UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE DISSOCIAÇÃO DO NAPROXENO EM UMA MATRIZ DE QUITOSANA

RICARDO DOS SANTOS MEDEIROS

São Carlos 2019 **Ricardo dos Santos Medeiros**

PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE DISSOCIAÇÃO DO NAPROXENO EM UMA MATRIZ DE QUITOSANA

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Química Analítica e Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro

Exemplar revisado

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

> São Carlos 2019

"Eu dedico este trabalho aos meus pais, Maria José e Severino e à minha irmã, Renata, por toda a confiança depositada e apoio, por toda ajuda que me proporcionaram. Sem vocês talvez meu caminho seria outro."

Agradecimentos

A Deus por me conceder saúde e permitir que encontrasse esse caminho da Educação na minha vida.

À minha Família: minha mãe Maria José, meu pai Severino, minha irmã Renata, por toda dedicação, carinho e incentivo em todos os momentos da minha vida, sobretudo, na minha transformação em busca de Educação.

À Elizabeth por todo carinho, amor, dedicação, e por todos momentos que vivemos juntos nessa caminhada da vida.

Ao escritório onde trabalhei, especialmente, Marly, Enrico, Matheus, Tiago, Francisco, que me ajudaram e incentivaram muito na busca do conhecimento. Além disso, a todos que passaram por minha vida e contribuíram de maneira significativa.

Ao Henrique e ao Carlos do Laboratório de Química Inorgânica pela ajuda, apoio e recepção quando chegamos à São Carlos, para realização da prova de seleção do curso de mestrado.

Ao Prof. Dr. Éder T. G. Cavalheiro pela disponibilidade de orientação, confiança e pelos ensinamentos durante este curso.

Ao Prof. Dr. Tiago Venâncio da UFSCar pelas contribuições nas medidas de RMN de ¹³C e discussões.

À Profa. Dra. Carla C. S. Cavalheiro pela disponibilização do espaço e do equipamento de cromatografia do Laboratório de Fotoquímica IQSC/USP para realização das análises.

À Dra. Ana Paula G. Ferreira pelas inúmeras ajudas no laboratório, pelas discussões, acolhimento, incentivo no decorrer do trabalho e amizade.

À Dra. Priscila Cervini pela disponibilidade, ajuda, contribuição no desenvolvimento do trabalho e amizade.

Aos colegas de grupos de pesquisa LATEQS IQSC/USP, Hellen, Isabela, Jane, Jonatha, Lucas, Mariani, Marina, Prof. Dr. Rafael M. Buoro e Suysia, pelas discussões e contribuições com respeito ao trabalho.

Ao laboratório LATEQS IQSC/USP pelo espaço para o desenvolvimento do trabalho.

Ao Grupo de Fotoquímica pela colaboração no desenvolvimento do trabalho.

À Dra. Alessandra L. P. Leves pela ajuda na utilização do HPLC.

A agência de fomento CNPq pela bolsa concedida no período do curso.

À Universidade de São Paulo e ao Instituto de Química de São Carlos IQSC

À Seção de Pós-Graduação e à Secretaria do Departamento de Química e Física Molecular do IQSC.

Acreditar na capacitação pessoal é um exercício que requer muita paciência e perseverança. Crescer em uma sociedade que impõe padrões sociais sobre as pessoas não é fácil, visto que as oportunidades não são iguais para toda população. Então, como quebrar este paradigma e conseguir transcender a barreira da imposição social? Uma ferramenta que possibilita acesso a essa dimensão é a Educação. Todavia, como entender que todos somos capazes de chegar onde quisermos? Entender, que a diferença quem faz é você? Este exercício é árduo, pois as realidades são extremamente discrepantes. Entretanto, se as pessoas tiverem motivação advinda de qualquer fonte e acesso à Educação, é um passo fundamental para acreditar que qualquer pessoa pode se capacitar para desempenhar qualquer função, basta ser paciente e nunca deixar de lutar. Acreditem sempre! Nós somos a resistência!

Autoria própria

Resumo

Foram realizados estudos buscando otimizar as condições reacionais para obtenção de um sal (QN) de naproxeno (NAP) e o biopolímero quitosana (QP). Esse sal (QN) foi utilizada para o estudo do equilíbrio de dissociação do anti-inflamatório. Para tanto, foram estudadas as melhores condições em relação aos parâmetros tempo reacional, temperatura de reação e razão molar dos reagentes. Os produtos foram caracterizados por ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio (¹H) e carbono (¹³C), espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier, FTIR, espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível na modalidade reflectância difusa, UV-vis, difração de raios X (DRX) e técnicas termoanalíticas: termogravimetria e análise térmica diferencial simultâneas (TG/DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Além disso, estudou-se a liberação dos gases por termogravimetria acoplada ao espectrômetro de FTIR (TG-FTIR). Verificou-se que o maior rendimento de sal foi obtido nas seguintes condições reacionais: 24 horas, temperatura de 60°C e razão molar de 1 mol de QP para 1,05 mol de NAP. Este produto de reação foi chamado de QN1. Neste caso, quando calculado o grau de substituição (GS) por meio da técnica de RMN de ¹³C, observou-se um GS de 19,1 %, sugerindo uma neutralização do grupo NH₂ ligado ao C2 do biopolímero com o grupo COOH presente no fármaco. Nos espectros de FTIR foram observadas bandas que correspondem a formação de um produto diferente de QP e NAP, corroborando com a hipótese de formação do sal QN1. No espectro do UV-vis notou-se as três bandas referentes à absorção dos grupos cromóforos presentes no sal. Nos difratogramas, verificou-se um pico na região de ~22 θ em QN1, sendo esse já observado como um ombro em QP, porém houve um incremento, além disso, alterações no índice de cristalinidade da quitosana, sugeriram modificações na sua estrutura semicristalina após reação com o NAP. As curvas TG/DTG/DTA mostraram alterações no comportamento térmico do QN1 em relação à QP, evidenciou que a modificação leva a mudanças no comportamento térmico e sugerem a presença de NAP na matriz biopolimérica. A caracterização corroborou hipótese de formação do sal, QN1, pois houveram modificações nos intervalos de perda de massa, assim como, pela razão entre a terceira e segunda perda de massa, pode-se verificar um ganho de estabilidade. Com objetivo de melhorar a capacidade de interação NAP-QP, realizou-se a reticulação das cadeias de quitosana com epicloridrina. No entanto, a reação teve um menor rendimento quando comparada com o sal não reticulado. Verificou-se pelas diferentes técnicas de caracterização, sobretudo, por RMN de ¹³C que, ao invés de organizar e deixar os grupos amino ainda mais suscetíveis à reação, a estrutura da quitosana organizou-se de forma que houve menos interação com o fármaco. Portanto, para os sais QN1 e QPEPIN1 foi realizado o estudo do equilíbrio de dissociação por HPLC, em pH 2,00 e 7,00, simulando condições do intestino e estômago, afim de verificar o seu perfil de dissociação e comportamento nessas soluções. Desse modo, verificou-se que em pH 2,00 para QN1 ocorre a dissociação mais rapidamente quando comparada com pH 7,00. Já o sal reticulado QPEPIN1, sua dissociação em pH 2,00 é mais lenta quando comparada com pH 7,00.

Palavras chave: Quitosana, Naproxeno, Sais de Quitosana.

ABSTRACT

Studies were carried out to optimize the reaction conditions to obtain a naproxen (NAP) salt (QN) and the chitosan biopolymer (QP). This salt (QN) was used for the study of antiinflammatory dissociation equilibrium. For this, the best conditions were studied in relation to the parameters reaction time, reaction temperature and molar ratio of the reactants. The products were characterized by nuclear magnetic resonance NMR of hydrogen ¹H and carbon ¹³C, Fourier transform infrared vibration spectroscopy, FTIR, ultraviolet-visible electronic spectroscopy in the diffuse reflectance, UV-vis, diffraction (XRD) and thermoanalytical techniques: thermogravimetry and differential thermal analysis simultaneous (TG/DTA) and differential scanning calorimetry (DSC). In addition, the evolution of gases by thermogravimetry coupled to spectrometer FTIR (TG-FTIR) was studied. It was found that the higher salt yield was obtained under the following reaction conditions: 24 hours, temperature of 60 ° C and molar ratio of 1 mol of QP to 1.05 mol of NAP. This reaction product was called ON1. In this case, when calculating the degree of substitution (GS) by the ^{13}C NMR technique, a GS of 19.1% was observed, suggesting a neutralization of the NH₂ group bound to the C2 of the biopolymer with the COOH group present in the drug. In the FTIR spectra were observed bands corresponding to the formation of a product different than QP and NAP, corroborating with the hypothesis of QN1 salt formation. In the UV-vis spectrum the three bands were observed for the absorption of the chromophore groups present in the salt. In the diffractograms, there was a peak in the region of $\sim 22\theta$ in QN1, which was already observed as a shoulder in QP, but there was an increase, in addition, changes in the index of crystallinity of chitosan, suggested modifications in its semicrystalline structure after reaction with the NAP. The TG / DTG / DTA curves showed changes in the thermal behavior of QN1 in relation to QP, showing that the modification leads to changes in the thermal behavior and suggest the presence of NAP in the biopolymer matrix. The characterization confirmed the hypothesis of salt formation, ON1, because there were modifications in the intervals of mass loss, as well as, by the ratio between the third and second loss of mass, a stability gain can be verified. In order to improve the NAP-QP interaction capacity, the chitosan chains were crosslinked with epichlorohydrin. However, the reaction had a lower yield when compared to the uncrosslinked salt. It was verified by the different characterization techniques, mainly by ¹³C NMR that, instead of organizing and leaving the amino groups even more susceptible to reaction, the chitosan structure was organized in a way that there was less interaction with the drug. Therefore, for the salts QN1 and QPEPIN1 the study of the equilibrium of dissociation by HPLC, at pH 2,00 and 7,00, was carried out, simulating conditions of the intestine and stomach, in order to verify their profile of dissociation and behavior in these solutions. Thus, it was found that at pH 2.00 for QN1 dissociation occurs more rapidly when compared to pH 7.00. Already the crosslinked salt QPEPIN1, its dissociation at pH 2.00 is slower when compared to pH 7.00.

Keywords: Chitosan, Naproxen, Salts of chitosan

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Fórmula estrutural do naproxeno	1	
Figura 2.	Representação estrutural de quitosana, formada por duas unidades monoméricas, uma desacetilada, representada por GD, outra acetilada, representada por GA		
Figura 3.	Algumas modificações possíveis na estrutura da quitosana	4 5	
Figura 4.	Esquema do procedimento de purificação da quitosana	15	
Figura 5.	Esquema de sínteses dos sais ONs		
Figura 6.	Esquema da reticulação da quitosana com epicloridrina		
Figura 7.	Espectro de RMN de ¹ H da quitosana purificada obtido à 70°C, 400 MHz, em 1mL D ₂ O /1 μ L HCl. No detalhe a atribuição dos hidrogênios presentes na estrutura.	21	
Figura 8.	Representação da reação entre quitosana e naproxeno com a formação do sal	24	
Figura 9.	Representações estruturais da QP, NAP e QN1 para atribuição do RMN de ¹³ C	25	
Figura 10.	Espectros de RMN de ¹³ C do QP, NAP e QN1	26	
Figura 11.	Representação estrutural da quitosana reticulada com a epicloridrina e após reação com o naproxeno, QPEPIN1	28	
Figura 12.	Espectros de RMN de ¹³ C QP, QN1, QPEPIN6 e QN6EPI	29	
Figura 13.	Representações estruturais do copolímero QP, do NAP e do sal QN1	32	
Figura 14.	Comparação dos espectros de RMN de ¹ H QP, NAP e QN1	33	
Figura 15.	Representações estruturais do QPEPI e QPEPIN1	34	
Figura 16.	Espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio das amostras QP, QPEPI, QPEPIN1	35	
Figura 17.	Espectros de FTIR das amostras QP, NAP e QN1	36	
Figura 18.	Espectros de FTIR da quitosana (QP), quitosana reticulada (QPEPI) e produto da reação quitosana reticulada com naproxeno (QPEPIN1)	39	
Figura 19.	Espectros de UV-vis, obtidos no modo reflectância difusa, das amostras QP, NAP, QN1, no estado sólido	41	
Figura 20.	Espectros de UV-vis, no modo reflectância difusa, das amostras QP, QPEPI, QPEPIN1	42	
Figura 21.	Difratogramas de raios X das amostras NAP, QP, QN1 e QPEPIN1	44	

Figura 22.	Curvas TG/DTG (a) e TG/DTA (b) da quitosana em atmosfera dinâmica de ar, com vazão 50 mL min ⁻¹ , massa de amostra aproximadamente 7 mg, em porta amostra aberto de α -alumina, razão de aquecimento 10°C min ⁻¹ .	46
Figura 23.	Curvas TG/DTG (a) e TG/DTA (b) do naproxeno em atmosfera dinâmica de ar, com vazão 50 mL min ⁻¹ , massa de amostra aproximadamente 7 mg, em porta amostra aberto de α -alumina, razão de aquecimento 10°C min ⁻¹	47
Figura 24.	Curvas TG/DTG (a) e TG/DTA (b) do produto QN1 em atmosfera dinâmica de ar, com vazão 50 mL min ⁻¹ , massa de amostra aproximadamente 7 mg, em porta aberto amostra de α -alumina, razão de aquecimento 10°C min ⁻¹	48
Figura 25.	Curvas TG/DTG (a) e TG/DTA (b) do produto QPEPIN1 em atmosfera dinâmica de ar, com vazão 50 mL min ⁻¹ , massa de amostra aproximadamente 7 mg, em porta aberta amostra de α -alumina, razão de aquecimento 10°C min ⁻¹	51
Figura 26.	Gráfico 3D da evolução dos gases provenientes da decomposição do sal.	52
Figura 27.	Figura 27. Espectros evolução de gases em diferentes tempos	53
Figura 28.	Curva DSC do naproxeno em atmosfera dinâmica de N ₂ , com vazão 50 mL min ⁻¹ , massa de amostra aproximadamente 4 mg, em porta amostra de alumínio fechado com furo no centro, razão de aquecimento 10° C min ⁻¹ de -50°C até 210°C, modo aquecimento-resfriamento-aquecimento.	55
Figura 29.	Curva DSC do NAP, QP, QN1 e QPEPIN1 em atmosfera dinâmica de N_2 , com vazão 50 mL min ⁻¹ , massa de amostra aproximadamente 4 mg, em porta amostra de alumínio fechado com furo no centro, razão de aquecimento 10°C min ⁻¹ de 25°C até 210°C, modo aquecimento	57
Figura 30.	(a) Cromatograma da solução de HCl 0,01 mol L-1; (b) Cromatograma	51
-	do tampão fosfato pH 7,00; (c) Cromatogramas médios para o preparo	
	da curva analítica em pH 2,00, na inserção detalhe dos picos; (d)	
	Cromatogramas médios para o preparo da curva analítica em pH 7,00,	
	na inserção detalhe dos picos	59
Figura 31.	Curvas analíticas do NAP em pH 2,00 (vermelha) e 7,00 (preta)	61
Figura 32.	(a) Monitoramento das amostras QN1 e (b) QPEPN1 em diferentes tempos, pH 2,00.	62
Figura 33.	(a) Monitoramento dos sais QN1 e (b) QPEPIN1 em diferentes tempos, pH 7,00	63

Figura 34.	Comparação dos perfis de dissociação do naproxeno em função do tempo nos diferentes meios. (a) QN1 pH 2,00 (preto preenchido) e 7,00 (preto vazado); (b) QPEPIN1 pH 2,00 (vermelho preenchido) e pH 7,00 (vermelho vazado); (c) Curva de dissociação; todos experimentos realizados com detecção em 270 nm e as soluções mantidas a 37,0 °C	64
Figura 35	Proposta do mecanismo de dissociação do NAP a partir do sal QN1 e	66
Figura 36 A.	QPEPIN1, decorrente do estudo por HPLC em pH 2,00 e 7,00Espectros de RMN de ¹³ C do sal QN2 e QN3	80
Figura 37 A.	Espectros de RMN de ¹³ C do sal QN4 e QN5	81
Figura 38 A.	Espectros de RMN de ¹³ C do sal QN6 e QPEPIN6	82
Figura 39 B.	Espectros de FTIR QN1, QN2 e QN3	84
Figura 40 B.	Espectros de FTIR QN4, QN5 e QN6	85
Figura 41 C.	Espectros de Uv-vis, modo reflectância difusa, dos sais QN2, QN3, QN4, QN5, QN6 e QPEPIN6	87
Figura 42 D.	(a) Curva TG/DTG e (b) TG-DTA do sal QN2	89
Figura 43 D.	(a) Curva TG/DTG e (b) TG-DTA do sal QN3	90
Figura 44 D.	(a) Curva TG/DTG e (b) TG-DTA do sal QN4	91
Figura 45 D.	(a) Curva TG/DTG e (b) TG-DTA do sal QN5	92
Figura 46 D.	(a) Curva TG/DTG e (b) TG-DTA do sal QN6	93
Figura 47 D.	(a) Curva TG/DTG e (b) TG-DTA do sal QPEPIN6	94
Figura 48 E.	Comparação dos perfis de dissociação do naproxeno em função do tempo nos diferentes meios do sal QN6 pH 2,00 (preto preenchido) e pH 7,00 (preto vazado), no comprimento de onda de 270 nm, a 37,0 °C	96
Figura 49 E.	Comparação dos perfis de dissociação do naproxeno em função do tempo nos diferentes meios do sal QPEPIN6 pH 2,00 (vermelho preenchido) e pH 7,00 (vermelho vazado), no comprimento de onda de 270 nm, a 37,0 °C.	96
Figura 50 E.	Comparação dos perfis de dissociação do naproxeno em função do tempo nos diferentes pHs dos sais QN8 e QPEPIN6, no comprimento de onda de 270 nm, a 37,0 °C	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Parâmetros utilizados nas sínteses	16
Tabela 2.	Deslocamento químico dos prótons da quitosana	21
Tabela 3.	Valores iniciais e finais do pH do meio reacional	23
Tabela 4.	Áreas relativas referentes aos picos dos carbonos C1, C2 e C1' dos produtos de reação	27
Tabela 5.	Deslocamentos químicos dos espectros de RMN de ¹³ C	31
Tabela 6.	Atribuições das bandas dos espectros de FTIR	38
Tabela 7.	Intervalos de porcentagem de perda de massa e temperaturas	50
Tabela 8.	Dados termodinâmicos referentes aos ciclos de aquecimento	56
Tabela 9.	Características das curvas analíticas, pH 2,00 e 7,00	61
Tabela 10.	Concentrações de equilíbrio do naproxeno nos pH 2,00 e 7,00 dos sais	
	QN1 e QPEPIN1, referente ao acompanhamento da dissociação em 180	
	minutos	65
Tabela 11.	Concentrações de equilíbrio do naproxeno nos pH 2,00 e 7,00 dos sais	00
	QN6 e QPEPIN6, referente ao acompanhamento da dissociação em 180	
	minutos	97

LISTA DE ABREVIATURAS

AINE: Anti-inflamatório não esteroidal;

FTIR-ATR: Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier com reflectância total atenuada;

COX1: Ciclooxigenase 1;

COX2: Ciclooxigenase 2;

DRX: Difração de raios X;

DSC: Calorimetria Exploratória Diferencial;

DTG: Termogravimetria Derivada;

DTA: Análise Térmica Diferencial;

EPI: Epicloridrina;

FTIR: Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier;

GA: Grau de acetilação;

GD: Grau de desacetilação;

GPC: Cromatografia de permeação em gel;

GS: Grau de substituição;

Id: Índice de cristalinidade;

ITC: Titulação calorimétrica isotérmica

 \overline{M} : Massa molar média das unidades acetiladas e desacetiladas;

MET: Microscopia eletrônica de transmissão;

MEV: Microscopia eletrônica de varredura;

NAP: Naproxeno;

