



***DESENVOLVIMENTO DE SÍLICAS MESOPOROSAS PARA A LIBERAÇÃO***  
***CONTROLADA E PROLONGADA DE FÁRMACOS***

Dissertação apresentada, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia da Sustentabilidade do Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema

*Pós-Graduanda:* **MARCELA BLOISE COSTA**

*Orientador:* **PROF. DR. MARCOS AUGUSTO BIZETO**

**Diadema**

**2016**



## Ficha Catalográfica

Costa, Marcela Bloise

**Desenvolvimento de Sílicas Mesoporosas para a Liberação Controlada e Prolongada de Fármacos /** Marcela Bloise Costa.--  
Diadema, 2016.

79 f.

Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Sustentabilidade) – Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema, 2016.

Orientador: Marcos Augusto Bizeto

1. Sílicas mesoporosas 2. Liberação controlada 3. MCM-41 4. Ibuprofeno 5. Formação de ligação covalente. I. Título.

CDD 615.7



## **Agradecimentos**

Aos meus pais Gilmar e Marcia por todo apoio, amor e tudo que me ensinaram. Sem tudo isso este trabalho seria impossível;

Aos meus irmãos Amanda e Rodrigo por estarem sempre tão presente me ajudando a superar cada obstáculo;

À minha sobrinha Julia Akemi por me inspirar com sua pureza a dar sempre o meu melhor;

À minha cunhada Karem Sayuri pela amizade, conselhos e por estar sempre ao meu lado;

Ao meu noivo João Carlos, pelo amor, paciência e por me socorrer em cada dificuldade que apareceu no meu caminho;

Ao meu orientador Marcos Bizeto pela oportunidade de trabalhar sob sua orientação e por cada hora de dedicação a este trabalho;

Às minhas amigas e colegas de laboratório Rose, Larissa, Mariana, Renata e Ellen que com sua amizade tornaram tudo mais fácil;

A cada amigo e colega que esteve ao meu lado durante esses anos;

E finalmente a Deus, pela vida e por ter colocado cada uma dessas pessoas no meu caminho tornando possível a realização deste trabalho.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**  
**Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas**



*“A Química é, portanto, de uma só vez, uma arte e uma ciência.”*

**(Autor Desconhecido)**

## Resumo

As sílicas mesoporosas ordenadas são consideradas um dos sistemas inorgânicos mais promissores para atuarem no transporte e na liberação prolongada e/ou controlada de fármacos visando propiciar maior eficiência e redução de efeitos colaterais em tratamentos de doenças como o câncer. Neste caminho, o presente estudo teve como objetivo principal a produção de sistemas de liberação prolongada e controlada de fármacos utilizando a sílica mesoporosa MCM-41. Diferentes tipos de modificação química foram produzidas na matriz inorgânica para viabilizar a imobilização do ibuprofeno, que é um fármaco anti-inflamatório, que foi utilizado como modelo para este estudo.

Os sistemas com propriedades de liberação prolongada foram produzidos pela imobilização do ibuprofeno por adsorção nos poros da MCM-41 modificada com grupos alquílicos, como a mesofase da MCM-41, que tem os poros preenchidos pelo cátion cetiltrimetilamônio e a C<sub>16</sub>-MCM-41, que é uma estrutura ainda não descrita na literatura, a qual foi preparada pela co-condensação do hexadeciltrimetóxisilano nas paredes da sílica. Os sistemas para liberação controlada foram produzidos pela imobilização do ibuprofeno na MCM-41 por ligações covalentes do tipo éster e amida. Essas ligações podem ser quebradas por alteração do pH do meio ou pela ação de enzimas, os quais são os possíveis processos para servirem como estímulos para controle da liberação do fármaco. A ligação éster foi formada pela reação do grupo ácido carboxílico do ibuprofeno com o anel epóxi do grupo glicidilóxiopropil ancorado à superfície da MCM-41, ou pelo acoplamento do ibuprofeno ao glicidilóxiopropiltrimetoxisilano e posterior pós-funcionalização da MCM-41. Para formação da ligação amida, o ibuprofeno foi acoplado à sílica previamente modificada com grupos aminopropil utilizando o agente de acoplamento EDC/NHS. Os materiais preparados bem como os intermediários foram devidamente caracterizados para confirmar a imobilização do fármaco como proposto.

O processo de liberação do ibuprofeno imobilizado por adsorção nas matrizes MCM-41, C<sub>16</sub>-MCM e MCM-41<sub>mesof</sub> foi realizado em fluido corporal simulado e os resultados mostraram que a liberação do fármaco foi mais lenta nas matrizes com poros preenchidos com as cadeias alquílicas em relação à MCM-41 com poros vazios. A C<sub>16</sub>-MCM-41 apresentou o processo de liberação mais prolongado, liberando cerca de 10% do ibuprofeno imobilizado após 300 min., enquanto que a MCM-41 liberou cerca de 25% do fármaco após o mesmo período. O modelo matemático que mais se ajustou às curvas de liberação foi o de Higuchi, indicando que a etapa limitante do processo é a difusão do fármaco pelos poros dos materiais.

Para os materiais contendo o ibuprofeno imobilizado por ligação éster os ensaios de liberação foram realizados em solução de tampão fosfato com pH 6,6; 7,0 e 7,4. A liberação do fármaco ocorreu em qualquer valor de pH, mas foi mais lenta em pH ácido, contando ainda com a influência da menor solubilidade do ibuprofeno nesta condição. Considerando a condição de maior pH, onde o ibuprofeno é mais solúvel, o processo mais lento de liberação foi observado na matriz produzida por pós-funcionalização com o silano pré-modificado com o ibuprofeno. Este material liberou cerca de 5% do fármaco imobilizado após cerca de 300 min. e o modelo matemático que mais se ajustou às curvas de liberação foi o de Korsmeyer-Peppas, indicando que embora haja a contribuição adicional da quebra da ligação covalente, o processo continua sendo dominado pela difusão do fármaco pelos poros.

Este trabalho mostrou a síntese de uma matriz de sílica mesoporosa inédita contendo cadeias alquílicas com 16 átomos de carbono covalentemente ligadas às paredes de sílica, além de diferentes formas para prolongar e controlar o processo de liberação do ibuprofeno. Além disso, o procedimento desenvolvido para a imobilização do ibuprofeno por ligação covalente deve funcionar para outros tipos de fármacos que contenham grupos ácido carboxílico na estrutura molecular.

## Abstract

Ordered mesoporous silicas has been considered one of the most promising inorganic systems to transport and control / sustain the release of drugs aiming to provide enhanced efficiency and reduced side effects in treatments of diseases like cancer. In this context, the present study had as main objective the production of systems for controlled and sustained release of drugs using the mesoporous silica MCM-41. Different types of chemical modification were produced in the inorganic matrix in order to enable the ibuprofen immobilization that is an anti inflammatory drug used as model in this study.

MCM-41 modified with alkyl groups, such as MCM-41 mesophase, which has pores filled by cetyltrimethylammonium cation and C<sub>16</sub>-MCM-41, a structure which is not yet described in literature, prepared by co-condensation of hexadecyltrimetoxysilane on the silica walls, was used for the ibuprofen immobilization by adsorption as studied as sustained release systems. Controlled release systems were created by immobilization of ibuprofen in MCM-41 by covalent ester and amide bonds. These bonds can be broken by pH change or by enzymes action. These are possible external stimuli to control the drug release. The ester bond was formed by the reaction of ibuprofen carboxylic acid group with the epoxy ring of the glycidylpropyl group anchored to the surface of MCM-41, or by coupling of ibuprofen to glycidylpropyltrimetoxysilane and subsequent post-functionalization of MCM-41. The amide bond formation ibuprofen was produced by the reaction of amino groups of an APTES grafted silica with the carboxylic acid residue of ibuprofen by using the coupling agents EDC/NHS. The materials prepared and the intermediaries were previously characterized to confirm the immobilization of the drug as it was proposed.

The release process of ibuprofen immobilized by adsorption on the MCM-41, C<sub>16</sub>-MCM-41 and MCM-41<sub>mesof</sub> matrices was performed in simulated body fluid and the results showed that the release profile was slower for the inorganic matrices with pores modified with alkyl chains when compared to the MCM-41 with empty pores. C<sub>16</sub>-MCM-41 showed a more prolonged release process, releasing about 10% of the ibuprofen immobilized after 300 minutes, while MCM-41 released about 25% of the drug after the same period. The mathematical model that best fit the release curves was Higuchi's, indicating that the rate-limiting step of the process is the drug diffusion through the pores of the materials.

For materials containing ibuprofen immobilized by ester bond the release tests were performed in phosphate buffer solution pH 6,6; 7,0 and 7,4. The drug release occurred at any pH, but it was slower in acid pH, yet relying on the influence of the lower solubility of ibuprofen in this condition. Considering the higher pH condition, where ibuprofen is more soluble, the slower release process was observed in the matrix produced by post-functionalization with pre-modified silane with ibuprofen. This material released about 5% of the immobilized drug after 300 minutes e the mathematical model that best fit the release curves was Kormeyer-Peppas', indicating that although there is the additional contribution of the breaking the covalent bond, the process continues to be dominated by diffusion of the drug through the pores.

This work demonstrated the synthesis of a novel mesoporous silica matrix containing alkyl chains with 16 carbon atoms covalently attached to the silica walls, and different ways to control and prolong the release of ibuprofen. Besides that, the procedure developed for the immobilization of ibuprofen by covalent bonding should work for other types of drugs that containing carboxylic acid groups in the molecular structure.

## Sumário

<b>1 - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 - SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA DE FÁRMACOS.....	2
1.2 - AS SÍLICAS MESOPOROSAS .....	4
1.2.1 - Histórico .....	4
1.2.2 - Síntese, propriedades químicas e físicas das sílicas mesoporosas .....	5
1.2.3 - Biocompatibilidade e toxicidade das sílicas mesoporosas .....	8
1.2.4 - Sílicas mesoporosas como sistemas de transporte e liberação modificada de fármacos.....	9
<b>2 - OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
<b>3 - CRITÉRIOS UTILIZADOS NA SELEÇÃO DA MCM-41 E DO IBUPROFENO PARA O ESTUDO .....</b>	<b>14</b>
<b>4 - PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....</b>	<b>15</b>
4.1 - SÍLICAS PARA LIBERAÇÃO PROLONGADA.....	15
4.1.1 - Síntese da mesofase da MCM-41.....	15
4.1.2 - Síntese da C <sub>16</sub> -MCM-41 pelo método da co-condensação .....	16
4.1.3 - Carregamento do ibuprofeno.....	17
4.2 - SÍLICAS PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA .....	17
4.2.1 - Imobilização do ibuprofeno na MCM-41 por ligação amida.....	17
4.2.2 - Imobilização do ibuprofeno na MCM-41 por ligação éster.....	19
4.2.2.1 - Procedimento 1: imobilização do ibuprofeno em 2 etapas.....	19
4.2.2.2 - Procedimento 2: imobilização do ibuprofeno em uma etapa de pós-funcionalização .....	20
4.2.2.3 - Procedimento 3: imobilização do ibuprofeno em uma etapa de co-condensação .....	20
4.3 - ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DO IBUPROFENO.....	21
4.4 - DESCRIÇÃO DOS EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO.....	23
<b>5 - RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>24</b>
5.1 - PREPARAÇÃO DAS SÍLICAS PARA IMOBILIZAÇÃO DO IBUPROFENO.....	24
5.1.1 - Síntese da MCM-41 <sub>mesof</sub> e MCM-41.....	24

5.1.2 - Síntese da $C_{16}$ -MCM-41 por co-condensação com hexadeciltrimetoxisilano .....	30
5.1.3 - Carregamento do ibuprofeno na MCM-41 <sub>mesop</sub> , $C_{16}$ -MCM-41 e MCM-41.....	34
5.1.4 - Imobilização do ibuprofeno por ligação amida.....	38
5.1.5 - Imobilização do ibuprofeno por ligação éster.....	43
5.2 - ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DO IBUPROFENO.....	52
5.2.1 - Liberação prolongada .....	52
5.2.2 - Liberação Controlada.....	57
<b>6 - CONCLUSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>7 - PERSPECTIVAS PARA ESTUDOS FUTUROS .....</b>	<b>65</b>
<b>8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>66</b>

## Lista de Figuras

Figura 1: Curvas hipotéticas da concentração sistêmica de um fármaco administrado por diferentes métodos de liberação. ....	1
Figura 2: Número de artigos publicados com sílicas mesoporosas ao longo dos anos após a sua descoberta. Busca feita na base de dados <i>Web of Science</i> com o termo “ <i>mesoporous sílica</i> ”. ....	5
Figura 3: Esquema simplificado do processo de formação da MCM-41 (Figura adaptada da referência <sup>27</sup> ). ....	6
Figura 4: Ilustração do processo de pós-funcionalização de uma sílica mesoporosa. (Figura adaptada da referência 11). ....	7
Figura 5: Ilustração do processo de preparação de sílicas mesoporosas híbridas pelo método da condensação (figura adaptada da referência 11). ....	7
Figura 6: Número de artigos publicados entre 2001 a 2015 com o tema sílicas mesoporosas como sistemas de liberação de fármacos. Pesquisa feita na base de dados <i>Web of Science</i> com o termo de busca “ <i>mesoporous silica drug delivery</i> ”. ....	10
Figura 7: Representação da estrutura molecular do Ibuprofeno. ....	14
Figura 8: Fluxograma resumido das etapas sintéticas realizadas. ....	15
Figura 9: Imagens do sistema elaborado para os ensaios de liberação do ibuprofeno imobilizado nas matrizes de sílica mesoporosa. ....	22
Figura 10: Representação do arranjo bidimensional de poros da MCM-41 com destaque às dimensões que caracterizam a distância $d_{(100)}$ e o parâmetro $a_0$ . (figura adaptada da referência <sup>54</sup> ). ....	25
Figura 11: Difratoogramas de raios X da (a) MCM-41 <sub>mesof</sub> e (b) MCM-41. ....	26
Figura 12: Espectros vibracionais no infravermelho da (a) MCM-41 <sub>mesof</sub> e (b) MCM-41. ....	27
Figura 13: Curvas termogravimétricas da MCM-41 <sub>mesof</sub> e da MCM-41. ....	28
Figura 14: Imagens da MCM-41 registradas por microscopia eletrônica de varredura (a), microscopia eletrônica de transmissão convencional (b) e de alta resolução (c). ....	29
Figura 15: Curvas isotermas de fisissorção de N <sub>2</sub> da MCM-41. ....	30

Figura 16: Difratoogramas de raios x da C <sub>16</sub> MCM-41 (a) antes da remoção do CTA <sup>+</sup> e (b) após a remoção do CTA <sup>+</sup> com solução de etanol e HCl.....	31
Figura 17: Espectro vibracional no infravermelho da C <sub>16</sub> -MCM-41 após a extração do CTA <sup>+</sup> com uma mistura de etanol e HCl. ....	32
Figura 18: Curvas termogravimétricas da C <sub>16</sub> -MCM-41 antes da remoção do CTA <sup>+</sup> e após a remoção com etanol e HCl. ....	33
Figura 19: Difratoogramas de raios X da (a) MCM-41:IBU, da (b) MCM-41 <sub>mesof</sub> :IBU e da (c) C <sub>16</sub> -MCM-41:IBU.....	35
Figura 20: Espectros vibracionais no infravermelho da (a) MCM-41:IBU, da (b) MCM-41 <sub>mesof</sub> :IBU e da (c) C <sub>16</sub> MCM-41:IBU.....	36
Figura 21: Curva termogravimétricas da MCM-41:IBU e da C <sub>16</sub> -MCM-41-IBU. ....	38
Figura 22: Difratoograma de raios X da MCM-41:NH <sub>2</sub> . ....	39
Figura 23: Espectros vibracionais no infravermelho da (a) MCM-41:NH <sub>2</sub> , (b) MCM-41:NH <sub>2</sub> :IBU <sub>37</sub> e da (c) MCM-41:NH <sub>2</sub> :IBU <sub>80</sub> . ....	41
Figura 24: Ampliação da região entre 1750 cm <sup>-1</sup> e 1550 cm <sup>-1</sup> do espectro vibracional no infravermelho da MCM-41:NH <sub>2</sub> :IBU <sub>37</sub> mostrando a região das bandas amida I e II. ....	42
Figura 25: Curva termogravimétrica da MCM-41:NH <sub>2</sub> . ....	43
Figura 26: Difratoogramas de raios x da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU, da (c) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-PF</sub> e da (d) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-CO</sub> .....	44
Figura 27: Espectros vibracionais no infravermelho da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU, da (c) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-PF</sub> e da (d) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-CO</sub> . ....	46
Figura 28: Espectros vibracionais Raman da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU, da (c) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-PF</sub> e da (d) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-CO</sub> .....	48
Figura 29: Curvas termogravimétricas da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU, da (c) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-PF</sub> e da (d) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-CO</sub> .....	50
Figura 30: Isotermas de fisissorção de N <sub>2</sub> da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU e da (c) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-PF</sub> . ....	51

Figura 31: Curvas de liberação da (a) MCM-41:IBU, da (b) MCM-41 <sub>mesof</sub> :IBU e da (c) C <sub>16</sub> -MCM-41:IBU.....	53
Figura 32: Gráficos dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do ibuprofeno na C <sub>16</sub> -MCM-41:IBU. ....	56
Figura 33: Gráficos dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do ibuprofeno na MCM-41:IBU.....	57
Figura 34: Curvas de liberação do ibuprofeno ancorado na MCM-41:GP em tampão fosfato pH 7 e 8.....	58
Figura 35: Curvas de liberação do ibuprofeno da (a) MCM-41:GP-IBU, da (b) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-PF</sub> e da (c) MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-CO</sub> . ....	59
Figura 36: Gráficos dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do ibuprofeno na MCM-41:GP-IBU.....	60
Figura 37: Gráfico dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do ibuprofeno na MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-PF</sub> .....	61
Figura 38: Gráficos dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-CO</sub> . ....	62
Figura 39: Comparativo entre as curvas de liberação de ibuprofeno imobilizado nas diferentes matrizes de sílica preparadas.....	63

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Reagentes e quantidades necessárias para a preparar de 1 L de fluido corporal simulado. .....	21
Tabela 2: Quantidades de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidos pela análise elementar da C <sub>16</sub> -MCM-41, antes e após a remoção do CTA <sup>+</sup> , comparadas com a composição química calculada pela termogravimetria. ....	34
Tabela 3: Quantidades de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidas pela análise elementar da MCM-41:NH <sub>2</sub> comparada a composição química calculada pela termogravimetria. ....	43
Tabela 4: Quantidades de carbono e hidrogênio obtidos pela análise elementar da MCM-41:GP, MCM-41:GP-IBU e MCM-41:GP-IBU <sub>(SPM)</sub> comparada a composição química calculada pela termogravimetria. ....	50

## Lista de Esquemas

Esquema 1: Etapas envolvidas na formação da ligação amida entre o ibuprofeno e a amina primária contida na MCM-41:NH <sub>2</sub> através dos agentes de acoplamento EDC/NHS. ....	40
Esquema 2: Etapas envolvidas com a reação de acoplamento do ibuprofeno na MCM-41:GP para formação da ligação éster. ....	45

## **Lista de Abreviações**

**ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**APTES** – Aminopropiltriétoxissilano

**ATG** – Análise termogravimétrica

**CTAB** – Brometo de cetiltrimetilamônio

**DMSO** - Dimetilsulfóxido

**DRX** - Difractometria de raios X

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

**FDA** – US Food and Drug Administration

**FTIR** - Espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier

**GP** – Glicidilóxiopropil

**GPTMS** – Glicidilóxiopropiltrimetoxissilano

**HPLC** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**IBU** – Ibuprofeno

**MCM-41** – Mobil Composition of Matter N° 41

**NHS** – N-hidroxisuccinimida

**SPM** - Silano pré-modificado

**TEOS** - Tetraetilortossilicato

**UV-Vis** – Ultravioleta-Visível

## 1 - Introdução

Uma série de fármacos utilizados no tratamento de diversos tipos de doenças graves apresentam restrições quanto a forma de serem administrados. Essas restrições estão relacionadas com fatores como pouca solubilidade e estabilidade no meio fisiológico, elevada toxicidade, necessidade de alta dosagem, tempo de residência e de vida curtos<sup>1</sup>. Por exemplo, no tratamento de cânceres, a não distinção do fármaco entre as células saudáveis e as anormais é um dos principais fatores para o aparecimento de efeitos colaterais de forte intensidade, como feridas na boca e garganta, doenças sanguíneas, dores, queda de cabelo, entre outros<sup>2</sup>.

Nos tratamentos convencionais o fármaco é periodicamente administrado sistemicamente, em alta dosagem, para garantir que seu nível no organismo se mantenha na faixa terapêutica, que é a região definida entre a concentração mínima necessária para que o tratamento seja eficaz e a máxima, acima da qual os efeitos colaterais preponderam<sup>3</sup> (Figura 1). Esse tipo de administração produz um perfil dente de serra para a curva da concentração sistêmica do fármaco, como observado na Figura 1, onde ora o fármaco está em níveis sub-terapêuticos, ora em níveis potencialmente tóxicos. Os sistemas para transporte e liberação modificada de fármacos possibilitam aumentar a eficácia do tratamento, através da manutenção do nível sistêmico do fármaco na faixa terapêutica por períodos prolongados, mas utilizando dosagens menores<sup>3</sup>.

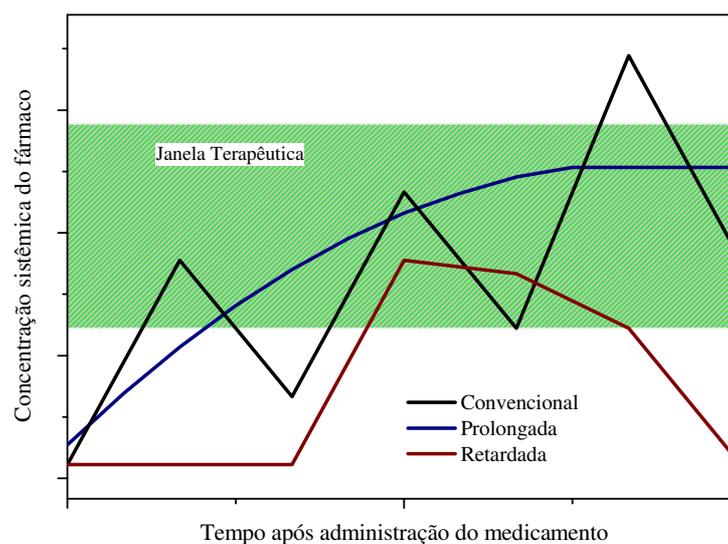


Figura 1: Curvas hipotéticas da concentração sistêmica de um fármaco administrado por diferentes métodos de liberação.

## 1.1 - Sistemas de liberação modificada de fármacos

Segundo a ANVISA os processos de liberação modificada de fármacos podem ser prolongados ou retardados<sup>1</sup>. A liberação prolongada visa manter a concentração sistêmica do fármaco constante e dentro da janela terapêutica por longos períodos<sup>4</sup>, como mostrado na Figura 1. Com isso a frequência de administração do fármaco é reduzida e as oscilações dos níveis sistêmicos para fora da faixa terapêutica são evitadas. Já a liberação retardada é aquela em que a forma farmacêutica é desenhada de modo a proporcionar uma liberação alvo específica do fármaco e/ou mediante a estímulos externos que possam controlar o processo<sup>1</sup>, evitando que o fármaco seja liberado em locais desnecessários e cause efeitos indesejados. Esse tipo de processo é muito útil, por exemplo, no tratamento quimioterápico de cânceres, onde é desejado que o fármaco atue apenas nas células doentes preservando as células saudáveis<sup>4</sup>.

Os sistemas para transporte e liberação modificada de fármacos aprovados para uso terapêutico por órgãos de regulamentação como a ANVISA e o FDA são constituídos por matrizes baseadas em polímeros e lipossomas<sup>5</sup>. Os lipossomas são vesículas esféricas formadas por bicamadas lipídicas que apresentam a característica de encapsular e proteger o fármaco de condições externas indesejadas e a capacidade de sofrer funcionalização externa de modo a permitir a liberação do fármaco em sítios específicos do organismo. Dentre os medicamentos comerciais que utilizam lipossomas para a liberação modificada de fármacos estão o Abelcet<sup>®</sup>, de administração intravenosa usado no combate a infecções fúngicas; o DepoCyt<sup>®</sup> administrado por injeção intratecal e indicado para o tratamento de linfoma; o Epaxal<sup>®</sup>, de administração a intramuscular e indicado ao tratamento da Hepatite A, entre outros<sup>6</sup>.

Já os transportadores poliméricos permitem a prolongação do tempo de circulação de fármacos no organismo, diminuindo a necessidade de dosagens repetidas e facilitando a liberação do fármaco em tecidos mais vascularizados<sup>5</sup>. Alguns dos medicamentos comerciais que se utilizam de nanotransportadores poliméricos são o Copaxone<sup>®</sup>, de administração subcutânea e indicado para o tratamento da esclerose múltipla; o Genexol-PM<sup>®</sup> de administração intravenosa e utilizado no tratamento do câncer de mama e o Oncaspar<sup>®</sup>, também de administração intravenosa e utilizado no tratamento de leucemia<sup>6</sup>.

Embora esses sistemas de liberação modificada venham sendo utilizados em medicamentos comerciais, alguns problemas já foram identificados e requerem esforços científicos para que possam ser superados. Por exemplo, os sistemas lipossômicos podem sofrer rápida depuração por células fagocíticas do sangue que causam sua degradação, impedindo que a liberação do fármaco ocorra conforme o modo planejado. Avanços foram conseguidos pela modificação superficial dos lipossomas com polímeros hidrofílicos, como o polietileno glicol (PEG), para que não sejam reconhecidos por estas células. Estes sistemas são conhecidos como lipossomas Stealth<sup>6-7</sup>. Já no caso de polímeros não biodegradáveis, como o ácido poliglutâmico (PGA) e o PEG, é observada a acumulação no organismo, o que provoca, em alguns casos, efeitos nocivos ao paciente. Para facilitar a eliminação desses sistemas polímeros pelos rins é necessário um controle preciso do peso molecular médio da cadeia polimérica<sup>8</sup>.

Com o recente avanço da nanotecnologia, outros materiais com diferentes composições e naturezas químicas estão surgindo como alternativas interessantes e promissoras para atuarem em sistemas para transporte e liberação modificada de fármacos. No campo da nanomedicina, os nanotransportadores<sup>9</sup> inorgânicos e híbridos estão ganhando espaço, não só por apresentarem maior estabilidade química e estrutural no meio biológico, mas, também, por possuírem propriedades óticas, magnéticas e químicas diferenciadas, o que permite a produção de sistemas multifuncionais, que aliam diagnóstico e tratamento, os chamados dispositivos teranósticos<sup>10,11</sup>.

Os nanomateriais estudados como sistemas de liberação modificada de fármacos podem transportar as moléculas bioativas ancoradas em sua superfície externa ou no interior das mesmas, quando dotadas de poros estruturais. Dentre os nanomateriais não porosos, as nanopartículas de ouro são as que tem recebido maior destaque nesse campo devido a sua biocompatibilidade, baixa toxicidade<sup>12</sup> e capacidade de atuar em dispositivos teranósticos<sup>13</sup>. Por exemplo, as nanopartículas de ouro absorvem eficientemente raios X, o que permite sua aplicação como agente de contraste em exames de imagem e como auxiliar na radioterapia<sup>13</sup>. Essas nanopartículas podem transformar radiação eletromagnética em calor, causando um aumento de temperatura local, o que vem sendo estudado como tratamento fototérmico de cânceres<sup>13</sup>. Devido ao grande potencial das nanopartículas de ouro o FDA já aprovou ensaios clínicos com essas nanopartículas em tratamentos de câncer e doenças cardiovasculares<sup>14</sup>.

Já no universo dos nanomateriais porosos, as sílicas mesoporosas ordenadas estão sendo consideradas como um dos sistemas mais promissores para o desenvolvimento de sistemas de transporte e liberação modificada de fármacos e moléculas bioativas<sup>15-17</sup>. Esses materiais apresentam propriedades químicas, físicas e estruturais interessantes, além de baixa toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de internalização celular por endocitose<sup>18-20</sup>.

A utilização de sílicas mesoporosas quimicamente modificadas em sistemas para transporte e liberação modificada de fármacos é o tema central do presente estudo e essa família de material inorgânico mesoporoso será descrita em detalhes a seguir.

## **1.2 - As sílicas mesoporosas**

Segundo definição da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) materiais mesoporosos são aqueles que apresentam poros com tamanhos entre 2 e 50 nm<sup>21</sup>. Esses sólidos inorgânicos são interessantes quando comparados a outros sistemas densos devido as suas propriedades adicionais de adsorção, transporte de massa e confinamento espacial. Um sólido poroso apresenta ao mesmo tempo um esqueleto inorgânico responsável, como nos sólidos densos, pelas propriedades físicas, químicas, mecânicas e ópticas; espaços vazios que podem armazenar espécies de diferentes naturezas químicas; área superficial interna de poros até 500 vezes maior do que a área da superfície externa das partículas com propriedades catalíticas e de adsorção. Tais características combinadas resultam em inúmeras possibilidades de aplicações científicas e tecnológicas dentre as quais se destaca a preparação de sistemas para transporte e liberação de substâncias de diferentes naturezas químicas<sup>22</sup>.

### ***1.2.1 - Histórico***

As sílicas mesoporosas foram reportadas na literatura pela primeira vez no início dos anos 90, quando a empresa Mobil Oil publicou a síntese dos materiais à base de sílica denominados por Mobil Composition of Matter<sup>23</sup>. Esses materiais foram produzidos através da utilização de agregados micelares de surfactantes iônicos derivados de quaternários de amônio como molde para os poros e direcionadores para a formação da estrutura inorgânica de SiO<sub>2</sub>. Compostos híbridos com complexidades e arranjos estruturais diferentes (denominados como mesofases) foram produzidos pela variação do tamanho da

cadeia alquílica e da concentração do surfactante. Com a posterior remoção do agente estruturante por calcinação foram produzidas as mesoestruturas das sílicas mesoporosas MCM-41, com arranjo hexagonal e da MCM-48, com arranjo cúbico. A MCM-50, uma mesoestrutura com arranjo lamelar não apresentou estabilidade estrutural após a remoção do agente estruturante.

Este estudo pioneiro despertou grande interesse da comunidade científica mundial e inúmeros trabalhos foram surgindo reportando a síntese de sílicas mesoporosas produzidas com diferentes tipos de direcionadores estruturais, arranjo estruturais e dimensionalidade de poros<sup>24,25</sup>. O interesse crescente na síntese e desenvolvimento de aplicações para as sílicas mesoporosas fez com que essa família de sólidos inorgânicos passasse a integrar a lista das grandes descobertas da química do estado sólido, ao lado dos fulerenos, nanotubos de carbono, supercondutores cerâmicos, cristais fotônicos e alguns outros. Atualmente o número de artigos científicos publicados com sílicas mesoporosas ultrapassou a marca de 2200 artigos anuais, conforme mostrado na Figura 2.

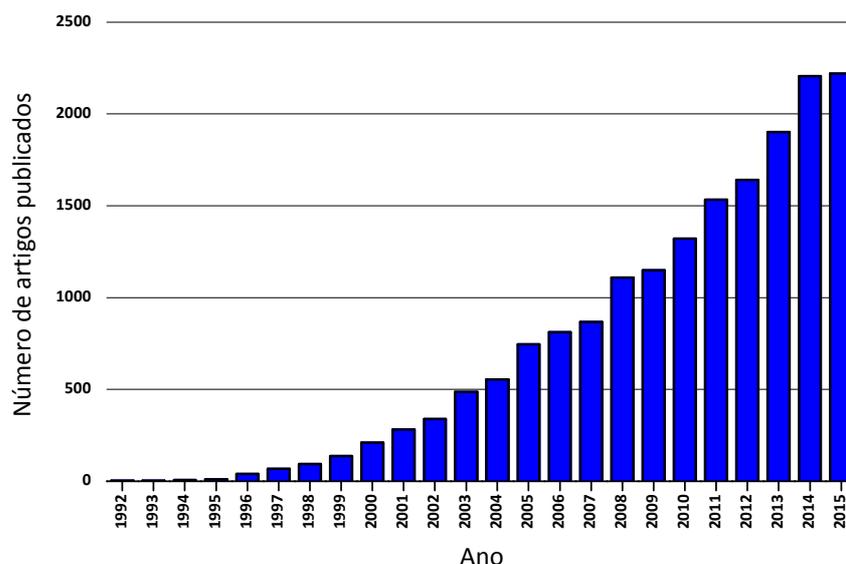


Figura 2: Número de artigos publicados com sílicas mesoporosas ao longo dos anos após a sua descoberta. Busca feita na base de dados *Web of Science* com o termo “*mesoporous silica*”.

### 1.2.2 - Síntese, propriedades químicas e físicas das sílicas mesoporosas

As sílicas mesoporosas são produzidas a partir da hidrólise controlada de um precursor inorgânico ao redor de direcionadores estruturais formados por surfactantes iônicos ou não iônicos<sup>26</sup>. Com a posterior remoção do molde são produzidas mesoestruturas repletas de poros com diâmetros na faixa nanométrica e

dimensionalidades precisamente controladas pelas condições sintéticas, o que resulta em sólidos com área superficial da ordem de  $1000 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  e volume livre ao redor de  $1 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ . No caso da síntese da MCM-41, que é a sílica utilizada no presente estudo, o método de síntese convencional é realizado a partir da hidrólise do TEOS em meio básico na presença de agregados micelares cilíndricos de CTAB. Um esquema do processo é apresentado na Figura 3.

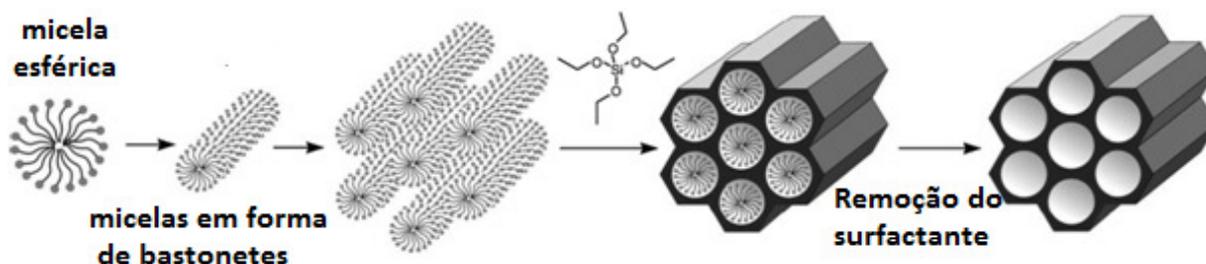


Figura 3: Esquema simplificado do processo de formação da MCM-41 (Figura adaptada da referência <sup>27</sup>).

As micelas têm cargas positivas e na hidrólise básica do TEOS são produzidas unidades tetraédricas  $-\text{[SiO}_4\text{]}-$  com cargas negativas. Essas unidades inorgânicas se depositam ao redor das micelas por interações eletrostáticas e começam a se condensar por ligações siloxanos ( $\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$ ) que conectam as unidades tetraédricas através dos vértices formando as paredes amorfas do esqueleto inorgânico do material<sup>28</sup>. Com a calcinação para remoção do molde, ocorre a condensação completa das unidades  $-\text{[SiO}_4\text{]}-$  restando na superfície unidades terminais na forma de grupos silanóis ( $\equiv\text{Si}-\text{OH}$ ) reativos, que abrem a possibilidade de modificação química da superfície. Agentes sililizantes do tipo  $(\text{H}_3\text{CO})_3\text{SiR}$  se condensam aos grupos silanóis incorporando o grupo R covalentemente à superfície da sílica mesoporosa.

A reação de funcionalização superficial pode ser feita após a síntese do material mesoporoso (método da pós-funcionalização) ou diretamente durante o processo de síntese (método da cocondensação) substituindo parte do TEOS pelo agente sililizante de interesse. Esses dois métodos resultam na obtenção dos grupos funcionais covalentemente ancorados às paredes inorgânicas<sup>29</sup> e são esquematicamente mostrados nas Figura 4 e Figura 5. A rota de pós-funcionalização tem a vantagem de ser de fácil execução após a obtenção da sílica mesoporosa, sem provocar desestruturação, porém tem as desvantagens de proporcionar uma distribuição desigual dos grupos funcionais ao longo dos poros

(concentração maior na entrada) e de ocluir os poros, caso as condições sintéticas não sejam bem controladas. A rota de co-condensação tem a vantagem de produzir uma distribuição mais homogênea de grupos funcionais ao longo dos poros, porém com desvantagens relacionadas com a formação de mesoestruturas desordenadas e devido a impossibilidade de se calcinar o material, em alguns casos a remoção completa do molde não é efetiva além do fato das mesoestruturas formadas serem mais instáveis devido ao menor grau de condensação das unidades tetraédricas.

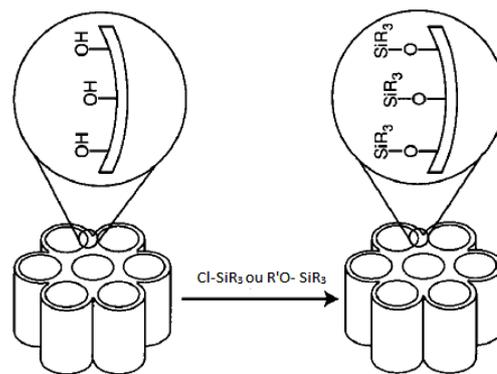


Figura 4: Ilustração do processo de pós-funcionalização de uma sílica mesoporosa. (Figura adaptada da referência 11).

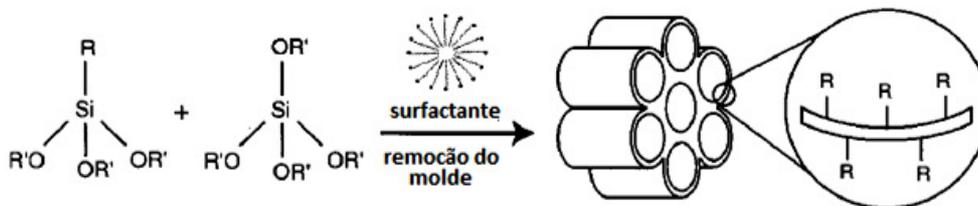


Figura 5: Ilustração do processo de preparação de sílicas mesoporosas híbridas pelo método da co-condensação (figura adaptada da referência 11).

Os processos de síntese e modificação química descritos anteriormente podem ser usados para produzir as sílicas mesoporosas em diferentes formas para serem utilizadas em aplicações específicas. As sílicas mesoporosas na forma de pó são normalmente utilizadas em aplicações biomédicas<sup>30</sup>, catalíticas<sup>31</sup>, para adsorção<sup>32</sup> e como fase estacionária para HPLC<sup>33</sup>. Filmes de sílicas mesoporosas são utilizados como recobrimentos de implantes<sup>34</sup>, como sensores<sup>35</sup> e como membranas de separação<sup>36</sup>. Fibras de sílica

mesoporosa podem ser utilizadas como guias de ondas para LASERS<sup>37</sup>. As sílicas mesoporosas podem ainda ser obtidas como nanopartículas, as quais são principalmente utilizadas em aplicações que envolvem internalização celular como em terapia gênica<sup>38</sup>.

### ***1.2.3 - Biocompatibilidade e toxicidade das sílicas mesoporosas***

Algumas aplicações que estão sendo estudadas para as sílicas mesoporosas, como anteriormente relatadas, envolvem o contato com células, sangue e tecidos. Por essa razão estudos para elucidar o perfil de biocompatibilidade e toxicidade desses materiais passaram a ganhar relevância atualmente. Ainda existem poucos dados a esse respeito, mas que indicam que um grande potencial para as sílicas mesoporosas em aplicações biomédicas, já que apresentam características como biocompatibilidade, pouca citotoxicidade, biodegradabilidade e capacidade de internalização celular por endocitose.

Lin e Haynes<sup>39</sup> demonstraram a biocompatibilidade da MCM-41 com tecidos e sangue através da avaliação da hemólise (rompimento das hemácias) frente ao contato do material com sangue, as nanopartículas de sílica mesoporosa apresentaram menos influência na atividade hemolítica do que nanopartículas de sílica não porosa. Tao e colaboradores<sup>19</sup> investigaram os efeitos da MCM-41 e da SBA-15 no processo de respiração celular e sua influência no teor de ATP em células bioenergéticas. Medindo a concentração de O<sub>2</sub> em células de albumina de soro bovino, com e sem a presença das sílicas mesoporosas, o estudo mostrou que a MCM-41 apresenta um impacto mínimo na respiração celular. A internalização celular de partículas de sílica mesoporosa foi constatada em células de ovários de hamster, utilizando partículas recobertas por poli(amidoamina)<sup>40</sup>.

Outra característica importante apresentada pela MCM-41 é a sua biodegradabilidade, como demonstrado por Yamada e colaboradores<sup>41</sup>. Neste trabalho o perfil de degradação de sílicas mesoporosas com diferentes tamanhos foi avaliado em meio aquoso estático. Os resultados indicaram que a velocidade de degradação das sílicas mesoporosas é maior do que de sílicas não porosas. Já Zhai e colaboradores<sup>18</sup> investigaram a biodegradabilidade de sílicas mesoporosas no interior de células tronco de cordão umbilical. Os resultados foram promissores e mostraram que a degradação se inicia no citoplasma e lisossomos. Além disso o teor de Si medido no meio de cultura aumentou com o passar do tempo, indicando que o material resultante da degradação estava sendo excretado pelas células.

Um estudo<sup>42</sup> realizado em ratos indicou baixa toxicidade da sílica mesoporosa administrada intravenosa utilizando suspensões em solução salina. Altas doses causaram lesão no fígado. Nenhuma morte foi observada quando doses de 20, 40 e 80 mg/Kg foram administradas nos animais continuamente por 14 dias, podendo ser excretadas completamente após um período de 4 semanas. O estudo mostrou que as nanopartículas de sílica se acumulavam principalmente nas células fagocíticas mononucleares do fígado e do baço<sup>42</sup>.

Essas características fazem das sílicas mesoporosas sistemas muito promissores para aplicações biomédicas envolvidas com o transporte e liberação modificada de fármacos e outras moléculas bioativas, tema este, que será discutido com mais detalhes a seguir. Apesar dos resultados interessantes, as sílicas mesoporosas ainda não atingiram a fase dos ensaios clínicos, sendo este um dos maiores desafios do momento. Para isso, há ainda muito a ser desenvolvido para melhorar a eficiência e ter um conhecimento toxicológico mais amplo desses sistemas.

#### ***1.2.4 - Sílicas mesoporosas como sistemas de transporte e liberação modificada de fármacos***

Em 2001 foi reportado, pela primeira vez, a utilização da MCM-41 como matriz para a liberação modificada de um fármaco<sup>30</sup>. Neste estudo o ibuprofeno foi imobilizado por adsorção nos poros da sílica e a liberação avaliada em fluido corporal simulado. Os resultados observados foram promissores. O ibuprofeno 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 controlada, como em sistemas de liberação retardada, conforme pode ser atestado pelo número crescente de publicações nesse assunto mostrado na Figura 6.

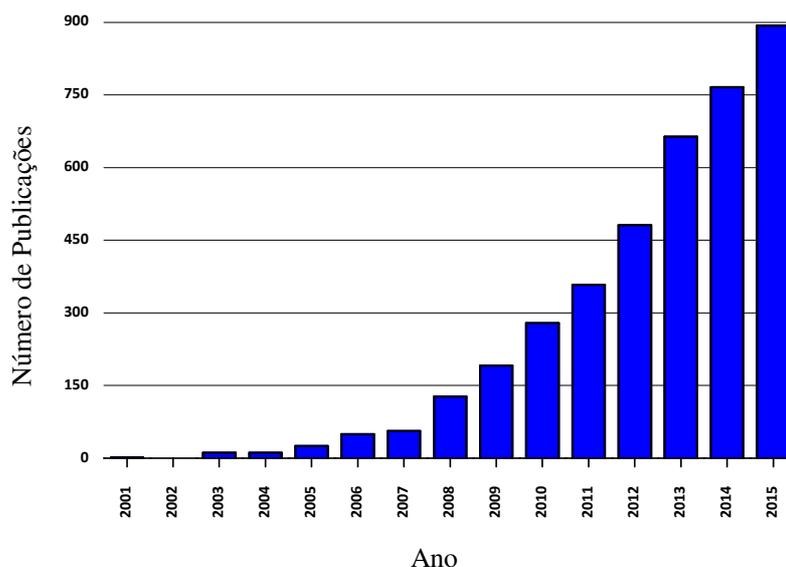


Figura 6: Número de artigos publicados entre 2001 a 2015 com o tema sílicas mesoporosas como sistemas de liberação de fármacos. Pesquisa feita na base de dados *Web of Science* com o termo de busca “*mesoporous silica drug delivery*”.

Nos primeiros trabalhos publicados neste tema foram avaliadas a influência das propriedades texturais, como tamanho de poro e área superficial, no processo de adsorção e liberação de fármacos. Horcajada e colaboradores<sup>43</sup> em 2004 produziram a MCM-41 com diferentes tamanhos de poro e avaliaram a influência que essa característica exerce sobre o processo de adsorção e liberação do ibuprofeno. Observaram que quanto maior o poro maior é a velocidade de liberação do fármaco. Já Balas e colaboradores<sup>44</sup> em 2006 avaliaram as sílicas mesoporosas MCM-41 (área superficial = 1157 m<sup>2</sup>/g) e a SBA-15 (área superficial = 719 m<sup>2</sup>/g), que apresentam o mesmo arranjo estrutural hexagonal mas áreas superficiais diferentes, no processo de imobilização e posterior liberação do alendronato. Os resultados mostraram que a MCM-41 foi capaz de adsorver uma maior quantidade do fármaco, porém as velocidades de liberação foram semelhantes.

Além das propriedades texturais, os efeitos da modificação química superficial dos poros das sílicas mesoporosas passaram também a ser estudados para o aprimoramento do processo de imobilização e controle da liberação de fármacos. Em 2006 Horcajada e colaboradores<sup>45</sup> publicaram um trabalho onde os efeitos dos grupos funcionais cloropropil, fenil, benzil, mercaptopropil, cianopropil e butil foram avaliados no processo de adsorção e liberação do ibuprofeno. Grupos funcionais polares propiciaram uma

maior quantidade de fármaco adsorvido e uma liberação mais lenta em relação aos grupos polares. Esse trabalho mostrou a possibilidade de se projetar sistemas de liberação com diferentes velocidades de liberação através da modificação química superficial da sílica.

Mortera e colaboradores<sup>46</sup> ligaram cisteína covalentemente às paredes da sílica mesoporosa modificada com grupos mercaptopropil por meio da formação de uma ligação dissulfeto. Com a adição de agentes redutores, a ligação é quebrada e a cisteína liberada no meio. Na ausência desses agentes, a liberação observada foi bem mais lenta.

A modificação química superficial também permite a construção de mecanismos mais sofisticados para o controle da liberação de fármacos imobilizados nas sílicas mesoporosas. É possível, por exemplo, incorporar espécies que funcionam com válvulas que controlam a abertura e fechamento dos poros por meio de estímulos externos. Meng e colaboradores<sup>47</sup> consideraram a diferença de pH existente entre os tecidos normais e os tumorais (mais ácidos) para produzir um sistema de controle de liberação de N-metilbenzimidazol. A sílica foi funcionalizada com  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ CD) e o fármaco imobilizado por adsorção nos anéis da  $\beta$ CD. Essa interação é pH-dependente e os resultados mostraram que em pH neutro não há liberação do fármaco e quanto menor for o pH do meio, mais rápida é a liberação.

Nos tecidos tumorais, além do pH mais baixo, eles apresentam alta concentração de glutatona<sup>48</sup> e essas 2 características foram utilizadas em um trabalho recente<sup>48</sup> como estímulos para controlar a liberação de cloridrato de doxorrubicina (DOX), um fármaco usado no tratamento de câncer. Inicialmente a sílica mesoporosa foi modificada com o polímero poli(glicidilmetacrilato) (PGMA) e, em seguida, o curcubit-7-uril (CB7) foi acoplado ao polímero por meio da formação de ligações dissulfeto. A presença de glutatona em pH ácido é capaz de quebrar essa ligação, o que causa a liberação do DOX.

Gai e colaboradores<sup>49</sup> produziram fibras de sílica mesoporosa carregadas com DOX e modificadas com nanopartículas de óxido de ferro. Com a incorporação das nanopartículas o sistema pode ser guiado por meio de campos magnéticos aplicados externamente, tornando-o sistema alvo-específico. Os resultados publicados indicaram que o material desenvolvido foi capaz de fazer a entrega da DOX no núcleo de células HeLa guiando as partículas através da aplicação de um campo magnético.

No trabalho de Gan e colaboradores<sup>50</sup> as nanopartículas magnéticas de óxido de ferro foram utilizadas como rolhas nos poros da sílica mesoporosa, para controlar a liberação do fármaco dexametasona por variação de pH. Nanopartículas de óxido de ferro foram funcionalizadas com o ácido borônico e acopladas a sílica mesoporosa previamente carregada com o fármaco dexametasona e modificada com o derivado de poliálcool N-(3-trietoxisililpropil)gluconamida. Esses dois grupos funcionais reagem formando uma ligação éster que é sensível a hidrólise em pH ácido. Os resultados mostraram que na região de pH entre 5 e 8 não foi observada liberação do fármaco, mas na região de pH entre 2 e 4 a liberação foi rápida.

Atualmente estão sendo desenvolvidas sílicas mesoporosas multifuncionais, capazes não só de controlar a liberação de fármacos, mas, também, de aliar diagnóstico e tratamento no mesmo sistema. Em 2010, Lee e colaboradores<sup>51</sup> utilizaram sílicas mesoporosas com os corantes rodamina e fluoresceína imobilizados, nas quais foram incorporados nanocristais de magnetita com o intuito de produzir um material que pudesse ser utilizado como agente de contraste em ressonância magnética. A esse material foi carregado DOX. Os resultados mostraram que o material gerou uma grande melhora no sinal da ressonância e que o DOX também foi liberado produzindo a apoptose de células tumorais de ratos.

Muitos desses sistemas de liberação modificada reportados na literatura apresentam grande complexidade sintética e necessitam de várias etapas para que sejam produzidos. A facilidade de produção é um dos requisitos importantes para viabilizar a aplicação desses materiais em tratamentos terapêuticos. Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo desenvolver abordagens mais simples do ponto de vista sintético para produzir sistemas de liberação modificada de fármacos baseado na sílica mesoporosa MCM-41.

## 2 - Objetivos

O objetivo geral do presente estudo foi produzir sistemas de liberação modificada de fármacos utilizando a sílica mesoporosa MCM-41.

Os sistemas de liberação modificada desenvolvidos envolveram processos de liberação prolongada e controlada, os quais estão relacionados a estudos com objetivos específicos, que serão detalhados a seguir.

### *(I) Síntese da MCM-41 contendo cadeias alquílicas covalentemente ligadas ao esqueleto inorgânico para sistemas de liberação prolongada.*

A velocidade de liberação de um fármaco imobilizado por adsorção nos poros das sílicas mesoporosas é influenciada pelas propriedades químicas da superfície. Em um estudo anteriormente realizado no grupo de pesquisas<sup>52</sup>, foi observado que a mesofase da MCM-41 (fase com os poros preenchidos pelo surfactante usado como direcionador estrutural) apresentava alto poder de adsorção de fármacos e um perfil de liberação bem mais lento que a MCM-41 e que a MCM-41 modificada com grupos aminopropil. Entretanto, moléculas do surfactante eram liberadas conjuntamente com o fármaco, o que não é desejado para as possíveis aplicações biomédicas desejadas para o material. Visando contornar esse problema, essa etapa do presente estudo teve como objetivos específicos produzir uma mesoestrutura inédita da MCM-41 contendo cadeias carbônicas covalentemente ligadas à estrutura da sílica para evitar que as mesmas sejam liberadas com o fármaco, além de estudar o perfil de liberação do ibuprofeno incorporado ao material por adsorção.

### *(II) Desenvolvimento de mecanismos de liberação controlada na MCM-41*

Conforme mostrado na parte introdutória, ligações químicas suscetíveis a quebra por estímulos como alteração de pH podem ser usadas para controlar o processo de liberação do fármaco imobilizado nas matrizes de sílica mesoporosa. Esta etapa do presente estudo teve como objetivos específicos desenvolver rotas sintéticas para possibilitar a imobilização do ibuprofeno na MCM-41 por ligações covalentes do tipo éster e amida e estudar o perfil de liberação em diferentes condições de pH. Ligações covalentes do tipo éster e amida são comuns em biomoléculas e além de sofrerem a hidrólise química no meio fisiológico, podem ser também quebradas por enzimas extracelulares e citoplasmáticas.

### 3 - Critérios utilizados na seleção da MCM-41 e do ibuprofeno para o estudo

A sílica mesoporosa MCM-41 selecionada para esses estudos tem a síntese e modificação química bem estabelecidas na literatura científica e dominada pelo grupo de pesquisas pois vem sendo utilizada em diversos estudos. Os benefícios em usar a MCM-41 nesses estudos vão além dos descritos anteriormente. A grande área superficial, a presença de poros cilíndricos com diâmetros pequenos e com estreita distribuição de tamanhos, permite que grandes quantidades de fármaco sejam incorporadas nos poros MCM-41, e propiciam um perfil de liberação mais prolongado e uniforme em relação a outros tipos de sílicas de poros maiores.

O fármaco selecionado para esses estudos, o ibuprofeno, é um anti-inflamatório não esteroideal com ação analgésica e antitérmica de uso muito difundido pela população mundial. Ele age inibindo as ciclooxigenases COX1 e COX2 que estão relacionados ao desencadeamento do processo inflamatório, mas que também estão relacionadas à proteção da mucosa gástrica. Em função disto, seu uso contínuo pode trazer efeitos colaterais relacionados à formação de úlceras pépticas e insuficiência renal. Somado ao fato de que as dimensões moleculares do ibuprofeno são compatíveis com os poros das sílicas mesoporosas, esse fármaco tornou-se um modelo para os estudos de liberação modificada em diversos tipos de matrizes. Além disso, a molécula apresenta em sua estrutura um grupo ácido carboxílico (Figura 7) necessário para a formação das ligações tipo éster e amida desejadas .

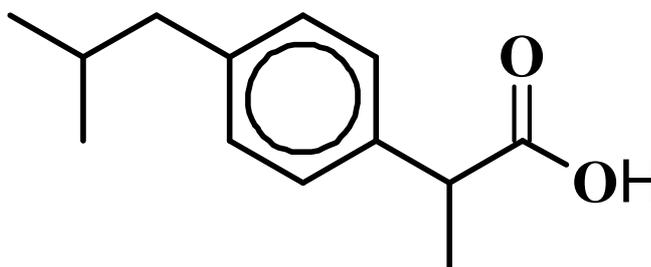


Figura 7: Representação da estrutura molecular do Ibuprofeno.

## 4 - Procedimentos Experimentais

Para uma melhor compreensão dos procedimentos sintéticos realizados é apresentado na Figura 8 um fluxograma das etapas executadas. Foram sintetizados 2 grupos de sílica, um para liberação prolongada e outro para liberação controlada, conforme identificado no fluxograma. O procedimento de síntese envolvido com a preparação das sílicas destes dois grupos serão apresentados a seguir.

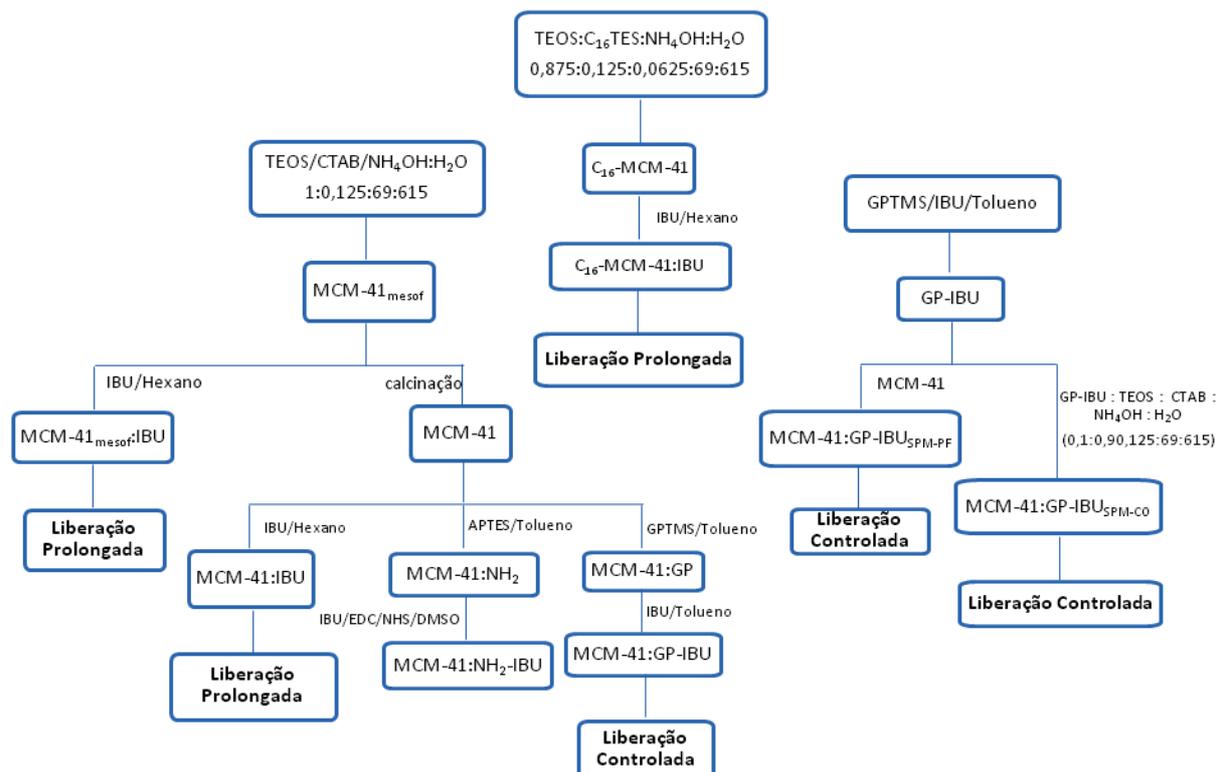


Figura 8: Fluxograma resumido das etapas sintéticas realizadas.

### 4.1 - Sílicas para liberação prolongada

#### 4.1.1 - Síntese da mesofase da MCM-41

A síntese da MCM-41 foi feita a partir da mistura dos reagentes tetraetilortosilicato (TEOS - Aldrich), brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB - Aldrich), hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$  - Synth) e água deionizada, na proporção molar<sup>30</sup>:  $615(\text{H}_2\text{O}) : 69(\text{NH}_4\text{OH}) : 0,125(\text{CTAB}) : 1(\text{TEOS})$ . Para uma síntese típica, 295 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  foram primeiramente adicionados a 97 mL de água deionizada, então, a esta solução, foram adicionados 1,5 g de CTAB. Após esta etapa a reação foi deixada sob constante agitação em temperatura ambiente até total dissolução do CTAB, quando 7,4 mL de TEOS foram adicionados gota a gota, sob constante agitação mecânica com barra magnética em temperatura ambiente.

Após 2 horas de reação o sólido branco formado (mesofase da MCM-41 – MCM-41<sub>mesof</sub>) foi isolado por filtração à pressão reduzida, lavado com água deionizada e seco em dessecador sob pressão reduzida e utilizando sílica-gel como secante. A MCM-41<sub>mesof</sub> preparada foi caracterizada por difratometria de raios X (DRX), espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e análise termogravimétrica (ATG). Parte desse sólido foi utilizada para a adsorção de ibuprofeno para liberação prolongada e o restante foi utilizado para obtenção da sílica mesoporosa.

Para a obtenção da MCM-41, a mesofase foi calcinada para a eliminação da fração orgânica utilizando a seguinte condição experimental: cerca de 2 g da mesofase foram colocados em um cadinho de porcelana que foi aquecido em forno a uma velocidade de 2°C/min até atingir 550°C, onde permaneceu por um período de 3h. Durante a etapa de aquecimento foi utilizada atmosfera de nitrogênio e quando o forno atingiu a temperatura de patamar foi utilizada atmosfera de ar. A MCM-41 foi caracterizada por DRX, FTIR e ATG. A porosidade do material foi avaliada por isotermas de fisissorção de N<sub>2</sub>. Após a caracterização o material foi utilizado na imobilização do ibuprofeno para os ensaios de liberação prolongada.

#### ***4.1.2 - Síntese da C<sub>16</sub>-MCM-41 pelo método da co-condensação***

Com o intuito de evitar a liberação do CTA<sup>+</sup> nos processos de liberação de fármaco foi avaliada a síntese de um material inédito, onde a cadeia alquílica estivesse covalentemente ligada à estrutura inorgânica. Esse material foi denominado de C<sub>16</sub>-MCM-41 e a síntese foi realizada pela cocondensação do TEOS como o hexadeciltrimetoxisilano (C<sub>16</sub>TES). A síntese foi feita seguindo o mesmo procedimento descrito para a mesofase da MCM-41, porém foi feita uma mistura do alquilsilano com o CTAB numa proporção molar 1:1, respeitando a proporção determinada para a síntese da mesofase comum e utilizando as mesmas condições experimentais. O sólido produzido foi isolado por filtração, lavado e seco. Depois o CTA<sup>+</sup> foi extraído utilizando 20 mL uma solução v/v 4:1 de etanol e HCl para 1 g de material, a sílica foi mantida na solução sob agitação utilizando uma barra magnética em uma chapa de agitação a temperatura ambiente por 48 horas. Após este período o sólido foi isolado por filtração à pressão reduzida e colocado em uma nova solução de etanol/HCl por mais 72 horas, quando foi isolado novamente por filtração à

pressão reduzida e seco em dessecador contendo sílica gel como secante. O material produzido nesta etapa foi caracterizado por DRX, TG, FTIR, e análise elementar (C, H, N).

#### ***4.1.3 - Carregamento do ibuprofeno***

O carregamento do ibuprofeno (PharPlus) na MCM-41<sub>mesof</sub>, na C<sub>16</sub>-MCM-41 e na MCM-41 foi feito por adsorção em hexano. A 20 mL de uma solução 0,26 mol/L de ibuprofeno em hexano foram adicionados 500 mg de sílica (proporção molar de 1 : 1) e deixada sob agitação em temperatura ambiente por 5 dias. Após esse período o sólido foi isolado por centrifugação e lavado com três porções do solvente utilizado na imobilização. A quantidade de ibuprofeno incorporado na MCM-41<sub>mesof</sub> não pode ser determinada pelas análises termogravimétrica e elementar, pois é possível que tenha havido extração de parte da cadeia alquílica durante o processo de imobilização do fármaco. Neste caso foram feitas tentativas de quantificação utilizando a determinação espectrofotométrica a partir de uma curva de calibração. Já para o caso da MCM-41 e C<sub>16</sub>-MCM-41 a quantidade de ibuprofeno incorporada foi determinada por TG e CHN. Essas sílicas contendo o ibuprofeno imobilizado serão designadas como MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU, C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU e MCM-41:IBU. Esses materiais também foram adicionalmente analisados por FTIR e DRX.

## **4.2 - Sílicas para liberação controlada**

Para produzir as sílicas para os sistemas de liberação controlada, a MCM-41 sintetizada anteriormente foi submetida a um processo de pós-funcionalização para a incorporação de grupos funcionais capazes de atuarem na formação das ligações covalentes tipo éster e amida entre a matriz inorgânica e o ibuprofeno. Os procedimentos adotados para essas sínteses serão descritos a seguir.

### ***4.2.1 - Imobilização do ibuprofeno na MCM-41 por ligação amida***

Esse procedimento sintético foi realizado em duas etapas que serão descritas adiante. Inicialmente a MCM-41 foi pós-funcionalizada com grupos amino para depois ser realizada a reação de acoplamento do ibuprofeno através da reação desses grupos amino da sílica com o grupo ácido carboxílico do ibuprofeno para formação da ligação amida.

#### ***1ª etapa: pós-funcionalização com aminopropiltriétoxisilano (APTES)***

Para a funcionalização da sílica com o APTES (Aldrich) cerca de 2 g de MCM-41, previamente seca em estufa a 80°C por 1 hora foram adicionadas a 185 mL de uma solução 0,163 mol/L de APTES em tolueno, o qual foi previamente purificado por destilação e seco com peneira molecular. Essa mistura foi deixada sob agitação e refluxo por 24 horas e após esse período o sólido foi isolado por filtração a pressão reduzida, lavado com tolueno e etanol e depois seco em dessecador sob pressão reduzida e com sílica-gel como secante. A sílica funcionalizada foi caracterizada por DRX, TG, FTIR, isoterma de adsorção/dessorção de N<sub>2</sub>, análise elementar (C, H, N) e será designada no texto como MCM-41:NH<sub>2</sub>.

***2ª etapa: reação de acoplamento entre o ibuprofeno e a MCM-41:NH<sub>2</sub>***

Para a obtenção da ligação covalente amida formada pelo acoplamento do ibuprofeno ao grupo amino da MCM-41:NH<sub>2</sub> foi utilizado o agente de acoplamento 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) e N-hidroxisuccinimida (NHS), nas proporções molares —NH<sub>2</sub> : COOH : EDC : NHS de 1 : 50 : 1,5 : 1 em dimetilsulfóxido (DMSO). Normalmente esses agentes de acoplamento são utilizados em meio aquoso, mas em razão da baixa solubilidade do ibuprofeno foi necessário realizar a reação em DMSO, que é um solvente capaz de dissolver os agentes de acoplamento e o ibuprofeno. O procedimento utilizado foi adaptado do trabalho publicado por Schilke e colaboradores<sup>31</sup>. O primeiro passo do processo foi a ativação do ibuprofeno com os agentes EDC/NHS. Primeiramente foram preparadas 27,5 mL de uma solução de 0,3 mol/L de EDC em DMSO e 33,33 mL de uma solução 0,15 mol/L de NHS também em DMSO. Essas duas soluções foram misturadas e à solução resultante foi adicionado 1,0 g de ibuprofeno mantendo a mistura sob constante agitação a 37°C por 24 horas. A solução resultante foi dividida em duas frações de igual volume, as quais foram utilizadas na reação com o MCM-41:NH<sub>2</sub>. A uma das frações foi adicionado 250 mg da MCM-41:NH<sub>2</sub> sintetizada na primeira etapa e o sistema foi deixado sob agitação constante a 37°C por 24 h. Após esse período, o sólido resultante, identificado no texto como MCM-41:NH<sub>2</sub>:IBU<sub>37</sub>, foi isolado por filtração a pressão reduzida, lavado com DMSO destilado por 3 vezes e seco em dessecador sob vácuo e sílica-gel como secante. O mesmo procedimento foi repetido com a outra fração, mas utilizando uma temperatura de 80°C na reação de acoplamento. O material obtido nessa etapa será identificado ao longo do texto como MCM-41:NH<sub>2</sub>:IBU<sub>80</sub>. Os materiais sintetizados nessa etapa foram caracterizados por DRX, FTIR, ATG e CHN.

#### **4.2.2 - Imobilização do ibuprofeno na MCM-41 por ligação éster**

Para a obtenção da sílica com o ibuprofeno covalentemente ligado por uma ligação covalente tipo éster, três procedimentos de síntese foram avaliados. O procedimento 1 foi realizado em duas etapas, a primeira de pós-funcionalização da sílica com glicidilóxipropiltrimetoxisilano (GPTMS - Aldrich) para produzir grupos epóxi superficiais para que na segunda etapa, o ibuprofeno fosse acoplado à sílica funcionalizada (MCM-41:GP). No procedimento 2 um novo agente sililizante foi produzido pela reação do ibuprofeno com o GPTMS (GP-IBU<sub>SPM</sub>), o qual foi posteriormente utilizado no processo de pós-funcionalização da MCM-41. No procedimento 3, a sílica com ibuprofeno foi preparada pelo processo de co-condensação do TEOS com o GP-IBU<sub>SPM</sub>. Esses procedimentos serão descritos em detalhe a seguir.

##### **4.2.2.1 - Procedimento 1: imobilização do ibuprofeno em 2 etapas**

###### *- 1ª Etapa: Pós-funcionalização com GPTMS*

Para funcionalizar a sílica com grupos epóxi, 3,0 g da MCM-41 anidra foram adicionados a 50 mL de uma solução 0,34 mol/L de GPTMS em tolueno (Synth) (previamente destilado e seco). A reação foi deixada sob refluxo por 90 minutos e o metanol gerado nesse período foi removido por destilação e a reação deixada por mais 90 minutos sob refluxo. O material produzido, identificado ao longo do texto como MCM-41:GP, foi caracterizado por DRX, TG, FTIR, fisissorção de N<sub>2</sub> e análise elementar (C H N). A MCM-41:GP foi posteriormente utilizada na 2ª etapa na reação de acoplamento do ibuprofeno com formação de ligação covalente tipo éster<sup>32</sup>.

###### *- 2ª Etapa: reação de acoplamento do ibuprofeno com o grupo funcional epóxi*

2,5 g de MCM-41:GP foram adicionadas a 50 mL de uma solução contendo 1,7 mL (0,23 mols) de trietilamina (Aldrich) e 3,6 g (0,017 mols) de ibuprofeno (PharmaPlus) em tolueno, previamente destilado e seco. A mistura foi deixada sob refluxo por 24 horas e, então, o sólido foi isolado por centrifugação e lavado com tolueno para eliminar o ibuprofeno e a trietilamina residual. O material preparado será designado ao longo do texto como MCM-41:GP-IBU e foi caracterizado por DRX, FTIR, espectroscopia vibracional Raman, ATG e por análise elementar (C H N), fisissorção de N<sub>2</sub>. O material produzido foi posteriormente utilizado nos ensaios de liberação controlada do ibuprofeno.

#### 4.2.2.2 - Procedimento 2: imobilização do ibuprofeno em uma etapa de pós-funcionalização

Este procedimento sintético envolveu duas etapas consecutivas. A primeira foi a formação no meio reacional de um agente sililizante contendo o ibuprofeno já ligado por ligação éster seguida da etapa de pós-funcionalização da MCM-41. Inicialmente para a formação do silano pré-modificado (SPM) no meio reacional, 3,6 g de ibuprofeno e 4,1 mL de GTPMS (proporção molar de 1 : 1) foram misturados com 1,7 mL de trietilamina em 50 mL de tolueno. A mistura foi deixada sob refluxo por 24 horas e após esse período 2,5 g da MCM-41 seca foram adicionados ao sistema que permaneceu por mais 24 horas sob refluxo. O sólido foi então isolado por centrifugação, lavado com 3 porções de tolueno para eliminar resíduos dos reagentes e depois seco em dessecador à pressão reduzida utilizando sílica gel como secante. Este material será designado ao longo do texto como MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub>, e foi caracterizado por DRX, TG, FTIR, espectroscopia vibracional Raman, fisissorção de N<sub>2</sub> e CHN. O material produzido foi posteriormente utilizado nos ensaios de liberação controlada do ibuprofeno.

#### 4.2.2.3 - Procedimento 3: imobilização do ibuprofeno em uma etapa de co-condensação

Este procedimento sintético, diferentemente do anterior, envolveu duas etapas não consecutivas. A primeira foi a formação do agente sililizante contendo o ibuprofeno já ligado por ligação éster o qual foi posteriormente utilizado numa etapa de síntese direta da MCM-41 funcionalizada por co-condensação.

Inicialmente o silano pré-modificado (GP-IBU<sub>SPM</sub>) foi preparado adicionando 1 g de ibuprofeno (4,8 mmol), 0,6 mL de GPTMS (2,7 mmol) e 0,343 mL de trietilamina (4,7 mmol) foram adicionados a 80 mL de tolueno destilado e a mistura foi deixada em refluxo por 24 horas. Após esse período, o tolueno e a trietilamina foram removidos por rotoevaporação. O óleo resultante foi tratado com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, e neutralizado com uma solução aquosa 1% (m/m) de KOH (Synth). Em um funil de separação a solução foi lavada 2 vezes com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e ao final do processo foi adicionado MgSO<sub>4</sub> para remover o excesso de água, o qual foi posteriormente removido por uma filtração simples. A remoção do solvente residual foi feita por rotoevaporação. A próxima etapa envolveu a síntese direta da MCM-41 funcionalizada por co-condensação. Neste processo 1,065 g do GP-IBU<sub>SPM</sub> (2,5 mmols) foram misturados a 5 mL de TEOS (0,0225 mols). Essa mistura foi adicionada a uma solução aquosa de CTAB e NH<sub>4</sub>OH nas mesmas condições descritas para a síntese MCM-41<sub>mesof</sub>. O sólido produzido foi isolado por filtração, lavado com

água deionizada e seco. O CTAB utilizado como molde não foi extraído. O material sintetizado será designado no texto como MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> e o mesmo foi caracterizado por DRX, FTIR, espectroscopia vibracional Raman, TG e CHN. O material produzido foi posteriormente utilizado nos ensaios de liberação controlada do ibuprofeno.

### 4.3 - Ensaios de Liberação do Ibuprofeno

Os ensaios de liberação de ibuprofeno foram realizados em triplicata para as amostras: MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU, C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU, MCM-41:IBU, MCM-41:GP-IBU, MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> e MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub>. Os ensaios de liberação prolongada foram realizados em meio de fluido corporal simulado utilizando as sílicas MCM-41:IBU, MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU e C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU. O fluido corporal simulado é uma solução com concentração de íons próxima a do plasma humano. O fluido é preparado pela dissolução dos sais na ordem e quantidades apresentadas na Tabela 1<sup>33</sup> e o HCl (reagente 10) é utilizado para ajustar o pH em 7,4.

Tabela 1: Reagentes e quantidades necessárias para a preparar de 1 L de fluido corporal simulado.

Ordem	Reagente	Quantidade
1	NaCl	8,035 g
2	NaHCO <sub>3</sub>	0,355 g
3	KCl	0,225 g
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	0,231 g
5	MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,311 g
6	HCl (1 mol/L)	39 mL
7	CaCl <sub>2</sub>	0,292 g
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,072 g
9	(HOCH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>	6,118 g
10	HCl (1 mol/L)	0-5 mL

Já os ensaios de liberação controlada do ibuprofeno em MCM:41-GP-IBU e da MCM-41:GP-IBU<sub>SPM</sub> foram realizados em tampão fosfato 0,1 M nos pHs 6,6, 7,0 e 7,4. Esses valores de pH foram escolhidos visando uma possível aplicação do material como sistema de liberação local de fármaco implantado em tecidos, e por essa razão o pH não deve variar muito. As soluções tampão foram preparadas conforme as quantidades de sais determinadas pela equação 1. O tampão pH 6,6 foi preparado

através da mistura de 38,1 mL de uma solução 1 M de  $K_2HPO_4$  e 61,9 mL de uma solução 1 M de  $KH_2PO_4$  completando o volume para 1 L. O tampão pH 7 foi preparado pela misturando de 61,5 mL de uma solução 1 M de  $K_2HPO_4$  com 38,5 mL de uma solução 1 M de  $KH_2PO_4$ , completando o volume para 1 L. O tampão com pH 7,4 foi preparado pela mistura de 80,2 mL de uma solução 1 M de  $K_2HPO_4$  com 19,8 mL de solução 1 M de  $KH_2PO_4$  e ajustando o volume final do balão para 1 L.

$$pH = pKa + \log\left(\frac{base}{ácido}\right)$$

*equação 1*

Para esses ensaios, 100 mg de cada sílica contendo o ibuprofeno imobilizado foram prensadas na forma de pastilhas em um pastilhador usando 80 kN de força por 10 minutos, exceto para a amostra MCM-41:GP-IBU, onde foi utilizado 90 kN de força por 1 hora, devido a maior dificuldade de se formar pastilhas desse material. As pastilhas preparadas foram colocadas em um sistema adaptado para os ensaios de liberação conforme mostrado na Figura 9. Em um béquer foi adaptada uma tampa plástica contendo uma série de furos, sobre a qual foi colocada a pastilha da amostra a ter seu perfil de liberação de ibuprofeno estudado. Na parte inferior da tampa foi colocada uma barra magnética e dessa forma a tampa isola a barra de agitação magnética do contato com a pastilha, evitando, assim, seu esfacelamento. No béquer, além da pastilha, foram colocados 10 mL da respectiva solução utilizada como meio de liberação do ibuprofeno e a temperatura foi mantida a 37°C utilizando uma chapa de aquecimento e agitação com termostato. A exceção foi os ensaios realizados com a solução tampão de pH 6,6, que devido a menor solubilidade do ibuprofeno em meio ácido, o volume utilizado foi de 20 mL. Em determinados intervalos de tempo toda a solução era removida e a absorbância da mesma em 263 nm era medida e uma nova alíquota de 10 mL da solução pura era adicionada ao sistema.



Figura 9: Imagens do sistema elaborado para os ensaios de liberação do ibuprofeno imobilizado nas matrizes de sílica mesoporosa.

A quantidade de ibuprofeno liberado na solução foi determinada a partir da absorvância medida utilizando a lei de Beer (Equação 2).

$$A = \varepsilon \cdot d \cdot C$$

*equação 2*

Onde A é a absorvância medida da solução em 263 nm, d é o caminho ótico da cubeta (1 cm) e C a concentração de ibuprofeno a ser determinada. O valor de  $\varepsilon$  (coeficiente de absorvância molar) de 335,7 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> foi determinado por uma curva de calibração montada a partir de concentrações conhecidas de ibuprofeno em pH 7, cuja equação da reta ajustada foi  $A = 335,7 \cdot C + 0,008$ , com  $R^2=0,99$ .

#### 4.4 - Descrição dos equipamentos utilizados na caracterização

Os difratogramas de raios X foram registrados de amostras na forma de pó em um difratômetro Rigaku modelo Miniflex usando a radiação K<sub>α</sub> do Cu pertencente ao laboratório de sólidos lamelares do IQ-USP. Os espectros vibracionais no infravermelho foram registrados no modo transmitância em um equipamento Shimadzu modelo IRPrestige-21 utilizando as amostras sólidas dispersas em KBr e prensadas no formato de pastilhas. O equipamento é pertencente ao LMH-UNIFESP. As análises termogravimétricas foram realizadas em um equipamento Shimadzu modelo DTG-60 utilizando uma taxa de aquecimento de 10°C / min e atmosfera de ar sintético com um fluxo de 50 mL/min. O equipamento é pertencente ao Centro de Instrumentação para Pesquisa e Ensino (CIPE) da Universidade Federal de São Paulo. As isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio foram registradas usando o instrumento Micromeritics ASAP 2020 pertencente ao laboratório de sólidos lamelares do IQ-USP. Antes das medidas todas as amostras foram degaseificadas sob vácuo durante 12 h a 50°C. Os espectros Raman foram registrados em um equipamento Raman Renishaw InVia acoplado com microscópio ótico Leica, utilizando laser de He-Ne (comprimento de 633 nm), pertencente à CIPE da Universidade Federal de São Paulo. As análises elementares (C, H, N) foram realizadas em um equipamento Perkin Elmer CHN 2400 da central analítica do IQ-USP. O monitoramento espectrofotométrico de liberação do ibuprofeno foi feito com o auxílio de um espectrofotômetro UV-Vis OceanOptics USB4000, operado por fibra-ótica pertencente ao LMH-UNIFESP. A calcinação foi feita em um forno tubular EDG modelo FT-HI IOP localizado no LMH-UNIFESP.

## 5 - Resultados e Discussões

### 5.1 - Preparação das sílicas para imobilização do ibuprofeno

#### 5.1.1 - Síntese da MCM-41<sub>mesof</sub> e MCM-41

A organização estrutural da MCM-41<sub>mesof</sub> e MCM-41 produzidas foi analisada por difratometria de raios X como mostrado na Figura 11. Nos difratogramas é possível observar a presença dos picos de difração atribuídos aos planos (100), (110), (200) e (210). O aparecimento dessa sequência de picos indica a formação de poros ordenados e paralelos em um arranjo bidimensional hexagonal atribuído ao grupo espacial P6mm<sup>53</sup>. Após a calcinação o material manteve o ordenamento estrutural hexagonal ordenado observado na mesofase. As distâncias interplanares foram determinadas utilizando a lei de Bragg (equação 3):

$$\lambda = 2 \cdot d \cdot \text{sen}\theta$$

*equação 3*

onde  $\lambda$  é o comprimento de onda da radiação incidente, neste caso 1,54 Å,  $\theta$  é o ângulo no qual o pico de difração é observado no difratograma e  $d$  é a distância entre os planos.

Os valores calculados de  $d_{(100)}$ , que correspondem ao distanciamento entre os planos (100), foram de 38,6 Å para a MCM-41<sub>mesof</sub> e de 34,7 Å para MCM-41 e estão em acordo com o esperado para os materiais produzidos utilizando o CTA<sup>+</sup> como molde<sup>53</sup>.

Também foi calculado o parâmetro de rede  $a_0$ , através da equação 4 que relaciona o espaçamento interplanar  $d$  de um dado plano com os parâmetros de rede para o sistema cristalino hexagonal. O valor de  $a_0$  equivale a soma da espessura da parede da sílica com o diâmetro do poro, como mostrado na Figura 10.

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

*equação 4*

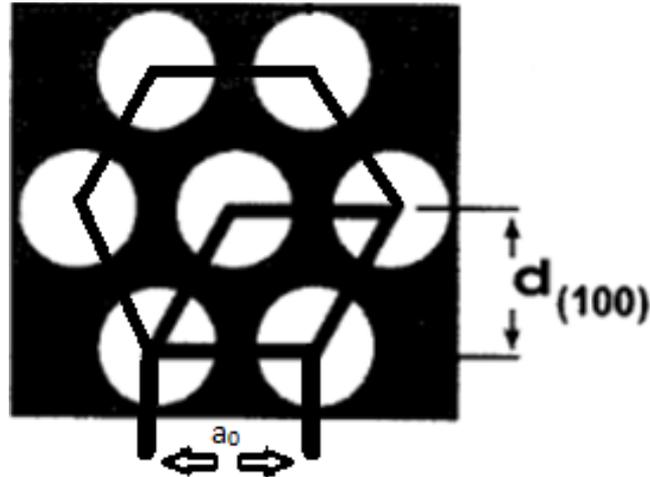


Figura 10: Representação do arranjo bidimensional de poros da MCM-41 com destaque às dimensões que caracterizam a distância  $d_{(100)}$  e o parâmetro  $a_0$ . (figura adaptada da referência <sup>54</sup>)

Para a MCM-41<sub>mesof</sub> o valor do parâmetro  $a_0$  calculado foi de 44,6 Å e para a MCM-41 de 40,1 Å. Estes valores são característicos para mesoestruturas produzidas com o direcionador estrutural CTAB com cadeia alquílica de 16 átomos de carbonos<sup>55</sup>. Na MCM-41 é observado uma contração das dimensões da célula unitária devido à calcinação, em razão da reação de condensação de grupos silanóis estruturais. Ainda é possível notar que a intensidade dos picos é maior na MCM-41 em relação a MCM-41<sub>mesof</sub>. Isto ocorre porque nessas mesoestruturas os picos difração são resultados da variação do contraste eletrônico que formam um padrão de repetição periódico entre as paredes amorfas da sílica e os poros vazios. No caso da mesofase, como os poros estão preenchidos pelo surfactante, ocorre uma diminuição da diferença de densidade eletrônica, diminuindo, assim, a intensidade dos picos de difração.

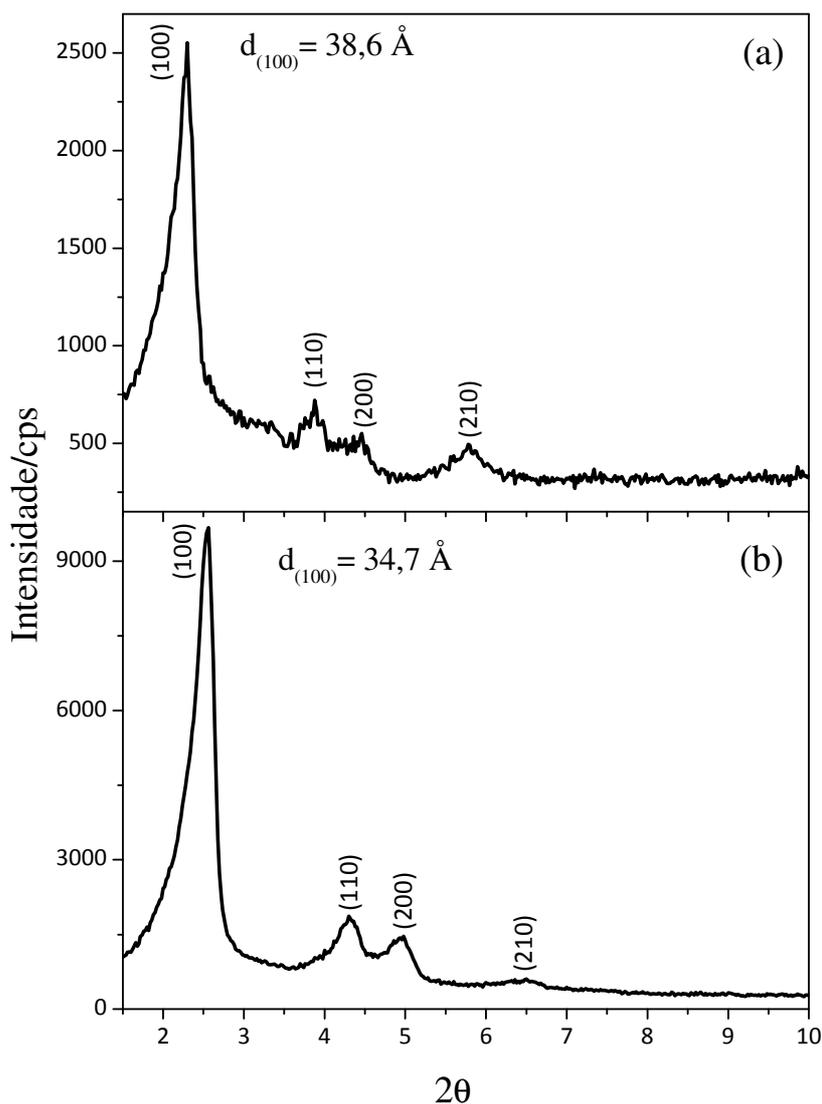


Figura 11: Difratoogramas de raios X da (a) MCM-41<sub>mesof</sub> e (b) MCM-41.

Os espectros de FTIR mostram a presença de bandas características das fases sintetizadas<sup>53</sup>. O espectro de FTIR referente a MCM-41<sub>mesof</sub> mostrado na Figura 12a é observada a presença de uma banda larga centrada em  $3226 \text{ cm}^{-1}$  que é referente ao estiramento das ligações O—H da estrutura inorgânica e de moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  adsorvidas<sup>53</sup>. Em  $2920 \text{ cm}^{-1}$  é observada a banda referente à deformação axial assimétrica e em  $2852 \text{ cm}^{-1}$  à deformação axial simétrica da ligação C—H da cadeia carbônica do molde orgânico<sup>56</sup>. Em  $1660 \text{ cm}^{-1}$  é observada a banda correspondente à de flexão fora do plano da ligação O—H<sup>56</sup>. Em  $1477 \text{ cm}^{-1}$  aparece a banda referente à deformação angular C—H dos grupamentos

hidrocarbonetos do molde orgânico<sup>56</sup>. A banda em  $1080\text{ cm}^{-1}$  com um ombro em  $1220\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento Si–O–Si, em  $950\text{ cm}^{-1}$  ao estiramento Si–OH, em  $800\text{ cm}^{-1}$  à flexão Si–O–Si e em  $455\text{ cm}^{-1}$  à deformação angular<sup>53</sup>. O pequeno ombro observado ao redor de  $900\text{ cm}^{-1}$  é uma vibração característica da flexão de cadeias alquílicas longas.

Após a calcinação, no espectro FTIR da MCM-41 (Figura 12b) as bandas referentes ao molde orgânico desaparecem restando apenas bandas do esqueleto inorgânico. A banda em  $3750\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento das ligações SiO–H dos grupos silanóis terminais superficiais e as demais bandas são as mesmas já discutidas no espectro FTIR da MCM-41<sub>mesof</sub>, exceto as referentes aos grupos orgânicos que foram removidos durante o processo de calcinação.

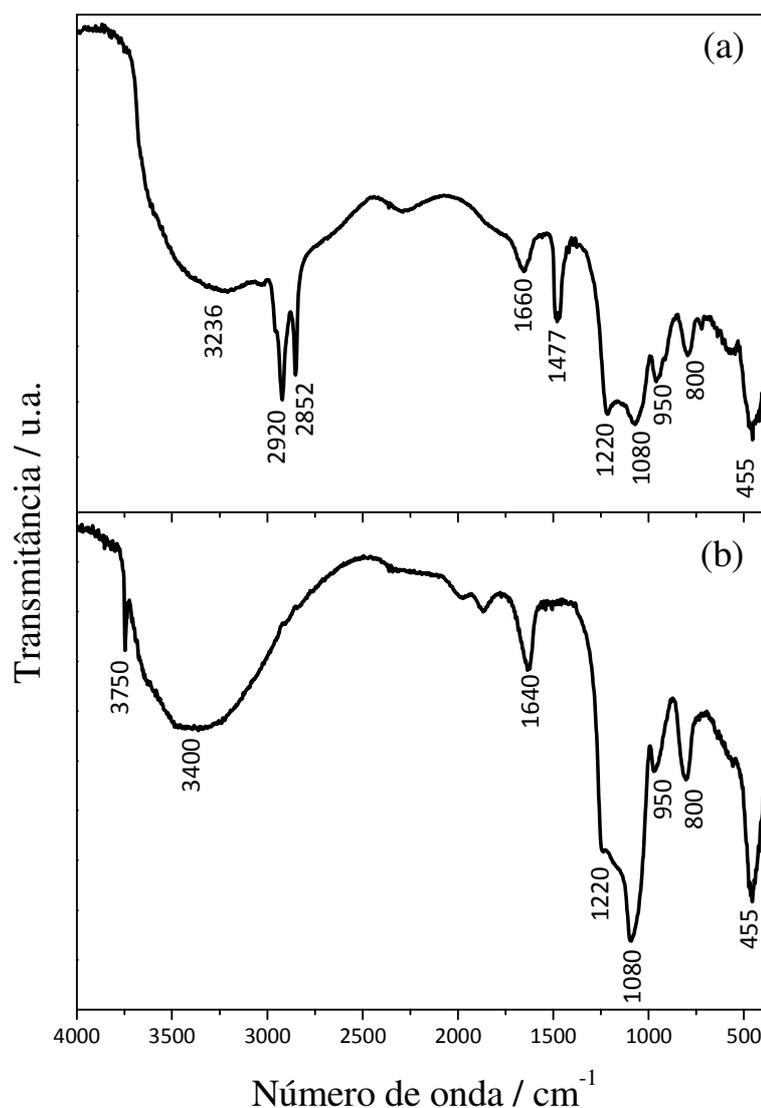


Figura 12: Espectros vibracionais no infravermelho da (a) MCM-41<sub>mesof</sub> e (b) MCM-41.

A composição química e a estabilidade térmica da MCM-41<sub>mesof</sub> e MCM-41 foram avaliadas por ATG. Na curva da MCM-41<sub>mesof</sub> (Figura 13a) é possível observar a ocorrência de dois eventos de perda de massa. O primeiro evento é referente a perda de moléculas de água adsorvida no material e ocorre a partir da temperatura ambiente e se estende até 170°C com uma perda de 52 % da massa inicial. O segundo evento ocorre entre 170 e 900°C e é referente à degradação térmica do surfactante presente nos poros. Essa perda representa em torno de 22% da massa total da amostra. O resíduo de SiO<sub>2</sub> equivale a 26% da massa inicial. Desconsiderando a água adsorvida no material a quantidade de matéria orgânica no material equivale a 45,8% o que resulta em uma composição química equivalente a (C<sub>19</sub>H<sub>49</sub>N)<sub>x</sub>SiO<sub>2</sub> para a MCM-41<sub>mesof</sub>. Já na curva TG da MCM-41 (Figura 13b) ainda são identificados os 2 eventos principais de perda de massa, entretanto o segundo evento apresenta uma perda substancialmente menor do que no caso da mesofase, sendo atribuído à condensação dos grupos silanóis superficiais regenerados pela umidade atmosférica após o processo de calcinação. Os 7,7 % de perda observados nesse evento correspondem a cerca de 9,9 mmol de grupos silanóis por g de MCM-41.

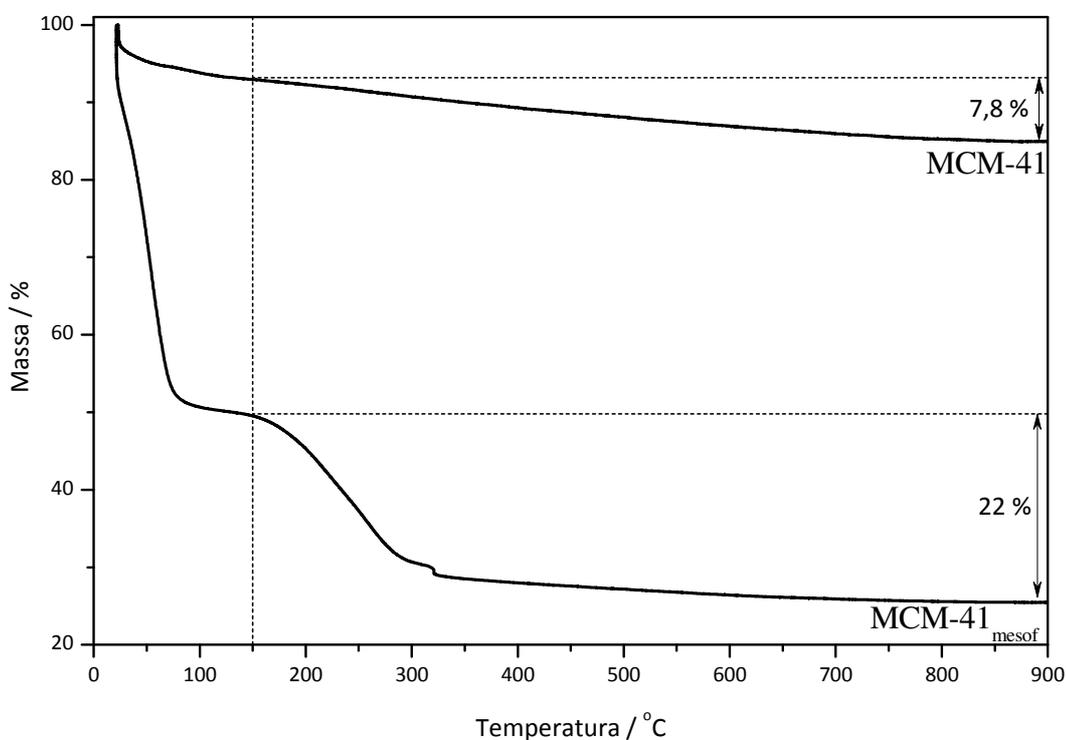


Figura 13: Curvas termogravimétricas da MCM-41<sub>mesof</sub> e da MCM-41.

Nas imagens de microscopia eletrônica de varredura (Figura 14a) e de transmissão (Figura 14b) é possível observar o hábito hexagonal das partículas da MCM-41 com um perfil alongado e dimensões aproximadas de 200 x 370 nm. