

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO – UNIFESP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS, QUÍMICAS E FARMACÊUTICAS

GIORGIO FERNANDO DE AVELAR FRANCISCO

**Estudo da imobilização de ibuprofeno por ligação amida no interior
dos poros de partículas de sílica mesoporosa**

Diadema, 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO – UNIFESP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS, QUÍMICAS E FARMACÊUTICAS

GIORGIO FERNANDO DE AVELAR FRANCISCO

**Estudo da imobilização de ibuprofeno por ligação amida no interior
dos poros de partículas de sílica mesoporosa**

Trabalho de conclusão da unidade curricular Projetos
Dirigidos em Química, como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharel em Química.

Prof. Dr. MARCOS AUGUSTO BIZETO
Orientador

Diadema, 2017

Ficha Catalográfica

Francisco, Giorgio.

Estudo da imobilização de ibuprofeno por ligação amida no interior dos poros de partículas de sílica mesoporosa

Giorgio Fernando de Avelar Francisco. - Diadema, 2017.

Número de folhas: 41

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química)
– Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema,
2017.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Augusto Bizeto

CDD 615.7

Dedicatória

Gostaria de dedicar este trabalho aos meus pais, Adriana Francisco e Walter Francisco e a minha irmã por sempre estarem do meu lado nos momentos bons e ruins, me apoiarem em todas as decisões que tomei ao longo da minha vida e por nunca deixarem eu desistir.

Dedico este trabalho também a minha namorada que sempre me deu forças e me ajudou tanto na vida pessoal quanto na vida acadêmica, pois além de namorada, ela estuda comigo e nos ajudamos em todas as situações possíveis.

Por último, porém não menos importante, dedico este trabalho à Deus por sempre me guiar nas tomadas de decisões que tive e ainda terei que fazer durante minha vida e por me dar paciência e sabedoria para enfrentar os momentos mais complicados impostos a mim.

Agradecimentos

Quero agradecer a todos citados anteriormente, pois eles foram minha força motriz, que me empurrou para frente e nunca me deixou desistir ou falhar, fazendo com que o sonho de me formar fosse realizado com sucesso.

Gostaria de agradecer a UNIFESP por me proporcionar a estrutura necessária para que este trabalho fosse concluído e agradecer ao laboratório de materiais híbridos (LMH), onde a minha pesquisa foi realizada e obtive ajuda tanto dos colegas, quanto dos professores que lá estavam sempre que solicitados.

Gostaria de agradecer a todos os professores da universidade, pois foram eles os responsáveis por eu obter o conhecimento necessário para que minha formação fosse sólida e bem fundamentada e em particular ao Prof. Dr. Marcos Bizeto, que foi meu orientador e grande responsável por este projeto ser entregue. Muito obrigado professor por sempre me ensinar tudo que estava em seu alcance e por depositar confiança em meu trabalho, conhecimento e potencial.

Epígrafe

“Que vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível “

Charles Chaplin

Resumo

Sílicas mesoporosas ordenadas são consideradas sistemas promissores para atuar na liberação controlada de fármacos. Esses sólidos apresentam biocompatibilidade e baixa citotoxicidade no meio fisiológico, além de propriedades como grande área superficial e volume de poros, o que permite a imobilização de grandes quantidades de fármacos, e a fácil modificação química superficial. Esta última permite ajustar a interação a ser estabelecida entre o fármaco e o carreador inorgânico. O presente estudo reportado como trabalho de conclusão de curso teve como objetivo principal efetuar o ancoramento de ibuprofeno, um fármaco anti-inflamatório usado como molécula modelo, através da formação de ligação covalente do tipo amida. As ligações amida são comuns e estáveis em sistemas biológicos podendo ser quebradas através da variação de pH do meio ou ação de enzimas, se mostrando um potencial sistema de liberação controlada de fármacos. A reação, mediada pelo agente de acoplamento EDC(1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida)/NHS(N-hidroxisuccinimida), ocorreu entre o ácido carboxílico presente no fármaco e grupos aminopropila e diaminopropila ancorados à sílica mesoporosa MCM-41 por pós-funcionalização. Através da análise de espectroscopia na região do infravermelho foi confirmada a formação da ligação amida entre o fármaco e a sílica. A difratometria de raios X mostrou que o ordenamento estrutural do material foi mantido mesmo após as funcionalizações e acoplamento de ibuprofeno. A composição química dos materiais foi determinada por curvas termogravimétricas e mostrou que para os dois grupos funcionais a reação com ibuprofeno ocorreu na proporção molar de 1:1. Através do teste de liberação percebeu-se que o ibuprofeno foi liberado em maior quantidade com a sílica com grupo diamínico. O modelo cinético de Korsmeyer-Peppas foi melhor ajustado para a cinética de liberação do grupo diamínico quando comparado o material sintetizado com grupo amínico.

Palavras-chave: MCM-41, ibuprofeno, liberação controlada, pós-funcionalização.

Abstract

Ordered mesoporous silicas are considered promising systems to act in controlled drug delivery. These materials exhibit biocompatibility and low cytotoxicity in physiological environments, besides their properties of high surface area and large free volume of pores which allow the immobilization of great amount of drugs. The easy surface modification of this silicas mesostructures allows modulating the interaction to be established between the drug and the inorganic carrier. In the present study the main goal was anchoring ibuprofen, an anti-inflammatory drug used as model molecule, through the formation of a covalent amide bond with amine functionalized MCM-41 mesoporous silica. The amide bond is common and stable in biological systems but can be broken through the action of enzymes and low pH, showing itself a potential useful mechanism to control the drug releasing. The reaction, mediated by EDC 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) /NHS (N-Hydroxysuccinimide) coupling agent, occurred between carboxylic acid presents in drug and the aminopropyl and diaminopropyl anchored to MCM-41 mesoporous silica by post-functionalization. Infrared absorption spectroscopy confirmed the formation of the amide bond between the drug and silica. X-ray diffractometry showed that the material structural ordering was preserved after the functionalization and the ibuprofen anchoring process. The chemical composition of the materials was determined by thermogravimetric curves and revealed that for the both functional groups the reaction with ibuprofen occurred with 1:1 molar ratio. Drug release assays showed a larger ibuprofen release for the silica containing the diaminic group. The Korsmeyer-Peppas kinetic model was best fit for the release of ibuprofen anchored to diaminic group when compared with the synthesized material containing aminic group.

Keywords: MCM-41, ibuprofen, controlled delivery, post-functionalization.

Lista de Abreviaturas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FDA – Food And Drug Administration

TEOS – Tetraetilortosilicato

MCM-41- Mobil Composition of Matter

APTES – 3-aminopropiltrietoxisilano

CTAB – Brometo de Cetiltrimetilamônio

IV- Infravermelho

DRX – Difractometria de Raios X

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão

ATG – Análise Termogravimétrica

NNH₂ – N-[3-(trimetoxisilil)propiletlenodiamina]

NH₂ – 1-[3-(trimetoxisilil)propilamina]

EDC – 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

NHS – N-hidroxisuccinimida

DMSO – Dimetilsulfóxido

BET – Brunauer-Teller

BJH – Barret-Joyner-Halend

IBU - Ibuprofeno

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. PROPRIEDADES FUNDAMENTAIS DAS SÍLICAS MESOPOROSAS.....	2
1.2. SÍLICAS MESOPOROSAS COMO CARREADORES PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DE FÁRMACOS	3
1.2.1. Carreadores com liberação controlada por variação de pH baseados em sílica mesoporosa.....	4
2. OBJETIVOS	6
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	7
3.1. PREPARAÇÃO DA SÍLICA MESOPOROSA MCM-41	7
3.2. PÓS-FUNCIONALIZAÇÃO DA MCM-41 COM GRUPOS AMINO E DIAMINO	7
3.3. REAÇÃO DE ACOPLAMENTO DO IBUPROFENO NAS SÍLICAS FUNCIONALIZADAS	8
3.4. ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DE IBUPROFENO	9
3.5. DESCRIÇÃO DOS EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NAS CARACTERIZAÇÕES	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	12
4.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ESTRUTURAL E TEXTURAL DA MCM-41.	12
4.1.1. Difratomia de raios X (DRX).....	12
4.1.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV).....	14
4.1.3. Análise termogravimétrica (ATG).....	15
4.1.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de transmissão (MET).....	16
4.1.5. Isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio.....	17
4.2. PÓS-FUNCIONALIZAÇÃO E ACOPLAMENTO DO IBUPROFENO NA MCM-41:NH ₂	18
4.2.1. Difratomia de raios X (DRX).....	18
4.2.2. Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	19
4.2.3. Análise termogravimétrica (ATG).....	20
4.3. IMOBILIZAÇÃO DO IBUPROFENO NA MCM-41:NNH ₂	21
4.3.1. Difratomia de raios X (DRX).....	21
4.3.2. Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	22
4.3.3. Análise termogravimétrica (ATG).....	24
4.4. ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DO IBUPROFENO.....	25
5. CONCLUSÕES.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

Lista de figuras

Figura 1 - Curvas hipotéticas da concentração sistêmica de um fármaco administrado por diferentes métodos de liberação (autoria própria).....	1
Figura 2 - Esquema simplificado do processo de formação da sílica mesoporosa MCM-41. Figura adaptada da referência ¹²	2
Figura 3 – Estrutura molecular do ibuprofeno.	5
Figura 4 - Estruturas químicas dos agentes sililantes (a) 1-[3-(trimetoxisilil)propilamina e (b) N-[3-(trimetoxisilil)propil-etilenodiamina utilizados na modificação química da MCM-41 (autoria própria).....	8
Figura 5 – Esquema da reação de funcionalização da MCM-41 com grupos amino e diamino (autoria própria).	8
Figura 6. Esquema da reação de acoplamento do ibuprofeno na sílica funcionalizada (autoria própria).	9
Figura 7- Frasco adaptado para teste de liberação de ibuprofeno a partir de pastilhas da MCM-41.	10
Figura 8 - Difratoformas de raios X da (a) mesofase de MCM-41 (CTA@MCM-41) e (b) MCM-41.....	12
Figura 9 - Representação do arranjo bidimensional hexagonal da célula unitária da MCM-41 com destaques à distância interplanar $d_{(100)}$ e a dimensão a_0 da célula unitária. (autoria própria).....	13
Figura 10 - Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da (a) CTA@MCM-41 e (b) MCM-41.	14
Figura 11 - Curvas termogravimétricas da CTA@MCM-41 e da MCM-41 registradas em atmosfera de ar sintético.....	16
Figura 12 - Imagens da MCM-41 registradas por microscopia eletrônica de varredura (a), microscopia eletrônica de transmissão convencional (b) e de alta resolução (c).	17
Figura 13 - Isotermas de adsorção e dessorção de N_2 na MCM-41.	17
Figura 14 - Difratoformas de raios X de (a) MCM-41:NH ₂ e (b) MCM-41:NH-Ibu.	18
Figura 15 - Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da MCM-41:NH ₂	19
Figura 16 - Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da MCM-41:NH-IBU.	20
Figura 17. Curvas termogravimétricas da MCM-41:NH ₂ e da MCM-41:NH-Ibu.	21
Figura 18. Difratoformas de raios X de (a) MCM-41:NNH ₂ e (b) MCM-41:NNH-IBU.	22
Figura 19. Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da MCM-41:NNH ₂	23
Figura 20. Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da MCM-41:NNH-IBU.....	24
Figura 21. Curvas termogravimétricas da MCM-41:NNH ₂ e da MCM-41:NNH-Ibu.	25
Figura 22 – Curvas de liberação do ibuprofeno acoplado na MCM-41-NH-Ibu e MCM-41-NNH-Ibu.	26
Figura 23 – Gráfico do modelo Korsmeyer-Peppas aplicado à (a) MCM-41-NH-Ibu e (b) MCM-41-NNH-Ibu.	27

1. Introdução

A busca por carreadores de fármacos e moléculas bioativas, que apresentem capacidade de liberação modificada, é tema de intensa atividade de pesquisa e de interesse tecnológico. Isto se deve ao fato desses sistemas carreadores proporcionarem tratamentos mais eficientes, especialmente quando os fármacos envolvidos apresentem restrições em sua administração relacionadas a pouca solubilidade e estabilidade no meio fisiológico, elevada toxicidade, necessidade de alta dosagem e tempos de residência e de vida curtos no organismo.¹

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) os processos de liberação modificada de fármacos podem ser classificados como prolongados ou retardados ². A liberação prolongada visa manter a concentração sistêmica do fármaco constante dentro da janela terapêutica, por longos períodos, como mostrado na Figura 1. Já a liberação retardada é desenhada para proporcionar uma liberação do fármaco mediante a um estímulo externo, que desencadeie o processo e evite a liberação precoce em locais onde o fármaco possa provocar efeitos indesejados ou em tecidos e células saudáveis.

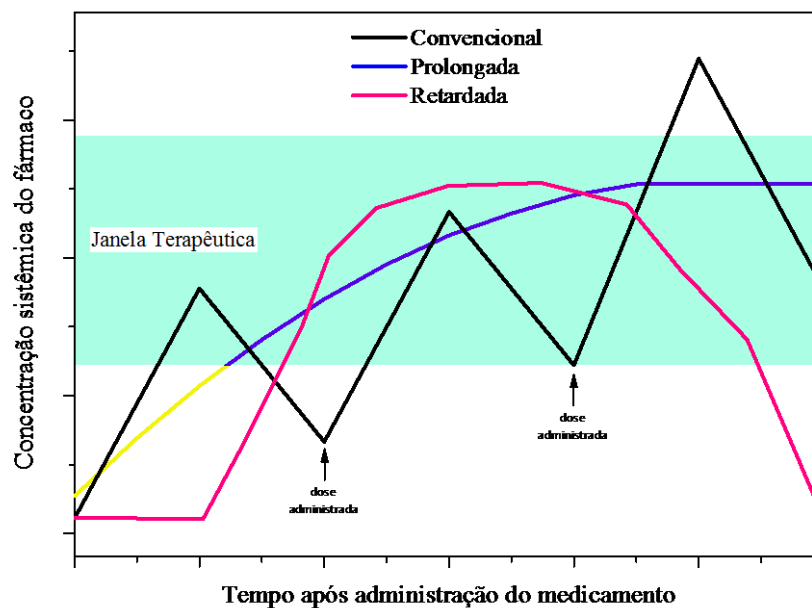


Figura 1 - Curvas hipotéticas da concentração sistêmica de um fármaco administrado por diferentes métodos de liberação (autoria própria).

Os sistemas carreadores que já passaram por diferentes fases de ensaios clínicos e são, atualmente, aprovados por órgãos de regulamentação como a ANVISA e o FDA (Food and Drug Administration) americano para uso terapêutico são, em sua ampla maioria, constituídos por matrizes poliméricas e lipossômicas.³ Esse tipo de composição química é interessante por apresentar biocompatibilidade, pouca toxicidade e biodegradabilidade, porém costumam apresentar

problemas de estabilidade química e estrutural no meio biológico, o que acaba por impactar a eficiência desejada do carreador no tratamento.

Com o avanço da nanotecnologia, materiais com diferentes composições e naturezas químicas estão surgindo como alternativas interessantes e promissoras aos lipossomos e polímerosossomos. Neste campo, nanopartículas inorgânicas e híbridas estão ganhando espaço,⁴ não só pelas questões de maior estabilidade química e estrutural no meio biológico, mas por possuírem propriedades óticas, magnéticas e químicas diferenciadas, o que permite produzir sistemas multifuncionais, que aliam diagnóstico e tratamento na mesma estrutura.^{5,6}

Neste universo, as sílicas mesoporosas são consideradas uma plataforma ideal e muito promissora para o desenvolvimento de carreadores multifuncionais⁷⁻⁹ em razão de suas propriedades químicas, estruturais e de bicompatibilidade que serão discutidas a seguir.

1.1. Propriedades fundamentais das sílicas mesoporosas

As sílicas mesoporosas são produzidas a partir da hidrólise controlada de um precursor inorgânico, geralmente tetraetilortossilicato (TEOS), ao redor de agregados micelares de surfactantes iônicos ou não iônicos, os quais, ao mesmo tempo, servem para direcionar a formação de uma mesofase ordenada e molde para os poros estruturais (Figura 2). O mecanismo de reação de formação da mesofase através de surfactantes iônicos é baseado nas interações eletrostáticas que ocorrem entre a superfície carregada do precursor e a cabeça polar do surfactante, com carga oposta, já com a utilização de surfactantes não iônicos a formação se dá através de ligações de hidrogênio e interações dipolares.¹⁰ Com a posterior remoção desses agregados micelares por calcinação ou extração com solventes, são produzidas mesoestruturas repletas de poros estruturais, cujos diâmetros e dimensionalidades (uma, duas ou três dimensões) são precisamente controladas pelas condições sintéticas utilizadas e pelo tamanho da cadeia orgânica do surfactante.¹¹

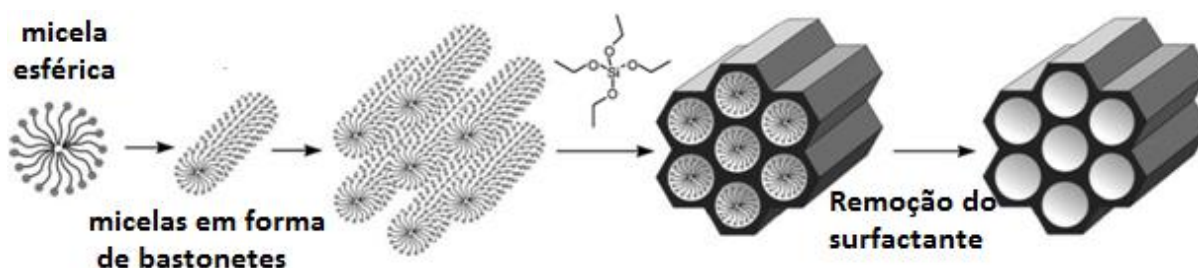


Figura 2 - Esquema simplificado do processo de formação da sílica mesoporosa MCM-41. Figura adaptada da referência ¹².

Assim, as sílicas mesoporosas apresentam propriedades físico-químicas e texturais únicas divididas entre domínios estruturais distintos combinados no mesmo arranjo estrutural; o esqueleto inorgânico, a superfície interna e externa das partículas e o espaço vazio dos poros.

O esqueleto inorgânico é formado por unidades $-\text{[SiO}_4\text{]}-$ tetraédricas unidas através do compartilhamento dos átomos de oxigênio localizados nos vértices, o que confere ao material estabilidade térmica e química. Entretanto, diferentemente do encontrado nas sílicas densas e cristalinas, essas unidades tetraédricas podem apresentar baixo grau de condensação, o que diminui a presença de anéis siloxanos organizados e tensionados.¹³⁻¹⁵ Essa peculiaridade possibilita a hidrólise gradativa da mesoestrutura no meio fisiológico e, conseqüentemente, sua biodegradação seguida de eliminação do organismo⁸, além de reduzir, também, a geração de espécies reativas de oxigênio, que é uma das principais fontes de citotoxicidade das sílicas densas e cristalinas.^{16,17}

A grande área superficial interna dos poros e externa das partículas de sílicas mesoporosas é repleta de grupos silanóis terminais que são reativos e responsáveis por propriedades catalíticas, de adsorção e pela fácil modificação química superficial das partículas. Como a maior parte desses grupos silanóis são internos, localizados no interior dos poros, as sílicas mesoporosas apresentam atividade inflamatória reduzida em comparação às sílicas cristalinas e densas, já que grupos silanóis em contato com membranas celulares podem provocar sua ruptura, desencadeando processos inflamatórios.¹⁸

Os poros estruturais, com tamanho e dimensionalidades precisamente controladas pelas condições sintéticas utilizadas apresentam um volume livre acessível da ordem $1 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, o que resulta na capacidade das sílicas mesoporosas de armazenar grandes quantidades de espécies de diferentes naturezas químicas.

Essas características fundamentais das sílicas mesoporosas são de grande utilidade para o desenvolvimento de carreadores para a liberação de fármacos, que serão discutidos em detalhes a seguir.¹⁹

1.2. Sílicas mesoporosas como carreadores para liberação modificada de fármacos

A utilização de uma sílica mesoporosa como carreador de fármaco foi reportada pela primeira vez em 2001.²⁰ Neste estudo o ibuprofeno foi imobilizado por adsorção nos poros da sílica MCM-41 e a liberação avaliada em fluido corporal simulado. O fármaco foi continuamente liberado por um período de 3 dias após a imersão de uma pastilha do material no fluido. Desde então, as sílicas mesoporosas vem sendo amplamente estudadas como transportadores de fármaco, tanto em sistemas de liberação prolongada^{21,22} quanto de liberação retardada²³.

Os estudos mais recentes estão relacionados com a modificação química das sílicas mesoporosas com o intuito de produzir mecanismos que controlem a liberação de fármacos a partir de estímulos externos variados como alteração de pH²⁴, aquecimento²⁵, alteração de potencial redox²⁶, irradiação eletromagnética²⁷ e aplicação de campo magnético²⁸. Tais mecanismos para

controle da liberação de fármacos são de grande importância para o desenvolvimento de sistemas terapêuticos inteligentes, mais eficientes e menos tóxicos, pois evitam a liberação precoce do agente terapêutico em locais indevidos e em tecidos saudáveis.

Grande parte do tratamento de doenças metabólicas e genéticas requerer uma ação intracelular do fármaco administrado, mas muitas vezes acontece de a espécie ativa não ser por si só capaz de atravessar a membrana celular, não ter a estabilidade química necessária no meio fisiológico ou apresentar toxicidade excessiva na dose necessária para a administração sistêmica. Carreadores são indispensáveis nesse tipo de situação. Um carreador para desempenhar tal função deve apresentar a capacidade de atravessar a membrana celular, mantendo a integridade da espécie que transportam e promover sua liberação apenas ao atingir o citoplasma sem provocar a morte da célula.

A captura do carreador pela célula, geralmente ocorre por endocitose.^{29,30} Neste processo, ao transpassar a membrana celular, o carreador é imobilizado em compartimentos celulares chamados de endossomos, que são responsáveis entre outras coisas por digerir a espécie internalizada pela ação de enzimas proteases e hidrolases, em um meio bem mais ácido (pH = 4,5 - 5,0) do que o meio fisiológico normal (pH = 7,2).³⁰ As propriedades químicas específicas no interior dos endossomos, especialmente o pH do meio, podem ser usadas como gatilho para desencadear a liberação do fármaco transportado.

1.2.1. Carreadores com liberação controlada por variação de pH baseados em sílica mesoporosa

Mortazavi et al³¹ estudaram a liberação controlada do ibuprofeno covalentemente ligado a sílica mesoporosa, por hidrólise da ligação amida formadas entre o fármaco e MCM-41 funcionalizadas com 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES). O ensaio foi realizado em fluido corporal simulado e cerca de 25% do ibuprofeno ligado à sílica foi liberado na primeira hora, atingindo 100% de liberação após 24 horas.

Roik et al³² estudaram a liberação de doxorrubicina, um fármaco utilizado em tratamento de câncer, em diferentes valores de pH. A MCM-41 foi modificada com grupos clorometila e cloropropila, posteriormente modificados grupos amino primários, os quais foram utilizados para ligar o fármaco por meio de ligação covalente. O teste de liberação foi realizado em pH igual à 7, ao acidificar-se a solução percebeu-se uma maior liberação do fármaco no menor valor de pH.

De maneira similar Shariatinia³³ inseriu metformina, medicamento utilizado no combate ao diabetes, nos poros da MCM-41, funcionalizada com APTES, que estava contida em um filme constituído por quitosana, glicerina e polietileno glicol. A interação entre o fármaco e a sílica

funcionalizada é do tipo ligação de hidrogênio e o teste de liberação foi realizado em tampão de fosfato com valor de pH igual a 7,4, resultando em uma rápida liberação nas primeiras 24 horas e estabilizando-se após este tempo.

Cuello e colaboradores³⁴ sintetizaram a MCM-41 impregnada com partículas de ferro por diferentes métodos para torná-las magnéticas e assim testar a influência desta propriedade com a liberação de indometacina, um fármaco anti-inflamatório, o qual interage por ligação de hidrogênio, através dos átomos de oxigênio de grupos carbonílicos presentes na estrutura e grupos silanóis presentes na superfície da sílica. O teste foi realizado em fluido corporal simulado com pH no valor igual à 7,4 mostrando alta liberação nas primeiras 4 horas de experimento.

No presente estudo, o ibuprofeno (Figura 3) foi imobilizado em sílica mesoporosa MCM-41 pós-funcionalizada com grupos propilamina e propildiamina pela formação de ligação covalente do tipo amida. Esse fármaco foi escolhido como modelo por ter dimensões moleculares compatíveis com a dos poros da sílica e por apresentar um grupo ácido carboxílico necessário à formação da ligação amida. Tal modificação química do ibuprofeno é adotada em estudos farmacológicos^{28,29} como forma de diminuir os efeitos colaterais severos observado nas membranas gástricas provocados pelo uso contínuo desse fármaco.²⁸ O pró-fármaco formado com essa modificação tem a capacidade de passar ileso pelo estômago e sofrer hidrólise apenas na região intestinal, liberando o ibuprofeno com um tempo de meia vida da ordem de 75 minutos.²⁹

Esses estudos farmacológicos indicam a possibilidade de usar a hidrólise da ligação amida como gatilho para controlar a liberação de fármacos no meio intracelular. Essa é uma reação que ocorre lentamente em meio neutro, atingindo um valor máximo em meio ácido diluído como do interior dos endossomos e decrescendo em concentrações elevadas de ácido.³⁵

Além disso, o ibuprofeno vem sendo utilizado como fármaco modelo em muitos estudos de liberação modificada em sílicas mesoporosas publicados na literatura, o que facilita a comparação de resultados e a verificação da efetividade do mecanismo de liberação controlada proposto.

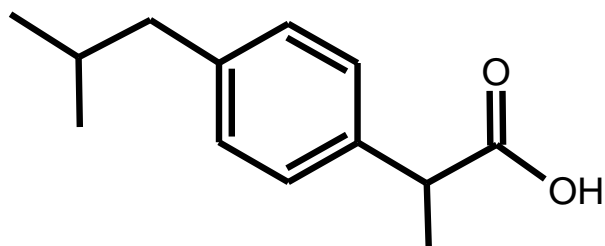


Figura 3 – Estrutura molecular do ibuprofeno.

2. Objetivos

O objetivo principal do presente estudo foi desenvolver um possível protótipo de um mecanismo químico para controlar a liberação de fármacos imobilizados em sílicas mesoporosas, baseado na reação de hidrólise de ligações amidas.

Os objetivos específicos do estudo foram:

- Desenvolver a rota sintética para formação da ligação da amida entre o ibuprofeno e a MCM-41 funcionalizada com grupos amino;
- Avaliar a influência de grupos monoamino e diamino na cinética de hidrólise da ligação amida.

3. Procedimento Experimental

3.1. Preparação da sílica mesoporosa MCM-41

A síntese da sílica mesoporosa foi conduzida a partir da mistura dos reagentes tetraetilortossilicato (TEOS – Aldrich), brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB – Aldrich), hidróxido de amônio (NH₄OH 27% – Synth) e água deionizada, na proporção molar³⁶: 525(H₂O) : 69(NH₄OH) : 0,125(CTAB) : 1(TEOS). Para a síntese realizada, 328,4 mL de NH₄OH foram adicionados a 72,1 mL de água deionizada até que houvesse a homogeneização desta solução, então foram adicionados cerca de 1,5 g de CTAB e a nova solução foi colocado sob agitação magnética e aquecida a 50 °C para que houvesse total dissolução do surfactante. Após esta etapa a solução foi retirada do aquecimento e então foi adicionado 7,4 mL de TEOS de uma só vez e a reação foi deixada sob agitação em temperatura ambiente por 2 horas. O sólido branco formado, designado como CTA@MCM-41, foi isolado através de filtração à pressão reduzida, lavado com água deionizada e seco em dessecador sob pressão reduzida com sílica gel como secante.

O sólido seco foi calcinado, para que a fase orgânica fosse eliminada, da seguinte maneira, aproximadamente 500 mg do sólido foram colocados em um cadinho de porcelana e este foi aquecido em um forno a uma velocidade de 2 °C/min até que fosse atingido 550 °C e manteve-se a esta temperatura por 3 horas. Na etapa de aquecimento foi utilizado atmosfera de nitrogênio e quando a temperatura de patamar foi alcançada ar sintético foi utilizado como atmosfera. Tanto a MCM-41 quanto a CTA@MCM-41 foram caracterizados por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV), difratometria de raios X (DRX), isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio, microscopia eletrônica de varredura (MEV), de transmissão (MET), composição química e estabilidade térmica foram avaliados por análise termogravimétrica (ATG).

3.2. Pós-funcionalização da MCM-41 com grupos amino e diamino

A MCM-41 obtida após a calcinação foi seca em estufa à vácuo por 24 horas a aproximadamente 100 °C e então uma quantidade de 1 g foi adicionada em 100 mL de tolueno, previamente seco com sulfato de magnésio. Após esta etapa adicionou-se aproximadamente 1,1mL de agente sililante N-[3-(trimetoxisilil)propil-etilenodiamina] (NNH₂) e 1-[3-(trimetoxisilil)propilamina] (NH₂), representados na Figura 4, mantendo a proporção 5 mmol agente sililante/g de sílica³⁷. O sistema foi deixado sob agitação e refluxo por 24 horas e 110 °C. Após este processo o sólido resultante foi separado através de filtração à pressão reduzida e lavado diversas vezes com tolueno seco e etanol de alta pureza e colocado em estufa à vácuo por 1 hora a 50 °C para que o excesso de tolueno e etanol fossem retirados do sólido. O esquema da reação de

funcionalização está representado na Figura 5. Os sólidos resultantes, MCM-41:NH₂ e MCM-41:NNH₂ foram caracterizados por IV, DRX e ATG.

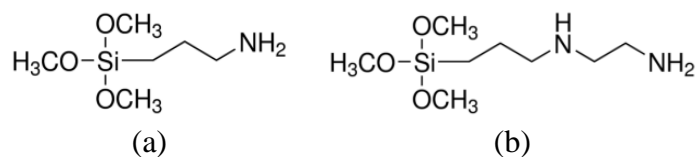


Figura 4 - Estruturas químicas dos agentes sililantes (a) 1-[3-(trimetoxisilil)propil]amina e (b) N-[3-(trimetoxisilil)propil]etilendiamina utilizados na modificação química da MCM-41 (autoria própria).

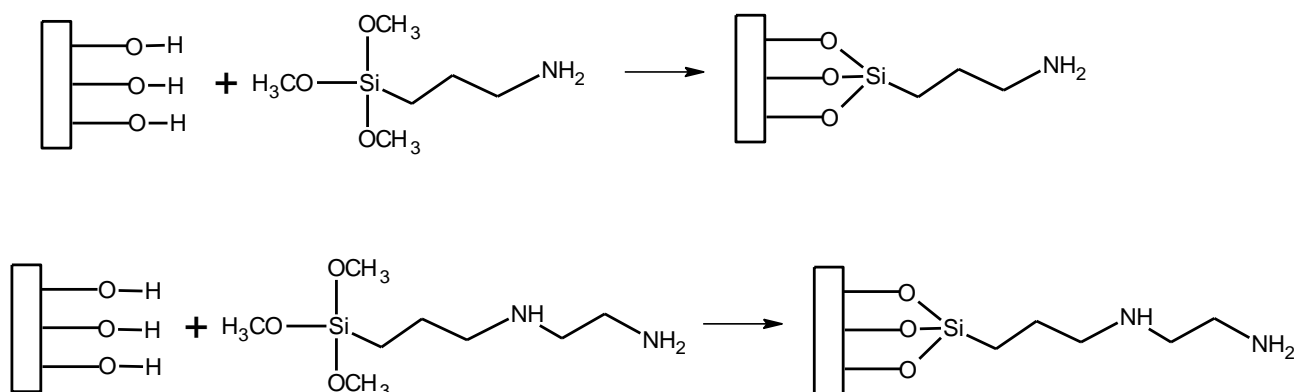


Figura 5 – Esquema da reação de funcionalização da MCM-41 com grupos amino e diamino (autoria própria).

3.3. Reação de acoplamento do ibuprofeno nas sílicas funcionalizadas

A imobilização da molécula de ibuprofeno foi feita da mesma maneira para ambas as funcionalizações, MCM-41:NH₂ e MCM-41:NNH₂. Foram utilizados os agentes de acoplamento 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC - Aldrich) / N-hidroxisuccinimida (NHS- Aldrich) em Dimetilsulfóxido (DMSO- Aldrich) para mediar a ligação o ibuprofeno (COOH – Pharma Plus; ponto de fusão de 75-77 °C e solubilidade em meio aquoso a 25 °C de 21 mg/L) com os grupos silanóis nas seguintes proporções³⁸ 1 (NH₂ ou NNH₂) : 1 (COOH) : 2 (EDC) : 1 (NHS) considerando-se a proporção entre grupos amínicos e diamínicos. Pesou-se aproximadamente 0,93 g de ibuprofeno e esta quantidade de massa foi dissolvido em uma pequena porção de DMSO. A esta solução adicionou-se 0,52 g de NHS e 1,73 g de EDC e então o volume da mistura foi completado com 50 mL de DMSO. Este sistema foi deixado sob agitação por 48 horas a temperatura ambiente. A MCM-41 funcionalizada foi previamente seca em estufa com pressão reduzida por 2 horas a aproximadamente 40 °C e após este período uma quantidade de 1,5 g deste sólido foi adicionado à solução inicial e a reação ocorreu por 96 horas em temperatura ambiente. O esquema da reação de ancoramento do ibuprofeno se encontra na Figura 6.

O sólido resultante foi filtrado sob pressão reduzida em um funil de vidro sinterizado (5) e lavado diversas vezes com DMSO. Após a separação o sólido, MCM-41:NH-IBU e MCM-41:NNH-IBU, foi colocada em estufa à pressão reduzida por 2 horas e 30 minutos a 50 °C. Para melhor secagem o sólido foi macerado e colocado novamente na estufa no mesmo tempo e na mesma temperatura. Ao final da secagem o sólido foi tratado com hexano em um extrator soxhlet por 44 horas para a remoção de moléculas de ibuprofeno que não foram ligadas covalentemente à sílica, sendo apenas adsorvidas. Após a extração o sólido foi colocado novamente em estufa à pressão reduzida por 40 minutos e temperatura ambiente. Os sólidos resultantes foram caracterizados por IV, DRX e ATG.

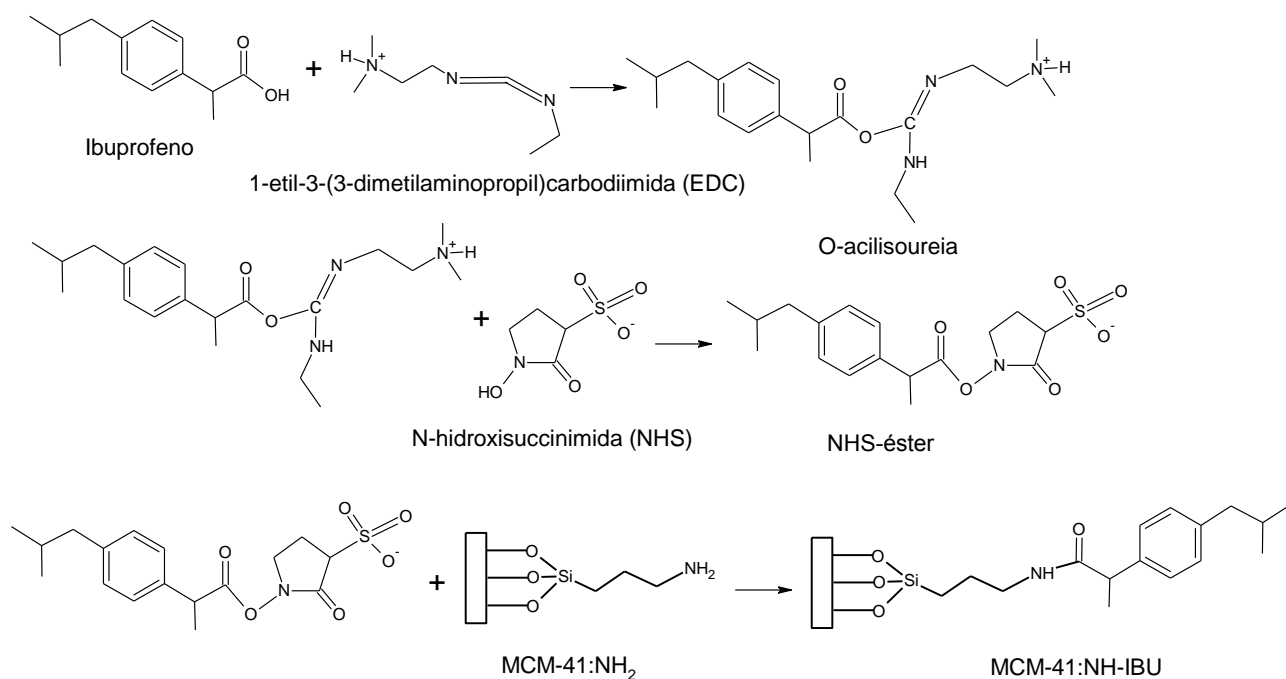


Figura 6. Esquema da reação de acoplamento do ibuprofeno na sílica funcionalizada (autoria própria).

3.4. Ensaios de Liberação de Ibuprofeno

O ensaio de liberação controlada do fármaco foi realizado em uma solução de tampão fosfato 0,1 M em pH alcalino (pH=8,1). O preparo da solução foi feito a partir das quantidades de sais determinadas pela Eq.1. Foram misturados 6,75 mL de uma solução 1 M de KH₂PO₄ e 93,25 mL 1 M de K₂HPO₄, completando-se o volume para 1 L.

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{Base}{Ácido}\right) \quad \text{Eq.1}$$

Para o ensaio, 200 mg dos materiais a serem analisados, MCM-41:NH-Ibu e MCM-41:NNH-Ibu, foram prensados em um pastilhador, utilizando-se 80 kN de força durante 10 minutos. As pastilhas

prontas foram introduzidas em um sistema adaptado para os testes de liberação representado na Figura 7. Este sistema consistiu em um coletor universal estéril em que em seu interior foi colocado uma tampa plástica repleta de furos para que fosse possível a agitação da solução com uma barra magnética, abaixo da tampa plástica, sem que a pastilha, sobre a tampa plástica, fosse quebrada. Foram colocados 30 mL da solução tampão dentro do sistema e a temperatura foi mantida em 37 °C. Em intervalos de tempo de 15 minutos uma alíquota de 5mL da solução era removida e 5 mL de uma nova alíquota de tampão era adicionada. As alíquotas retiradas foram armazenadas em recipientes fechados para posterior medida de absorbância em 263 nm fosse efetuada.



Figura 7- Frasco adaptado para teste de liberação de ibuprofeno a partir de pastilhas da MCM-41.

O ibuprofeno liberado na solução foi quantificado a partir da absorbância medida através da Lei de Beer (Eq.2). Onde A é a absorbância medida em 263 nm, d é o caminho óptico da cubeta utilizada, 1 cm, C é a concentração de ibuprofeno e ϵ é o coeficiente de absorvidade molar. O valor do coeficiente foi determinado por uma curva de calibração construída com concentrações conhecidas de ibuprofeno em pH=7. A equação obtida foi $A=335,7.C + 0,008$, com $R^2=0,99$ em que o coeficiente angular é o valor de ϵ em $M^{-1}cm^{-1}$.

$$A = \epsilon \cdot d \cdot C \quad \text{Eq.2}$$

3.5. Descrição dos equipamentos utilizados nas caracterizações

Os espectros vibracionais no infravermelho foram registrados em um equipamento Shimadzu modelo Prestige 21 no modo reflectância difusa utilizando o acessório DRIFT (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform) localizado no LMH-UNIFESP. Os espectros foram registrados com resolução de 2 cm^{-1} e 512 scans.

Os espectros eletrônicos de absorção foram registrados em espectrofotômetro Ocean Optics USB4000 operado por fibra ótica e com lâmpada de deutério e halogênio DH-2000-BAL, localizado no LMH-UNIFESP.

Os difratogramas de raios X de amostras na forma de pó foram registrados em um difratômetro Rigaku modelo Miniflex, localizado no LaSoL-IQUSP, usando a radiação $K\alpha$ do Cu na região de 2θ de 1,5 a 15° sob uma voltagem de 30 kV e corrente de 15 mA.

As isotermas de N_2 foram registradas em um equipamento ASAP 2020 da Micromeritics localizado no LaSoL-IQUSP. A amostra foi desgaseificada a 50 °C por 12 h sobre pressão reduzida.

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão foram registradas em um microscópio JEOL/JEM 2100, operando a 200 kV localizado na Central Analítica-IQUSP. A preparação de amostras envolveu o gotejamento de uma dispersão do material em isopropanol sobre porta amostra de cobre recoberto com uma camada de carbono amorfo.

As análises termogravimétricas foram registradas em um equipamento Netzsch Thermoanalyser, modelo TGA/DSC 490 PC Luxx, localizado no LaSoL-IQUSP, sob uma taxa de aquecimento de 10 °C·min⁻¹ e fluxo de 50 mL·min⁻¹ de ar.

4. Resultados e Discussões

4.1. Caracterização físico-química, estrutural e textural da MCM-41.

4.1.1. Difratometria de raios X (DRX)

A organização estrutural da mesofase (CTA@MCM-41) e do material obtido após calcinação (MCM-41) foi analisada por difratometria de raios X (Figura 8). Os picos de difração observados são referentes aos planos (100), (110), (200) e (210) e indicam a formação de uma mesoestrutura com arranjo hexagonal ordenado de poros cilíndricos como mostrado na Figura 9³⁹. Com a calcinação o arranjo hexagonal foi preservado.

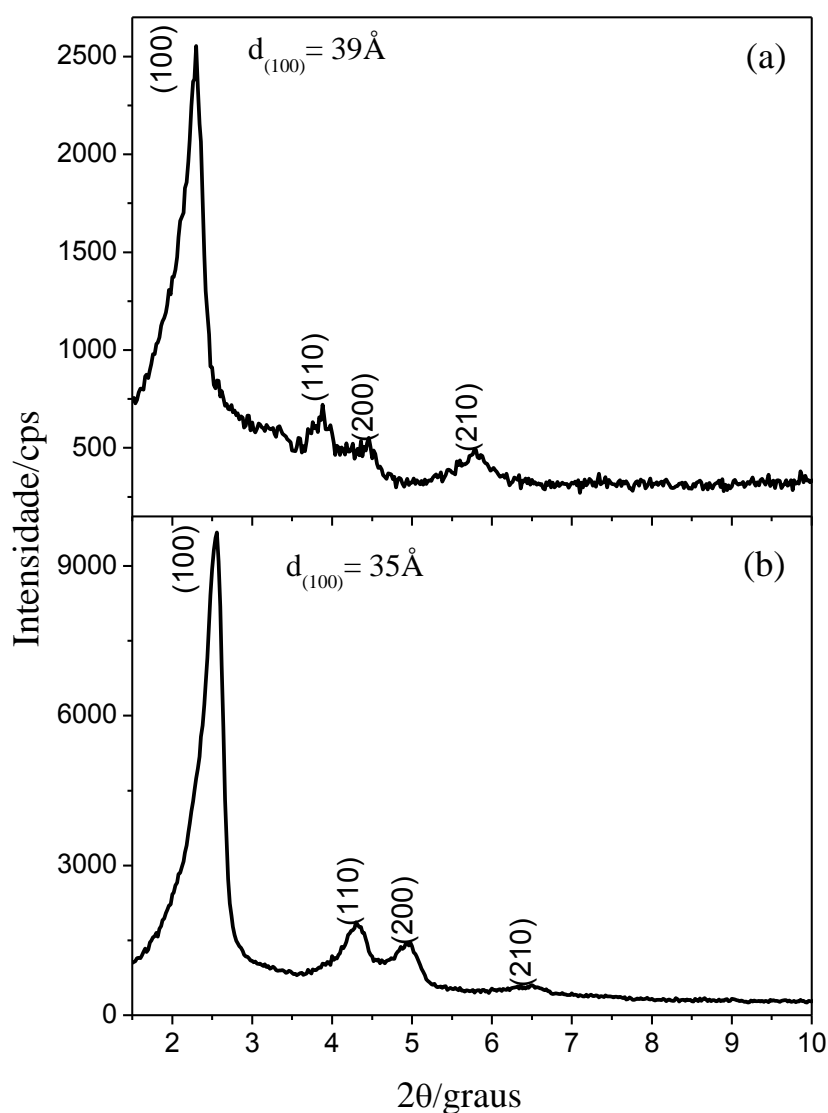


Figura 8 - Difratogramas de raios X da (a) mesofase de MCM-41 (CTA@MCM-41) e (b) MCM-41.

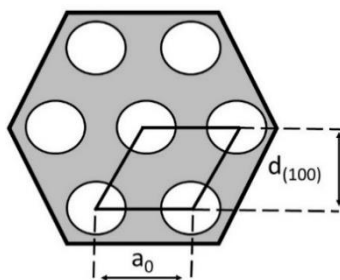


Figura 9 - Representação do arranjo bidimensional hexagonal da célula unitária da MCM-41 com destaques à distância interplanar $d_{(100)}$ e a dimensão a_0 da célula unitária. (autoria própria)

As distâncias ($d_{(hkl)}$) entre os planos de difração foram determinadas através da Lei de Bragg (Eq.3), onde λ é o comprimento de onda da radiação incidente (1,542 Å) e θ é o ângulo correspondente a metade do valor determinado para o pico de difração no difratograma.

$$\lambda = 2 \cdot d \cdot \sin(\theta) \quad \text{Eq.3}$$

A distância calculada para o plano (100) foi de 39 Å para a CTA@MCM-41 e de 35 Å para a MCM-41, as quais estão de acordo com o esperado para as estruturas produzidas utilizando CTAB como molde.³⁹ A diferença entre as distâncias calculadas se deve ao fato da contração das dimensões da célula unitária causada pela reação de condensação dos grupos silanóis presentes na estrutura. Nota-se ainda que há uma diferença entre as intensidades dos picos observados nos difratogramas registrados para essas duas estruturas. Isto ocorre devido à diferença no contraste eletrônico entre as paredes inorgânicas e os poros preenchidos na mesofase que é menor em relação a mesoestrutura com poros vazios. As distâncias calculadas para os demais planos de difração (110), (200) e (210) foram respectivamente 23 Å, 20 Å e 15 Å para CTA@MCM-41 e 21 Å, 18 Å e 14 Å para a MCM-41, sendo que a diminuição desse parâmetro está relacionada com o que foi explicado anteriormente.

Foi possível calcular o parâmetro de rede a_0 a partir da Eq.4, a qual relaciona a distância entre os planos com os parâmetros de rede para o sistema cristalino hexagonal. Para este sistema o valor de a_0 equivale a soma entre o diâmetro do poro e a espessura da parede amorfa de sílica, como mostrado na Figura 9.

$$\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2} \quad \text{Eq.4}$$

Para a CTA@MCM-41 contendo o molde dentro dos poros o valor do parâmetro foi de 45 Å e para a MCM-41 calcinada, 40 Å. Os valores calculados são compatíveis ao esperado para mesoestruturas produzidas com o uso de surfactante quaternário de amônio contendo 16 átomos na cadeia hidrofóbica⁴⁰. Os valores de parâmetros de rede calculados para os demais planos de

difração (110), (200) e (210) foram respectivamente 26 Å, 23 Å e 18 Å para CTA@MCM-41 e 41 Å, 41 Å e 42 Å para a MCM-41.

4.1.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho da CTA@MCM-41 e MCM-41 são mostrados na Figura 10.

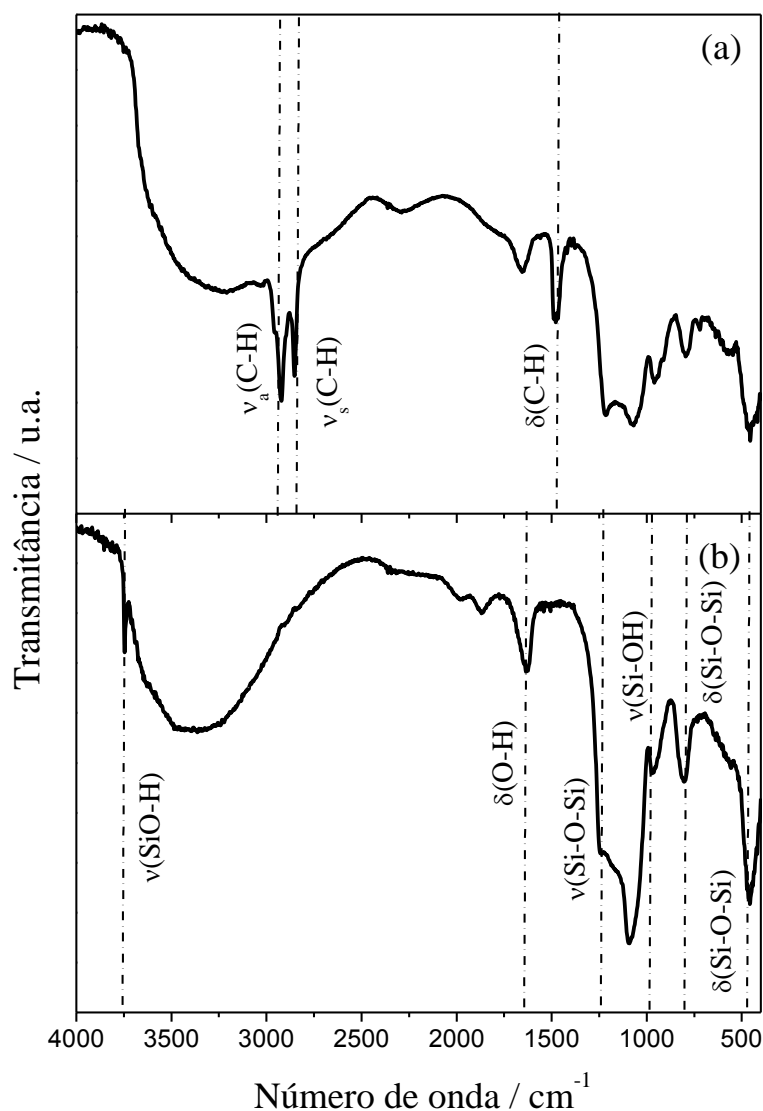


Figura 10 - Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da (a) CTA@MCM-41 e (b) MCM-41.

No espectro de IV da CTA@MCM-41 (Figura 10a) a banda larga na região de 4000 a 3000 cm⁻¹ é referente ao estiramento das ligações O-H dos grupos silanóis da estrutura inorgânica e de moléculas de água adsorvidas. Em 2920 cm⁻¹ e 2852 cm⁻¹ são observados, respectivamente, o estiramento assimétrico e simétrico da ligação C-H dos grupos metila e metileno presentes na cadeia carbônica do surfactante.⁴¹ Em 1660 cm⁻¹ é observada a banda correspondente à flexão fora

do plano da ligação O-H⁴¹ e em 1477 cm⁻¹ aparece a banda referente à deformação angular do mesmo tipo de ligação, C-H⁴¹. A banda intensa em 1080 cm⁻¹ com um ombro em 1220 cm⁻¹ é referente ao estiramento Si-O-Si, em 950 cm⁻¹ referente ao estiramento Si-OH, em 800 cm⁻¹ à flexão Si-O-Si e em 455 cm⁻¹ à deformação angular da mesma ligação.³⁹

Após a calcinação, nota-se (Figura 10b) que as bandas referentes ao molde orgânico desaparecem resultando apenas nas bandas da estrutura inorgânica. Uma nova banda estreita aparece em 3750 cm⁻¹ e é referente ao estiramento das ligações SiO-H³⁹ dos grupos silanóis terminais superficiais..

4.1.3. Análise termogravimétrica (ATG)

A análise termogravimétrica foi utilizada na avaliação da composição química e estabilidade térmica da CTA@MCM-41 e para avaliar a quantidade de grupos silanóis superficiais presentes na MCM-41 (Figura 11). Na curva referente a CTA@MCM-41 observa-se, através da análise da primeira derivada da curva, a ocorrência de dois eventos de perda de massa principais mostrados como pontos de inflexão. O primeiro referente a perda de moléculas de água adsorvidas no material, ocorrendo a partir da temperatura ambiente e se estendendo até 120 °C com uma perda de 50% da massa inicial e o segundo com 71% de perda de massa referente à degradação térmica da matéria orgânica (molde) presente nos poros, ocorrendo de 120 a 900 °C. A composição química estimada para a mesofase foi (C₁₉H₄₉N)_{0,2}SiO₂.

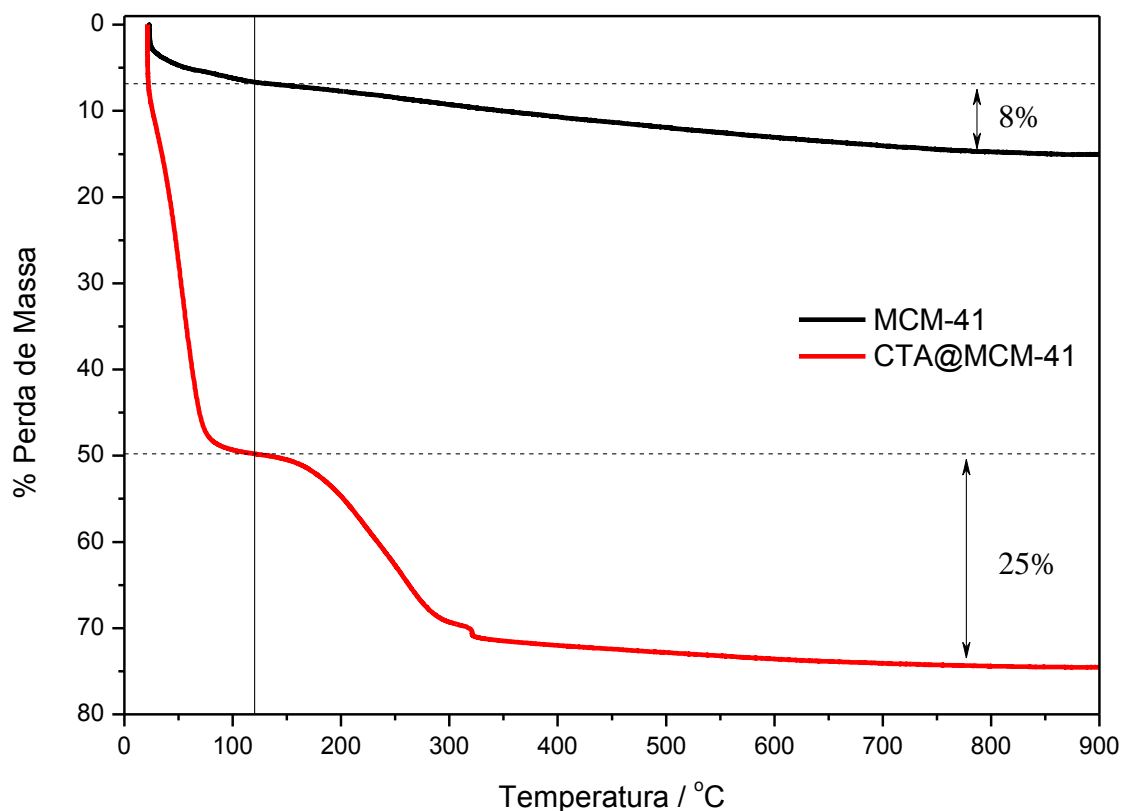


Figura 11 - Curvas termogravimétricas da CTA@MCM-41 e da MCM-41 registradas em atmosfera de ar sintético.

Já para a curva da MCM-41 ainda podem ser identificados dois eventos de perda de massa, sendo o primeiro referente a perda de água adsorvida e o segundo, diferentemente do que ocorreu para a CTA@MCM-41, não apresenta perda significativa, podendo ser atribuído à condensação dos grupos silanóis superficiais que foram regenerados através da umidade atmosférica após o processo de calcinação. Os 8% de perda de massa deste segundo evento corresponde a cerca de 10 mmol de grupos silanóis por grama de MCM-41.

4.1.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de transmissão (MET)

Nas imagens de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão mostradas nas Figura 12 a e b, observa-se que as partículas de MCM-41 possuem hábito hexagonal com perfil alongado. A dimensão média dessas partículas é de aproximadamente 200 x 370 nm. Já a imagem de microscopia de transmissão de alta resolução (Figura 12c), mostra o arranjo ordenado de poros da estrutura, cujo diâmetro médio é de aproximadamente 30 Å e a espessura da parede de aproximadamente 11 Å.

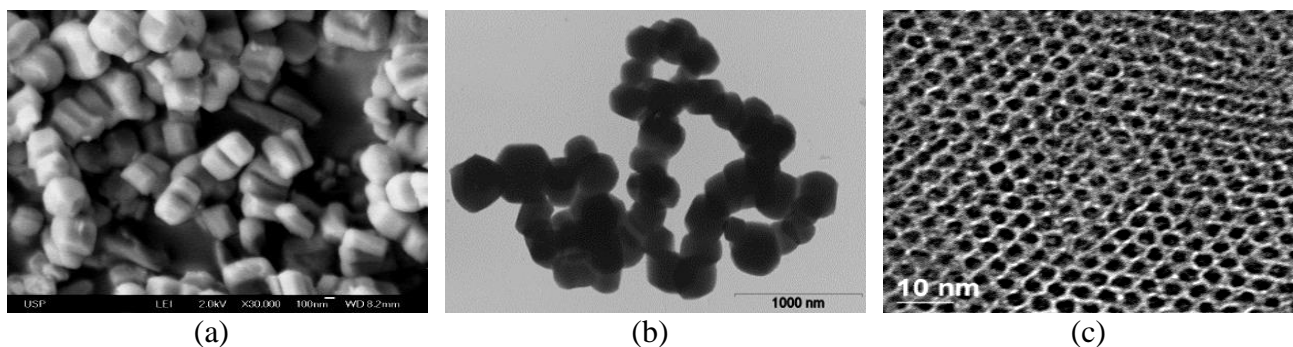


Figura 12 - Imagens da MCM-41 registradas por microscopia eletrônica de varredura (a), microscopia eletrônica de transmissão convencional (b) e de alta resolução (c).

4.1.5. Isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio

A Figura 13 apresenta as isotermas de adsorção e dessorção de N_2 na MCM-41. Segundo a classificação da IUPAC, as curvas apresentam um perfil tipo IV característico de sólido mesoporoso⁴². A isoterma é totalmente reversível, sem histerese, o que indica a presença de dos poros cilíndricos com tamanhos inferiores a 50 \AA ⁴³. A área superficial calculada pelo método Brunauer-Teller (BET) foi de $1464 \text{ m}^2/\text{g}$, o volume de poro calculado pelo método Barret-Joyner-Halend (BJH) foi de $0,72 \text{ cm}^3/\text{g}$. O diâmetro de poro foi estimado em 31 \AA .

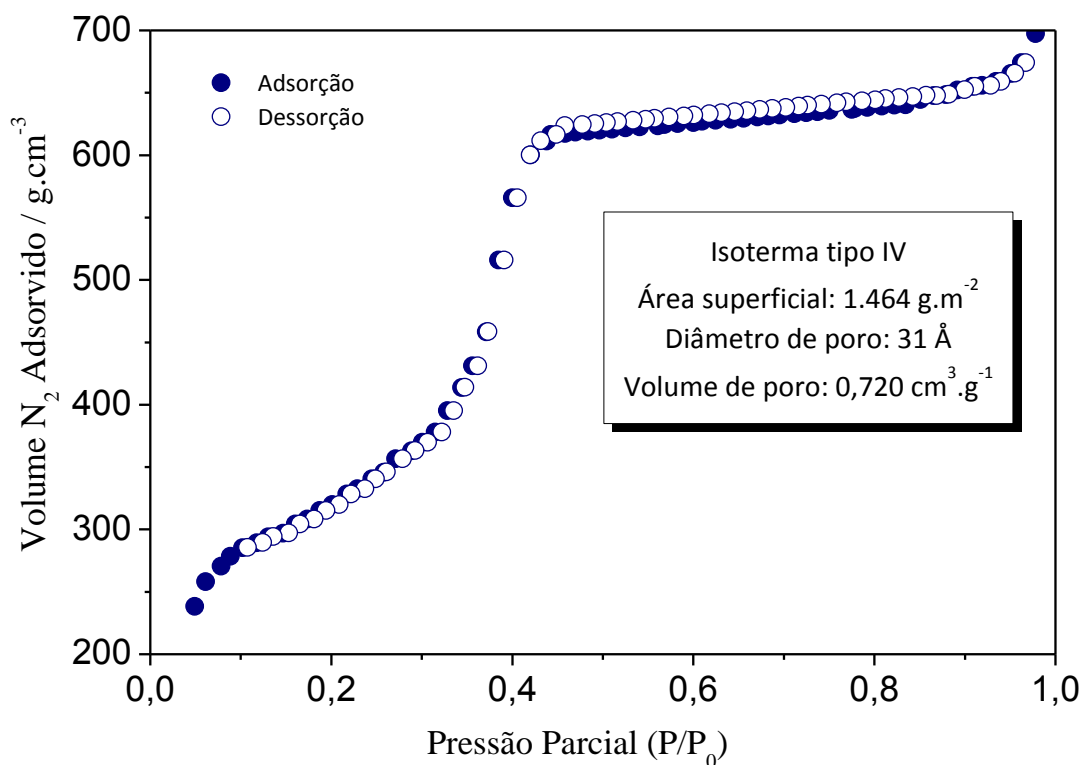


Figura 13 - Isotermas de adsorção e dessorção de N_2 na MCM-41.

4.2. Pós-Funcionalização e Acoplamento do ibuprofeno na MCM-41:NH₂

4.2.1. Difratometria de raios X (DRX)

As possíveis alterações estruturais na MCM-41 quimicamente modificadas foi acompanhada por difratometria de raios X, como mostrado na Figura 14. Nos difratogramas observa-se apenas o pico referente ao plano de difração (100), com intensidades menores do que o observado no difratograma da MCM-41 (Figura 8b), fato este decorrente da mudança de contraste eletrônico causada pela presença do grupo funcionalizante no interior dos poros, que foi intensificada pelo posterior acoplamento do fármaco. A distância interplanar, $d_{(100)}$, calculada pela Eq.3, para a sílica funcionalizada pelo grupo aminopropila (MCM-41:NH₂) foi de 34 Å e o parâmetro de rede a_0 calculado a partir da Eq.4 foi de 39 Å. Após o acoplamento do ibuprofeno a distância $d_{(100)}$ calculada foi de 34 Å e parâmetro de rede a_0 foi de 40 Å.

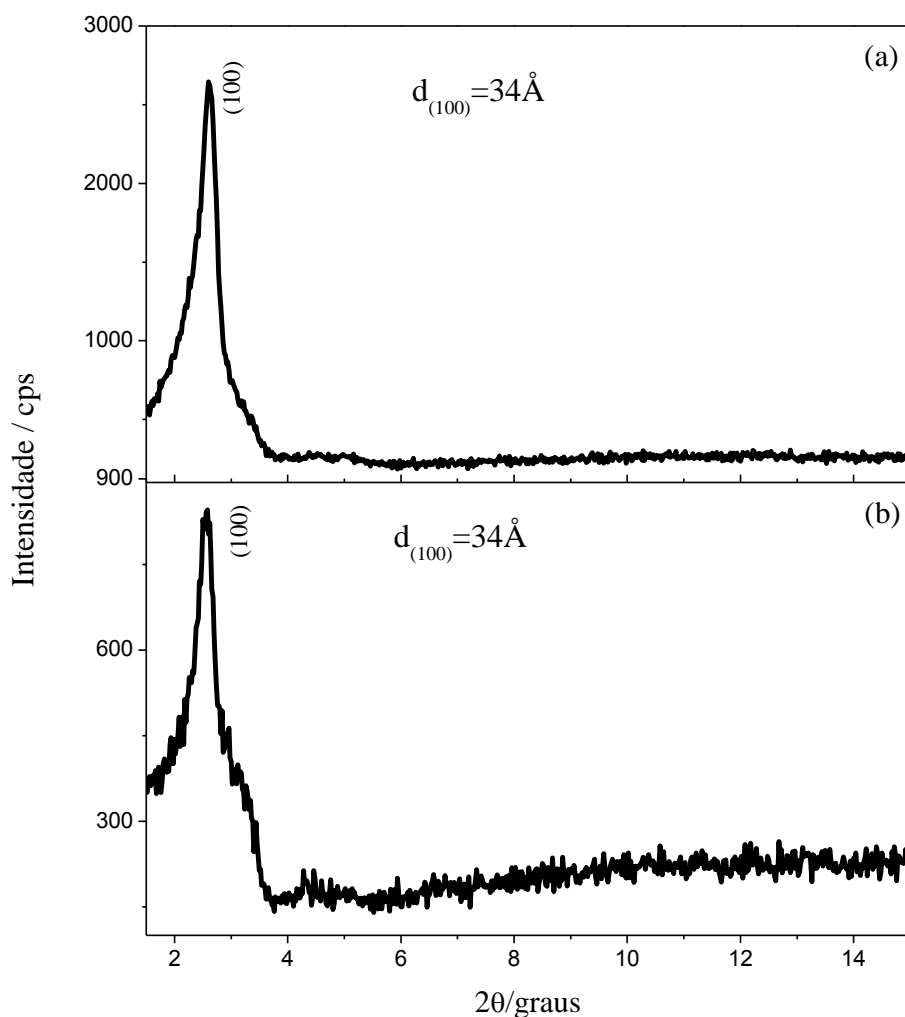


Figura 14 - Difratogramas de raios X de (a) MCM-41:NH₂ e (b) MCM-41:NH-Ibu.

4.2.2. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

No espectro do IV para a sílica pós-funcionalizada com o grupo propilamina mostrado na Figura 15 não são observadas as bandas referentes aos grupos silanóis em 3750 cm^{-1} e 1660 cm^{-1} que aparecem no espectro da MCM-41 (Figura 10b). A banda alargada em 3062 cm^{-1} é referente à combinação do estiramento das ligações O-H de moléculas de água adsorvidas no material e de grupos silanóis internos e do estiramento N-H da amina primária.⁴¹ A banda em 2937 cm^{-1} é referente ao estiramento da ligação C-H proveniente da cadeia carbônica do grupo funcionalizante.⁴¹ A banda em aproximadamente 1643 cm^{-1} é referente à deformação angular da ligação N-H⁴¹ e em 1493 cm^{-1} aparece uma banda referente ao estiramento simétrico dos grupos metileno presentes no grupo propilamina.⁴¹

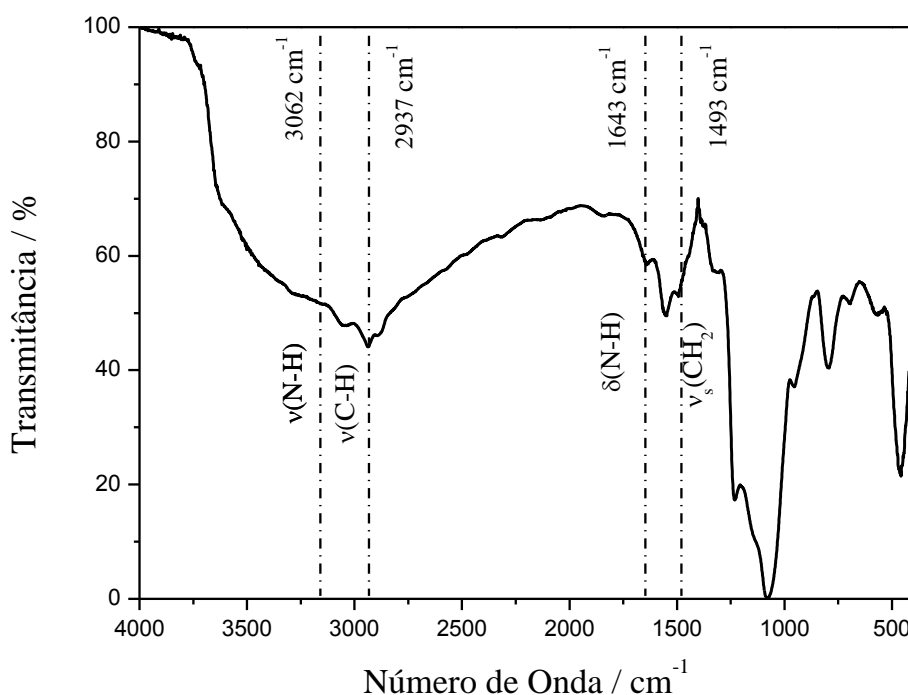


Figura 15 - Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da MCM-41:NH₂.

O espectro de IV para a formação da ligação amida entre a sílica pós-funcionalizada e o ibuprofeno está representado na Figura 16, na qual observa-se uma banda muito intensa em 2939 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-H⁴¹, este mais intenso do que antes do acoplamento do ibuprofeno pois a molécula do fármaco contribui com o aumento do número de ligações entre carbono e hidrogênio. Em 1648 cm^{-1} observa-se a banda referente ao estiramento C=O⁴¹ confirmando a formação da ligação amida entre a sílica e o ibuprofeno e ainda em 1530 cm^{-1} aparece a banda referente à deformação angular da ligação N-H da amida⁴¹. Ainda é possível a visualização de uma banda em 1469 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação dupla entre carbonos

do anel aromático e em 1440 cm^{-1} a banda referente à deformação angular dos grupos metilas presentes na molécula de ibuprofeno.⁴¹

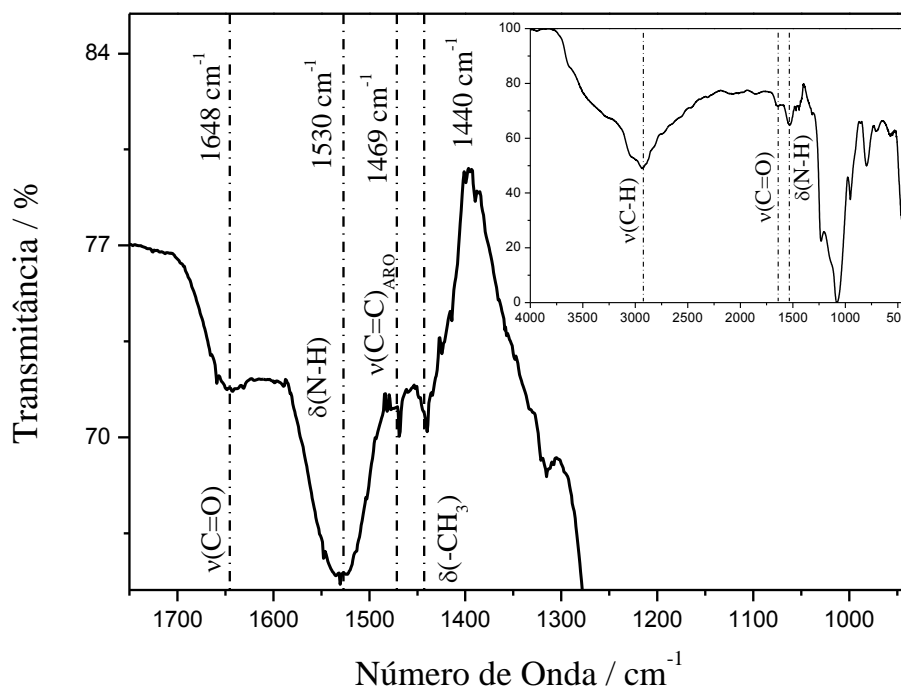


Figura 16 - Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da MCM-41:NH-IBU.

4.2.3. Análise termogravimétrica (ATG)

A estabilidade térmica, a composição química e a quantidade de grupo funcionalizante para o material com o grupo propilamina e com o ibuprofeno acoplado se encontra na Figura 18. A curva para a funcionalização apresenta dois eventos de perda de massa, novamente observados através da primeira derivada da curva, o primeiro ocorre da temperatura ambiente até, aproximadamente, $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ e é referente a perda de moléculas de água adsorvidas na estrutura, com uma perda de massa de 3%. O segundo evento começa em $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ e se estende até $900\text{ }^{\circ}\text{C}$ sendo referente à degradação térmica do grupo funcionalizante, representando uma perda de massa de 21% que indica que há 1,3 mmol de NH_2 por grama de sílica. Utilizando-se a quantidade de grupos silanóis, calculada anteriormente, de 10 mmol por grama de sílica estima-se que a reação de funcionalização ocorreu com estequiometria de 1 propilamina : 8 silanóis e a composição química calculada foi de $(\text{C}_3\text{H}_8\text{N})_{0,1}\text{SiO}_2$.

A curva registrada após o ancoramento do ibuprofeno apresenta também dois eventos de perda de massa, o primeiro se refere à perda da água adsorvida no sólido e o segundo, de $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $900\text{ }^{\circ}\text{C}$, se refere a degradação do agente funcionalizante juntamente com a molécula de ibuprofeno, que

representa 36 % de perda de massa inicial e indica que há 1,6 mmol de ibuprofeno por grama de sílica e que a reação de acoplamento ocorreu na proporção de 1 ibuprofeno : 1 propilamino. A composição estimada para este material foi de $(C_6H_{17}NO_3Si)_{0,1}(C_{13}H_{18}O_2)_{0,1}SiO_2$.

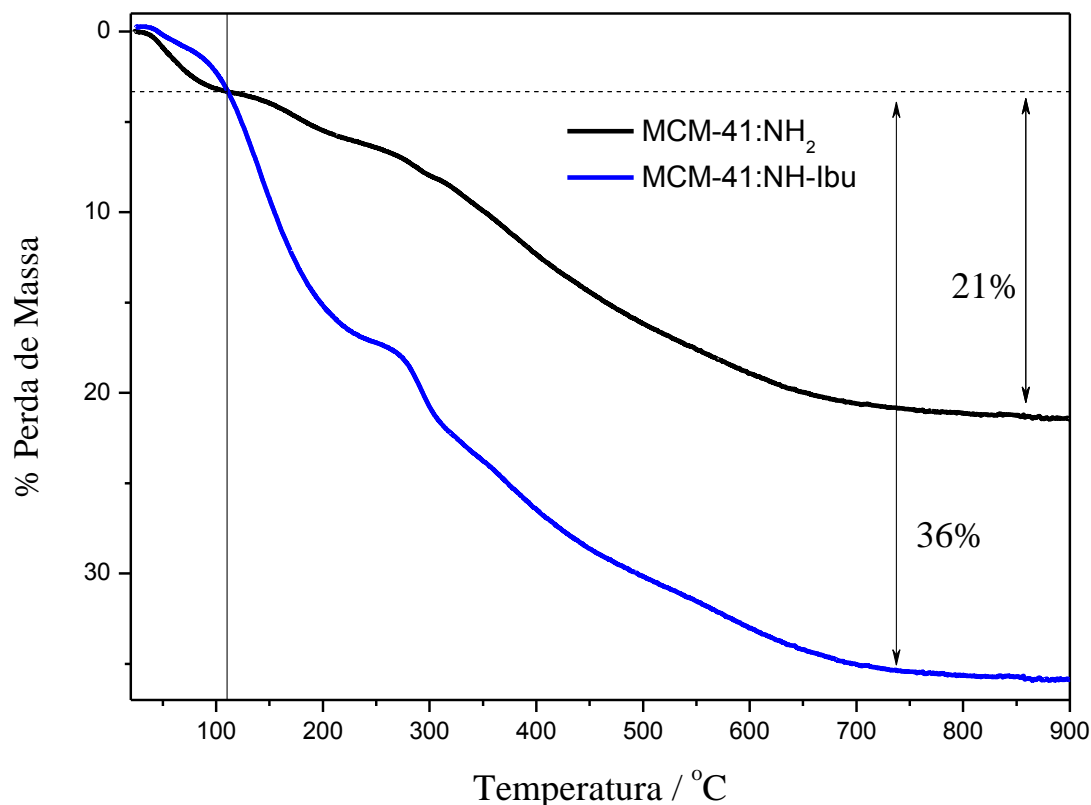


Figura 17. Curvas termogravimétricas da MCM-41:NH₂ e da MCM-41:NH-Ibu.

4.3. Imobilização do ibuprofeno na MCM-41:NNH₂

4.3.1. Difractometria de raios X (DRX)

Assim como a funcionalização anterior possíveis alterações estruturais no material foram acompanhadas por difratometria de raios X e sem encontra na Figura 19. O difratograma da MCM-41:NNH₂ (Figura 19a) apresenta apenas o pico referente ao plano (100), mostrando o ordenamento dos poros mesmo depois da ligação do ibuprofeno. A distâncias relativas a este plano são 36 Å para a MCM-41:NH₂ e 35 Å para a MCM-41:NNH-IBU. A diminuição na intensidade dos picos no difratograma se deve ao que foi explicado anteriormente, houve uma diminuição do contraste eletrônico por causa da ocupação dos poros da sílica com as moléculas do agente funcionalizante e foi intensificado com a adição do ibuprofeno. Os parâmetros de rede a_0 para a MCM-41:NNH₂ e MCM-41:NNH-IBU, respectivamente, calculados foram 42 Å e 40 Å. Os valores calculados foram ligeiramente diferentes devido a problemas experimentais na preparação da amostra para a análise.

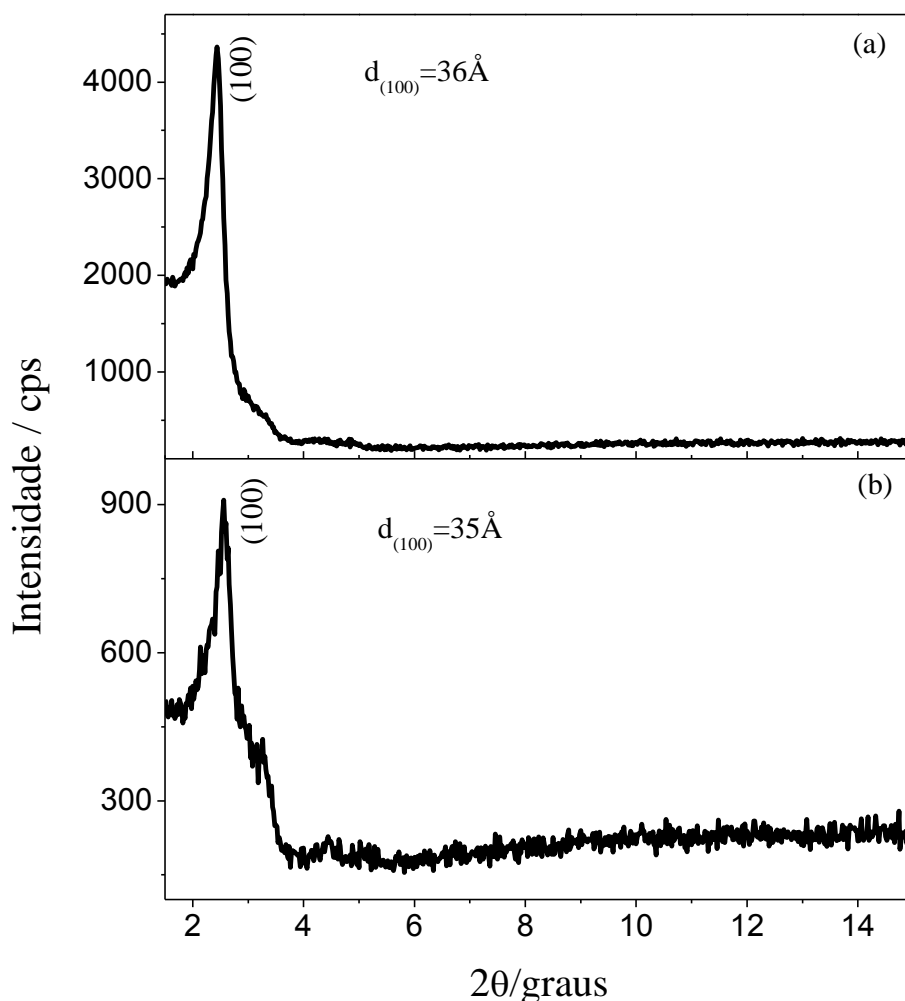


Figura 18. Difratomogramas de raios X de (a) MCM-41:NNH₂ e (b) MCM-41:NNH-IBU.

4.3.2. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

O espectro de IV para a sílica funcionalizada com o grupo diamínico está representada na Figura 20 e semelhantemente à funcionalização com o grupo propilamina (Figura 15) houve o desaparecimento das bandas referentes aos silanóis superficiais da sílica. Em 2935 cm⁻¹ observa-se a banda referente ao estiramento da ligação C-H⁴¹ proveniente do grupo funcionalizante e percebe-se que a intensidade desta banda é maior quando comparada à mesma banda do espectro da Figura 15, pois o grupo propiltilenodiamínico apresenta uma maior quantidade de ligações entre carbono e hidrogênio. Em 1567 cm⁻¹ observa-se um pico referente à deformação angular da ligação N-H⁴¹, este mais intenso quando comparado à mesma banda do espectro da Figura 15 devido a uma ligação N-H a mais presente na molécula e em 1478 cm⁻¹ o estiramento simétrico dos grupos -CH₂⁴¹

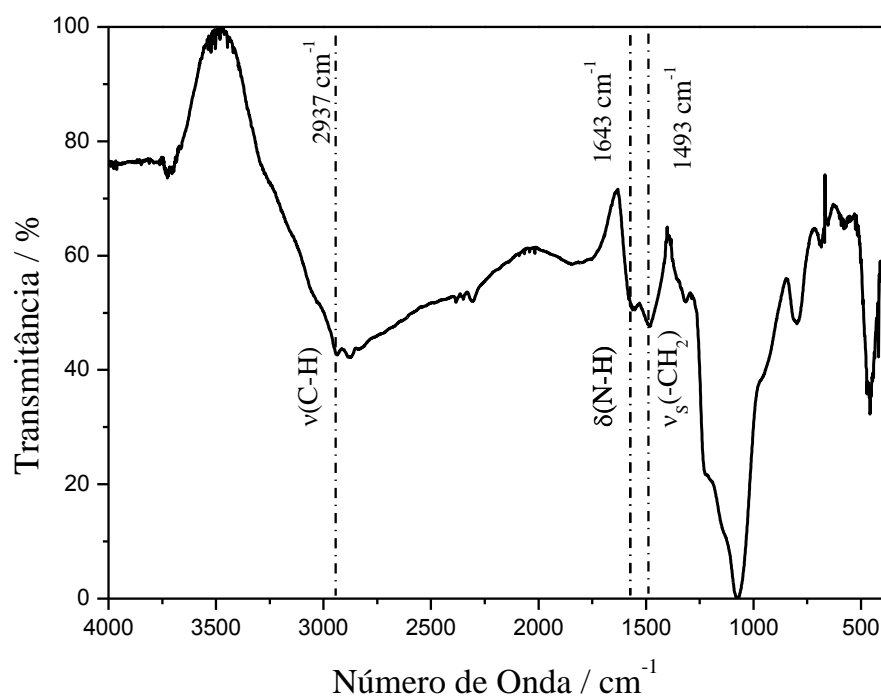


Figura 19. Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da MCM-41:NNH₂

O espectro de IV após o ancoramento do ibuprofeno a partir do grupo está representado na Figura 20. Observa-se a banda de estiramento da ligação C-H⁴¹ em torno de 2942 cm⁻¹ com intensidade maior do que antes da formação da ligação amida como citado anteriormente, em 1659 cm⁻¹ observa-se a banda do estiramento da ligação C=O⁴¹ referente à ligação amida e em 1567 cm⁻¹ a deformação angular da ligação N-H. Observa-se uma banda alargada em torno de 1470 cm⁻¹ devido ao estiramento das duplas ligações entre carbonos aromáticos e à deformação angular dos grupos metilas presentes na fármaco

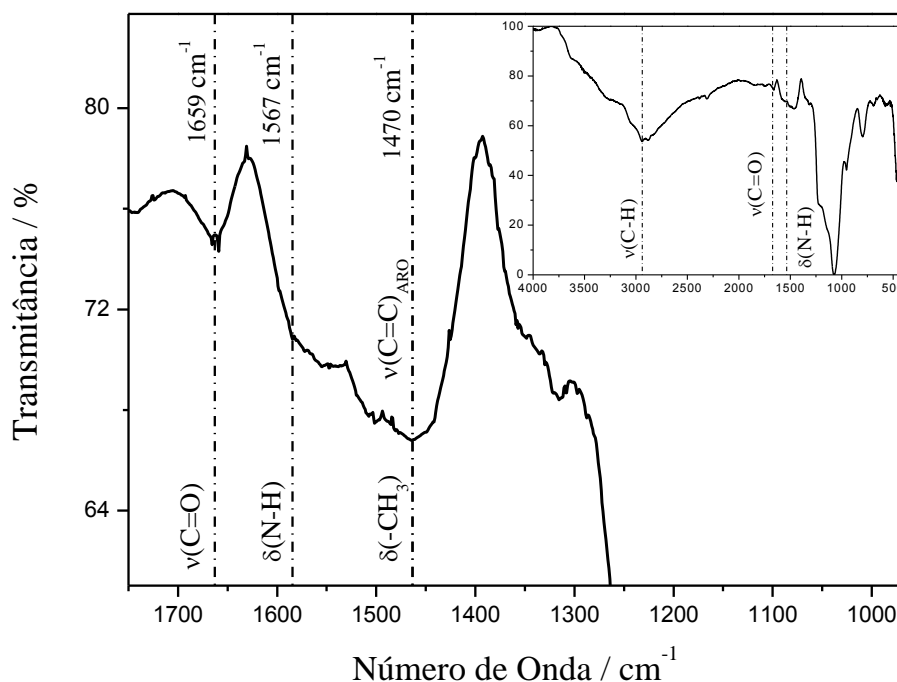


Figura 20. Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho da MCM-41:NNH-IBU.

4.3.3. Análise termogravimétrica (ATG)

As curvas termogravimétricas para avaliação da estabilidade térmica, composição química e determinação da quantidade de grupos funcionalizantes para o material funcionalizado e com ibuprofeno se encontram na Figura 21. O sólido funcionalizado apresenta dois eventos de perda de massa, o primeiro começa em temperatura ambiente e termina em aproximadamente 140 °C, sendo referente as moléculas de água que estão adsorvidas na superfície das partículas com uma perda de massa de 11%. O segundo evento ocorre de 140 °C e se estende até 900 °C e é devido a degradação térmica dos grupos funcionalizantes, que representa uma perda de massa de 32%, indicando que há 1,4 mmol de NNH_2 por grama de sílica. Sendo este resultado semelhante ao calculado para a funcionalização com grupo propilamina pois as moléculas são semelhantes, diferenciando-se na quantidade de átomos de nitrogênio presentes. Estima-se que a composição do material seja $(\text{C}_8\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3)_{0,1}\text{SiO}_2$.

Após o ancoramento do ibuprofeno há dois eventos de perda de massa, o primeiro refere-se à perda de água adsorvida no sólido e ocorre em 140 °C e o segundo, 140 °C até 900 °C. Este último refere-se as massas de ibuprofeno e de grupo funcionalizante, representando 38% de perda de massa. Esta perda indica que aproximadamente 1,6 mmol de ibuprofeno por grama de sílica, mostrando, novamente, a semelhança entre os agentes funcionalizantes. O ancoramento ocorreu na

proporção de 1 ibuprofeno : 1 propriletilenodiamina e a composição estimada para este material foi de $(C_8H_{22}N_2O_3Si)_{0,1}(C_{13}H_{18}O_2)_{0,1}SiO_2$.

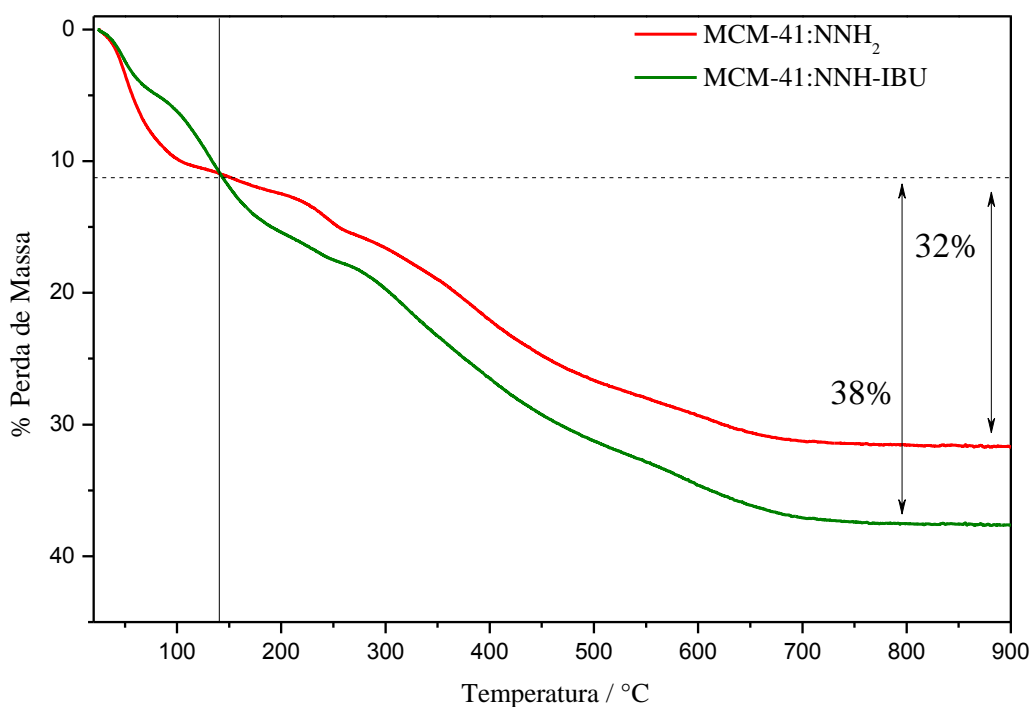


Figura 21. Curvas termogravimétricas da MCM-41:NNH₂ e da MCM-41:NNH-Ibu.

4.4. Ensaios de Liberação do Ibuprofeno

Os ensaios de liberação controlada foram realizados a fim de avaliar a quebra da ligação amida em um pH específico. A Figura 22 mostra a cinética de liberação de ibuprofeno nos dois materiais sintetizados em pH=8,1.

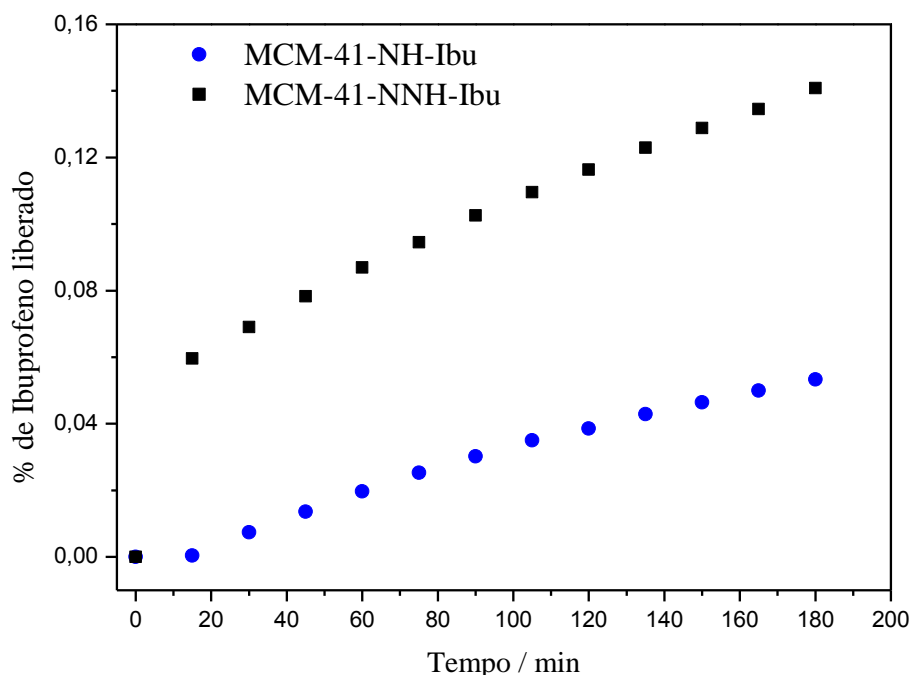


Figura 22 – Curvas de liberação do ibuprofeno acoplado na MCM-41-NH-Ibu e MCM-41-NNH-Ibu.

As curvas para dos materiais avaliados mostram-se discrepantes quanto ao valor de ibuprofeno liberado, sendo o material com o grupo diamínico o que liberou mais rapidamente e em maior quantidade o fármaco no intervalo de tempo determinado. Essa liberação mais rápida é devido ao grupo amina presente no meio da cadeia do composto, este grupo contém um átomo eletronegativo e faz com que a densidade eletrônica presente em toda a cadeia seja mais concentrada nele, com isso a ligação amida fica mais livre para sofrer a hidrólise resultando em uma liberação mais rápida do ibuprofeno quando comparada com o material produzido com apenas um grupo amina. A quantidade de ibuprofeno liberado para os dois materiais foi baixa pois em meio alcalino a ligação amida não é facilmente quebrada.

Há vários tipos de modelos matemáticos que descrevem a liberação de fármacos presentes em matrizes sólidas para que os mecanismos presentes possam ser melhor explicados. Para este trabalho o modelo escolhido foi o de Korsmeyer-Peppas pois é utilizado, geralmente, para mecanismos não muito bem conhecidos e para sistemas em que a liberação do fármaco ocorre em apenas um dimensão⁴⁴, neste caso os poros alongados da MCM-41.

O modelo matemático é definido pela Eq. 5, em que “a” é uma constante que engloba tanto características estruturais e geométricas da matriz a qual o fármaco está acoplado, “n” é o expoente de liberação e pode ter diversos valores. Se $n < 0,5$ a difusão do fármaco obedece a Lei de Fick, se $0,5 < n < 1$ o transporte do fármaco é considerado anômalo, se $n=1$ o transporte é de ordem zero e se $n > 1$ a difusão do fármaco não obedece a Lei de Fick. Para uma melhor análise o gráfico do

logaritmo da porcentagem de liberação do fármaco versus o logaritmo do tempo resulta em uma reta em que o coeficiente angular é o valor da constante n.

$$\frac{M_t}{M_0} = a \cdot t^n \quad \text{Eq.5}$$

Os gráficos do modelo de Korsmeyer-Peppas aplicado à MCM-41-NH-Ibu e MCM-41-NNH-Ibu estão representados na Figura 23a e 23b respectivamente. A reta de ajuste para a imobilização com o grupo propilamina apresenta $R^2=0,86$ com valor de coeficiente angular de 1,7, ou seja, como o valor da constante n é maior do que 1 a difusão do fármaco neste material não obedece a Lei de Fick, mesmo se o primeiro ponto, o que está mais afastado da reta de tendência, for retirado a constante n ainda será maior que 1 porém o ajuste seria $R^2=0,98$. As porcentagens de liberação foram muito pequenas, o que pode aumentar a variabilidade na medida de absorção fazendo com que os dados não apresentem uma linearidade.

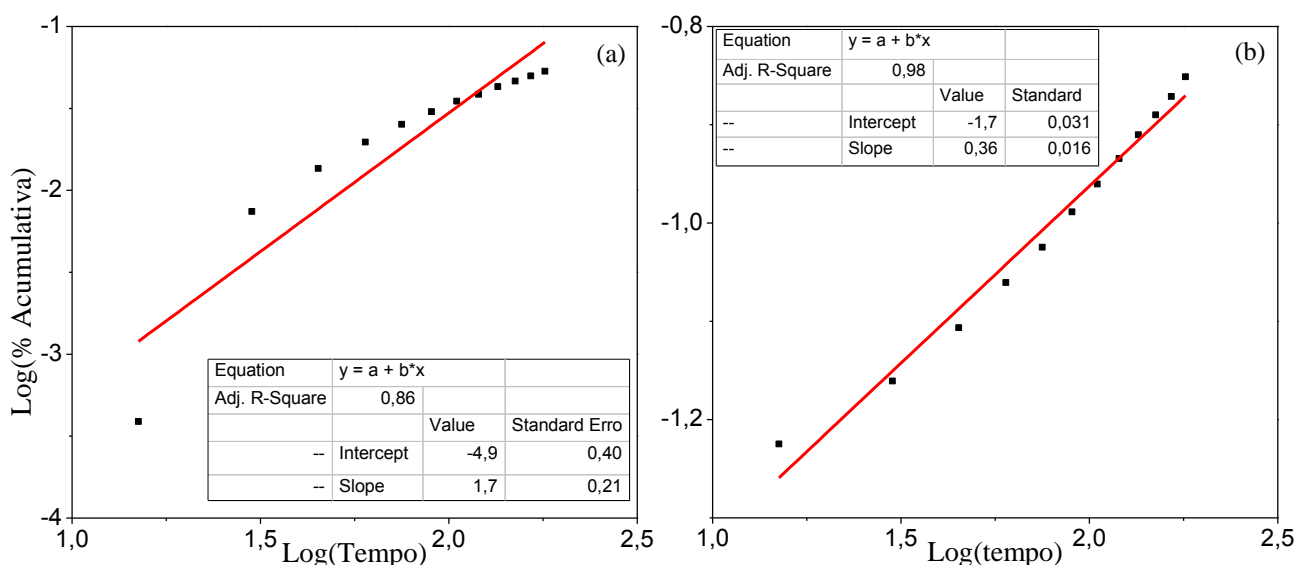


Figura 23 – Gráfico do modelo Korsmeyer-Peppas aplicado à (a) MCM-41-NH-Ibu e (b) MCM-41-NNH-Ibu.

Já o gráfico do modelo aplicado à MCM-41-NNH-Ibu apresenta a reta de ajuste com $R^2=0,98$ e com valor de coeficiente angular de 0,36, ou seja, como o valor da constante n é menor do que 0,5 a difusão do fármaco neste material obedece a Lei de Fick. Porém, igual para o caso anterior, apesar do ajuste ter sido bom ainda pode haver variabilidade na medida. Devido ao modelo utilizado não ser perfeitamente ajustado para os materiais outros modelos poderiam ser testados.

5. Conclusões

Os resultados apresentados mostram que os objetivos iniciais para o presente trabalho de conclusão de curso foram alcançados. A síntese da MCM-41 com ordenamento hexagonal de poros foi realizada com sucesso, sendo compatível com o que é descrito na literatura. A funcionalização da sílica ocorreu de modo satisfatório, porém o rendimento desta reação foi baixo, em torno de 20%, para os dois agentes funcionalizantes estudados mostrando que ajustes nas condições reacionais podem ser feitos para que mais moléculas destes agentes possam se incorporar na superfície da sílica. O acoplamento de ibuprofeno nas sílicas modificadas foi efetivo para os dois materiais estudados, evidenciando-se a proporção molar de 1:1 da reação destes materiais com a molécula do fármaco e a semelhança das sílicas funcionalizadas quanto a quantidade de ibuprofeno quimicamente ligado na superfície. O teste de liberação ocorreu como esperado, liberando pequenas quantidades de ibuprofeno lentamente no intervalo de tempo de 3 horas. Já o modelo matemático de Korsmeyer-Peppas utilizado no estudo da cinética de liberação do ibuprofeno teve um bom ajuste aos dados da MCM-41-NNH-Ibu, mostrando que a liberação obedece a Lei de Fick, enquanto que a MCM-41-NH-Ibu que liberou uma menor quantidade de ibuprofeno não teve um bom ajuste e evidenciou-se que a liberação para este material não segue a Lei de Fick.

6. Referências bibliográficas

- (1) Devadasu, V. R.; Bhardwaj, V.; Kumar, M. N. V. R. **2013**.
- (2) ANVISA. *Agência Nac. Vigilância Sanitária* **2010**, 36–38.
- (3) Anselmo, A. C.; Mitragotri, S. *J. Control. Release* **2014**, *190*, 15–28.
- (4) Lee, J. H.; Yeo, Y. *Chem. Eng. Sci.* **2015**, *125*, 75–84.
- (5) Kelkar, S. S.; Reineke, T. M. *Bioconjug. Chem.* **2011**, *22* (10), 1879–1903.
- (6) Lammers, T.; Aime, S.; Hennink, W. E.; Storm, G.; Kiessling, F. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44* (10), 1029–1038.
- (7) Mamaeva, V.; Sahlgren, C.; Lindén, M. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65* (5), 689–702.
- (8) Tarn, D.; Ashley, C. E.; Xue, M.; Carnes, E. C.; Zink, J. I.; Brinker, C. J. *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46* (3), 792–801.
- (9) Argyo, C.; Weiss, V.; Bräuchle, C.; Bein, T. *Chem. Mater.* **2014**, *26* (1), 435–451.
- (10) Soler-Illia, G. J. D. A. A.; Sanchez, C.; Lebeau, B.; Patarin, J. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (11), 4093–4138.
- (11) Meynen, V.; Cool, P.; Vansant, E. F. *Microporous Mesoporous Mater.* **2009**, *125* (3), 170–223.
- (12) Hoffmann, F.; Cornelius, M.; Morell, J.; Fröba, M. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, *45* (20), 3216–3251.
- (13) Zhang, H.; Dunphy, D. R.; Jiang, X.; Meng, H.; Sun, B.; Tarn, D.; Xue, M.; Wang, X.; Lin, S.; Ji, Z.; Li, R.; Garcia, F. L.; Yang, J.; Kirk, M. L.; Xia, T.; Zink, J. I.; Nel, A.; Brinker, C. *J. J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (38), 15790–15804.
- (14) Lehman, S. E.; Morris, A. S.; Mueller, P. S.; Salem, A. K.; Grassian, V. H.; Larsen, S. C. *Environ. Sci. Nano* **2016**, *3* (1), 56–66.
- (15) Bajenaru, L.; Berger, D.; Miclea, L.; Matei, C.; Nastase, S.; Andronescu, C.; Moisescu, M. G.; Savopol, T. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2014**, *102* (12), 4435–4442.
- (16) Fubini, B.; Hubbard, A. *Free Radic. Biol. Med.* **2003**, *34* (12), 1507–1516.
- (17) Schoonen, M. A. A.; Cohn, C. A.; Roemer, E.; Laffers, R.; Simon, S. R.; O’Riordan, T. *Rev. Mineral. Geochemistry* **2006**, *64* (1), 179–221.
- (18) Slowing, I. I.; Wu, C.-W.; Vivero-Escoto, J. L.; Lin, V. S.-Y. *Small* **2009**, *5* (1), 57–62.
- (19) Wang, Y.; Zhao, Q.; Han, N.; Bai, L.; Li, J.; Liu, J.; Che, E.; Hu, L.; Zhang, Q.; Jiang, T.; Wang, S. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **2015**, *11* (2), 313–327.
- (20) Vallet-Regi, M.; RÄjmila, A.; del Real, R. P.; PÄ©rez-Pariente, J. *Chem. Mater.* **2000**, *13* (2), 308–311.
- (21) Hodali, H. A.; Marzouqa, D. M.; Tekfa, F. Z. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2016**, *80* (2), 417–425.

- (22) Jadhav, S. A.; Brunella, V.; Berlier, G.; Ugazio, E.; Scalarone, D. *J. Nanomater.* **2016**, 2016.
- (23) Zeng, X.; Liu, G.; Tao, W.; Ma, Y.; Zhang, X.; He, F.; Pan, J.; Mei, L.; Pan, G. *Adv. Funct. Mater.* **2017**, 27 (11), 1–9.
- (24) Pourjavadi, A.; Tehrani, Z. M. *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, 61, 782–790.
- (25) Brunella, V.; Jadhav, S. A.; Miletto, I.; Berlier, G.; Ugazio, E.; Sapino, S.; Scalarone, D. *React. Funct. Polym.* **2016**, 98, 31–37.
- (26) Silveira, G. Q.; Da Silva, R. S.; Franco, L. P.; Vargas, M. D.; Ronconi, C. M. *Microporous Mesoporous Mater.* **2015**, 206 (C), 226–233.
- (27) Cai, Y.; Ling, L.; Li, X.; Chen, M.; Su, L. *J. Solid State Chem.* **2015**, 226, 179–185.
- (28) Chen, H.; Liu, D.; Guo, Z. *Chem. Lett.* **2016**, 45 (3), 242–249.
- (29) Vivero-Escoto, J. L.; Slowing, I. I.; Trewyn, B. G.; Lin, V. S.-Y. *Small* **2010**, 6 (18), 1952–1967.
- (30) Canton, I.; Battaglia, G. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41 (7), 2718.
- (31) Mortazavi, Y.; Ghoreishi, S. M. *J. Nanostruct* **2016**, 6 (61), 86–89.
- (32) Roik, N. V.; Belyakova, L. A. *Interface Focus* **2016**, 6, 1–10.
- (33) Shariatinia, Z.; Zahraee, Z. *J. Colloid Interface Sci.* **2017**, 501, 60–76.
- (34) Cuello, N. I.; Elías, V. R.; Mendieta, S. N.; Longhi, M.; Crivello, M. E.; Oliva, M. I.; Eimer, G. A. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, 78, 674–681.
- (35) O'Connor, C. *Q. Rev. Chem. Soc.* **1970**, 24 (4), 553.
- (36) Deng, X.; Chen, K.; Tüysüz, H. *Chem. Mater.* **2016**, acs.chemmater.6b02645.
- (37) Manzano, M.; Aina, V.; Areán, C. O.; Balas, F.; Cauda, V.; Colilla, M.; Delgado, M. R.; Vallet-Regí, M. *Chem. Eng. J.* **2008**, 137 (1), 30–37.
- (38) Schilke, K. F.; Kelly, C. **2008**, 101 (1), 9–18.
- (39) Fonseca, L. C.; Faez, R.; Camilo, F. F.; Bizeto, M. A. *Microporous Mesoporous Mater.* **2012**, 159, 24–29.
- (40) Ravikovitch, P. I.; Wei, D.; Chueh, W. T.; Haller, G. L.; Neimark, a. V. *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101 (19), 3671–3679.
- (41) Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S. *Thomson Learning, Inc.* 2001, p 579.
- (42) Walcarius, A.; Kuhn, A. **2008**, 27 (7), 593–603.
- (43) Lu, Y.; Ganguli, R.; Drewien, C.; Anderson, M. T.; Brinker, C.; Gong, W.; Guo, Y.; Soyez, H.; Dunn, B.; Huang, M.; Zink, J. *Nature* **1997**, 389 (September), 364–368.
- (44) Costa, P.; Sousa Lobo, J. M. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, 13 (2), 123–133.