P.A.: Pró-analysis;

PVP: Polivinilpirrolidona;

QN1: Produto formado a partir da reação entre quitosana e naproxeno sob as condições: razão molar QP-NAP/ 1,00:1,05; 24 hs; 60°C;

QN2: Produto formado a partir da reação entre quitosana e naproxeno sob as condições: razão molar QP-NAP/ 1,00:1,05; 24 hs; 40°C;

QN3: Produto formado a partir da reação entre quitosana e naproxeno sob as condições: razão molar QP-NAP/ 1,00:1,05; 48 hs; 60°C;

QN4: Produto formado a partir da reação entre quitosana e naproxeno sob as condições: razão molar QP-NAP/ 1,00:1,50; 24 hs; 60°C;

QN5: Produto formado a partir da reação entre quitosana e naproxeno sob as condições: razão molar QP-NAP/ 1,00:1,50; 48 hs; 60°C;

QN6: Produto formado a partir da reação entre quitosana e naproxeno sob as condições: razão molar QP-NAP/ 1,00:1,50; 48 hs; 40°C;

QN6EPI: Sal QN6 reticulado com epicloridrina;

QP: Quitosana;

QPEPI: Quitosana reticulada coma epicloridrina;

QPEPIN1: Produto formado a partir da reação entre quitosana-epicloridrina e naproxeno sob as condições: razão molar QP-NAP/ 1,00:1,05; 24 hs; 60°C;

QPEPIN6: Produto formado a partir da reação entre quitosana-epicloridrina e naproxeno sob as condições: razão molar QP-NAP/ 1,00:1,50; 48 hs; 40°C;

RMN de ¹³C: Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C;

RMN de ¹H: Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H;

SiRNA: Ácidos ribonucleico interferentes pequenos;

TPP: Tripolifosfato;

TG: Termogravimetria;

TG-FTIR: Termogravimetria acoplada a espectroscopia vibracional na região do infravermelho visível com transformada de fourier

UV-Vis: Espectroscopia na região do ultravioleta-visível no modo Reflectância Difusa;

C		
Sun	a	10

I.Introdução	1
I.1. Naproxeno	1
I.2. Quitosana	3
I.3. Interação iônica e sais de quitosanas	7
I.4. Interação entre a matriz biopolimérica de quitosana com o naproxeno	9
II.Objetivo	13
II.1. Objetivo geral	13
II.2. Objetivos específicos	13
III. Materiais e método	14
III.1.Reagentes	14
III.2. Purificação da quitosana	14
III.3. Reação de formação do sal	15
III.4. Reticulação da quitosana	16
III.5. Estudo da dissociação do naproxeno da matriz de quitosana por HPLC	17
III.6.Caracterização dos compostos	19
III.6.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13	
(RMN de ¹³ C) e hidrogênio (RMN de ¹ H)	19
III.6.2. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de	
Fourier (FTIR)	19
III.6.3. Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível no modo	
reflectância difusa (UV-Vis)	19
III.6.4. Difração de raios X (DRX)	20
III.6.5. Análise térmica	20
IV. Resultado e discussão	21
IV.1. Determinação do grau de desacetilação	21
IV.2. Reação de formação do sal	23
IV.3. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN ¹³ C)	25
IV.4. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹ H)	32
IV.5. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier	
(FTIR)	36
IV.6. Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível no modo	
reflectância difusa (UV-Vis)	41

 IV.8. Análise térmica	IV.7. Difração de raios X (DRX)	44
 IV.8.1. Termogravimetria (TG) IV.8.2 Termogravimetria acoplada à espectroscopia vibracional na região do infravermelho – TG-FTIR IV.8.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) IV.8.4 -Estudo da dissociação do naproxeno utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) V. Conclusão VI Propostas de trabalhos futuros	IV.8. Análise térmica	46
 IV.8.2 Termogravimetria acoplada à espectroscopia vibracional na região do infravermelho – TG-FTIR IV.8.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) IV.8.4 -Estudo da dissociação do naproxeno utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) V. Conclusão VI Propostas de trabalhos futuros Referências bibliográficas Apêndice 1	IV.8.1. Termogravimetria (TG)	46
infravermelho – TG-FTIR IV.8.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) IV.8.4 -Estudo da dissociação do naproxeno utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) V. Conclusão VI Propostas de trabalhos futuros Referências bibliográficas Apêndice 1 Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4	IV.8.2 Termogravimetria acoplada à espectroscopia vibracional na região do	
 IV.8.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) IV.8.4 -Estudo da dissociação do naproxeno utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) V. Conclusão VI Propostas de trabalhos futuros Referências bibliográficas Apêndice 1 Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4 Apêndice 5 	infravermelho – TG-FTIR	52
 IV.8.4 -Estudo da dissociação do naproxeno utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) V. Conclusão VI Propostas de trabalhos futuros Referências bibliográficas Apêndice 1 Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4 Apêndice 5 	IV.8.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	55
alta eficiência (HPLC) V. Conclusão VI Propostas de trabalhos futuros Referências bibliográficas Apêndice 1 Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4	IV.8.4 -Estudo da dissociação do naproxeno utilizando cromatografia líquida de	
 V. Conclusão VI Propostas de trabalhos futuros Referências bibliográficas Apêndice 1 Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4 Apêndice 5 	alta eficiência (HPLC)	58
VI Propostas de trabalhos futuros Referências bibliográficas Apêndice 1 Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4 Apêndice 5	V. Conclusão	66
Referências bibliográficas Apêndice 1 Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4 Apêndice 5	VI Propostas de trabalhos futuros	67
Apêndice 1 Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4 Apêndice 5	Referências bibliográficas	68
Apêndice 2 Apêndice 3 Apêndice 4	Apêndice 1	78
Apêndice 3	Apêndice 2	82
Apêndice 5	Apêndice 3	85
Anêndice 5	Apêndice 4	87
Apenalee 9	Apêndice 5	94

I. INTRODUÇÃO

I.1. NAPROXENO

O naproxeno (NAP), (+)-(*S*)-2-(6-metoxi-2-naftil) propiônico, Figura 1, é um derivado da família do ácido propanoico, com fórmula molecular $C_{14}H_{14}O_3$ e massa molar de 230,259 g mol⁻¹. O composto é um ácido fraco, com constante de dissociação de 6,3 x 10⁻⁵, *pKa* 4,2, pouco solúvel em água (25 mg L⁻¹ a 25 °C), contudo solúvel em solventes orgânicos tais como dimetilsulfóxido, dimetilformamida, etanol, metanol, clorofórmio. Sua aparência física é de um sólido cristalino branco, higroscópico, cuja fusão ocorre entre 152-155°C. ^[1-4]



Figura 1. Fórmula estrutural do naproxeno.

Sendo proveniente da família do ácido propanoico, este apresenta uma estrutura composta por uma porção alifática, estrutura do ácido propanoico e uma porção aromática, que remete à estrutura do naftaleno. Além disso, nessa família destacam-se os fármacos ibuprofeno, cetoprofeno, fenoprofeno, butibufeno, flurbiprofeno, dentre outros.^[5]

Trata-se de um fármaco da classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), que apresenta além da ação anti-inflamatória, propriedades antitérmicas e analgésicas. Sendo um anti-inflamatório age reduzindo a dor, inchaço ou vermelhidão, bloqueando a produção de determinadas substâncias que causam a inflamação, como prastaglandinas, prostaciclinas e tromboxanos, que são lipídeos fisiologicamente ativos no processo inflamatório.^[5]

Desse modo, é utilizado no tratamento de artrite reumatoide, osteoartrite, espondilite anquilosante, tendinites, bursites e gota aguda.^[6] É também indicado para cólicas menstruais média e moderada.^[6] É contraindicado a pessoas com sensibilidade a naproxeno e a aspirina, pessoas com asma e urticaria,^[6] ressalta-se o perigo de elevação da pressão cardiovascular. Além disso, qualquer AINEs pode ocasionar sangramento, úlceras, perfurações gastrointestinais durante o tratamento. Constatam-se que esses efeitos adversos ocorrem em aproximadamente 1 % dos pacientes tratados de 3-6 meses e em torno de 2-4 % em pacientes tratados por 1 ano.^[7]

Esse fármaco é comercializado na forma de compridos tabletes, sendo seu princípio ativo um sal de sódio, uma fase mais solúvel em água. As formulações são compostas com excipientes, tais como aminometacrilatos, ácido cítrico, crospovidona, estereato de magnésio, ácido metacrílico, hidroxipropril-metilcelulose, polietilenoglicol, dentre outros. Os excipientes são geralmente compostos inertes, não tóxicos ao organismo, que minimizam a degradação do princípio ativo, no percurso até sua metabolização.^[6-7]

Com relação às suas propriedades farmacocinéticas, o NAP é rapidamente e completamente absorvido no trato gastrointestinal após administração via oral, com uma biodisponibilidade in vivo de 95,0 %.^[6-7] Após administração, o fármaco chega a níveis plasmáticos entre 2 a 4 horas, geralmente, o alívio da dor acontece depois de 1 hora. Quanto ao metabolismo, é metabolizado no fígado, a 6-0-desmetil naproxeno, perdendo o grupo metila do grupo metóxido. Com relação à eliminação do fármaco administrado, cerca de 95,0 % não é metabolizado na urina.^[7]

O naproxeno atua diretamente no processo inflamatório tendo como alvo a inibição das enzimas ciclooxigenases, conhecidas como COX1 e COX2, de forma não seletiva. Essas enzimas estão envolvidas no processo da transformação do ácido araquidônico. À medida que se tem um estímulo lesivo sob a membrana fosfolipídica, inicia-se a catálise na reação de liberação do ácido araquidônico no citoplasma, sendo assim, o tecido passa a liberá-lo, este, por sua vez, é catalisado pela cicloxigenase no mecanismo de produção de prostaciclinas, tromboxanos e prostaglandinas, moléculas as quais são lipídios fisiologicamente ativos e sinalizadores no corpo, responsáveis por induzir inflamações. ^[1,5,8]

Quanto ao comportamento térmico, algumas características foram discutidas, por meio de estudos termoanalíticos de alguns agentes anti-inflamatórios e analgésicos. Bannach e colaboradores investigaram o comportamento térmico do ibuprofeno, cetoprofeno e naproxeno, por TG/DTA, DSC, além de buscarem por métodos espectroscópicos tais como DRX, FTIR a determinação da estrutura molecular, sendo utilizado cálculo teórico para ajudar na interpretação dos dados espectroscópicos.^[9] Sovizi estudou o comportamento térmico dos fármacos naproxeno e celobiose, em que as características de estabilidade térmica, temperatura de fusão, intervalo de decomposição foram obtidos por meio das técnicas de TG/DTG/DTA e DSC, além de realizarem uma investigação cinética.^[10] Zayed e colaboradores estudaram o fármaco naproxeno por espectrometria de massas e análise térmica, quando mostraram o intervalo de decomposição, além dos principais eventos térmicos observados nas curvas

TG/DTG/DTA e DSC. Além disto, propuseram um mecanismo de decomposição com base na curva TG/DTA e espectrometria de massas.^[11]

Na literatura também são encontrados trabalhos envolvendo estudos sobre complexos metálicos. Hasan e colaboradores sintetizaram complexos de (NAP)Co, (NAP)Cu, (NAP)Fe, (NAP)Ag e (NAP)Zn, que foram caracterizados por RMN ¹H, FTIR, DSC, MEV e HPLC, com o objetivo de testar o efeito de diferentes condições como acidez, ambientes químicos oxidantes e redutivos, afim de observar a estabilidade destes compostos. Todos os complexos apresentaram uma maior estabilidade, quando comparados com o naproxeno.^[12] Karfaska e colaboradores sintetizaram novos complexos de cobalto e cádmio com ibuprofeno e naproxeno, os quais foram caracterizados por análise elementar, FTIR, TG/DTG/DTA, os quais foram estudados quanto a estabilidade e decomposição térmica. Além disso, os voláteis foram caracterizados por TG-MS.^[13]

Bettinetti e colaboradores estudaram a interação do naproxeno com alfa-ciclodextrinas e seus análogos não cíclicos maltohexoses. Nesse estudo os pseudocomplexos de inclusão foram caracterizados por DSC e DRX.^[14] Ivanovi e colaboradores estudaram a interação de misturas físicas binárias entre os anti-inflamatórios naproxeno, ibuprofeno e cetoprofeno com os polímeros polivinilpirrolidona (PVP), hidrometilcelulose e metilcelulose por DSC. Nesse estudo buscaram verificar o efeito da quiralidade na interação desta mistura.^[15] Esses trabalhos destacam-se entre outros, que tem como base a interação do naproxeno com outras moléculas. [16-17]

I.2. QUITOSANA

Em 1859 Rouget descobriu a quitosana quando reagiu quitina com a solução de hidróxido de potássio em ebulição. No entanto, ainda não foi nomeada como quitosana, o que só ocorreu no final do século 19, em 1894, quando Feliz Hoppe-Seyler nomeou tal produto da reação como quitosana. Esse biopolímero foi produzido em escala industrial primeiramente no Japão.^[18]

A quitosana (QP), Figura 2, é um copolímero formado por unidades monoméricas 2amino-2-deoxi-*D*-glicopiranose e 2-acetamido-2-deoxi-*D*-glicopiranose, unidas por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4), de forma randômica.^[19] É um polissacarídeo derivado da quitina, sendo obtida por meio da hidrólise alcalina, reação conhecida como desacetilação.^[20] Para se obter a quitosana, necessita-se que o produto da reação apresente um grau médio de desacetilação de \geq 50 %.^[21]



Figura 2. Representação estrutural de quitosana, formada por duas unidades monoméricas, uma desacetilada, representada por GD, outra acetilada, representada por GA.

A quitina é um polissacarídeo estrutural presente nos exoesqueletos de crustáceos tais como caranguejos, camarões, lagostas e em menor quantidade, em insetos, moluscos e paredes celulares de fungos.^[22-23] Há três formas polimórficas estruturais da quitina, (α)-quitina, (β)-quitina, (γ)-quitina, essas são características da origem do material utilizado.^[24-25] Como característica é um material insolúvel em água.

A quitosana é um biopolímero mais solúvel que a quitina, visto que no processo de desacetilação, formam-se grupos amina em sua estrutura, possibilitando uma protonação nesses sítios e, por sua vez, aumentando a solubilidade do composto. Contudo, a solubilidade depende de algumas propriedades da molécula, sendo estas o grau médio de desacetilação, a massa molar, a viscosidade e a força iônica.^[21] Desse modo, este é solúvel em ácidos orgânicos diluídos, dentre eles, tem-se ácido acético, ácido fórmico, ácido lático, dentre outros.^[20]

Dessa maneira, o grau de acetilação ou desacetilação é utilizado para caracterizar as quitosanas, estando diretamente relacionados com algumas propriedades, tais como pK_a , massa molar e viscosidade. ^[26]

Sua massa molar média varia de acordo com o processo de produção. Comporta-se como um polieletrólito catiônico, com pK_a em torno de 6,3, que depende de vários fatores como massa molar média e grau de desacetilação. ^[25]

Os grupos amina e hidroxila presentes em sua estrutura possibilitam reações de modificação características, tais como *N*-aquilação, *N*-acilação, intercruzamentos de cadeias, formação de sais, bases de Schiff, dentre outras. ^[21, 27] Algumas reações de modificações são apresentadas na Figura 3.



Figura 3. Algumas modificações possíveis na estrutura da quitosana.^[21,27,63]

Na literatura são encontrados vários métodos que permitem a caracterização das propriedades físico-químicas da quitosana. O grau de acetilação pode ser determinado por métodos espectroscópicos como ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono, RMN ¹H e ¹³C; por espectroscopia vibracional na região do infravermelho, FTIR; por espectroscopia na região do ultravioleta-visível, UV-vis; além de outras técnicas como titulação potenciométrica, por calorimetria exploratória diferencial^[92] e análise elementar.^[21, 28-29]·A massa molar média da quitosana pode ser estimada por viscosimetria, além da cromatografia por exclusão de tamanho.^[30-31]

Destaca-se por ser um material versátil com propriedades físico-químicas e biológicas atraentes, apresentando biocompatibilidade, biodegradabilidade, mucoadesividade, atividade antimicrobiana, atóxica, tem a capacidade de coordenar metais e habilidade de agir como matriz para o carregamento e liberação controlada de substâncias.^[32-33]

Devido à ampla gama de possibilidades de modificação estrutural e as propriedades biológicas citadas acima, vários estudos sugerem modificações que permitam usar a QP como uma matriz para o transporte de fármacos. Assim, ácido fólico, anticorpos, peptídeos, ácido hialurônico, dentre outros, são utilizados como agentes funcionalizadores visando aumentar a interação com o fármaco de interesse, melhorando o reconhecimento de íons, moléculas, antígenos, dentre outros e auxiliando na montagem de sistemas com relevância na área de tratamento terapêutico.^[33] Ademais, a reticulação das cadeias de quitosana com adição de agentes reticulantes pode aumentar a eficiência de interação com os princípios ativos de interesse. Desse modo, glutaraldeído, tripolifosfato de sódio (TPP), genipina, epicloridrina, entre outros, são utilizados.^[33,66]

Na medicina regenerativa, a quitosana é empregada na engenharia de tecidos. Como exemplo pode-se citar a formação de filmes contendo medicamentos para aplicação direta no tecido lesionado. Além disso, tendo em vista sua propriedade mucoadesiva, medicamentos administrados por *via* oral que podem ser degradados ou adsorvidos em sistemas biológicos, são administrados junto com o biopolímero, aumentando a eficiência de ação, diminuindo a perda de princípio ativo durante o percurso na *via* biológica.^[34-36]

Devido a sua limitada solubilidade em pH neutro a preparação de derivados tem sido bastante explorada, sobretudo quando se trabalha com liberação controlada. Desse modo, dependendo da modificação na estrutura da quitosana, pode-se alterar suas características hidrofílicas ou hidrofóbicas, assim, verificam-se reações entre quitosanas e açúcares, glicolquitosana no transporte de doxorrubicina, SiRNA, *L*-Asparginase, etc. ^[34,37] Além destes, encontra-se na literatura vários outros trabalhos de derivatizações da quitosana, como a formação de sais quartenários de amônio, com objetivo de melhorar as propriedades e estudar o comportamento no transporte de drogas hidrofóbicas.^[38] Derivados preparados pela inserção de 5-pentil-trimetilamônio e dodecilaldeído foram caracterizados por RMN de ¹H, FTIR-ATR e TEM.^[38] Como resultado, os agregados formados assumiram um formato esférico, o copolímero apresentou propriedades para ser utilizado como transportador de fármacos hidrofóbicos.^[38]

Barbosa e colaboradores sintetizaram derivados anfifílicos zwiteriônicos de quitosanas. A caracterização desses sistemas foi realizada por RMN de ¹H, FTIR e GPC. Essa modificação permitiu um aumento de solubilidade desse sistema. Além disso, esse sistema foi testado no ensaio MTT com células HeLa e L929, como resultado foi obtido boa citocompatibilidade.^[39] Tiera e colaboradores sintetizaram quitosanas derivatizadas com fosforilcolina, sendo estas caracterizadas por RMN de ¹H e FTIR, essa modificação com o grupo fosforilcolina permitiu um aumento na solubilidade, sendo o sistema solúvel em pH quase neutro.^[40]

Na área farmacêutica, encontram-se estudos nos quais a quitosana é empregada como excipientes de medicamentos devido às suas propriedades mucoadesiva, baixa toxicidade, atividade antimicrobiana e antifúngica, podendo atuar sinergicamente com os princípios ativos no alvo em questão no organismo.^[41] Além disso, na indústria alimentícia é utilizada como aditivo alimentar e suplemento em dietas para auxiliar na perda de peso, além de ser uma molécula com potencial no transporte de lipídeos, ácidos graxos, colesterol, ajudando no processo de absorção no intestino.^[42-43]

Apesar de todos esses efeitos a favor, ainda há uma insegurança na utilização de quitosana como excipiente, visto que ensaios clínicos são requeridos pelas agências reguladoras farmacêuticas.^[44] Outro fator, no processo de produção de quitosanas pode haver contaminações sendo obtidos produtos impuros que, por sua vez, podem causar alergias quando consumidos.^[44] Além disso, no processo de extração o material já pode ser extraído com algum contaminante. Na utilização como suplemento alimentar, foi estabelecido que o ser humano pode ingerir até 2000 mg de quitosana por dia.^[44-45]

I.3. INTERAÇÃO IÔNICA E SAIS DE QUITOSANA

A interação iônica torna-se atraente no estudo da dissociação de moléculas de matrizes sensíveis a alterações de pH. Nesse sentido, a formação de sais a partir de quitosanas é uma alternativa visto que esse biopolímero responde à alterações no pH. Na literatura há um grande número de trabalhos sobre sais de quitosana. Qandil e colaboradores investigaram as interações de complexos de quitosanas de baixa massa molar com ibuprofeno utilizando como técnicas a RMN de ¹H, DSC e FTIR.^[46] Os resultado, mostraram que a preparação de complexos com baixas concentrações de polímero é mais eficiente, uma vez que a quitosana assume uma conformação mais acessível para interação do grupo amina com o grupo carboxilato do ibuprofeno.^[46]

Boosongrit e colaboradores estudaram a ligação de insulina, diclofenaco de sódio e ácido salicílico, com quitosanas, tendo como objetivo obter sistemas micro/nanoestruturados. O estudo mostrou a capacidade de aprisionamento dessas moléculas na matriz biopolimérica.^[47]

Entretanto, os autores concluíram que a interação foi fraca para controlar a liberação do medicamento.^[47]

Além disso, em outro estudo Boosongrit e colaboradores, caracterizaram a interação iônica de insulina e ácido benzoico, com quitosanas microparticuladas, no qual utilizaram as técnicas de caracterização de RMN de ¹H, FTIR e titulação calorimétrica isotérmica (ITC) ^[48] Dessa maneira, concluíram por meio de medidas de ITC que a interação de ambos os fármacos foi fraca e não houve mudanças entálpicas consideráveis, significando que possivelmente essas moléculas estavam fisicamente aprisionadas ao biopolímero.^[48]

Na temática de formação de sais de quitosanas, Saito e colaboradores estudaram por RMN de ¹³C no estado sólido os sais de quitosana com ácidos orgânicos e inorgânicos, buscando a caracterização conformacional de polimorfos e da estrutura helicoidal, mostrando como as alterações dos deslocamentos químicos estão relacionadas a cada estrutura.^[49] Desse modo, foi observado dois tipos de estruturas helicoidais, Tipo I (sais dos ácidos: HNO₃, HClO₄, HBr, HI e CF₃COOH), no qual o RMN mostrou que C1 e C4 da estrutura da quitosana aparecem como um pico singleto, indicando uma conformação 2-dobra-helicoidal e Tipo II (sais dos ácidos: HCl, H₂SO₄, H₃PO₄, HIO₄ e HCOOH), o C1 aparece como um pico dubleto separado, sendo a conformação 4-dobra-helice da unidade do dímero. Além disso, foram observadas mudanças nos deslocamentos químicos dos C1 e C4 quando formados os sais ^[49]

Andre e Domard investigaram sais de ácidos carboxílicos com quitosanas em solução e em estado sólido, empregando FTIR e técnicas potenciométricas para caracterizar o tipo de interação em solução aquosa e em filmes.^[50] Dessa maneira, pelas técnicas acima foi possível observar que em solução aquosa as interações são puramente eletrostáticas, e o grau de formação do sal depende da força do ácido. Além disso, esses sais podem formar filmes dependendo do modo de secagem e do tempo de armazenamento.^[50]

Imai e colaboradores estudaram a interação do anti-inflamatório indometacina com quitosanas de baixa massa molecular (3800, 7600, 14000 e 25000 Da), buscando melhorar a solubilidade deste fármaco.^[51] Como técnicas de caracterização foram utilizados a DSC, DRX, FTIR, RMN de ¹³C, assim como estudos de dissolução e estudos de absorção *in vivo*. Assim, quatros tipos de quitosanas de baixa massa molecular com diferentes graus de desacetilação foram investigadas, sendo testadas em solução e em estado sólido. O estudo concluiu que a melhor quitosana foi a de menor massa molar e menor grau de desacetilação, possibilitando um

aumento da solubilidade da indometacina, um medicamento pouco solúvel, melhorando sua absorção.^[51]

Portanto, como evidenciado nos parágrafos anteriores, já existem estudos visando o aproveitamento da interação iônica de fármacos com quitosana, entretanto, ainda se faz necessário explorar e investigar as propriedades destes para buscar desenvolvimento em suas aplicações.

I.4. INTERAÇÃO ENTRE MATRIZ BIOPOLIMÉRICA COM NAPROXENO

Na literatura, foram descritos estudos envolvendo sistemas quitosana-naproxeno que visam melhorar a capacidade de dissolução e permeação do fármaco. Corti e colaboradores investigaram sistemas quitosana-naproxeno preparados a partir misturas físicas, *"kneading"*, moagem e coevaporação. Nesse estudo sais de glutamatos e cloridratos de quitosanas com diferentes massas molares, foram utilizados com a finalidade de observar o comportamento de dissolução e averiguar as propriedades de permeação em monocamadas de células do tipo Caco-2 e membranas lipofílicas.^[52] A caracterização destes sistemas foi feita por DSC, MEV, HPLC, além dos estudos de velocidade de dissolução e permeação de membranas. Desse modo, concluiu-se que ambos os sistemas melhoraram a dissolução, contudo, os sais de glutamato foram mais eficientes que os cloridratos. O método que resultou em um melhor sistema de transportador foi de moagem.^[52]

São encontrados outros estudos relativos ao preparo de sistemas binários formados a partir de quitosanas de diferentes massas molares e naproxeno, por meio de várias técnicas buscando melhorar a propriedade de dissolução do fármaco.^[53] Dessa maneira, Mura e colaboradores caracterizaram esses sistemas por DSC, DRX, FTIR e MEV, sendo concluído que o aumento na propriedade de dissolução se deu com o aumento da quantidade de polímero. Além disso, a quitosana de baixa massa molar foi mais eficaz que a de média massa molar. Foi constatado que a moagem foi o método mais efetivo.^[53]

Bhise e colaboradores buscaram elucidar o efeito de diferentes métodos de secagem, bem como, o efeito do entumescimento e erosão da matriz, na liberação de fármaco a partir de sistemas quitosana-naproxeno.^[54-55] Assim, sistemas de quitosana-naproxeno foram preparados pelos métodos de secagem *spray drying* e *tray drying*. A esses sistemas foram adicionados os polímeros κ -carragena e hidroxipropilmetilcelulose, com o objetivo de retardar a liberação. Estes foram caracterizados por DSC, DRX, FTIR e MEV. Ao final, verificou-se que as matrizes com κ -carragena retardaram mais eficientemente a liberação do fármaco que a hidroxipropilmetilcelulose. Além disso, os complexos com κ -carragena apresentaram um grau de entumescimento maior e mais rápido que os complexos com hidroxiproprilmetilcelulose, possibilitando o retardamento na liberação do fármaco. Com relação à erosão, ambos complexos foram afetados pelas condições de pH de dissolução médio, sendo a erosão alta em meios ácidos.^[54]

Em outro estudo, Bhise e colaboradores investigaram o efeito de polímeros de cargas opostas nas propriedades de dissolução média, inchaço, erosão e liberação de medicamento em matrizes de quitosana.^[55] Neste estudo, propuseram a interação de quitosanas com κ -carragena e hidroxipropilmetilcelulose com a finalidade de melhorar a integridade dos tabletes prensados de quitosanas com relação a dissolução. Além disso, ainda verificaram a influência de soluções tamponadas e da razão molar entre o fármaco e o polímero nas propriedades mencionadas acima. Utilizaram como técnicas de caracterização FTIR, DRX e concluíram que há uma liberação rápida nas matrizes de quitosana com hidroxipropilmetilcelulose enquanto nas matrizes com κ -carragena a liberação foi lenta. A interação de carga teve estequiometria 1, além da interação iônica estar ausente com o polímero hidroxipropilmetilceulose. Quando comparadas as duas matrizes de quitosana mais polímeros adicionados, a matriz de κ -carragena absorveu mais água.^[55]

Ainda na proposta de aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis, Maestrelli e colaboradores investigaram a influência de sais de glutamato e cloridratos de quitosanas na velocidade de dissolução de naproxeno em monocamadas de células Caco-2. Nesse, trabalharam com sistemas de misturas físicas e misturas moidas (pulverizadas).^[56] A caracterização dos produtos formados foi realizada pelas técnicas de DSC, DRX, MEV, além disso, foram realizados os testes de dissolução. Como resultado, observou-se que os sistemas preparados por moagem (pulverização) foram mais efetivos que as misturas físicas. Verificou-se que os sistemas formados com glutamatos permitiram uma melhora significativa na permeabilidade, porém nas células, não foram observados efeitos tão efetivos, a melhora se deu uma vez que o processo de difusão passiva transcelular do naproxeno foi mais eficaz.^[56]

Zerrouk e colaboradores estudaram o efeito de misturas de quitosanas e polivinilpirrolidona (PVP) nas propriedades de dissolução e efeito analgésico do naproxeno. Nessa investigação foram preparados sistemas sólidos binários com diferentes razões fármaco-

polímero por técnicas de misturas físicas, moagem, amassamento.^[57] As formulações foram caracterizados por DSC, DRX, FTIR, MEV e foram realizados os experimentos de dissolução. Observou-se que além da razão fármaco-polímero, o método de preparação teve uma influência significativa no processo de dissolução, contudo, houve uma melhora com os dois polímeros. Com a quitosana, a dissolução do naproxeno foi mais efetiva do que a PVP.^[57]

Rege e colaboradores trabalharam com sistemas de misturas quitosana-naproxeno, tendo como objetivo avaliar o efeito do eletrólito na liberação do naproxeno de sódio *in vitro*.^[58] Desse modo, estudaram a velocidade de dissolução intrínseca em pH 1,2, 3,8 e 6,8, para os tabletes de quitosanas com diferentes composições do eletrólito, tais como NaCl, CaCl₂, AlCl₃ e estereato de magnésio. Estes pH são possíveis regiões do corpo em que o fármaco pode agir. Os tabletes foram caracterizados pelas suas dimensões, força de esmagamento, friabilidade (capacidade esfarelamento), tempo de desintegração, além de ser estudado o perfil de liberação *in vitro*. Como resultado, verificaram que todos os fatores analisados influenciam na liberação, sendo obtidas respostas diferentes para cada cátion. A liberação mais lenta ocorreu com o eletrólito contendo o íon cálcio, já nas matrizes com sódio e alumínio a liberação ocorreu mais rápida.^[58]

Meller estudou a influência de diferentes tipos de quitosanas na biodisponibilidade de anti-inflamatórios em suplementos para a perda de peso.^[59] Foram utilizados métodos biofarmacêuticos no processo de investigação da biodisponibilidade. Sendo assim, estudou-se a absorção dos fármacos cetoprofeno e naproxeno. O estudo permitiu constatar que a absorção média variou de 92,0 % a 96,0 %, dependendo do pH. A absorção mais elevada ocorreu em pH acima de 7,00. ^[59]

Perchyonok e colaboradores investigaram o efeito dos anti-inflamatórios, aspirina, ibuprofeno e naproxeno em hidrogéis de quitosanas.^[60] Neste estudo, buscaram formar um produto bioativo, além de avaliar seu efeito na força de ligação na dentina. Assim, caracterizaram a morfologia desses hidrogéis por MEV, além de estudar o seu comportamento de liberação. Como resultado, concluíram que a ação do hidrogel com o fármaco, causa um efeito sinérgico, quando comparado com a administração somente do fármaco. Além disso, há um aumento da força de ligação com a dentina, demonstrando ainda a atividade *in vitro* contra ação de radicais livres.^[60]

Na proposta de transporte de medicamento, foi investigada a síntese e atividade biológica de nanocápsulas de quitosanas com naproxeno, caracterizados por MEV.^[61] Neste

trabalho, Gouda e colaboradores sintetizaram as nanopartículas pelo método da gelificação iônica com tripolifosfato. Concluíram que diversos fatores afetam o tamanho médio de partícula, tais como tempo de agitação, temperatura, pH, bem como a concentração de quitosana. Esses parâmetros foram otimizados na preparação das nanopartículas. Por fim, as nanocapsulas de quitosana-naproxeno foram testadas contra bactérias Gram positivas, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, e Gram negativas, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Além disso, testaram-se a atividade anti-fungica contra *Saccharomyces cerevisiae*.^[61]

A proposta deste trabalho advém de uma linha de pesquisa na qual o biopolímero quitosana vendo sendo utilizado como matriz para interação com fármacos, e desenvolvidos pelo grupo de pesquisa no Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções. Peres em 2014 ^[26] estudou a dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de quitosana e argila montmorilonita, enquanto Luppi ^[62] em 2009 desenvolveu o trabalho de preparação, caracterização e estudos de liberação controlada de captopril em uma matriz de quitosana, dentre outros, que envolveram o biopolímero quitosana.^[18,63]

Desse modo, o presente trabalho visa a preparação de sais de quitosana e naproxeno variando os parâmetros de síntese, tais como tempo de reação, temperatura e razão molar. Os produtos obtidos foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono (RMN de ¹³C) e de hidrogênio (RMN de ¹H), espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível (UV-vis) no modo reflectância difusa, difração de raios X (DRX), termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG) e análise térmica diferencial (DTA), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria acoplada a espectroscopia vibracional na região do infravermelho (TG-FTIR).

II. OBJETIVOS

II.1. GERAL

Neste trabalho pretende-se estudar a formação do sal QN, a partir de uma reação de neutralização entre os grupos amino presentes na matriz biopolimérica da quitosana com os grupos carboxila que se encontram na estrutura do fármaco naproxeno, sendo explorados alguns parâmetros reacionais tais como tempo reacional, temperatura e razão molar, afim de encontrar e otimizar a melhor condição de síntese. Além disso, será investigada a interação e comportamento de sais compostos pelo fármaco e quitosana reticulada com epicloridrina.

Uma vez obtida a caracterização do sal, serão realizados os estudos do equilíbrio de dissociação, objetivando monitorar o comportamento de dissociação do naproxeno dessa matriz, simulando condições biológicas do estômago e do intestino, em pH 2,00 e 7,00.

II.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (a) Determinar o grau de desacetilação da quitosana (GD);
- (b) Caracterizar os produtos das sínteses por técnicas espectroscópicas e de análise térmica, para determinar a melhor rota de preparação dos sais e posterior estudo da dissociação;
- (c) Realizar estudos do equilíbrio de dissociação por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC);

III. MATERIAL E MÉTODOS

III.1. Reagentes

Os reagentes utilizados neste trabalho foram todos de grau analítico, PA e utilizados como recebidos, exceto a quitosana que foi purificada como descrito na seção III.2. Utilizaramse os seguintes reagentes: ácido acético glacial (J.T. Baker); ácido clorídrico (Panreac); hidróxido de amônio (Nuclear), hidróxido de sódio pureza 97% (Spectrum), álcool etílico absoluto (Synth), acetonitrila (Mallinokrodt) 99,9 %, ácido fosfórico (Mallinokrodt) 85,5%, dihidrogenofosfato de potássio (Spectrum), hidrogenofosfato disódico (J.T. Baker). Quitosana de baixa massa molar (Sigma Aldrich), óxido de deutério (Sigma Aldrich), naproxeno (Pharmanostra) pureza 99,49 % e epicloridrina (Sigma Aldrich) pureza $\geq 99,0$ %.

As soluções foram preparadas utilizando água ultrapura, obtida a partir de um sistema Barnsted TM EASYpure Rodi (Thermo Scientific, modelo D13321, EUA), condutividade 18.2 Ω cm⁻¹, após passar em um sistema de osmose reversa OS 10LZ (Gehaka, São Paulo, Brasil).

III.2. Purificação da quitosana

A quitosana foi purificada usando-se o método reportado por SIGNINI e colaboradores ^[64-65], no qual 15,0 g de quitosana comercial foram adicionados a uma solução de ácido acético 3% e mantidas sob agitação por cerca de 18 horas. A solução foi filtrada em funil de placa sinterizada. Para a precipitação da quitosana, adicionou-se uma solução de hidróxido de amônio concentrado, NH₄OH, seguido, de agitação por cerca de 1 hora. Deixou-se o precipitado decantar, feito isso, realizou-se uma série de lavagens com água deionizada pelo processo de sifonação até a neutralização da água de lavagem pH entre 7 - 8. Após atingir a neutralidade filtrou-se o sistema com funil sinterizado separando o precipitado, este foi lavado com etanol para auxiliar no processo de secagem da amostra, que foi feita em estufa, à temperatura de 40°C, por 72 horas, sob pressão reduzida.^[64-65] Além disso, durante o processo de secagem foi realizada a pulverização do material de modo manual, isto é, à medida que secava, passava-se o produto para um almofariz, macerava-o e novamente colocava-o na estufa para continuar sua secagem. Ao final do processo, o rendimento da quitosana purificada foi de 83,0 % em média, n = 4.

A Figura 4 ilustra as etapas do processo de purificação da quitosana.



Figura 4. Esquema do procedimento de purificação da quitosana.

III.3. Reação de formação do sal

Para reação de formação do sal, foi suspenso o naproxeno em 300 mL de H_2O deionizada e, a esta solução, foi adicionada quitosana purificada (pó). O sistema foi mantido sob agitação magnética (520 rpm) e aquecimento controlado . Ao final do tempo reacional, o sólido obtido foi lavado com etanol e seco à temperatura de 40°C. O esquema de síntese é mostrado na Figura 5.



Figura 5. Esquema de sínteses dos sais QNs.

Para retirar o excesso de naproxeno que não reagiu, após secos os produtos, esses foram suspensos em 200 mL de etanol, deixados em agitação magnética por 2 horas, filtrados e secos novamente em estufa à 40 °C.

Desse modo, buscou-se estudar os parâmetros de reação que resultassem em maior rendimento na formação do sal, tais como o tempo de reação, a estequiometria dos reagentes e a temperatura da reação. A Tabela 1 sumariza os diferentes parâmetros utilizados.

Reação	Razão QP-NAP/ mol:mol	Relação QP-NAP (m:m) / mg	Tempo de reação / h	Temperatura reação / °C
QN1	1,00:1,05	660:827	24	60
QN2	1,00:1,05	660:827	24	40
QN3	1,00:1,05	660:827	48	60
QN4	1,00:1,50	660:1378	24	60
QN5	1,00:1,50	660:1378	48	60
QN6	1,00:1,50	660:1378	48	40

Tabela 1. Parâmetros utilizados nas sínteses

III.4. Reticulação da quitosana

Suspenderam-se 700 mg quitosana em 300 mL de água deionizada, sob agitação. Em seguida, adicionou-se a solução de NaOH 0,01 mol L⁻¹ até pH 10, condição na qual é possível a adição de agente reticulante. Sendo assim, adicionaram-se 166 μ L de epicloridrina, calculada a partir da estequiometria de 2 mol de hidroxilas da quitosana para 1mol de epicloridrina. O sistema foi mantido sob agitação por 2 horas à 40°C. Finalizado o período, filtrou-se a solução e lavou-se o sólido com água e etanol. O sólido filtrado foi seco em estufa à 60°C por 2 horas,

seguindo o procedimento adaptado de Silva e colaboradores.^[66] O processo é esquematizado na Figura 6.



Figura 6. Esquema da reticulação da quitosana com epicloridrina.

A reticulação foi realizada por duas rotas diferentes. Na primeira, partiu-se da QP e reticulou com epicloridrina, assim formou-se QPEPI, em seguida reagiu-se com NAP, formando QPEPIN1. Na segunda rota, partiu-se de QN6 reagiu com epicloridrina, formando QN6EPI. Para ambas foram seguidos o procedimento apresentado acima.

III.5. Estudo da dissociação do naproxeno da matriz de quitosana por HPLC

Os estudos de dissociação do fármaco em pH 2,00 e 7,00, simulando as condições do estômago e intestino respectivamente, foram realizados. O acompanhamento da dissociação do naproxeno da matriz de quitosana foi feito empregando a cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC.

O cromatógrafo de HPLC utilizado foi o da Shimadzu, modelo LC-20AD, utilizou-se um banho ultratermostatizado MA – 184 Marconi, sendo os estudos realizados simulando a temperatura corpórea de 37 °C.

Os métodos propostos para determinação do naproxeno por HPLC foram adaptados da literatura.^[26, 67] Em pH 2,00, o método utilizado foi: fase móvel H₃PO₄ 0,01 mol L⁻¹ e

acetonitrila, nas porcentagens (55:45), fase estacionária coluna C18 Phenomenex 5,0 μ m, 250 mm, 4,6 mm, fluxo de 1,5 mL min⁻¹, volume de injeção de 20,0 μ L. O detector utilizado foi o ultravioleta (UV), no comprimento de onda de 270 nm, o tempo de retenção do NAP foi detectado em 8,7 min. Em pH 7,00, o método utilizado foi: fase móvel tampão fosfato pH 7,00 e acetonitrila, nas porcentagens (55:45), fase estacionária coluna C18 Phenomenex 5,0 μ m, 250 mm, 4,6 mm, fluxo de 0,5 mL min⁻¹, volume de injeção de 20,0 μ L. O detector de UV foi usado no comprimento de onda de 270 nm, o tempo de retenção do NAP foi 5,8 min.

As curvas analíticas foram obtidas a partir de soluções de concentração conhecidas nos pH 2,00 e 7,00, considerando a solubilidade do fármaco, 25,0 mg L⁻¹, em água a 25 °C. Para tanto, em pH 2,00, partiu-se de 1,20 mg de naproxeno em que foi solubilizado em 12,0 mL de etanol, sendo esse volume considerado desprezível, completou-se o volume o balão de 50,0 mL com ácido clorídrico 0,010 mol L⁻¹. Assim, a faixa de concentração variou de 2,50x10⁻⁶ – 1,04x10⁻⁴ mol L⁻¹. Em pH 7,00, solubilizou-se 5,00 mg de naproxeno em tampão fosfato pH 7,00, em um balão de 50,0 mL. Desse modo, a faixa de concentração variou de 1,0x10⁻⁶ – 1,25x10⁻⁴ mol L⁻¹.

Para os estudos do equilíbrio de dissociação, 5,00 mg dos sais QN1 ou QPEPIN1 foram solubilizados em 50 mL dos solventes ácido clorídrico 0,01 mol L⁻¹ ou tampão fosfato pH 7,00, essas soluções foram mantidas a 37 °C. e sob agitação. O acompanhamento cinético foi realizado mediante a retirada de alíquotas em tempo programados. Em pH 2,00 foi de 11 em 11 minutos (min), uma vez que o tempo de corrida determinado foi de 9,5 min. Em pH 7,00 foi de 10 em 10 min., visto que o tempo de corrida delimitado foi de 8,00 min. Antes de cada injeção, as alíquotas foram filtradas utilizando-se filtro cromatográfico de seringa (CHROMAFIL PET-45/15 MS), tamanho 0,45 μ m. O acompanhamento da dissociação do naproxeno foi realizado por 180 min.^[26]

III.6. Caracterização dos compostos

III.6.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono – RMN de ¹³C e hidrogênio RMN de ¹H

Os espectros de RMN de ¹H foram obtidos em um espectrômetro da Marca Agilent Tecnologies – modelo 400/54 premium shielded. – 9,4 Tesla (400 MHz para frequência de hidrogênio); com detecção de ¹H, ¹³C e ³¹P. Cerca de 10 mg de amostra foram solubilizados em 1mL de D₂O e 10 μ L de HCl. A solução foi deixada sob agitação por 18 horas à temperatura ambiente. Os experimentos de RMN de ¹H foram realizados na Central de Análises Químicas Instrumentais – CAQI – do Instituto de Química de São Carlos – IQSC – USP.

Os espectros de RMN de ¹³C em estado sólido foram obtidos em um espectrômetro da Bruker Avance III-400 – 9,4 T (399,94 MHz para o núcleo de hidrogênio), equipado com uma sonda para amostras em estado sólido com giro em torno do ângulo mágico (MAS-4mm). As amostras foram condicionadas em um rotor de 4 mm. O rotor foi girado em torno do seu ângulo mágico a uma rotação de 5KHz. Os experimentos de RMN de ¹³C em estado sólido foram realizados no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

III.6.2. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro IRAffinity-1 FTIR (Shimadzu) entre 400-4000 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹ e 32 varreduras. Tanto os materiais quanto o sal KBr a serem analisados foram deixados sob lâmpada incandescente 100 W para evitar a absorção de água. As pastilhas foram preparadas pela mistura de 5,0 mg de amostra para 95,0 mg de KBr.

III.6.3. Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível no modo reflectância difusa (UV-Vis)

Os espectros de absorção das amostras na região do ultravioleta-visível foram obtidos em um espectrofotômetro UV-Visível-NIR da marca Shimadzu, modelo UV 3600, com um módulo acoplado para análise de amostras sólidas, no modo reflectância difusa. As medidas foram realizadas no intervalo de 800-200 nm. Os espectros obtidos foram convertidos para o modo absorbância mediante aplicação da transformação de Kubelka-Munk.^[68]

III.6.4. Difração de raios X (DRX)

Para as medidas de difração de raios X, utilizou-se o difratômetro de raios X da marca Bruker, modelo D8 Advance equipado com uma fonte de radiação de cobre (λ =1,54 Angstron) e detector sensível à posição. Os difratogramas foram adquiridos no modo θ / 2 θ acoplado com um passo de 0,02 graus e tempo de acumalação de 0,5s.

III.6.5. Análise Térmica

As curvas de termogravimetria e análise térmica diferencial simultâneas (TG/DTA) das amostras de quitosana purificada, bem como, dos sais formados, foram obtidas utilizando o módulo simultâneo TG/DTA - SDT Q600 da TA Instruments, gerenciado pelo programa Thermal Advantage for Q Series (v. 5.5.24). As medidas foram feitas sob atmosfera dinâmica de ar seco, vazão de 50 mL min⁻¹, utilizando massa de amostra 7,0 ± 0,2 mg, pesadas com precisão de ± 0,1 µg, intervalo de temperatura de 25 – 1000°C, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e suporte de amostra aberto de α -alumina. O equipamento foi previamente calibrado com índio metálico 99% segundo informações do fabricante e, em seguida, verificado com oxalato de cálcio mono-hidratado conforme a norma ASTM 1582.

O SDT-Q600 da TA Instruments acoplado ao espectrômetro de FTIR da Nicolet, modelo iS10, foi utilizado para identificar os gases liberados a partir da decomposição do material durante o aquecimento. A linha de transferência é composta por um tubo de aço inoxidável de 120 cm e com diâmetro interno de 2 mm, aquecido em temperatura constante de 230 °C. A medida de FTIR foi realizada com um detector DTGS em uma célula de gás com temperatura constante de 250 °C. As curvas termogravimétricas foram obtidas em atmosfera de N₂, vazão de 60 mL min⁻¹, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e massa de amostra de ~15 mg.

As curvas DSC foram obtidas em um módulo Calorimétrico Diferencial Q10, controlado pelo programa Thermal Advantage Series (v. 5.5.24), ambos da TA Instruments, usando massa de amostra de 4,0 mg \pm 0,1 mg, em um suporte fechado de alumínio com furo central de 0,7 mm na tampa e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹. A medida foi realizada entre 25 e 210 °C (ciclo 1), -50 e 210°C (ciclos 2 e 3), sob atmosfera dinâmica de N₂, vazão de 50 mL min⁻¹, no modo aquecimento-resfriamento-aquecimento.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1. Determinação do grau de desacetilação (GD)

Para determinação do grau de desacetilação (GD) da quitosana purificada foi obtido seu espectro de RMN de ¹H (Figura 7). De acordo com os procedimentos de Hirai e colaboradores^[29] e Guinesi e colaboradores^[69] foi calculado o GD pela integral dos sinais referentes aos hidrogênios *N*-acetil e 2-6 da quitosana. ^[29,69] A Tabela 2 apresenta as informações referentes aos deslocamentos químicos utilizados nos cálculos e observado no espectro da Figura 7.



Tabela 2: Deslocamento químico dos prótons da quitosana

Figura 7. Espectro de RMN ¹H da quitosana purificada obtido à 70°C, 400 MHz, em 1mL D₂O /1 μ L HCl. No detalhe a atribuição dos hidrogênios presentes na estrutura.

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C da QP já são bem definidos na literatura.^[26, 29,70] Os valores das áreas integradas referentes aos hidrogênios do grupo CH₃, H7, e dos H2, H3, H4, H5, H6 e H6² foram utilizadas para determinação do GD, dessa maneira, pela Equação 1.
$$GD(\%) = \left\{ 1 - \left(\frac{\frac{1}{3}I_{H7}}{\frac{1}{6}I_{H2-H6}}\right) \right\} X \ 100 \tag{1}$$

em que GD é o grau de desacetilação em porcentagem; I_{H7} é a integral da área da porção acetilada; I_{H2-H6} é a soma das áreas dos hidrogênios de 2 a 6.

Para a quitosana utilizada o GD foi de 89,9%. Assim, sua estrutura apresenta 89,9% de grupos amino livres e 10,1% de grupos acetamida. Dessa maneira, foi possível calcular a massa molar média das unidades do copolímero formado por unidades acetiladas e desacetiladas.

Levando-se em conta os valores de massa molar das unidades acetiladas e desacetiladas e ainda o grau de desacetilação e acetilação foi possível calcular a massa molar média das unidades do copolímero pela Equação 2:

$$\overline{M}_{unidades} = \left[(M_D \ x \ GD) + (M_A \ x \ GA) \right]$$
⁽²⁾

em que $\overline{M}_{unidades}$ é igual a massa molar média da quitosana das unidades acetiladas e desacetiladas; M_D é igual a massa molar do monômero desacetilado ; M_A é massa molar do monômero acetilado; GD é o grau de desacetilação; GA é igual ao grau de acetilação.

Portanto, a unidade de polímero utilizada apresentou massa molar média de 165,4 $g mol^{-1}$. Esse valor foi empregado como referência para trabalhar as proporções do polímero nas reações.

. . .

IV.2. Reação de formação do sal

Buscando a preparação do sal de quitosana-naproxeno, QN, foram variados alguns parâmetros reacionais para otimizar a melhor condição de síntese. Os parâmetros estudados foram tempo, temperatura e razão molar. O pH do meio reacional foi medido no início e ao final de cada reação. O pH inicial refere-se a uma solução de NAP à qual acaba de ser adicionado QP ou QPEPI e o pH final após o tempo definido para reação. A Tabela 3 apresenta as variações de pH do meio reacional nas diferentes condições empregadas.

Amostra	pH inicial	pH final	∆pH
QN1	4,59	5,36	0,77
QN2	4,89	5,24	0,35
QN3	4,91	5,22	0,31
QN4	4,95	5,17	0,22
QN5	4,98	5,35	0,37
QN6	4,20	5,02	0,82
QPEPIN1	4,56	5,35	0,79
QPEPIN6	4,75	5,31	0,56

Tabela 3. Valores iniciais e finais do pH do meio reacional

Em todos os casos houve aumento do pH ao final da reação. O valor de pH do meio inicial estava próximo ao pK_a do naproxeno, 4,2, significando que as espécies desprotonada e protonada estavam presentes em quantidades aproximadamente iguais. Assim, na solução têmse íons H₃O⁺, NAP ionizado e NAP não ionizado, de acordo com Equação 3.

$$HNAP_{(aq)} \longrightarrow NAP^{-} + H^{+}_{(aq)}$$
⁽³⁾

$$H_{3}N-QP^{+}_{(aq)} \longrightarrow H_{2}N-QP_{(aq)} + H^{+}_{(aq)}$$

$$HNAP_{(aq)} + H_2 N-QP \implies NAP H_3 N-QP_{(s)}$$
⁽⁵⁾

Com a reação, o pH do meio reacional se mostrou maior. Essa elevação pode ser decorrente da reação do grupo amino da quitosana com o hidrogênio proveniente do grupo carboxila do naproxeno, uma vez que a protonação do mesmo ocorre em valores de pH abaixo do pK_a da quitosana, da ordem de 6,3. Nessas condições, o grupo amino é protonado, formando a espécie –NH₃⁺ e o grupo carboxila encontra-se na forma –COO⁻, sugerindo a formação do sal,

de acordo com as Equações 4 e 5.^[1-4; 21,27] Além disso, a quitosana sendo uma base fraca também eleva o pH do meio.



A Figura 8 representa a reação entre a quitosana e o naproxeno formando o possível sal.

Figura 8. Representação da reação entre quitosana e naproxeno com a formação do sal.

Os produtos obtidos sob diferentes condições, foram caracterizados por RMN de ¹³C e ¹H, FTIR, UV-vis, TG/DTG/DTA, DSC e DRX.

IV.3. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹³C





Figura 9. Representações estruturais da QP, NAP e QN1 para atribuição dos sinais de RMN de ¹³C.

A Figura 10 apresenta os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono 13 em estado sólido das amostras QP, NAP e QN1, como representativos os demais estão no apêndice 1.



Figura 10. Espectros de RMN de ¹³C do QP, NAP e QN1.

Em relação à quitosana, seus principais sinais estão em 23,7 ppm, referente ao CH_3 presente no grupo *N*-acetil de sua estrutura; em 57,5 ppm decorrente ao C2, C2'; em 61,1 ppm proveniente do C6; em 75,5 ppm decorrente do C3, C5; em 81,6 ppm tem-se o sinal do C4; em 105,2 ppm referente ao C1, esses carbonos são do anel glicopiranosídico. Em 174,7 ppm tem-se um sinal do carbono da carbonila, C=O dos grupos *N*-acetil ainda presentes na estrutura polimérica. Esses sinais foram atribuídos de acordo com a literatura. ^[70]

Já em relação ao naproxeno, observam-se seus principais sinais em 178,9 ppm referente ao C1' do grupo carboxila; na região de 115-150 ppm têm-se os sinais característicos da região aromática do anel naftalênico; de 10-60 ppm encontram-se os sinais da porção alifática. Assim, atribui-se em 158,1 ppm ao C2' e em 104,2 ppm ao C11', que sofrem os efeitos de indução e de ressonância do grupo metóxi presente na molécula. Em 53,1 ppm tem-se o pico correspondente ao C12', CH₃ do metóxi, em 46,8 ppm encontra-se o sinal do C13'; em 17,0 ppm verifica-se o sinal proveniente do C14'.^[71-72]

Uma vez atribuídos os respectivos sinais dos carbonos presentes nas moléculas de quitosana e naproxeno, reagentes de partida na formação do sal, buscou-se analisar e atribuir os picos dos produtos formados nas diferentes condições de síntese. Além disso, visando quantificar a extensão da reação, calculou-se o grau de substituição de acordo com Equação 6.

$$GS = \frac{C1'}{C2} X \ 100 \tag{6}$$

Nessa Equação, C1'refere-se à área integrada com relação ao carbono da carboxila do naproxeno e C2 refere-se ao carbono no qual o grupo amino encontra-se ligado. A área integrada utilizada como base foi a do pico referente ao C1 da quitosana, carbono anomérico, que foi usado como referência e ao qual atribuiu-se o valor relativo de 1,0 para sua área, uma vez que não sofre alteração em seu sinal.

Outro fator que poderia sugerir alguma reação seria a alteração dos deslocamentos químicos dos picos C1', C12', C13' e C14' da molécula de naproxeno à medida que houvesse a formação do sal, além do alargamento dos picos agudos característicos do fármaco.

A Tabela 4 apresenta os dados relativos áreas dos picos dos sais formados, nas diferentes condições e os valores do grau de substituição calculados para cada sal.

	QP	QN1	QN2	QN3	QN4	QN5	QN6	QPEPIN6
C1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
C2	0,90	0,89	0,97	0,87	0,93	0,85	0,78	0,84
C1'	-	0,17	0,17	0,12	0,12	0,12	0,11	0,03
GS(%)	-	19,1	17,5	13,8	12,9	14,1	14,1	3,57

Tabela 4. Áreas relativas referentes aos picos dos carbonos C1, C2 e C1' dos produtos de reação

De acordo com os resultados de RMN de ¹³C, a síntese que resultou no maior rendimento foi aquela denominada QN1, cujos parâmetros foram definidos na Tabela 1. Essa condição foi considerada a melhor pois, atingiu um grau de substituição de 19,1 %.

O espectro de RMN de ¹³C do sal QN1 foi atribuído, o sinal característico ao carbono C1' encontra-se em 182,7 ppm; ao lado, em 173,9 ppm observa-se o sinal correspondente ao carbono da carbonila, C=O, do grupo *N*-acetil; em 157,9 ppm tem-se o sinal atribuído ao C2';

na região de 115-150 ppm verificam-se os sinais referentes ao anel do grupo naftalênico. Nessa região, em 105,2 ppm tem-se o sinal correspondente ao C1. Na região de 55-95 ppm apresentam-se os sinais correspondentes aos carbonos: C2 em 57,1 ppm; C6 em 59,9 ppm; C3 e C5 em 75,45 ppm; C4 em 81,4-86,1 ppm. Possivelmente, o sinal em 53,1 ppm referente ao C12 do naproxeno foi encoberto pelo sinal de C2 da quitosana em 57,1 ppm. No entanto, o sinal correspondente ao C13' encontra-se em 50,0 ppm. Ao final observa-se o sinal característico ao CH₃ do *N*-acetil em 23,7 ppm. A atribuição para os demais espectros, QN2, QN3, QN4, QN5, QN6 foi semelhante ao descrito para QN1. ^[29, 69-71] Esses espectros são apresentados no Apêndice 1.

Com relação à alteração dos deslocamentos químicos, o sinal referente ao grupo carboxila, C1' observado em 178,9 ppm no naproxeno deslocou-se levemente para 182,7 ppm, o sinal em 46,8 ppm referente ao C13 deslocou-se para 50,0 ppm, o sinal em 16,98 ppm decorrente a C14 deslocou-se ligeiramente para 18,3 ppm no QN1, sugerindo possível formação do sal.^[71] Além disso, houve um alargamento dos sinais do naproxeno.

A Figura 11 apresenta a fórmula estrutural do sal de quitosana reticulada e naproxeno, com os carbonos identificados.



Figura 11. Representação estrutural do sal de quitosana reticulada com a naproxeno e após reação com o naproxeno, QPEPIN1.

Os espectros de RMN de ¹³C são apresentados na Figura 12.





O espectro de RMN de ¹³C do QN1 já foi discutido na seção anterior, sendo observados os sinais referentes ao naproxeno em 182,7 ppm (C1'), 157,9 ppm (C2') e na faixa de 150 a 115 ppm referente ao anel naftalênico. Além disso, ocorre uma diminuição no valor da integral do sinal em 57,1 ppm que é relativo à quitosana.

De acordo com o espectro de RMN de ¹³C do QPEPIN6, Figura 12, pode-se dizer que o NAP se encontra presente no composto, uma vez que os sinais referentes ao fármaco podem ser

observados em 182,4 ppm, 153,8 ppm e na faixa de 150-115 ppm. O aumento da intensidade do sinal em 59,8 ppm, confirma a reação de reticulação das cadeias biopoliméricas com epicloridrina, com base no descrito na literatura. ^[72-73]

Com o objetivo de avaliar se a ordem reacional (inclusão do fármaco/reticulação das cadeias poliméricas) interferiria no produto final como demonstrado no item III.4, foi preparado o QN6EPI que foi reticulado após a formação do sal. Neste caso, os sinais referentes aos naproxeno em 183,7 e 158,1 ppm não foram observados. No entanto, sinais poucos intensos estão presentes na faixa de 150-115 ppm, sugerindo a presença do anel naftalênico.

Tal resultado pode ser consequência da baixa concentração final do fármaco na cadeia polimérica devido às condições reacionais às quais ele foi submetido para realização da reticulação com epicloridrina.

Quando calculado o grau de substituição (GS), para o sal QN1, sem o grupo reticulante, foi encontrada a maior interação, quando comparada com o sal reticulado QPEPIN6. Os resultados sugerem que a reticulação de alguma maneira deixa os grupos amino da quitosana menos expostos, tornando sua interação com o fármaco menos efetiva.

Como observado por RMN de ¹³C, a reticulação não foi efetiva para QN6EPI. Desse modo, para as demais técnicas, foram caracterizados os produtos de síntese QNs e QPEPIN8.

Os valores dos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN de ¹³C foram sumarizados na Tabela 5.

δ Deslocamento químico																	
	C1'	C=0	C2'	Anel naftalênico	C1	C11'	(c)	(b)	C4	C3,C5	C6	(a)	C2, C2'	C12'	C13'	CH ₃	C14'
NAP	178,9	*	158,1	115,0-150,0	*	104,2	*	*	*	*	*	*	*	53,1	46,8	*	17,0
QP	*	174,7	*	*	105,2	*	*	*	81,6	75,5	61,1	*	57,5	*	*	23,7	*
QN1	182,7	173,9	157,9	115,0-150,0	105,2	98,0	*	*	81,4	74,5	59,9	*	57,1	*	50,0	23,7	18,3
QN2	183,1	174,7	158,1	115,0-150,0	105,2	97,6	*	*	81,5	75,6	59,9	*	57,1	*	49,4	23,7	20,4
QN3	182,9	174,6	157,8	115,0-150,0	105,2	99,5	*	*	81,6	75,5	60,0	*	57,2	*	49,6	23,6	19,2
QN4	182,6	174,6	157,9	115,0-150,0	105,2	98,0	*	*	81,5	75,5	60,0	*	57,2	*	49,9	23,8	21,1
QN5	182,6	175,0	158,1	115,0-150,0	105,2	97,7	*	*	81,5	75,5	60,0	*	57,2	*	49,5	23,6	20,6
QN6	182,8	174,5	158,1	115,0-150,0	105,2	97,6	*	*	81,6	75,6	60,0	*	57,2	*	49,4	23,9	17,6
EPI*	*	*	*	*	*	*	100,2	86,1	*	*	*	59,8	*	*	*	*	*
QPEPIN6	182,4	173,8	153,8	115,0-150,0	105,1	98,1	100,2	86,1	81,4	75,42	60,9	59,8	56,9	*	49,3	26,3	22,6
QN6EPI	*	174,3	*	115,0-150,0	105,3	99,30	100,2	86,1	81,3	75,9	59,9	59,8	57,2	*	48,9	26,9	23,5

Tabela 5. Atribuição dos deslocamentos químicos dos espectros de RMN de ¹³C dos produtos de partida e dos sais formados

IV.4. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H

A Figura 13 apresenta as representações estruturais do QP, NAP, QN1, definindo a posição dos hidrogênios para atribuição nos respectivos espectros de RMN de ¹H.





A Figura 14 apresenta os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, da molécula de quitosana, do naproxeno e do produto de reação QN1, os quais foram os únicos obtidos além dos QPEPI e QPEPIN1, devido ao problema de solubilidade em água os demais sais QNs não foram submetidos ao estudo de RMN de ¹H.



Figura 14. Comparação dos espectros de RMN de ¹H QP, NAP e QN1.

A quitosana apresenta seus principais sinais na região de 5,22-3,52 ppm. Além disso, o sinal referente ao *N*-acetil aparece em 2,36 ppm. Já para o naproxeno, os sinais dos hidrogênios da região do anel naftalênico encontram-se entre 8,70-7,50 ppm (b, c, d, e, f) outros sinais são observados em 6,07 ppm, além disso, 4,39 ppm (g) em 3,77 ppm (j). Em campo mais alto, observaram-se mais dois sinais um 2,63 ppm e outro 1,58 ppm (k).^[71-72;74]

Assim, ao comparar os espectros dos compostos de partida com o produto formado, observou-se no espectro de QN1 a presença tanto dos sinais característicos da molécula de naproxeno, bem como da molécula da quitosana. Em suma, os sinais referentes ao anel naftalênico de 8,5-7,5 ppm são observados (b, c, d, e, f), houve a diminuição de intensidade dos sinais em 8,66 e 6,07 ppm presentes no naproxeno, o sinal do hidrogênio 1, 5,23 ppm, e o sinal

do hidrogênio 2, 3,52 ppm aparecem no espectro QN1. Observou-se a diminuição do sinal característico do naproxeno em 3,71 ppm (j). O sinal em 3,86 ppm referente ao hidrogênio (g) foi sobreposto pelos sinais da quitosana que apareceram na região do produto QN1 de 4,50-3,85 ppm. Ao final, verificou-se ainda a presença dos sinais característicos do naproxeno (k) na região de campo mais alto. No entanto, não foi observada a dissociação do produto QN1 uma vez que não apareceu o sinal na região de 10 ppm, referente ao hidrogênio da carboxila da molécula de naproxeno.

A Figura 15 apresenta as representações estruturais da quitosana reticulada e do sal reticutado, utilizada para atribuição dos espectros de RMN de ¹H.



Figura 15. Representações estruturais do QPEPI e QPEPIN1.

Foram ainda realizadas as análises de RMN de ¹H para os sistemas reticulados. A Figura 16 apresenta os espectros de RMN de ¹H das amostras de QP, QPEPI e QPEPIN1.



Figura 16. Espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio das amostras QP, QPEPI, QPEPIN1.

Os sinais característicos de QP aparecem na região de 5,4-2,4 ppm do espectro, já discutidos anteriormente, apontados como H1-H6' e CH₃. Ao comparar o espectro de QP com o espectro de QPEPI, observou-se o aparecimento de novos sinais atribuídos à reticulação da epicloridrina à cadeia biopolimérica da quitosana, sendo eles (a) 2,47, (b) 3,77-3,76, (c) 1,58 e (d) 8,66 ppm, provavelmente, este último pico provém da abertura do anel glicopiranosídico, sendo uma região característica de aldeídos. A comparação de QPEPI com QPEPIN1, mostra o surgimento de novos sinais provenientes do naproxeno, na região de 8,5-7,5 ppm referente ao anel naftalênico, foi observado outro em 1,88 ppm. Outros sinais característicos do naproxeno são sobrepostos pelos sinais da quitosana, na região citada anteriormente. Dessa maneira, verifica-se, assim como por RMN de ¹³C, que o material reticulado interage menos com o naproxeno, pois os sinais observados são pouco intensos, o que foi atribuído ao fato de que, provavelmente, seus sítios de interação estão menos disponíveis.

IV.5. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Foram realizadas medidas de espectrofotometria vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos compostos de partida (quitosana e naproxeno) e dos produtos finais de síntese. A Figura 17 apresenta os espectros de FTIR de QP, NAP e QN1.



Figura 17. Espectros de FTIR das amostras QP, NAP e QN1.

No espectro em preto QP apresentado na Figura 17, observam-se as principais bandas da quitosana: na região entre 3600-3100 cm⁻¹ verificam-se sinais referentes ao estiramento axial do grupo O-H sobreposto ao grupo N-H, da unidade desacetilada. Em 2917 e 2877 cm⁻¹ têm-se as bandas de estiramentos simétrico e assimétrico de C-H do anel, dos grupos CH₂OH do polissacarídeo.^[75] Em 1662 cm⁻¹ observa-se a banda referente à deformação axial de C=O de amida I, presentes nas unidades acetiladas. Em 1604 cm⁻¹ verifica-se a banda de deformação axial no plano, correspondente ao estiramento N-H, em 1552cm⁻¹ encontra-se a banda

deformação angular de amida II, proveniente das ligações de hidrogênio envolvendo as ligações C=O, N-H, O-H ligados ao carbono 6 do anel glicopiranosídico.^[76] Em 1425 cm⁻¹ verifica-se a banda de deformação axial de C-N da amida, em 1325 cm⁻¹ tem-se a banda de deformação axial de amida III, decorrente do grupo *N*-acetilglucosamina.^[77] Além disso, em 1382 cm⁻¹ encontrase a banda referente a deformação angular simétrica do grupo CH₃. Na região de 1159-891 cm⁻¹ verificam-se as bandas de deformações axiais de álcoois dos grupos COH (secundários, com alicíclico de 5 e 6 átomos de carbono) e C-O-C em 1159 cm⁻¹ referente as ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow 4)$, além da banda em 891 cm⁻¹ de C-H da estrutura do polissacarídeo. ^[21,63,75-78]

Já o espectro em vermelho NAP, Figura 17, apresenta bandas características do naproxeno. Em 3196 cm⁻¹ observa-se a banda referente estiramento O-H, em 2976 cm⁻¹ verifica-se a banda referente ao estiramento C-H da região aromática. Em 2939 cm⁻¹, encontrase a banda decorrente do estiramento C-H da cadeia alifática de sua estrutura, em 1728 cm⁻¹ observa-se a banda referente a vibração C=O, da parte da carboxila, em 1602 cm⁻¹ verifica-se a banda decorrente da ligação C=C, presentes no anel naftalênico da estrutura da molécula, em 1394 cm⁻¹ tem-se a banda de deformação do CH₃ sobreposta à banda de deformação axial simétrica do íon carboxilato (COO⁻), em 1265 cm⁻¹ verifica-se a banda de estiramento C-O referente à ligação éter, em 1176 cm⁻¹ tem-se a banda de deformação no plano da ligação C-H, em 854 cm⁻¹ verifica-se a banda de deformação fora do plano da ligação C-H, em 675 cm⁻¹ observa-se a banda de deformação referente ao dobramento do anel, ligação C-C.^[79-80]

O espectro em azul, produto QN1 Figura 16, apresenta bandas características do sal formado, na melhor condição de síntese. Ao compará-lo com QP, da região de 4000-1800 cm⁻¹, o perfil é muito semelhante, decorrente da estrutura polimérica, visto que o polímero está presente em maior proporção que o naproxeno. Entretanto, na região 1800-1250 cm⁻¹, observam-se mudanças do perfil espectral do QN1, quando comparado com QP, a banda em 1606 cm⁻¹ referente a deformação axial no plano de N-H é intensificada, pois outra banda C=C, advinda do anel naftalênico, sobrepõe-se a ela, sugerindo que houve alguma modificação. Além disso, outra banda que é intensificada é observada em 1552 cm⁻¹, sugerindo que houve modificações nas ligações de hidrogênio dessa região. Em 1382 cm⁻¹ era observada a banda de deformação angular simétrica do grupo CH₃, em QP, no entanto, verifica-se um aumento de intensidade, provocado pela sobreposição da banda de deformação simétrica do íon carboxilato COO⁻, corroborando com a hipótese de formação do sal. A intensidade da banda em 817 cm⁻¹ é aumentada, uma vez que a ligação C-H do NAP contribui com a deformação angular fora do

plano. Outra evidência é que surge uma banda em 484 cm⁻¹ que não está presente no espectro do NAP, e que foi atribuída ao grupo NH_3^+ , sendo mais um indício de possível formação do sal. Como adendo, observa-se que uma das principais bandas características do NAP em 1728 cm⁻¹, não é vista no espectro de QN1, sugerindo que houve modificação, a banda da carboxila quando na forma de sal, é desdobrada em duas outras bandas na região de 1600 e 1400-1380 cm⁻¹, conforme observado o aumento de intensidade nessas regiões.

O Apêndice 2 apresenta os espectros de FTIR dos demais produtos das sínteses realizadas, nas condições descritas na Tabela 1. Pode-se observar que todos adquiriram o mesmo perfil discutido para o QN1. A Tabela 6 sumariza as bandas observadas e suas atribuições.

Crupo	Ň	lúmero de onda / cn	1 ⁻¹
Grupo	QP	NAP	QN1
v O-H; N-H	3414	-	3441
v O-H	-	3196	-
v C-H	2917	2976	2929
v C-H alifático	2877	2939	2879
v C=O carboxila	-	1728	-
δ C=O amida I	1662	-	1656
C=C aromático	-	1602	1606
δ COO ⁻	-	1606	1606
δ Ν-Η	1604	-	1606
δ N-H amida II	1552	-	1570
δ C-N	1425	-	1423
δ C-N amida III	1325	-	1321
δ CH ₃	1382	1394	1384
δ COO ⁻	-	1394	1384
v C-O éter	-	1265	1263
С-Н	-	1176	-
δ C-O-C	1159	-	1153
δС-Н	891	854	896
δ C-C	-	675	663
δ NH ₃	-	-	484

Tabela 6. Atribuições das bandas dos espectros de FTIR

A Figura 18 apresenta os espectros vibracionais na região do infravermelho (FTIR) das amostras de quitosana (QP), quitosana reticulada (QPEPI) e do produto da reação quitosana reticulada com naproxeno (QPEPIN1).



Figura 18. Espectros de FTIR da quitosana (QP), quitosana reticulada (QPEPI) e produto da reação quitosana reticulada com naproxeno (QPEPIN1).

De acordo com os espectros QP e QPEPI, quantitativamente, há uma diminuição da intensidade das bandas na região de 3400 cm⁻¹, características dos estiramentos O-H, hidroxilas do polissacarídeo, corroborando a suposição de que houve interação da quitosana com a epicloridrina. Na região entre 1700-1250 cm⁻¹, surgiram bandas que não são observadas no espectro de QP, 1674, 1562, 1510 e 1462 cm⁻¹. Além disso, as bandas de QPEPI são menos intensas, quando comparadas com as de QP, significando que os grupos funcionais que absorvem energia nessa região sofreram alguma modificação.^[42] Com a formação de éter

alifático C-O-C, esses apresentam uma absorção característica na região de 1150-1085 cm⁻¹, correspondente a deformação axial assimétrica, no entanto, esse sinal é sobreposto por um de maior intensidade, referente a ligação C-O-C (1159 cm⁻¹) característica da ligação glicosídica β (1 \rightarrow 4).^[78,81]

Para o espectro do QPEPIN1, observou-se assim como para QPEPI, diminuição da intensidade da banda em 3400 cm⁻¹, referente ao estiramento da ligação O-H, sugerindo que essas hidroxilas participaram da reticulação. Houve o incremento de uma banda já observada em 2900 cm⁻¹. As bandas na região de absorção entre 1700-1250 cm⁻¹, diminuíram de intensidade, além de seu perfil ser diferente, quando comparado com os espectros de QP e QPEPI. Bandas características do naproxeno são observadas em 815, 754 e 470 cm⁻¹. Portanto, as bandas presentes em QPEPIN1, quando comparadas com as bandas presentes nos espectros de QP e QPEPI, sugerem a formação do sal reticulado.

IV.6. Espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-vis) – Reflectância difusa em estado sólido

A Figura 19 apresenta os espectros de UV-Vis no modo reflectância difusa das amostras, QP, NAP, e QN1.



Figura 19. Espectros de UV-vis, obtidos no modo reflectância difusa, das amostras QP, NAP e QN1, no estado sólido.

No espectro correspondente à QP (Figura 19, curva vermelha), observa-se absorção de energia em duas regiões características, nos comprimentos de onda 266 nm e em 210 nm, $\lambda_{máx}$. Essa absorção é característica dos grupos cromóforos presentes em sua estrutura, *N*-acetil-glucosamina e glucosamina, assim, as transições são do tipo n- π^* , decorrentes do par de elétrons dos grupos C=O, NH₂ e OH.^[81-82]

O espectro do naproxeno (Figura 19, curva preta), apresenta as bandas de absorção em 332 nm, 273 nm, $\lambda_{máx}$, e 241 nm. Essas absorções são devidas as transições do tipo π - π *, do sistema π conjugado do anel naftalênico, e a transição do tipo n- π *, que provém do par de elétrons dos grupos C=O, NH e OH.^[83]

De maneira geral, verifica-se que para o sal (Figura 19, curva azul), na melhor condição QN1, há uma diminuição na intensidade da banda da quitosana, em 210 nm, assim como diminui levemente a intensidade da banda observada em 266 nm, suportando a hipótese que há alguma interação do par de elétrons do grupo NH₂ bem como na ressonância dos pares de elétrons do grupo C=O, sugerindo uma possível interação eletrostática e formação do sal. Além disso, observou-se que o NAP está presente de acordo com a banda em 333 nm, referente à conjugação do sistema π do anel naftalênico.

A Figura 20 apresenta os espectros de absorbância da QP, quitosana-epicloridrina QPEPI e do sal com quitosana-reticulada, QPEPIN1.



Figura 20. Espectros de UV-vis, no modo reflectância, difusa das amostras QP, QPEPI e QPEPIN1.

As bandas de absorção observadas são características dos grupos cromóforos presentes nas estruturas da quitosana, do agente reticulante, epicloridrina, bem como do produto da reação, QPEPIN1.

Como já discutido para QP, os grupos que absorvem energia nessa região do ultravioleta-visível são *N*-acetil-glucosamina e glucosamina, isto é, os pares de elétrons do grupo NH₂, as ligações OH e C=O, têm transições eletrônicas em regiões características do

espectro. Assim, observou-se uma banda de absorção em 210 nm do tipo n- π^* , geralmente, álcoois e aminas absorvem até 220 nm. Já os grupos carbonila e amida absorvem de 250 nm a 360 nm.^[81-82] Observou-se nos espectros as bandas de absorção em 266 nm e 330 nm que podem ser decorrentes das transições n- π^* do grupo C=O e π - π^* do grupo N-acetamida.^[81-82]

Para QPEPI verificou-se um aumento na intensidade das bandas observadas para QP, ou seja, com a ligação da epicloridrina entre as cadeias biopoliméricas da quitosana, aumentou a quantidade de grupos cromóforos OH, os pares de elétrons ficaram ainda mais suscetíveis às transições eletrônicas.^[81]

Já para QPEPIN1 observou-se uma diminuição da banda de 210 nm quando comparado com QP, em virtude da protonação do grupo amino, ou seja, os pares de elétrons não ligantes reagiram com os hidrogênios provenientes do NAP. Entretanto, as duas bandas em 266 nm e 330 nm aumentaram com relação a QP. Esse aumento de intensidade se dá pela maior quantidade de grupos carbonila, visto que o NAP tem C=O, no grupo carboxila, assim como, a região do anel naftalênico contribui com a conjugação do sistema π . Desse modo, as transições são mais intensas. É evidente a banda em 330 nm, como no caso do sal (Figura 19), mostrando a presença do produto também nesse caso.

IV.7. Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X (DRX) é uma técnica utilizada para obtenção de informações sobre a estrutura cristalina e características tais como orientação preferencial, tamanho médio de partículas, defeitos de rede, etc.^[18] Estas informações provêm de um fenômeno físico, no qual há incidência de raios X sobre o cristal e rede cristalina. Desse modo, acontecem interferências construtivas e destrutivas, que possibilitam a identificação dos compostos analisados. A Figura 21 apresenta os difratogramas das amostras NAP, QP, QN1 e QPEPIN1.



Figura 21. Difratogramas de raios X das amostras NAP, QP, QN1 e QPEPIN1.

De acordo com os difratogramas, o NAP apresenta uma estrutura cristalina bem definida e picos intensos. Seus principais picos são vistos em 20 igual a 6,8; 12,7; 16,9, 19,1; 20,4; 22,3; 28,6 em acordo com a literatura.^{[84-85].} Já a quitosana é um biopolímero com estrutura semicristalina, de modo que sua cristalinidade aumenta com o grau de desacetilação.^[86] Os picos apresentados para quitosana são observados em 20 igual a 10,5 e 20,1, que são atribuídos às regiões amorfa e cristalina, respectivamente.^[87] Para QN1, o perfil do difratograma assemelhou-se com o da QP, apresentando picos em 20 igual a 10,1; 19,9; 22,1; sendo que este último, aparece como um ombro em QP e é evidenciado em QN1. Para o QPEPIN1, o padão de difração é semelhante ao do QN1, seus picos são observados em 20 igual a 10,1; 19,8; 22,0; assim como QN1, ocorreu a intensificação do ombro observado em QP.

Quando o sal é formado seja usando o biopolímero reticulado ou não, os sinais referentes ao NAP não aparecem intensos e definidos. Isso se dá devido à quantidade de fármaco presente na matriz. A presença de uma grande quantidade de biopolímero comparada à quantidade de NAP, causa o efeito de diluição do sinal.^[85]

A partir dos difratogramas QP, QN1 e QPEPIN1 foi possível calcular o índice de cristalinidade (Id) dos biopolímeros.^[88] Os valores foram calculados a partir da Equação 7:

Índice de cristalinidade (%) =
$$\frac{(I_{110} - I_{am})}{I_{am}} X \, 100 \tag{7}$$

em que I_{110} é o máximo de intensidade em ~ 20° e I_{am} é a intensidade da parte amorfa em ~10°.

A cristalinidade da quitosana está diretamente relacionada às ligações de hidrogênio inter e intra molecular, isto é, aos grupos amino e hidroxila presentes em sua estrutura.^[18] O valor encontrado de Id para QP foi de 60,5 %, para QN1 foi de 48,6%, para QPEPIN1 foi de 58,2 %. Portanto, verifica-se que quando o naproxeno reage com a quitosana, ocorre um aumento da desordem do sistema, diminuindo sua cristalinidade. Isso também é indicação de que a reação que originou QN1 teve maior rendimento que a que gerou QPEPIN1, uma vez que houve maior diminuição na cristalinidade. Isso pode estar relacionado com a formação do sal, que diminuiu a quantidade de grupos amina livres para formar ligações de hidrogênio diminuindo a cristalinidade.^[18]

IV.8. Análise Térmica

IV.8.1. Termogravimetria (TG)

Os estudos termoanalíticos permitiram observar o comportamento térmico do biopolímero quitosana, do fármaco naproxeno e dos produtos de reação entre eles. A Figura 22 apresenta as curvas de TG/DTG/DTA da quitosana.



Figura 22. Curvas TG/DTG (a) e TG/DTA (b) da quitosana em atmosfera dinâmica de ar, com vazão 50 mL min⁻¹, massa de amostra aproximadamente 7 mg, em porta amostra aberto de α -alumina, razão de aquecimento 10°C min⁻¹.

Foram observadas três etapas de perdas de massa sob atmosfera de ar. De acordo com Santos e colaboradores ^[21], a primeira etapa é decorrente do processo de desidratação e a

segunda e terceira etapas são referentes à degradação das cadeias acetiladas/desacetiladas do biopolímero e queima do material carbonizado, respectivamente.^[21] A primeira perda de massa ocorreu entre 19,9–172,2°C, já a segunda entre 172,2–390,1°C e a terceira intervalo de 390,1-609,9°C. Ao final da curva foi formado um resíduo de 5,95 %. Na curva DTA foram observados um pico endotérmico referente à desidratação e dois picos exotérmicos relativos à decomposição do biopolímero.^[21]

(a) 100 2,5 80 2.0 60 Massa / % °,0 STO 40 0,5 20 0 0,0 200 400 800 0 600 1000 Temperatura / °C 0,3 (b) 100 0,2 80 0,1 60 DTA °C mg Massa / % 40 0,0 20 -0,1 Exo 0

Na Figura 23 são apresentadas as curvas TG/DTG/DTA do naproxeno.

Figura 23: Curvas TG/DTG (a) e TG/DTA (b) do naproxeno em atmosfera dinâmica de ar, com vazão 50 mL min⁻¹, massa de amostra aproximadamente 7 mg, em porta amostra aberto de α -alumina, razão de aquecimento 10°C min⁻¹.

Temperatura / °C

600

800

400

200

0

De acordo com a curva TG do naproxeno, Figura 23, foram observados dois eventos de perda de massa decorrente da evaporação seguida da degradação do naproxeno e queima do

-0.2

1000

material carbonizado. A primeira perda de massa ocorreu no intervalo de temperatura de 152,5-365,8°C, seguida da segunda perda de massa no intervalo de temperatura de 365,8-479,6°C. Resultando em um resíduo de 1,25 %. Na curva DTA, observou-se um pico endotérmico agudo característico da fusão do naproxeno, em 156,7 °C, de acordo com o descrito na literatura.^[1,9] Foram ainda observados outros picos exotérmicos e endotérmicos, 285,3 °C (endo), 301,4 °C (exo) e 430,3°C (exo), atribuídos aos processos de degradação do fármaco e queima do material carbonizado.



As curvas TG/DTG/DTA do produto QN1 são apresentadas na Figura 24.

Figura 24. Curvas TG/DTG (a) e TG/DTA (b) do produto QN1 em atmosfera dinâmica de ar, com vazão 50 mL min⁻¹, massa de amostra aproximadamente 7 mg, em porta aberto amostra de α -alumina, razão de aquecimento 10°C min⁻¹.

A Figura 24 representa das curvas TG/DTG/DTA do produto da reação QN1. Observouse três eventos térmicos na curva TG, semelhante ao observado para o biopolímero de partida, entretanto, os intervalos de temperatura e variação de massa são diferentes, como apresentado na Tabela 6. A curva DTA do QN1 difere da curva DTA da quitosana, pois o pico referente à terceira etapa de perda de massa apresentou-se como um pico e um ombro, sugerindo um processo degradação em duas etapas nesta região. Para o QN1, o pico endotérmico, que representa a fusão do naproxeno não é mais observado, indicando que possivelmente houve a interação do fármaco com o biopolímero.

A primeira perda de massa foi observada no intervalo de 19,6-151,4°C, relacionada à saída de água de hidratação. A segunda perda de massa, entre 151,4-381,3°C, pode ser atribuída à decomposição do QN1. Nota-se que a temperatura na qual inicia-se a segunda etapa de perda de massa é próxima àquela observada na curva TG do naproxeno. O terceiro evento térmico acontece no intervalo 381,3-617,3°C, porém o resíduo obtido ao final da curva é menor que para quitosana, 1,69 %.

Curvas TG/DTG/DTA nas mesmas condições foram obtidas para todos os produtos de síntese e os resultados foram similares. Os dados dos respectivos intervalos de temperatura, bem como, porcentagem de perda de massa referentes a todas sínteses das QN estão compilados na Tabela 6 e no Apêndice 5 são encontradas as curvas TG/DTG/DTA dos demais sais.

Ainda na Tabela 7, é possível observar uma variação na razão entre as perdas de massa dos 3° e 2° eventos, de QN1 até QPEPIN1. Sendo a TG uma técnica essencialmente quantitativa, a diminuição no denominador da razão sugere uma perda de massa crescente na 2 ^a etapa, ao contrário, acontece uma maior perda de massa na 3^a etapa. Assim, a presença do NAP na matriz biopolimérica altera a quantidade de perda de massa e sugere maior decomposição na etapa 3, que possivelmente, ainda sugere um ganho de estabilidade térmica para o sal formado.

Na Figura 25 são apresentadas as curvas TG/DTG/DTA do QPEPIN1. De acordo com os perfis das curvas apresentadas na Figura 25, foram observadas três etapas de perda de massa, a primeira decorrente da perda de água e as duas outras perdas referentes a decomposição, semelhante ao observado para quitosana, porém com intervalos de temperatura diferentes. A primeira perda de massa ocorreu no intervalo de 23,6-171,5°C, a segunda de 171,5-399,0°C, a terceira 399,0-637,9°C, restando um resíduo de 6,60%, maior que o da quitosana e sal QN1. Esses intervalos de temperatura, bem como as porcentagens de perdas massa são apresentados na Tabela 6.

Amostra	$\Delta m_1(\%)/^{\circ}C$	$\Delta \mathbf{m}_2(\mathbf{\%})/^{\circ}\mathbf{C}$	$\Delta \mathbf{m}_{3}(\%)/^{\circ}\mathbf{C}$	Resíduo %	Razão R3/R2
QP	10,2 (19,9 – 172,2)	42,4 (172,2–390,1)	42,0 (390,1-609,9)	5,95 (609,9-1000,0)	0,99
Nap	0,16 (25,9 -139,4)	97,0 (139,4 - 365,3)	1,55 (365,3 – 491,0)	1,25 (491.0-1000.0)	
QN1	9.52 (19,6-151,4)	41,9 (151,4-381,3)	47,3 (381,3-617,3)	1,69 (617,3-1000,0)	1,13
QN2	9,41 (21,6-172,9)	40,6 (172,9-391,4)	45,9 (391,4-629,4)	4,49 (629,4-1000,0)	1,30
QN3	10,4 (20,3-147,3)	45,1 (147,3-373,9)	42,9 (373,9-621,4)	1,97 (621,4-1000,0)	0,95
QN4	9,97 (20,9-150,0)	45,6 (150,0-377,3)	42,7 (377,3-618,7)	2,08 (618,7-1000,0)	0,94
QN5	10,2 (19,7-137,9)	46,1 (137,9-375,3)	42,4 (375,3-621,4)	1,88 (621,4-1000,0)	0,92
QN6	10,2 (22,9-146,7)	45,3 (146,7-372,6)	41,4 (372,6-610,6)	3,18 (610,6-1000,0)	0,91
QPEPIN1	9,45 (23,6 - 171,5)	38,7 (171,5-399,0)	45,3 (399,0-637,9)	6,60 (637,9-1000,0)	1,17
QPEPIN6	10,0 (20,26-163,9)	42,39 (163,9-387,0)	47,14 (387,0-619,6)	0,61 (619,6-1000,0)	1,11

 Tabela 7. Intervalos de porcentagem de perda de massa e temperaturas

R2= porcentagem da segunda perda de massa;

R3= porcentagem da terceira perda de massa;

Quando comparado com QP e QN1, o perfil das curvas TG/DTA de QPEPIN1 está mais próximo de QP. A terceira perda de massa apresenta-se mais definida e intensa, enquanto que na curva TG/DTA de QN1, ela apresenta-se com o ombro adjunto, isto pode ser observado nas Figuras 22 e 24. Além disso, o pico endotérmico referente à fusão do naproxeno não é mais observado na curva TG/DTA, indicando que possivelmente ocorreu alguma interação. Entretanto, são observados os dois picos exotérmicos decorrentes da decomposição da estrutura biopolimérica.



Figura 25. Curvas TG/DTG (a) e TG/DTA (b) do produto QPEPIN1 em atmosfera dinâmica de ar, com vazão 50 mL min⁻¹, massa de amostra aproximadamente 7 mg, em porta aberta amostra de α -alumina, razão de aquecimento 10°C min⁻¹.

IV.8.2 Termogravimetria acoplada à espectroscopia vibracional na região do infravermelho – TG-FTIR

Na Figura 26 observa-se um gráfico em 3 dimensões correlacionando o tempo do experimento, a absorbância e o número de onda da absorção características dos gases provenientes da decomposição térmica do sal QN1, por análise de gás evolvido.



Figura 26. Gráfico 3-D da evolução dos gases provenientes da decomposição do sal.

Realizou-se o estudo do TG-FTIR com objetivo de acompanhar os gases liberados provenientes da decomposição térmica do sal QN1. A Figura 27 apresenta os espectros obtidos durante a decomposição do sal QN1, em alguns momentos em que há maior evolução de gases, de acordo com o perfil 3-D da Figura 26. Também é possível observar espectros de referência para alguns gases, visando sua identificação (Figura 27). Os espectros de referência são provenientes da Nist Webbook library, EPA vapor phase da biblioteca do equipamento. ^[89-90]



Figura 27. Espectros evolução de gases em diferentes tempos.

De acordo com a Figura 27(a), pode-se observar alguns espectros obtidos em diferentes tempos 2,70 min (46,5°C), 30,1 min (320,5 °C), 43,5 min (454,5 °C), 47,2 min (491,5 °C) e 57,2 min (591,5 °C), esses apresentaram perfis diferentes na liberação dos seus gases. Na Figura 27(b) encontram-se os espectros obtidos da literatura^[89-90] para comparação e atribuição dos gases.

Inicialmente, verificou-se apenas a linha de base, não sendo observado a liberação de nenhum gás. Ao passo que prosseguiu com o aumento de temperatura, em 30,1 min (320,5 °C), houve a detecção de gases a partir da visualização de bandas em 2306, 2193 e 2111 cm⁻¹, características da presença de CO₂ e CO, ainda é possível perceber um incremento na região de 1800 cm⁻¹. Além disso, constatou-se o surgimento de bandas na região de 3100-2900 cm⁻¹, no entanto, destacaram-se algumas bandas em 1800, 1771 e 1181 cm⁻¹. Uma delas, em 1762 cm⁻¹, foi atribuída a presença do grupo acetamida, CH₃CONH₂, presente na porção acetilada da quitosana.

Já as bandas em 1798 e 1182 cm⁻¹, foram atribuídas a evolução de CH₃COOH, provavelmente, decorrente da decomposição do grupo acetamida, formando ácido acético e amônia. Na região de 1000-900 cm⁻¹, observam-se duas bandas intensas características de NH₃.

Os gases detectados no tempo 30,1 min, temperatura de 320,5 °C, estão relacionados a segunda etapa de perda de massa conforme observados na curva TG/DTG, Figura 24.

No espectro em 43,5 min observa-se a intensificação das bandas na região de 3100-2900 cm⁻¹, já em 47,2 min, encontram-se as mesmas bandas na intensidade máxima, bem como, as duas bandas decorrentes da presença de NH₃ continuam evoluindo, estas já eram verificadas desde do espectro em 30.1 min, seus valores foram 962 e 931 cm⁻¹.

Em 57.2 min, a região de 3100-2900 cm⁻¹ aparece com suas bandas mais definida e intensas, sendo observado um perfil da evolução de CH₄ quando comparada com database. ^[89-90]

Todavia, as bandas provenientes da decomposição do fármaco naproxeno podem estar diluídas nas principais bandas observadas na evolução dos gases provenientes da quitosana, uma vez que a massa molar do biopolímero é muito maior que aquela da molécula de naproxeno, o que mascararia os sinais provenientes da decomposição do NAP. Assim como, a baixa concentração de NAP na matriz biopolimérica.

As mudanças nos perfis espectrais na região de 3100-2900 cm⁻¹, podem estar associadas à liberação de 2-metoxi-naftaleno gasoso, conforme observado na decomposição térmica do NAP.^[93] Ademais, a porção alifática, o ácido propanoico, pode ter sido decomposta em CH₄ e CH₃COOH sendo observada a liberação de tais compostos.

Assim, após o estudo destacaram-se a evolução dos gases CO, CO₂, CH₃CONH₂, CH₃COOH, NH₃ e CH₄.

IV.8.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC do naproxeno no modo aquecimento-resfriamento-aquecimento, são apresentadas na Figura 28.



Figura 28. Curva DSC do naproxeno em atmosfera dinâmica de N₂, com vazão 50 mL min⁻¹, massa de amostra aproximadamente 4 mg, em porta amostra de alumínio fechado com furo no centro, razão de aquecimento 10° C min⁻¹ de -50°C até 210°C, modo aquecimento-resfriamento-aquecimento.

No 1º aquecimento a amostra apresentou um pico agudo em 156,7°C referente à fusão do fármaco. No resfriamento foi observado um pico exotérmico em 99,0°C relacionado com cristalização do NAP. A presença de um pico da fusão em 154,8°C, no 2º aquecimento, sugere reversibilidade desse processo.

A partir desse experimento pode-se observar que o fármaco apresenta um processo de fusão reversível, sem evidência de transição de fase sólida ou transição polimórficas.

Os parâmetros termodinâmicos foram determinados a partir da integração dos picos presentes nos ciclos de aquecimento e da equação de Gibbs, Equação 8.^[94-95] Na Tabela 8 são apresentados os resultados obtidos.

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \tag{8}$$

	$\Delta \boldsymbol{G}$	$\Delta G = \frac{\Delta_{fus}H}{J g^{-1} kJ mol^{-1}}$		Δc	$\Delta_{crist} H$		$\Delta_{crist}S$	T _{fus}	T crist
				J g ⁻¹ kJ mol ⁻¹		J K ⁻¹ mol ⁻¹	J K⁻¹ mol ⁻¹	(K)	(K)
Ciclo 1	0	137,1	31,57	-	-	73,44	-	429,9	-
Ciclo 2	0	-	-	98,01	22,57	-	60,64	-	372,2
Ciclo 3	0	128,1	29,49	-	-	68,91	-	427,9	

Tabela 8. Dados termodinâmicos referentes aos processos de fusão e recristalização do NAP

De acordo com a Tabela 8, a fusão observada no primeiro ciclo de aquecimento envolveu uma variação de entalpia de 137,1 J g⁻¹, o que corresponde a 31,57 kJ mol⁻¹ e entropia de fusão foi de 73,44 J K⁻¹mol⁻¹. No resfriamento, a integração do pico referente à cristalização da amostra levou a um valor de variação de entalpia de 98,01 J g⁻¹ ou de 22,57 kJ mol⁻¹, e a entropia de cristalização de 60,64 J K⁻¹mol⁻¹. No segundo aquecimento, a variação de entalpia de fusão de 128,1 J g⁻¹ ou de 29,49 kJ mol⁻¹, e a entropia de fusão de 68,91 J K⁻¹mol⁻¹.

A partir desses valores, foi calculado o índice de cristalinidade relativo à amostra inicial do naproxeno a partir da Equação 9: ^[91]

$$\% Crist = \frac{\Delta H_{2^{\circ} aquecimento}}{\Delta H_{1^{\circ} aquecimento}} x \ 100$$
(9)

em que $\Delta H_{1^{\circ}aquecimento}$ é o calor de fusão do naproxeno sem tratamento térmico e $\Delta H_{2^{\circ}aquecimento}$ é a entalpia de fusão do naproxeno aquecido até 210 °C e posteriormente resfriado, levando à sua recristalização e, por fim, aquecido novamente até 210 °C. Obteve-se um valor de cristalinidade correspondente a 93,4 % para o cristalizado no resfriamento em relação ao fármaco original.

Além disso, foram feitas as análises de DSC para QP, QN1 e QPEPIN1 afim verificar se o pico endotérmico decorrente da fusão do fármaco continuaria aparecendo nos sais formados. A Figura 29 apresenta os DSC obtidos dos reagentes de partida assim como dos sais formados.



Figura 29. Curva DSC do NAP, QP, QN1 e QPEPIN1 em atmosfera dinâmica de N₂, com vazão 50 mL min⁻¹, massa de amostra aproximadamente 4 mg, em porta amostra de alumínio fechado com furo no centro, razão de aquecimento 10° C min⁻¹ de 25°C até 210°C, modo aquecimento

Na curva DSC do NAP pode ser observado a presença de um pico fino em 156,7 °C, relativo a fusão do fármaco conforme já discutido anteriormente, enquanto para QP foi observado na curva DSC um pico endotérmico alargado em 89,0 °C atribuído a perda de água da estrutura polimérica da quitosana.^[69] Assim, quando comparadas com as curvas DSC dos sais QN1 e QPEPIN1, verificou-se que a curva DSC do QN1 assumiu um perfil semelhante ao de QP, entretanto, com os picos levemente deslocados. Além disso, o pico alargado aparenta ter duas inflexões sugerindo a perda de massa em duas etapas. Já na curva DSC do QPEPIN1 seu perfil apareceu ainda mais alargado sendo um pouco diferente da curva QP.

Constatou-se que nas curvas QN1 e QPEPIN1 não foi observado a presença do pico endotérmico referente a fusão do naproxeno, significando que após a formação dos sais, o NAP não funde na mesma temperatura quando está na sua forma pura, indicando a interação QP-NAP. O não aparecimento do evento de fusão também foi observado nas curvas DTA dos sais, nas Figuras 24(b) e 25(b).
IV.8.4 -Estudo da dissociação do naproxeno utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

A dissociação do naproxeno da matriz de quitosana em pH 2,00 e 7,00 foi estudada por HPLC para o sal QN1, no qual observou-se o maior rendimento de síntese, além do sal reticulado QPEPIN1, a partir da construção de uma curva analítica, em que a resposta analítica foi acompanhada com o detector ultravioleta, no comprimento de onda 270 nm, em função do tempo.

Primeiramente, afim de verificar os perfis dos cromatogramas da solução de HCl 0,01 mol L⁻¹ e do tampão fosfato pH 7,00, soluções empregadas para simular o pH do estômago e dos intestinos, essas soluções foram injetadas no cromatógrafo. Sendo assim, a Figura 30 mostra os cromatogramas obtidos, sendo possível verificar os perfis dos solventes empregados, assim como, a eluição dos picos do NAP de acordo com o aumento da concentração e a resolução do cromatograma, nos dois meios, para obtenção de curvas analíticas.



Figura 30. (a) Cromatograma da solução de HCl 0,01 mol L⁻¹; (b) Cromatograma do tampão fosfato pH 7,00; (c) Cromatogramas do NAP para o preparo da curva analítica em pH 2,00, na inserção detalhada dos picos; (d) Cromatogramas do NAP para o preparo da curva analítica em pH 7,00, na inserção detalhada dos picos.

Nos cromatogramas da Figura 30(a), a solução de HCl 0,01 mol L⁻¹ apresenta dois sinais que são eluídos e detectados em tempos de retenção anterior a 2 minutos, após não foi verificado nenhum outro pico. Esses sinais não interferem no pico do naproxeno, uma vez que esse apresenta-se no tempo de retenção de 8,8 min, nessas condições, Figura 30(c).

Com relação à Figura 30 (b), o cromatograma do tampão fosfato pH 7,00 apresentou sinais em três regiões, porém todos em uma intensidade pequena, quando comparados com o pico do naproxeno, assim, não interferindo na identificação do pico do NAP. Nesse meio o tempo de retenção do NAP foi de 5,8 min, podendo ser observado claramente, Figura 30 (d).

Os perfis dos picos eluídos do NAP são bem definidos tanto no meio ácido quanto no meio neutro, contudo, as intensidades são diferentes, sendo maior em pH 7,00 do que pH 2,00. Sendo assim, foi possível obter curvas analíticas nos dois meios, sem interferências do branco.

As curvas analíticas foram obtidas, a partir de padrões em intervalos de concentrações adequados a cada meio, realizando-se injeções em triplicata. Foi medido a média da área integrada de cada ponto, dessa forma, as Figuras 30 (c) e 30 (d) mostram os cromatogramas, obtidos para os pH 2,00 e 7,00.

A partir dos cromatogramas apresentados nas Figuras 30(c) e 30(d), pode-se estabelecer uma relação entre a área integrada de cada pico com a concentração de cada balão, sendo possível construir as curvas analíticas nos respectivos meios. A Figura 31 apresenta as curvas analíticas, para comparação da sensibilidade.



Figura 31. Curvas analíticas do NAP em pH 2,00 (vermelha) e 7,00 (preta).

A Tabela 9 apresenta as características dessas curvas analíticas.

Tabela 9. Características das curvas analíticas, pH 2,00 e 7,00

Meio	Intercepto	Sensibilidade /	Região	Coeficiente	
			Linear /	de	
		µmol L ⁻¹	µmol L ⁻¹	correlação, <i>R</i> ²	
рН 2,00	7258,93	3,22 x 10 ⁹	2,50-75,0	0,995	
рН 7,00	25535,8	1,28 x 10 ¹⁰	1,00-125,0	0,998	

Após a obtenção das curvas analíticas, passou-se a realizar o estudo da dissociação do NAP da matriz, dessa maneira, partiu-se da concentração de 0,1 g L⁻¹ dos sais QN1 e QPEPIN1. A Figura 32 (a) apresenta três cromatogramas obtidos em diferentes tempos 11, 77 e 155 min para o QN1 afim de verificar o comportamento da intensidade do pico do NAP.



Figura 32. (a) Monitoramento das amostras QN1 e (b) QPEPN1 em diferentes tempos, pH 2,00.

Na região de 0,5-2,0 min, além dos picos da solução de HCl já observados nessa região, verifica-se a evolução de outro pico. Esse foi atribuído à quitosana conforme já observado no trabalho de Luppi e colaboradores^[62], uma vez que essa solubilizou-se em solução de HCl 0,01 mol L⁻¹. O outro pico foi referente à molécula de NAP.

Na Figura 32 (b), observam-se três cromatogramas em diferentes tempos de solução 11, 77 e 155 min para o sal reticulado, QPEPIN1. A partir destes, foi observada, em 77 min, a evolução do pico referente à quitosana solubilizada, contudo em uma intensidade pequena, provavelmente, o processo de reticulação organizou o biopolímero de modo, que a ação da solução de HCl 0,01 mol L⁻¹ sobre sua estrutura no processo solubilização apresenta uma cinética lenta, quando comparada com o sal não reticulado.

Buscou-se realizar a mesma análise para o estudo da dissociação em pH 7,00. Desse modo, a Figura 33 apresenta os cromatogramas dos sais QN1 e QPEPIN1.



Figura 33: Monitoramento dos sais QN1 e QPEPIN1 em diferentes tempos, pH 7,00.

Em tampão fosfato pH 7,00, os sais QN1 e QPEPIN1 apresentaram perfis cromatográficos semelhantes, nos diferentes tempos de solução 10, 90 e 180 min. Observou-se a evolução de um pico alargado com tempo de retenção em torno de 4,0 minutos, atribuído ao solvente, Figura 30 (b), sua intensidade foi baixa quando comparada com o pico do NAP. Assim, a evolução do pico referente ao NAP foi observada com clareza em aproximadamente 5,8 min em todas os cromatogramas.

Quando comparados os tempos de retenção do NAP em pH 2,00 (8,8 min) e pH 7,00 (5,8 min), notou-se uma diferença no tempo de eluição, além do aumento de fluxo. Isto devese à diminuição de solubilidade do NAP em pH 2,00, quando o grupo carboxila é protonado, ficando na sua forma R-COOH (pK_a 4,2)^[1], isso diminui a polaridade da molécula aumentando sua interação com a coluna apolar C-18 e diminuindo sua interação com a fase móvel, causando aumento de seu tempo de eluição mesmo sob maior fluxo da fase móvel.

Já em pH 7,00 a solubilidade do NAP é aumentada, pois a carboxila tende a ficar na forma RCOO⁻, possibilitando maior interação com a fase móvel, razão pela qual o NAP é eluído em tempo menor sendo também o fluxo menor.

A partir das curvas analíticas pode-se calcular as respectivas concentrações para os sais QN1 e QPEPIN1 e observar os perfis de dissociação. Sendo assim, a Figura 34 mostra os perfis de dissociação, ao longo do tempo.



Figura 34. Comparação dos perfis de dissociação do naproxeno em função do tempo nos diferentes meios. (a) QN1 pH 2,00 (preto preenchido) e 7,00 (preto vazado); (b) QPEPIN1 pH 2,00 (vermelho preenchido) e pH 7,00 (vermelho vazado); (c) Curva de dissociação; todos experimentos realizados com detecção em 270 nm e as soluções mantidas a 37,0 °C.

Pode-se observar perfis de dissociação semelhante para o sal QN1, tanto em pH 2,00 e também em 7,00, Figura 34 (a). Em pH 2,00 foi favorecida a dissociação do naproxeno, visto que em torno de 40 minutos a curva entrou no platô do equilíbrio, sendo a dissociação da massa incorporada à matriz quitosana quase constante. Já em pH 7,00 a dissociação ocorreu em menor grau que em pH 2,00, de acordo a curva. Provavelmente, o meio ácido deslocou o equilíbrio apresentado na Equação 10 tendendo à separação do sal formado, tendo os grupos amina e carboxila protonados.

$$QP^+NAP^-_{(aq)} \longrightarrow QP^+_{(aq)} + NAP^-_{(aq)} \longrightarrow HNAP_{(aq)}$$
(10)

As curvas apresentadas na Figura 34 (b) para o sal QPEPIN1, mostram perfis de dissociação diferentes nos pH 2,00 e 7,00. Em pH 2,00 observa-se uma dissociação mais lenta, a curva estabiliza-se próximo de 120 minutos, porém a dissociação é maior do que em pH 7,00, no qual a curva estabiliza-se a partir de 40 min.

De acordo com a Figura 34 (c), pode-se observar que o sal reticulado QPEPIN1 dissociou-se em maior quantidade nos dois meios, com pH 2,00 e 7,00, quando comparado com o sal QN1. Nota-se também, que, em pH 2,00, a dissociação foi maior do que em pH 7,00. Em ambos os meios as curvas se estabilizam em 40 minutos, quando a quantidade de naproxeno dissociada se torna praticamente constante para QN1 e QPEPIN em pH 7,00. Já para o QPEPIN1 pH 2,00 a dissociação levou à maior quantidade de NAP dissociado, porém o equilíbrio só foi atingido aos 120 min. Os dados obtidos para QN1 e QPEPIN1 foram sumarizados na Tabela 10.

Assim se poderia supor que, em termos de liberação controlada, o QPEPIN1 pH 2,00 seria o sistema mais eficiente, ou seja, com ingestão e liberação no estômago.

	рН 2,00			рН 7,00			
Amostra	[NAP]± Sd / mol L ⁻¹ (K _{part})*	Massa de NAP / mg	Tempo / min	[NAP] ± Sd / mo (K _{part})*	l L ⁻¹	Massa de NAP / mg	Tempo / min
QN1	5,82 x 10 ⁻⁵ ±2,61 x 10 ⁻⁷	0,67	17,54	4,69 x 10 ⁻⁵ ±2,43 x	x 10 ⁻⁷	0,54	25,48
QPEPIN1	6,58 x 10 ⁻⁵ ±7,00 x 10 ⁻⁷	0,76	104,3	5,31 x 10 ⁻⁵ ±3,07 >	x 10 ⁻⁷	0,61	36,68

Tabela 10. Variações das concentrações de naproxeno nos pH 2,00 e 7,00 dos sais QN1 e QPEPIN1, referente ao acompanhamento da dissociação em 180 minutos

*K_{part} = constante de equilíbrio de partição.

No Apêndice 6 pode-se observar o estudo da dissociação para os sais QN6 e QPEPIN6, além da Tabela 11 que sumariza os dados obtidos das curvas.

Portanto, a partir do estudo simulando a dissociação do NAP em diferentes meios pH 2,00 e 7,00 por HPLC, pode-se propor um mecanismo dissociação tal como apresentado na Figura 35.



Figura 35. Proposta do mecanismo de dissociação do NAP a partir do sal QN1 e QPEPIN1, decorrente do estudo por HPLC em pH 2,00 e 7,00.

De acordo com o princípio de Le Chatelier quando os sais QN1 e QPEPIN1 foram submetidos à dissociação em pH 2,00, ocorre o deslocamento do equilíbrio, no sentido da protonação do grupo carboxila do NAP, assim como a protonação do grupo amina da quitosana.

Em termos de solubilidade, em meio ácido (pH 2,00), ocorre a protonação da quitosana com tendência de liberação do NAP e sua eventual precipitação ($pK_a = 4,2$). Em meio neutro, a quitosana se desprotona e tende a menor solubilidade, enquanto o NAP também se apresenta desprotonado e com maior tendência à solubilização.

Entretanto, observou-se que o NAP é dissociado da quitosana nos dois meios de forma rápida mantendo-se em solução em concentração mais elevada em pH 2,00, sugerindo que a quitosana protona-se preferencialmente liberando o fármaco. Já em pH 7,00 a quitosana não está totalmente desprotonada ($pK_a = 6,3$), retendo o fármaco em maior extensão.

No caso do sal reticulado em pH 7,00 a dissociação se dá em tempo e extensão semelhantes à quitosana. Entretanto, em pH 2,00 há maior dissociação, porém em tempo mais longo, sugerindo que a protonação é mais eficiente, porém o fármaco fica retido na matriz reticulada, o que dificulta seu surgimento em solução.

V. Conclusão

Foram sintetizados os sais QNs, preparados a partir de quitosana e naproxeno, usando-se diferentes parâmetros experimentais tais como, tempo reacional, temperatura e razão molar, objetivando encontrar uma melhor condição de síntese. Os produtos foram caracterizados por RMN de ¹³C e ¹H, FTIR, UV-vis modo reflectância difusa, difração de raios X (DRX) e Análise Térmica (TG/DTG/DTA e DSC).

Os resultados de RMN de ¹³C mostraram que a síntese que permitiu melhor rendimento foi a QN1, que apresentou o maior grau de substituição, com variações nos deslocamentos químicos dos carbonos C1', C13', C14' do naproxeno e do C2 da quitosana. Por FTIR foram observadas bandas que sugerem a formação do sal na matriz biopolimérica, referentes ao sal formado. Por UV-vis foi possível verificar a presença de bandas de absorção características do sal formado. Pelas análises de DRX observou-se o incremento de um ombro presente em QP, sugerindo que houve alguma interação com o NAP, QN1 e QPEPIN1, além da diminuição na cristalinidade.

As curvas TG/DTG/DTA revelaram variações na razão das duas perdas de massa observadas na decomposição do QN1 e QPEPIN1, além disso os sais ganham em estabilidade permitindo concluir a presença do NAP na matriz biopolimérica. No estudo por DSC, verificouse que o NAP é um fármaco que apresenta reversibilidade no seu processo de mudança de estado físico, porém quando na matriz de QP, não se observou mais o pico característico da fusão, significando que houve uma interação com a matriz de quitosana. O estudo dos gases liberados a partir da decomposição térmica do sal QN1 permitiu observar a presença de CO, CO₂, CH₃CONH₂, NH₃, CH₃COOH e CH₄ a partir da decomposição térmica do sal QN1.

A reticulação foi realizada visando melhorar a capacidade de interação do NAP frente à matriz biopolimérica da quitosana, via o produto QPEPIN1. Essa síntese foi realizada nas mesmas condições de QN1, no entanto, primeiramente foi realizada a reticulação, após a interação com o naproxeno. Pelas técnicas de caracterização, sobretudo, por RMN de ¹³C, verificou-se que ao invés de organizar e deixar os sítios de interação, grupos amino, ainda mais suscetíveis para reação, a estrutura da quitosana organizou-se de tal forma que interagiu ainda menos que QN1.

O estudo da dissociação do sal QN1 permitiu observar que o sal se dissocia mais rapidamente em pH 2,00 quando comparado com o pH 7,00, em termos de concentração de NAP até atingir o equilíbrio, em pH 2,00 o equilíbrio foi atingido com 5,82 x 10^{-5} mol L⁻¹, em pH 7,00 o equilíbrio deu-se com 4,69 x 10^{-5} mol L⁻¹, sendo os perfis das curvas semelhantes. Já

para o sal QPEPIN1, os perfis das curvas foram diferentes, sendo a dissociação em pH 2,00 mais lenta quando comparada com o pH 7,00, contudo, em termos de concentração, com pH 2,00 o equilíbrio foi atingido em 6,58 x 10^{-5} mol L⁻¹ e em pH 7,00 em 5,31 x 10^{-5} mol L⁻¹. Assim, conclui-se que o processo de reticulação influencia na etapa de dissociação do naproxeno diminuindo a velocidade de dissociação, além de ser verificada maior quantidade de NAP dissociado. Para uma possível aplicação, essa dissociação lenta poderia diminuir a perda do princípio ativo no processo de ingestão até o alvo ser atingido, aumento sua eficácia.

VI. Propostas de trabalhos futuros

Pretende-se realizar modificações na estrutura da quitosana com o intuito de obter sistemas anfifílicos com objetivo de reagí-los com fármacos. Além disso, será buscado reduzir a escala desses sistemas para micro ou nanométrica com a finalidade de melhorar a solubilidade. Será avaliada a possibilidade de trabalhar com outras matrizes poliméricas.

Referências bibliográficas

1 AL-SHAMMARY, F. J.; AZIZ MIAN, N. A.; SALEEM MIAN, M. Naproxen. *In*: BRITTAIN. H. G., ed. **Analytical profiles of drug substances and excipients.** San Diego: Academic Press, 1992. v. 21, p. 345-373.

2 EL MOUELHI, M.; RUELIUS, H. W.; FENSELAU, C.; DULIK, D. M. Species-dependent enantioselective glucuronidation of three 2-arylpropionic acids. Naproxen, ibuprofen, and benoxaprofen. **Drug Metabolism Disposition**, Rockville, v. 15, n. 6, p. 767–772. 1987.

3 BHISE, K. S.; DHUMAL, R. S.; CHAUHAN, B.; PARADKAR, A.; KADAM, S. S. Effect of oppositely charged polymer and dissolution medium on swelling, erosion, and drug release from chitosan matrices. **AAPS PharmSciTech**, New York, v. 8, n. 2, p. 44, 2007.

4 CORTI, G.; MAESTRELLI, F.; CIRRI, M.; MURA, P. Dissolution and permeation properties of naproxen from solid-state systems with chitosan. **Drug Delivery**, Philadelphia, v. 15, p. 303-312, 2008.

5 AMARAL, M. H. A. R. **Estudo do naproxeno em aplicações de forma cutânea**. 1997. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, 1997.

6 Naprelan. Athlone: Elan Pharma International, 2015. 1 bula de remédio.

7 Naproxeno. Responsável técnico: Andreia Cavalcante Silva. Anápolis: Laboratório Teuto Brasileiro, 1999. 1 bula de remédio.

8 BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cérebrovasculares e renais. Artigo de revisão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 94, n. 4, p. 556-563, 2010.

9 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 Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v. 102, p. 163–170, 2010.

10 SOVIZI, M. R. Thermal behavior of drugs. Investigation on decomposition kinetic of naproxen and celecoxib. **Journal Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v. 102, p. 285–289, 2010.

11 ZAYED, M. A.; HAWASH, M. F.; EL-DESAWY, M.; EL-GIZOULI, A. M. M. Investigation of naproxen drug using mass spectrometry, thermal analyses and semi-empirical molecular orbital calculation. **Arabian Journal of Chemistry**, Amsterdam, v. 10, p. 351– 359, 2017.

12 HASAN, M. S.; KAYESH, R.; BEGUM, F.; RAHMAN, S. M. A. transition metal complexes of naproxen: synthesis, characterization, forced degradation studies, and analytical method verification. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, New York, v. 2016, p. 1-10, 2016,

13 KAFARSKA, K.; CZAKIS-SULIKOWSKA, D.; WOLF, W. M. Novel Co(II) and Cd(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drugs. Synthesis, properties and thermal investigation. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v. 96, n. 2, p. 617–621, 2009.

14 BETTINITTI, G.; SORRENTI, M.; NEGRI, A. SETTI, M.; MURA, P.; MELANI, F. Interaction of Naproxen with Alpha-cyclodextrin and its Noncyclic Analog Maltohexaose. **Pharmaceutical Research**, New York, v. 16, n. 5, p. 689-694,1999.

15 IVANOVI, I. T.; TSOKEVA, Z. Effect of chirality on PVP/Drug interaction within binary physical mixtures of Ibuprofen, Ketoprofen, and Naproxen: a DSC study. **Chirality**, Hoboken, v. 21, p. 719–727, 2009.

16 CASTELLI, F.; GIAMMONA, G.; RAUDINO, A.; PUGLISI, G. Macromolecular prodrugs interaction with mixed lipid membrane. A calorimetric study of naproxen linked to polyaspartamide interacting with phosphatidylcholine and phosphatidylcholine-phosphatidic acid vesicles. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 70, n. 1-2, p. 43-52, 1991.

17 SHARMA, J.; SINGLA, A. K.; DHAWAN, S. Zinc–naproxen complex: synthesis, physicochemical and biological evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 260, p. 217–227, 2003.

18 BARBOSA, H. F. G. Síntese, caracterização e estudo da atividade biológica de bases de Schiff biopoliméricas, preparadas a partir de quitosanas e salicilaldeídos e seus complexos de Zn(II), Pd(II) e Pt(II). 2018. Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018.

19 ANTONY, R.; DAVID, S. T.; KARUPPASAMY, K.; SANJEEV, G. BALAKUMAR, S. Synthesis, spectroscopic and catalytic studies of Cu (II), Co (II) and Ni (II) complexes immobilized on Schiff base modified chitosan. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1050, p. 53-60, 2013.

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

21 SANTOS, J. E. **Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de schiff biopoliméricas e seus complexos de cobre.** 2004. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

22 RASMUSSEN, R.S.; MORRISSEY, M.T. Marine biotechnology for production of food ingredientes. Advances in Food Nutrition and Research, Maryland Heights, v. 52, p. 237–292, 2007.

23 MUZZARELLI, R. A. A. Chitin. New York: Pergamon Press, 1977. 309 p.

24 CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D. D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estrutura e propriedades de α e β -quitina. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 644-650, 2007.

25 PEDRO, R. O. **Desenvolvimento de sistemas anfifílicos baseados em derivados de quitosana para transporte e liberação sustentada de fármacos**. 2017. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

26 PERES, F. O. **Estudo da dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de quitosana e argila montmorilonita**. 2014. Dissertação (Mestrado em Química Analítica e Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

27 PETER, M. G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. **Journal Macromolecular Science, Part A**: Pure and Applied Chemistry, v. 32, n. 5, p. 629-640, 1995.

28 HORN, M. M. **Obtenção e caracterização de hidrogéis de qutiosana, xantana e colágeno aniônico**. 2008. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

29 HIRAI, A.; ODANI, H.; NAKAJIMA, A. Determination of degree of deacetilation of chitosan by ¹H NMR spectroscopy. **Polymer Bulletin**, Heidelberg, v. 26, p. 87-94, 1991.

30 BRUGNEROTTO, J.; DESBRIERES, J.; ROBERTS, G.; RINAUDO, M. Characterization of chitosan by steric exclusion chromatography. **Polymer**, London, v. 42, n. 25, p. 9921-9927, 2001.

31 RINAUDO, M.; MILAS, M.; LEDUNG, P. Characterization of chitosan – influence of ionic strenght and degree of acetylation on chain expasion. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 15, n. 5, p. 281-285, 1993.

32 AGNIROTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 100, p.5-28, 2004.

33 PRABAHARAN, M. Chitosan-based nanopaticles for tumor-targed drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 72, p. 1313-1322, 2015.

34 GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan - a review. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 114, p. 1–14, 2006.

35 HE, P.; DAVIS, S. S.; ILLUM, L. In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 166, n. 1, p. 75–88, 1998.

36 DHAWAN, S.; SINGLA, A. K.; SINHA, V. R. Evaluation of mucoadhesive properties of chitosan microspheres prepared by different methods. **AAPS PharmSciTech**, New York, v. 5, n. 4, p. 1-7, 2004.

37 LEHR, C.M.; BOUWSTRA, J. A.; SCHACHT, E. H.; JUNGINGER, H. E. In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 78, p. 43–48, 1992.

38 PEDRO, R. O; SCHMITT, C. C.; NEUMANN, M. G. Syntheses and characterization of amphiphilic quaternary ammonium chitosan derivatives. **Carbohydrates Polymers**, Oxford, v. 147, p. 97-103, 2016.

39 BARBOSA, H. F. G.; LIMA, A. M. F.; TABOGA, S. R.; FERNANDES, J. C.; TIERA, V. A. O.; TIERA, M. J. Synthesis and self-assembly study of zwitterionic amphiphilic derivates of chitosan. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 133, n. 44, p. 44176-44185, 2016.

40 TIERA, M. J.; QIU, X. P.; BECHAOUCH, S.; SHI, Q.; FERNANDES, J. C.; WINNIK, F. M. Synthesis and characterization of phosphorylcholine-substituted chitosans soluble in physiological pH conditions. **Biomacromolecules**, Washington, v. 7, n. 11, p. 3151-3156, 2006.

41 SINGH, M. K.; PRAJAPATI, S. K.; MAHOR, A.; SINGH, N. R.; SINGH, R. Chitosan: a novel excipient in pharmaceutical formulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research,** Panchkula, v. 2, n. 9, p. 2266-2277, 2011.

42 ILLUM, L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. **Pharmaceutical Research**, New York, v. 15, n. 9, p. 13-26-1331, 1998.

43 SUGANO, M.; FUJIKAWA, T.; HIRATSUJI, Y.; NAKASHIMA, K.; FUKUDA, N.; HASEGAWA, Y. A novel use of chitosan as a hypocholesteromic agents in rats. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 33, n. 4, p. 787-793, 1980.

44 BALDRICK, P. The safety of chitosan as a pharmaceutical excipient. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Maryland Heights, v. 56, p. 290-299, 2010.

45 HATHCOCK, J. N.; SHAO, A. Risk assessment for glucosamine and chondroitin sulfate. **Regulatory Toxicology Pharmacology**, Maryland Heights, v. 47, n. 1, p. 78–83, 2007.

46 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 Solution Chemistry**, New York, v. 38, p. 695–712, 2009.

47 BOONSONGRIT, Y.; MITREVEJ, A.; MUELLER, B. W. Chitosan drug binding by ionic interaction. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Amsterdam, v. 62, p. 267–274, 2006.

48 BOONSONGRIT, Y.; MUELLER, B. W.; MITREVEJ, A. Characterization of drugchitosan interaction by 1H NMR, FTIR and isothermal titration calorimetry. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Amsterdam, v. 69, p. 388–395, 2008. 49 SAITÔ, H.; TABETA, R.; OGAWA, K. High-resolution solid-state ¹³C NMR study of chitosan and its salts with acids: conformational characterization of polymorphs and helical structures as viewed from the conformation-dependent ¹³C chemical shifts. **Macromolecules**, Washington, v. 20, p. 2424-2430, 1987.

50 ANDRE, S. D.; DOMARD, A. Chitosan carboxylic acid salts in solution and in the solid state. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 23, p. 211-219, 1994.

51 IMAI, T.; SHIRAISHI, S.; SAITÔ, H.; OTAGIRI, M. Interaction of indomethacin with low molecular weight chitosan and improvements of some pharmaceutical properties of indomethacin by low molecular weight chitosans. **International journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 67, p. 11-20, 1991.

52 CORTI, G.; MAESTRELLI, F.; CIRRI, M.; MURA, P. Dissolution and permeation proprieties of naproxen from solid-state systems with chitosan. **Drug Delivery**, Philadelphia, v. 15, n. 5, p. 303-312, 2008.

53 MURA, P.; ZERROUK, N.; MENNINI, N.; MAESTRELLI, F.; CHEMTOB, C. Development and characterization of naproxen-chitosan solid systems with improved drug dissolution properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 19, p. 67-75, 2003.

54 BHISE, K. S.; DHUMAL, R. S.; PARADKAR, A. R.; KADAM, S. S. Effect of drying methods on swelling, erosion and drug release from chitosan-naproxen sodium complexes. **AAPs PharmSciTech**, New York, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2008.

55 BHISE, K. S.; DHUMAL, R. S.; CHAUHAN, PARADKAR, A.; KADAM, S. S. Effect of oppositely charged polymer and dissolution médium on swelling, erosion, and drug release from chitosan matrices. **AAPs PharmSciTech**, New York, v. 8, n. 2, p. E110-E118, 2007.

56 MAESTRELLI, F.; ZERROUK, N.; CHEMTOB, C.; MURA, P. Influence of chitosan and its glutamate and hydrochloride salts on naproxen dissolution rate and permeation across Caco-2 cells. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 271, p. 257–267, 2004.

57 ZERROUK, N.; MENNINI, N.; MAESTRELLI, F.; CHEMTOB, C.; MURA, P. Comparison of the effect of chitosan and polyvinylpyrrolidone on dissolution properties and analgesic effect of naproxen. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Amsterdam, v. 57, p. 93-99, 2004.

58 REGE, P. R.; SHUKLA, D. J.; BLOCK, L. H. Chitinosan-drug complexes: effect of electrolyte on naproxen release in vitro. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 250, p. 259-272, 2003.

59 MELLER, J. The influence of different kinds of chitosan on bioavailability of antiinflammatory drugs. **Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives**, Lodz, v. 15, p. 127-134, 2010. 60 PERCHYONOK, V. T.; REHER, V.; ZHANG, S.; GROBLER, S. R.; OBERHOLZER, T. G.; MASSEY, W. Insights and relative effect of aspirin, naproxen and ibuprofen containing hydrogels: from design to performance as a functional dual capacity restorative material and build in free radical defense: In-vitro studies. **Open Journal of Stomatology**, Irvine, v. 4, p. 73-83, 2014.

61 GOUDA, M.; ELAYAAN, U.; YOUSSEF, M. M. Synthesis and biological activity of drug delivery system based on chitosan nanocapsules. **Advances in Nanoparticles**, Irvine, v. 3, p. 148-158, 2014.

62 LUPPI, M. D. B. **Preparação, caracterização e estudos de liberação controlada de captropil em uma matriz de quitosana**. Projeto de iniciação científica – FAPESP Processo 09/17143-3. São Carlos: Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2009.

63 ARAÚJO, E. L. **Preparação e caracterização de bases de Schiff e complexos metálicos a partir de quitosana e derivados de salicilaldeídos**. 2015. Tese (Doutorado Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

64 SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S. P. Purificação e caraterização de quitosana comercial. **Polímeros**, São Carlos, v. 8, n. 4, p. 63-68, 1998.

65 SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S. P. Característica e propriedades de quitosanas purificadas nas formas neutra, acetato e cloridrato. **Polímeros**, São Carlos, v. 11, n. 2, p. 58-64, 2001.

66 SILVA, R. C.; ANDRADE JUNIOR, M. A.; CESTARI, A. R. Adsorção de Cr(VI) em esferas reticuladas de quitosana: novas correlações cinéticas e termodinâmicas utilizando microcalorimetria isotérmica contínua. **Química Nova,** São Paulo, v. 33, n. 4, p. 880-884, 2010.

67 MOHIDEEN, S.; SHIVAKANTH, M.; SURESHKUMAR, R.; KRISHNAN, S. N.; SURENDRANATH, Y.; SATYANARAYANA, T. Development and validation of analytical method for naproxen and pantoprazole in capsule dosage form. **Der Pharmacia Sinica**, Udaipur, v. 2, n. 6, p. 114-121, 2011.

68 AYDIN, C; ABD EL-SADEK, M. S.; ZHENG, K.; YAHIA, I. S.; YAKUPHANOGLU, F. Synthesis, diffused reflectance and electrical properties of nanocrystalline Fe-doped ZnO via sol-gel calcination technique. **Optics & Laser Technology**, London, v. 48, p. 447-452, 2013.

69 GUINESI, L. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Influence of some reactional parameters on the substitution degree of biopolymeric schiff bases prepared from chitosan and salicylaldehyde. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 65, p. 557-561, 2006.

70 PEREIRA, S. F. **Estudo e transformação química de biopolímeros a base de quitina e quitosana para preparação de materiais com diversas propriedades**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais. POSMAT) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Presidente Prudente, 2012.

71 CARIGNANI, E.; BORSACCHI, S.; BRADLEY, J. P.; BROWN, S. P.; GEPPI, M. Strong intermolecular ring current influence on 1H chemical shifts in two crystalline forms of naproxen: a combined solid-state NMR and DFT study. **The Journal Physical Chemistry C**, Washington, v. 117, p. 17731–17740, 2013.

72 MOHANINIA, M. H. **Preparation and characterization of cross-linked chitosan beads for phophaste adsortion in solution.** 2016. Master in Science – Departament of Chemistry University of Saskatchewan, Saskatoon, 2016.

73 CHEN, A. H.; LIU, S. C.; CHEN, C. Y.; CHEN, C. Y. Comparative adsortion of Cu (II), Zn (II), and Pb(II) ions in aqueous solution on the crosslinked chitosan with epichlorohydrin. **Journal of Hazadous Materials**, Amsterdam, v. 154, p. 184-191, 2008.

74 YAKUB IQBAL, MD.; NARAYANA RAO, K. M. V.; SRIDHAR, G.; PADMANABHA RAJU, P.; DESHPANDE, G. R.; MOSES BABU, J. Characterization and relative response factor determination of process related impurity in Naproxen by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 56, p. 484–490, 2011.

75 DUARTE, M. L.; FERREIRA, M. C.; MARVÃO, M. R.; ROCHA, J. An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 31, n. 1-3, p. 1-8, 2002.

76 BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J. GOYCOOLEA F. M.; ARGUELLES-MONAL, W.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, London, v. 42, n. 8, p. 3569-3580, 2001.

77 CARVALHO, T. V. **Biomateriais à base de quitosana de camarão e bactérias para remoção de metais traços e petróleo**. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas) – Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

78 SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

79 DAMASIO, V. A. G. **Naproxeno encapsulado em carreadores lipídicos nanoestruturados para administração parenteral**: do preparo aos testes farmacológicos. 2017. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.

80 AL TAMEEMI, M. B. **Chitosan citrate membranes for naproxen delivery**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Químicas) - Institute of Graduate Studies and Research in Partial Fulfillment - Eastern Mediterranean University, Gazimağusa, 2013.

81 PAVIA, D.L; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**. 3. ed. Boston: Thomson Learning, 2001.

82 KUMIRSKA, J.; CZERWICKA, M.; CZERWICKA, Z.; BYCHOWSKA, A.; BRZOZOWSKI, K.; THÖMING, J.; STEPNOWSKI, P. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. **Marine Drugs**, Basel, v. 8, p. 1567-1636, 2010.

83 FAKAYODE, S. O. Purity analysis of the pharmaceuticals naproxen and propranolol: a guided-inquiry laboratory experiment in the analytical chemistry laboratory. **Journal of Chemical Education**, Washington, v. 92, n. 1, p 157–162, 2015.

84 ADIBKIA, K.; JAVADZADEH, Y.; DASTMALCHI, S.; MOHAMMADI, G.; KARI NIRI, F.; ALAEI-BEIRAMI, M. Naproxen–eudragit® RS100 nanoparticles: preparation and hysicochemical characterization. **Colloids and Surfaces B**: Biointerfaces, Amsterdam, v. 83, p. 155–159, 2011.

85 JAVADZADEH, Y.; AHADI, F.; DAVARAN, S.; MOHAMMADI, G.; SABZEVARI, A.; ABIDKIA, K. Preparation and physicochemical characterization of naproxen–PLGA nanoparticles. **Colloids and Surfaces B**: Biointerfaces, Amsterdam, v. 81, p. 498–502, 2010.

86 ROBERTS, G. A. F. Chitin chemistry. London: The Macmillan Press, 1992.

87 FOCHER, B.; BELTRAME, P. L.; TORRI, A. N. G. Alkaline N-deacetylation of chitin enhanced by flash treatments. Reaction kinetics and structure modifications. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 12, p. 405-418, 1990.

88 MUZZARELLI, R. A.; FERRERO, A.; PIZZOLI, M. Light-scattering, X-ray diffraction, elemental analysis and infrared spectro-photometry characterization of chitosan, a chelating polymer. **Talanta**, Amsterdam, v. 19, p. 1222-1226, 1972.

89 UNITED STATES. Department of Commerce. National Institute of Standards and Technology. **Infrared spectroscopy standard reference data program collection**. Gaithersburg: NIST, 2018.

90 NICOLET EPA Vapor Phase database. OMINIC. 8.0 software. Madison: ThermoScientific, [19--].

91 BANNACH, G.; PERPÉTUO, G. L.; CAVALHEIRO, E. T. G.; CAVALHEIRO, C. C. S.; ROCHA, R. R. Efeitos da história térmica nas propriedades do polímero pet: um experimento para ensino de análise térmica. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 10, p. 1825-1829, 2011.

92 GUINESI, L. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. The use of DSC curves to determine the acetylation degree of chitin/chitosan samples. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 444, p. 128-133, 2006.

93 MEDEIROS, R. S.; FERREIRA, A. P. G.; CAVALHEIRO, E. T. G. Thermal behavior of naproxen and ketoprofen non-steroidal anti-inflammatory drugs. Journal Thermal Analysis and Calorimetry, Budapest, [2019?]. No prelo.

94 JAIN, A.; YANG, G. YALKOWSKY, S. H. Estimation of melting points of organic compounds. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, Washington, v. 43, p. 7618-7621, 2004.

95 RAMOS, L. A. **Investigação do comportamento térmico e de polimorfismo do antihistamínico loratadina**. 2011. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

Espectros de RMN de ¹³C dos produtos reacionais QN2, QN3, QN4, QN5, QN6,





Figura 37 A. . Espectros de RMN de ¹³C do sal QN4 e QN5.



Espectros de FTIR dos sais QN2, QN3, QN4, QN5, QN6;.



Figura 39 B. Espectros de FTIR QN1, QN2 e QN3.



Figura 40 B. Espectros de FTIR QN6, QN7 e QN8.

Espectros UV-vis dos sais QN2, QN3, QN4, QN5, QN6 e QPEPIN6.



Figura 41 C. Espectros de Uv-vis modo reflectância difusa dos sais QN2, QN3, QN4, QN5, QN6 e QPEPIN6.

Curvas TG/DTG/DTA dos sais QN2, QN3, QN4, QN5, QN6 e QPEPIN6.



Figura 42 D. (a) Curva TG/DTG e (b) TG/DTA do sal QN2.



Figura 43 D. (a) Curva TG/DTG e (b) TG/DTA do sal QN3.



Figura 44 D. (a) Curva TG/DTG e (b) TG/DTA do sal QN4.



Figura 45 D. (a) Curva TG/DTG e (b) TG/DTA do sal QN5.



Figura 46 D. (a) Curva TG/DTG e (b) TG/DTA do sal QN6.


Figura 47 D. (a) Curva TG/DTG e (b) TG/DTA do sal QPEPIN6.

Apêndice 5

Estudo da dissociação em pH 2,00 e 7,00 dos sais QN6 e QPEPIN6



Figura 48 E. Comparação dos perfis de dissociação do naproxeno em função do tempo nos diferentes meios do sal QN6 pH 2,00 (preto preenchido) e pH 7,00 (preto vazado), no comprimento de onda de 270 nm, a 37,0 °C.



Figura 49 E. Comparação dos perfis de dissociação do naproxeno em função do tempo nos diferentes meios do sal QPEPIN6 pH 2,00 (vermelho preenchido) e pH 7,00 (vermelho vazado), no comprimento de onda de 270 nm, a 37,0 °C.



Figura 50 E. Comparação dos perfis de dissociação do naproxeno em função do tempo nos diferentes pH dos sais QN6 e QPEPIN6, no comprimento de onda de 270 nm, a 37,0 °C.

Tabela 11. Concentrações de equilíbrio do naproxeno nos pH 2,00 e 7,00 dos sais QN6 e QPEPIN6, referente ao acompanhamento da dissociação em 180 minutos.

	рН 2,00			рН 7,00		
Amostra	[NAP]± Sd / mol L ⁻¹ (K _{part})*	Massa de NAP / mg	Tempo / min	[NAP] ± Sd / mol 1 (K _{part})*	Mas L ⁻¹ sa de NAP / mg	Tempo / min
QN6	6,41 x 10 ⁻⁵ ±7,42 x10 ⁻⁷	0,74	48,82	4,79 x 10 ⁻⁵ ±3,17 x 1	0-7 0,55	35,67
QPEPIN6	7,19 x 10 ⁻⁵ ±8,11 x10 ⁻⁷	0,83	79,26	5,00 x 10 ⁻⁵ ±4,18 x 1	0 ⁻⁷ 0,58	40,52

*K_{part} = constante de equilíbrio de partição.