas, envolvendo a desidratação da quitosana, seguida pela decomposição do Ibu e decomposição do biopolímero. A semelhança de perfis permite concluir que se trata de curva que coincide com aquelas dos precursores, revelando que não há interação entre eles. O detalhamento dos intervalos de temperatura e perdas de massa estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Perda de massa e intervalos de temperatura das amostras de CTS, Ibu, CI e MF.

Amostra	$\Delta m_1(\%)/^\circ\text{C}$	$\Delta m_2(\%)/^\circ\text{C}$	$\Delta m_3(\%)/^\circ\text{C}$	$\Delta m_4(\%)/^\circ\text{C}$	Resíduo
CTS	12,48 (21-180°C)	42,37 (180-400°C)	45,01 (400-660°C)		0,14 (660-1000°C)
Ibu	99,54% (21-249°C)				0,46% (249-1000°C)
CI	11,16% (21-111°C)	42,69% (111-219°C)	19,74% 219-308°C	26,14% 308-566°C	0,27% 566-1000°C
MF	2,58% (21-100°C)	44,41% 100-216°C	25,12% 216-400°C	27,40% 400-650°C	0,34% 650-1000°C

Nas curvas do produto obtido após 72 h de reação, observa-se, inicialmente, uma perda de massa referente à desidratação, seguida de uma nova perda de massa que se assemelha à do Ibu e duas outras semelhantes às da quitosana.

O patamar entre 230-338 °C para o complexo iônico é bastante discreto, por outro lado, esse patamar é distinto nas curvas da CTS e da mistura física, assim como muda o perfil da última etapa, cujas temperaturas de início e fim são inferiores às aquelas observadas na curva TG do biopolímero.

Essas observações são corroboradas pelos resultados apresentados na Fig. 12, que mostra as curvas DTA dos precursores, da mistura física e do produto de reação após 72 h de reação. Nestas curvas é evidente que há a fusão do Ibu, além dos processos de decomposição do fármaco e do biopolímero, em temperaturas semelhantes às aquelas observadas para os compostos originais.

Na curva DTA do produto após 72 h de reação a principal constatação é ausência do pico de fusão do fármaco, assim como uma atenuação significativa na intensidade dos picos de decomposição. Isso mostra forte interação entre o fármaco e o biopolímero, que associada aos resultados de FTIR descritos na sessão anterior reforçam a hipótese da formação do complexo iônico.

4.6.2 Calorimetria Exploratória Diferencial

Curvas DSC do ibuprofeno, foram obtidas com ciclos de aquecimento e de resfriamento, sob razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ e vazão de 50 mL min⁻¹, entre -30 e 100 °C. Analisando os resultados obtidos, observou-se na primeira rampa de aquecimento apenas o pico de fusão do fármaco em 76,9 °C, neste intervalo de temperatura. No resfriamento não foi observado nenhum evento térmico, sugerindo que a amostra manteve-se amorfa. Entretanto, na segunda rampa de aquecimento, notou-se antes da fusão em 76,8 °C, um pico exotérmico alargado, como mostra a Figura 13.

Figura 13: DSC do Ibuprofeno com ciclos de aquecimento (1º e 3º) e de resfriamento (2º) com razão de aquecimento de 10°C e vazão de 50 mL min⁻¹.

A fim de investigar o pico exotérmico antes da fusão, o ibuprofeno foi submetido a vários ciclos de aquecimento/resfriamento, com diferentes razões de aquecimento. Observou-se que em 2,5 °C min⁻¹ na rampa de aquecimento, o pico exotérmico em 37,0°C ficou mais definido. Já com a razão de 5°C min⁻¹, o pico foi deslocado para 48,9°C, como mostra a Figura 14.

Figura 14: DSC do Ibuprofeno com ciclos de aquecimento (A) e de resfriamento (R) com razão de aquecimento de 2,5; 5 e 10°C min⁻¹ e vazão de 50 mL min⁻¹.

Desta forma pode-se concluir que o Ibu não se cristaliza na rampa de resfriamento, mantendo-se amorfo. Porém, ao ser reaquecido o fármaco cristaliza-se e torna a fundir.

Bannach e colaboradores observaram fenômeno semelhante a partir de curvas DSC, usando ciclos de aquecimento/resfriamento, sob N₂ com vazão de 100 mL min⁻¹, a razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹, massa aproximadamente de 2,5 mg e cadinho de alumínio. Os autores propuseram que o ibuprofeno retorna ao estado sólido lentamente após a fusão (BANNACH *et al*, 2010).

Entretanto, isso não explicaria porque o fármaco só cristaliza-se na rampa de aquecimento, mesmo sob razões de resfriamento tão lentas quanto 2,5 °C min⁻¹. Uma possibilidade poderia ser que a cristalização ocorre mediante uma energia de ativação, proveniente do aquecimento, que leva à mudança da fase amorfa para cristalina no sólido.

Por outro lado, comparando-se as curvas DSC do ibuprofeno, da mistura física e do produto após 72 h de reação (Fig. 15), observou-se que a mistura física e o fármaco apresentam o picos de fusão em 76,8°C e 76,9°C respectivamente. Entretanto, no produto de reação após 72 h de reação, não é possível observar o pico de fusão do fármaco, a exemplo do que já se havia sido observado a partir das curvas DTA.

Dessa maneira, sendo a técnica de DSC sensível, evidencia a proposição de que existe uma interação entre a quitosana e o ibuprofeno, ou seja, reforça a idéia da formação do complexo iônico.

Figura 15: DSC do Ibuprofeno, Mistura física e do Complexo Iônico com razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e vazão de 50 mL min^{-1} , $m \approx 3,5 \text{ mg}$.

4.7 RMN ^{13}C

A ressonância magnética nuclear RMN ^{13}C foi utilizada para quantificar o grau de substituição dos grupos amino ($-\text{NH}_2$) da quitosana que foram substituídos pelo ibuprofeno.

O grau de substituição foi calculado de acordo com o valor obtido pela área de C_3 do sal, que é referente ao pico do ibuprofeno (Fig.16) (obtido através da base de

dados “ Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)”, dividindo pelo C_1 da quitosana (Figura 16) .

O grau de substituição obtido pelo RMN ^{13}C , através da equação 9, foi de 55,55%.

$$\text{GS} = C_{3((\text{Sal})} / C_{1(\text{CTS})} \times 100 \quad (9)$$

Na Figura 16, pode-se observar os espectros de RMN ^{13}C , obtidos para as amostras de ibuprofeno, quitosana e do complexo iônico.

Figura 16: Espectros de RMN ^{13}C do ibuprofeno, quitosana e complexo iônico e as estruturas com os carbonos enumerados.

Através dos espectros de RMN ^{13}C , foi calculado o grau de acetilação da quitosana (GA), utilizando a relação do Carbono 7, com o carbono 1 da quitosana (Eq.10). Obteve-se 17,37% de acetilação e 82,63% de desacetilação. Comparando os resultados obtidos por

titulação (GD=80,03%), por RMN ^1H (GD=80,56) e por RMN ^{13}C (GD=82,63), observa-se que os valores estão em concordância.

$$\text{GA} = [\text{C7}/(0,5 \times \text{C1})] \times 100 \quad (10)$$

4.8 Estudos da Dissociação do complexo iônico CTS/IBU utilizando a Espectroscopia na região do UV-Vis

Os espectros de UV-Vis para o Ibuprofeno em pH 2,0 (HCl) e pH 7,0 (Tampão Fosfato, TF) são apresentados na Figura 27. Observa-se que o Ibu apresenta duas bandas, uma centrada em 220 nm e outra em 264 nm para ambos os valores de pH.

A equação 11 apresenta a equação Lambert-Beer (SKOOG *et al*, 2006) utilizada para a determinação do coeficiente de absorvidade molar.

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c \quad (11)$$

Na qual, A= Absorbância

ϵ =coeficiente de absorvidade molar ($\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

l= caminho óptico (cm)

c= concentração (mol L^{-1})

Figura 17: Espectros na região do UV-Vis para o ibuprofeno na concentração de $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em pH 2,0 e pH 7,0.

A Figura 18 apresenta o gráfico da absorbância em função de diferentes concentrações de ibuprofeno em pH 2,0. A partir dos pontos experimentais obteve-se a equação da reta: $y = 7,5 \times 10^{-3} + 464,42X$, $r = 0,999$, $n = 5$. O coeficiente de absorvidade molar em pH 2 do ibuprofeno foi de $464,42 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Figura 18: Gráfico da absorbância (264 nm) em função de diferentes concentrações de ibuprofeno em pH 2.

A Figura 19, mostra o gráfico de absorbância em função da concentração de ibuprofeno em pH 7,0. A partir do gráfico obteve-se a equação da reta $y = 2,13 \times 10^{-3} + 422,53X$, $r = 0,999$, $n = 7$. O coeficiente de absorvidade molar em pH 7,0 do IBU foi de $422,53 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Figura 19: Gráfico da absorbância (264 nm) em função da concentração de ibuprofeno em pH 7.

A dissociação do complexo iônico quitosana/ibuprofeno foi acompanhada durante 9 horas em 264 nm em p.

A massa de complexo iônico colocada para reagir é composta de quitosana livre, quitina e complexo iônico. A quantidade de matéria de ibuprofeno na amostra foi calculada considerando-se o grau de acetilação, o grau de substituição e a massa molar média do complexo iônico resultante por meio da equação 12.

$$n_{IBU} = \frac{(m_{CTS} + m_{CTS/IBU}) \times (GS \times m_{CI})}{MM_{CI}} \quad (12)$$

Sendo:

$$m_{CTS} = MM_{CTS} \times \%CTS_{livre} \quad (13)$$

$$m_{CTS/IBU} = MM_{CI} \times GS \quad (14)$$

Nas quais: n_{IBU} representa o número de mols de ibuprofeno, m_{CTS} é a massa de quitosana, $m_{CTS/IBU}$ é a massa do complexo iônico, GS é o grau de substituição, m_{CI} é a massa do complexo iônico pesada, MM_{CI} é a massa molar do complexo iônico, MM_{CTS} massa molar da quitosana, $\%CTS_{livre}$ é a massa de quitosana livre.

A partir da equação 12 foi possível calcular a massa total de ibuprofeno contida na amostra e então a quantidade dissociada em função do tempo foi estimada, a partir

dos resultados obtidos por espectroscopia de UV-Vis, utilizando-se as curvas analíticas previamente determinadas para o fármaco.

Comparando-se as duas dissociações cumulativas, Figura 20, pode-se perceber que em pH 7,0, após 9 horas praticamente 100% do IBU dissocia-se da matriz de quitosana. Em pH 2,0, observa-se que em 1 hora ocorre a máxima dissociação, em torno de 20% de ibuprofeno se dissocia. Após esse tempo não se observa nenhuma variação. Este fato pode ser adequado, pois em pH 2,0 (pH estomacal) o fármaco não será totalmente dissociado, enquanto que em pH 7,0 (pH intestinal), praticamente todo fármaco foi dissociado.

Figura 20: Gráfico da dissociação cumulativa do ibuprofeno em função do tempo na concentração 1 g L^{-1} do complexo iônico em 264 nm a 37°C

4.9 Estudos da Dissociação do Ibuprofeno utilizando Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida foi utilizada para confirmar a dissociação do ibuprofeno em pH 2,0 e 7,0. Foi utilizada a concentração de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ do complexo iônico. Acompanhou-se a variação da concentração de ibuprofeno em 220 nm em função do tempo e a calibração foi feita por padrão externo. O preparo das soluções foi realizado conforme descrito na seção experimental 3.3.6. As curvas analíticas são apresentadas nas Figuras 21 e 22.

Figura 21: Curva analítica do IBU em pH 2,0. Equação de regressão linear: $y = 2349,47 + 571152,31X$ e coeficiente de correlação linear (r), $r = 0,982$.

Figura 222: Curva analítica do IBU em pH 7,0. Equação de regressão linear: $y = 28609,14 + 5,95 \times 10^6 X$ e $r = 0,999$.

A Figura 23 apresenta o gráfico de concentração de Ibuprofeno dissociada em função do tempo.

Figura 23: Comparação da concentração do Ibuprofeno em função do tempo, utilizando $0,1 \text{ g L}^{-1}$ do complexo iônico, no comprimento de onda de 220 nm, a 37°C .

Analisando-se o gráfico da Figura 23 pode-se observar que em pH 2,0, há um tempo de indução, o que não é observado no pH 7,0. Em pH 7,0 com 20 minutos ocorreu a dissociação de aproximadamente 40 % de IBU, indicando que a dissociação é favorecida em pH 7,0.

Baseado nos resultados obtidos o perfil de dissociação do ibuprofeno em diferentes valores de pH, pode-se propor um mecanismo de dissociação conforme apresentado na Figura 24. O mecanismo leva em consideração o pH do meio, sendo dissociação em pH 7,0 favorecida e dissociação em pH 2,0 desfavorecida.

Figura 24: Esquema da dissociação do complexo iônico CTS/IBU.

4.10 Caracterização do nanocompósito montmorilonita-quitosana contendo ibuprofeno.

A incorporação da quitosana na argila seguiu a metodologia por KEVADIYA *et al.*, conforme descrito na seção experimental 3.2.4.

A caracterização do material preparado foi avaliado por difração de raios X, FTIR e TG/DTA.

4.10.1 Difração de Raios – X

Para avaliar a extensão da intercalação do biopolímero na argila foram realizados experimentos de DRX, para determinação da distância interbasal da argila, utilizando a equação de Bragg (equação 15).

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (15)$$

Na qual,

$n=1$ - (equivale à ordem de difração)

$\lambda=0,154$ nm - (comprimento de onda da radiação incidente)

d - distância interplanar ou interlamelar

θ - máximo da intensidade do pico

A Figura 25 apresenta os difratogramas para as diferentes amostras preparadas e a Tabela 6 mostra as distâncias interlamelares calculadas para as amostras estudadas.

Observa-se que a argila apresenta um pico em $2\theta = 7$, o ibuprofeno apresenta um pico em $2\theta = 6,0$. Desta forma, a distância interlamelar (d_{001}) da MMT é de 12 Å. Na mistura física de MMT/IBU pode-se observar um o pico em $2\theta = 6,0$, relativo ao ibuprofeno. Na argila modificada com ibuprofeno por intercalação em solução (MMT/IBU), nota-se um pico mais alargado com máximos em $2\theta = 6$ e $2\theta = 6,2$, atribuídos ao ibuprofeno e argila, respectivamente. O pico da argila ($2\theta = 7$) é deslocado para valores de menores de 2θ (6,2). Isso indica um aumento da distância interlamelar devido à intercalação do ibuprofeno nas lamelas da argila.

Para o nanocompósito MMT/CTS contendo IBU, observou-se um deslocamento do pico da argila para valores menores de 2θ ($2\theta \sim 3,7^\circ$) resultando em um aumento da distância interlamelar, indicando que além da intercalação do IBU nas lamelas da argila houve a intercalação do biopolímero. Observou-se também que o difratograma do MMT/CTS/IBU apresenta características da quitosana como observado em $2\theta=19,7$. Na

mistura física do nanocompósito com IBU pode-se observar um o pico em $2\theta=6,0$, relativo ao IBU, sendo que este não houve a intercalação do IBU.

Figura 25: Difratomogramas de raios-X das amostras montmorilonita, ibuprofeno, híbrido MMT/IBU, mistura física da MMT/IBU, quitosana, do compósito com IBU e da mistura física do compósito MMT/CTS/IBU.

Tabela 6. Distância interlamelar e valores de 2θ para a argila MMT e MMT/IBU, mistura física, e dos nanocompósitos MMT/CTS/IBU.

Amostras	2θ	d (Å)
MMT	7,4	12,0
IBU	6,0	
MMT/IBU (MF)	6,0	
MMT/IBU	6,0 e 6,2	14,7
MMT/CTS/IBU	3,7	23,9
MMT/CTS/IBU (MF)	6,0	

Deste modo, através dos resultados obtidos foi possível observar que o tanto o ibuprofeno quanto a quitosana intercalam na MMT quando preparados por intercalação em solução.

Trabalhos anteriores de Lertsutthiwong *et al.*, e Hua *et al.*, descrevem a intercalação em solução de quitosana em MMT. Lertsutthiwong *et al.*, em 2012, estudaram a influência da quitosana nas propriedades da matriz quitosana e montmorilonita. Estudos de raios X, mostraram que a quitosana isolada apresentou um pico de difração em $2\theta = 10,5^\circ$ e na montmorilonita de sódio foi observado um pico em $2\theta = 7,1^\circ$. Após a mistura da quitosana com a argila foi observado que o pico de difração da montmorilonita desapareceu e um novo pico foi observado em $2\theta = 5,9-6,1^\circ$. O movimento do pico de difração da montmorilonita de sódio até um ângulo inferior indicou a formação de uma nanoestrutura intercalada, enquanto que o alargamento do pico e intensidade diminuiu sugerindo a presença de uma estrutura intercalada ou esfoliada desordenada (LETSUTTHIWONG *et al.*, 2012).

Hua e colaboradores, em 2010, prepararam um hidrogel de quitosana e montmorilonita com o fármaco ofloxacina (OFL), na qual através da difração de raios X, observaram que a reflexão da quitosana em 2θ apresentou característica de estrutura cristalina hidratada, mas a sua intensidade foi largamente enfraquecida após a formação

das esferas OFL. As reflexões intensas, características em 6° e $10,9^\circ$ devido à presença de cristais de OFL desapareceram no padrão, indicando que a OFL estava dispersa em nível molecular na matriz de polímero, ou intercalada para sistemas híbridos e não foram encontrados cristais nas matrizes carregadas de drogas (HUA *et al*, 2010).

4.10.2 Espectroscopia de absorção de infravermelho com transformada de Fourier

A Figura 26 apresenta o espectro de FTIR da argila MMT, que é composto por uma banda larga na região de $3000 - 3600 \text{ cm}^{-1}$ devido ao estiramento da ligação O-H (hidroxila) e uma banda $1000-1200 \text{ cm}^{-1}$ característica do estiramento da ligação Si-O-Si (silanol). O ibuprofeno apresenta uma banda característica em 1722 cm^{-1} referente ao grupo carbonila C=O. No espectro da argila MMT contendo IBU, pode-se observar que há bandas características de ambos.

Figura 26: Espectros de absorção na região do infravermelho das amostras da argila montmorilonita, ibuprofeno, híbrido MMT/IBU, mistura física da MMT/IBU, quitosana, do compósito com IBU e da mistura física do compósito MMT/CTS/IBU.

Segundo Kevadiya *et al.*, a presença de bandas características nos compósitos de CTS/MMT pode ser uma indicação da intercalação do biopolímero na argila. (KEVADIYA *et al.*, 2012).

4.10.3 Termogravimetria

O ibuprofeno apresenta apenas uma etapa de decomposição de 25 a 234°C, observando a oxidação total do fármaco, sem a formação de resíduos carbonizados. Na curva TG da argila MMT, observou-se 3 perdas de massa, a primeira etapa foi de desidratação entre 25 a 77°C, a segunda perda ocorre entre 77 a 716°C, a partir de 716°C há a formação do resíduo final, em torno de 86% referente aos óxidos metálicos.

A curva TG da MMT/IBU apresenta quatro perdas de massas. A primeira perda de massa ocorre entre 25 e 100°C refere-se a desidratação do material. Em seguida o material anidro decompõe-se em três etapas de perda de massa consecutivas, sendo que a primeira ocorre entre 100 e 243°C, a segunda entre 243 a 468°C e a terceira etapa entre 468 a 1000°C, estas etapas de perda de massa referem-se a oxidação da matéria orgânica levando a formação de cerca de 41% de resíduo devido a formação dos óxidos de metais presentes na argila.

Na curva TG da mistura física, observa-se 3 etapas de decomposição, a primeira ocorre entre 25 e 96°C devido a desidratação da mistura, em seguida 2 etapas de perda de massa consecutivas entre 96 a 237°C e 237 a 704°C. O resíduo formado foi de 45% devido aos óxidos metálicos.

Nos estudos referentes à degradação térmica da quitosana pode-se observar 3 perdas de massa. A primeira corresponde à desidratação 12,48% (21-180°C), a segunda da decomposição do biopolímero 42,37% (180-400°C), e o terceiro a queima do material carbonizado 45,15% (400-660°C).

No compósito CTS/MMT/IBU observa-se 3 eventos de perda de massa, o primeiro entre 20-100°C referente a desidratação com 7,13%, sendo entre 100-343°C com 17,21% e a terceira perda entre 343-705°C com 12,39%, e ao final apresentou resíduo de 59,44%. Já na mistura física do CTS/MMT/IBU observa-se 4 eventos térmicos o primeiro referente a perda de 5,49% de água entre 20-100°C, o segundo entre 100-203°C com 29,96% característico do ibuprofeno, o terceiro entre 203-320°C com 18,61%, o quarto entre 320-580°C com 26,94% resultando em 19% de resíduo.

Através dos resultados obtidos, Fig. 27, sugere-se que o ibuprofeno foi intercalado na argila devido ao surgimento de uma etapa de decomposição e a porcentagem de resíduo formado. Já no compósito sugere-se também que houve a intercalação do ibuprofeno devido as diferenças observadas entre o compósito e a mistura física.

Figura 27: Curvas TG e DTA das amostras ibuprofeno, montmorilonita, híbrido MMT/IBU, da mistura física MMT/IBU, da quitosana, do compósito CTS/MMT/IBU e da mistura física CTS/MMT/IBU em atmosfera de ar, com vazão de 100 mL min⁻¹, massa de amostra em torno de 6 mg, em cadinho de α -alumina e razão de aquecimento de 10°C min⁻¹.

Ainda na Figura 27, são apresentadas as curvas DTA dos compostos isolados, do compósito MMT/CTS/IBU da mistura física MMT/CTS/IBU, híbrido MMT/IBU e mistura física de MMT/IBU. Observa-se os eventos relacionados aos eventos térmicos observados nas curvas TG. Na curva DTA do ibuprofeno, observou-se um pico endotérmico em 78°C referente à fusão do fármaco. Este pico também é observado na mistura física e na MMT/IBU e na mistura física do compósito CTS/MMT/IBU. Também são observados picos endotérmicos referentes à desidratação da amostra e picos exotérmicos referentes à decomposição da matéria orgânica.

Na curva DTA do compósito CTS/MMT/IBU não se observa o pico do ibuprofeno, sugerindo a interação entre o polímero, a argila e o fármaco.

4.10.4 Estudos da dissociação do compósito de MMT/CTS/IBU

A técnica de CLAE foi utilizada para avaliar a dissociação do ibuprofeno da matriz montmorillonita e quitosana no pH 2 e 7. Foi utilizada a concentração de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ do compósito.

Como se pode observar na Figura 28 a dissociação do ibuprofeno do compósito MMT/CTS não é favorecida. Após 60 minutos a concentração de IBU dissociada foi da ordem de $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ para ambos os valores de pH. Enquanto a dissociação do IBU do complexo iônico (CTS/IBU) decorrido esse tempo foi da ordem de $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ para o pH 2,0 e $0,3 \text{ mmol L}^{-1}$ para pH 7,0. Isso indica que a presença da argila no nanocompósito favorece a retenção do IBU na matriz.

Figura 28: Comparação da dissociação cumulativa do Ibuprofeno em função do tempo, em pH 2,0 e 7,0, utilizando $0,1 \text{ g L}^{-1}$ do compósito, no comprimento de onda de 220 nm, a 37°C .

Comparando-se as dissociações nos dois valores de pH observa-se que em pH 7 a dissociação do IBU do material é menor que em pH 2. Resultados similares foram obtidos por Kevadiya *et al.*. Os autores descreveram que a liberação do 5-FU foi

acompanhado nos pH 1,2 e 7,4. Os autores afirmam que a carga negativa da argila aumenta com o aumento do pH, enquanto o fármaco ($pK_a = 8$) permanece carregada positivamente, mesmo em pH 7,4. Isto indica que o fármaco se liga mais fortemente à argila, por isso é liberado lentamente depois de 12 horas a pH 7,4. A presença de biopolímeros nos compósitos influencia a interação entre o fármaco e a argila, por sua vez, acelera a liberação do fármaco a partir do fármaco-biopolímero/argila compósitos. Assim, a liberação do fármaco era comparativamente mais rápida do que os compósitos de argila pura em ambos pH. Assim, aumentando o teor de biopolímero nos compósitos de biopolímero/argila podem aumentar a velocidade de liberação. A liberação de fármacos podem ser controladas por meio do controle da quantidade de biopolímero no compósito (KEVADIYA *et al*, 2012).

5 CONCLUSÃO

O complexo iônico foi obtido através de uma reação entre o grupo $-NH_2$ da quitosana e o grupo $-COOH$ do ibuprofeno em meio aquoso.

A dissociação do ibuprofeno do complexo iônico é favorecida em pH 7 quando comparado a pH 2. Este fato pode ser adequado, pois em pH 2 (pH estomacal) o fármaco não será totalmente dissociado, enquanto que em pH 7 (pH intestinal), praticamente todo fármaco estará dissociado.

No estudo da dissociação do ibuprofeno do nanocompósito MMT/CTS foi observado retenção do ibuprofeno na matriz. Este resultado pode estar relacionado com a intercalação do IBU na argila dificultando a dissociação.

O trabalho pode ajudar na compreensão dos mecanismos de liberação controlada, visto que a dissociação do ibuprofeno é influenciado pelo pH e através do biopolímero quitosana ou do compósito quitosana/argila.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, H. E. P. P. J. **Preparação e caracterização de dispersões sólidas e micropartículas lipídicas contendo Ibuprofeno**. 2009. 136f. Tese Mestrado. Universidade do Porto, Porto, 2009.
- AZEVEDO, M. M. M. **Introdução a Nanotecnologia: um enfoque químico**. Campinas: Instituto de Química da Unicamp, 2002. p. 1-20.
- BALAU, L. E.; AELENEI, N.; POPA, M. I. Preparation and characterization of sodium alginate-chitosan microparticles for controlled release of ibuprofen in a sustainable way. **Environmental Engineering and Management Journal**, v. 8, n. 3, p. 559-567, 2009.
- BANNACH, G.; ARCARO, R.; FERRONI, D. C.; SIQUEIRA, A. B.; TREU-FILHO, O.; IONASHIRO, M.; SCHNITZLER, E. Thermoanalytical study of some anti-inflammatory analgesic agents. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.102, p. 163-170, 2010.
- BATTU, P. R.; REDDY, M. S. RP-HPLC Method for simultaneous estimation of paracetamol and *ibuprofen*. **Asian Journal Research in Chemistry**, v. 2, p. 70-72, 2009.
- BERGAYA, F.; THENG, B. K. G.; LAGALY, G. **Handbook of clay science**. Amsterdã: Elsevier, 2006. p. 1-18
- BODEK, K. H. Study on the rheological properties of microcrystalline chitosan hydrogels used as drug carriers. **Polymer**, v. 45, n.11-12, p. 818-825, 2000.
- BPR guia de remédios. 10ªEd. São Paulo: Editora Escala, 2010. 1056 p.
- BRANT, A. J. C. **Preparação, caracterização de hidrogéis a partir de misturas de soluções de quitosana e poli(N-vinil-2-pirrolidona**. 2008. 170f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- BRUGNCROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLCA, F. M.; ARGUELLES-MONAL, W.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, v. 42, p. 3569-3580, 2001.
- CHUNYIN, L.; LIU, P. Effect of chitosan multilayered encapsulation on controlled release performance of drug-loaded superparamagnetic alginate nanoparticles. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 23, n. 2, p. 393-398, 2012.
- CROISIER, F.; JEROME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 4, p. 780-792, 2013.
- DUDOGNON, D.; DANEDE, F.; DESCAMPS, M.; CORREIA, N. T. Evidence for a New Crystalline Phase of Racemic Ibuprofen. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 12, 2008.

FEITEIRA, J.C. **Estudo sobre polimorfismo de compostos orgânicos: Ibuprofeno e Carboxamidas**. 2010. 73f. Tese (Mestrado em Química) – Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra (FCTUC), Universidade de Coimbra, Coimbra, 2010.

FERRAZ, H. G. **Comprimidos de ibuprofeno: formulação e avaliação do perfil de dissolução**. 1993. 124f. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1993.

FORTEZA, M.; GALAN, E.; CORNEJO, J. Interaction of dexamethasone and montmorillonite – adsorption- degradation process. **Applied Clay Science**, v. 4, p.437-448, 1989.

GERALDO, V. P. N. **Filmes nano estruturados contendo lipossomas para a liberação controlada do ibuprofeno**. 2008. 105f. Tese (Mestrado em Ciências e Engenharia dos Materiais) – Instituto de Física de São Carlos - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

GONÇALVES JR, A. C.; NACKE, H.; FÁVERE, V. T.; GOMES, G. D. Comparação entre um trocador aniônico de sal de amônio quaternário de quitosana e um trocador comercial na extração de fósforo disponível em solos. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1047-1052, 2010.

GRIFFIN, M. R.; MD, MPH. Epidemiology of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated gastrointestinal injury. **The American Journal of Medicine**, v. 104, n. 3, p. 23- 29, 1998.

HORN, M. M. **Obtenção e caracterização de hidrogéis de quitosana, xantana e colágeno aniônico**. 2008. 73f. Tese (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos - Universidade São Paulo, São Carlos, 2008.

HUA, S.; YANG, H.; WANG, W.; WANG, A. Controlled release of ofloxacin from chitosan-montmorillonite hydrogel. **Applied Clay Science**, v. 50, p. 112-117, 2010.

HWANG, D. H.; LEE, D.; LEE, H.; CHOE, D.; LEE, S. D.; LEE, K. Surface functionalization of SBA-15 particles for ibuprofen delivery. **Korean Journal of Chemistry Engineering**, v. 4, n. 27, p. 1087-1092, 2010.

IONASHIRO, M. **Giolito: fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Giz, 2005. 80 p.

Jl, J; HAO, S.; LIU, W.; ZHANG, J.; WU, D.; XU, Y. Preparation and evaluation of O-carboxymethyl chitosan/cyclodextrin nanoparticles as hydrophobic drug delivery carriers. **Polymer Bulletin**, v. 67, n. 7, p. 1201-1213, 2011

KEVADIYA, B. D.; PATEL, T. A.; JHALA, D. D.; THUMBAR, R. P.; BRAHBHATT, H.; PANDYA, M. P.; RAJKUMAR, S.; JENA, P. K.; JOSHI, G. V.; GADHIA, P. K.; TRIPATHI, C. B.; BAJAJ, H. C. Layered inorganic nanocomposites: A promising carrier for 5-fluoracil (5-FU). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, p. 91-101, 2012.

LAKSHMI, M. S., SRIRANJANI, M. BAKRUDEEN, H. B., KANNAN, A. S., MANDAL, A. B., REDDY, B.S.R. Carvedilol/montmorillonite: Processing, characterization and release studies. **Applied Clay Science**, v. 48, p. 589-593, 2010.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.

LEE, K. H., LIN, Y. S.; HUANG, P. J. Design, synthesis, and characterization of novel thiol-derivatized ibuprofen monolayer protected gold clusters. **Journal of Nanomaterials**, v. 2013, 2013.

LERTSUTTHIWONG, P.; NOOMUN, K.; KHUNTHON, S.; LIMPANART, S. Influence of chitosan characteristics on the properties of biopolymeric chitosan–montmorillonite. **Progress in Natural Science Materials International**, v. 22, n. 5, p. 502-508, 2012.

LIN, F. H.; LEE, Y. H.; JIAN, C. H.; SHIEH, M. J.; WANG, C. A study of purified montmorillonite intercalated with 5-fluorouracil as drug carrier. **Biomaterials**, v. 23, p. 1981-1987, 2002.

LIU, W.; HE, G.; QIAN, Z. Preparation of chitosan nanocapsules and their release properties. **Polymer Bulletin**, v. 67, n. 7, p. 1237-1244, 2011.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p.143-154, 2005.

LUPPI, M. D. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. **Preparação, caracterização e estudos de liberação controlada de captopril em uma matriz de quitosana**. São Paulo: FAPESP, 2009. (Relatório Proc. 2009/17143-3).

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J.L.; BRASILEIRO, M. T.; ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O.S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26,n. 5, p. 784-93, 2007.

MAJETI, N. V.; KUMAR, R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v 26, p. 1-27, 2000.

MENDES, F. R.; MOREIRA, B. S. S.; CORTEZ, F. S.; SANTOS, A. R.; CÉSAR, A. Avaliação do efeito agudo dos fármacos ibuprofeno e diclofenaco através de teste de toxicidade com *DAPHNIA SMILIS*. **Revista Ceciliana**, n. 2, p. 9-12, 2010.

MISHRA, B.; PATEL, B. B.; BPHARM, TIWARI, S.; MPHARM. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, p. 9-24, 2010.

MOTRIM: comprimidos. Farmacêutico Responsável: José Cláudio Bumerad, Bula de remédio Pfizer, 2012. Disponível em:
<<http://www.pfizer.com.br/produtos.aspx?Acessibilidade=false>> . Acesso em: 12 nov. 2013.

NIETO, J. M.; PENICHE-COVAS, C.; PADRÓN, G. Characterization of chitosan by pyrolysis-mass spectrometry, thermal analysis and differential scanning calorimetry, **Thermochimica Acta**, v. 176, p. 63-68, 1991.

PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DÍAZ, F. R. V. Argilas organofílicas: características, preparações methods, intercalation, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **Cerâmica**, v. 54, n. 330, p. 213-226, 2008.

POPA, M. I.; LISA, G.; AELENEI, N. Thermogravimetric characterization of chitosan/alginate microparticles load with different drugs. **Polymer Bulletin**, n. 61, p. 481-490, 2008.

QANDIL, A. M.; OBAIDAT, A. A.; ALI, M. A. M.; AL TAANI, B. M.; TASHTOUSH, B. M.; AL-JBOUR, N. D.; AL REMAWI, M. M.; AL-SOU'OD, K. A.; BADWAN, A. A. Investigation of the interactions in complexes of low molecular weight chitosan with ibuprofen. **Journal of Solution Chemistry**, v. 38, n. 6, p. 695-712, 2009.

RASOOL, B. K. A.; ABU-GHARBIEH, E. F.; FAHMY, S. A.; SAAD, H. S.; KHAN, S. A. Development and evaluation of ibuprofen transdermal gel formulations. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 4, p. 355-363, 2010.

RAYMOND, L.; MORIN, F. G.; MARCHESSAULT, R. H. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid NMR. **Carbohydrate Research**, v. 246, p. 331-336, 1993.

RODRIGUEZ, R.; ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A. Interactions of ibuprofen with cationic polysaccharides in aqueous dispersions and hydrogels Rheological and diffusion implications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, p. 429-438, 2003.

ROUQUEROL, J.; WADSON, I.; HAINES, P. J. Developments in nomenclature. In: GALLAGHER, P.; BROWN, M. (Ed.). **Handbook of thermal analysis and calorimetry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. v. 5, cap. 2, p. 21-62.

SAFARI, J.; ZARNEGAR, Z. Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design. A review. **Journal of Saudi Chemical Society**, 2013.

SAKKINEN, M.; LINNA, A.; OJALA, S.; JURJENSON, H.; VESKI, P.; MARVOLA, M. In vivo evaluation of matrix granules microcrystalline chitosan as a gel-forming excipient. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 250, n. 1, p. 227-237, 2003.

SANTOS, J. E. **Preparação, caracterização e estudos termooanalíticos de bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos de cobre**. 2004. 124f. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica), Departamento de Química - Universidade Federal De São Carlos, São Carlos, 2004.

SANTOS, J. E.; DOCKAL, E. R.; CAMPANA-FILHO, S. P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEON, Y. Food applications of chitin and chitosans. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 37- 51, 1999.

SIGNINI, R.; CAMPANA-FILHO, S. P. C. Purificação e caracterização de quitosana comercial. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 8, n. 4, p.63-68, 1998.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER F.J.; CROUCH, S.R., **Fundamentos de química analítica**. São Paulo, Editora Thomson, 2006. 1124 p.

SOGIAS, I. A.; WILLIAMS, A. C.; KHUTORYANSKIY, V. V. Chitosan-based mucoadhesive tablets for oral delivery of ibuprofen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, p. 602-610, 2012.

SOUSA, A. **Híbridos de gel polimérico em sílica mesoporosa estruturalmente ordenada para liberação controlada de fármacos**. 2009. 175f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

TAVARIA, F. K.; FERNANDES, J.; SANTOS-SILVA, A.; SILVA, S. B.; SARMENTO, B.; PINTADO, M. Biological activities of chitin, chitosan and respective oligomers. New York : Nova Science Publishers, 2011. **In:** Focus on chitosan research, 2011, cap. 14, p. 1-27.

TEIXEIRA NETO, E.; TEIXEIRA-NETO, A. A. Modificação química de argilas: desafios científicos e tecnológicos para obtenção de novos produtos com maior valor agregado. **Química Nova**, v.32, n. 3, p. 809-817, 2009.

THOMAS, J. K. Physical aspects of photochemistry and radiation chemistry of molecules adsorbed on SiO₂, γ -Al₂O₃, zeolites and clays. **Chemical Reviews**, v.93, p. 301-320, 1993.

TITA, B.; FULIAS, A.; BANDUR, G.; RUSU, G.; TITA, D. Thermal stability of ibuprofen kinetic study under non-isothermal conditions. **Revue Roumaine Chimie**, v. 55, n. 9, p. 553-558, 2010.

TOLAIMATE, A.; DESBRIERES, J.; RHAZI, M.; ALAGUI, A.; VINCENDON, M.; VOTTERO, P. On influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. **Polymer**, v. 41, p. 2463-2469, 2000.

VAN OLPHEN, H. **An introduction to clay colloid chemistry** . New York: Wiley Interscience, 1977. 1v.

WIN, P. P.; SHIN-YA, Y.; HONG, K. J.; KAJIUCHI, T. Effect of proteolytic enzymes gastrointestinal fluids on drug release from polyelectrolyte complex microspheres based on partially phosphorylated chitosan. **Polymer International**, v. 54, n. 3, p. 533-536, 2005.

ZHANH, D.; ZHOU, C. H.; LIN, C.X.; TONG, D. S.; YU, W. H. Synthesis of clay minerals. **Applied Clay Science**, v. 50, p. 1-11, 2010.

ZHENG, J. P.; LUAN, L.; WANG, H. Y.; XI, L. F.; YAO, K. D. Study on ibuprofen/montmorillonite intercalation composites as drug release system. **Applied Clay Science**, n. 36, p. 297-301, 2007.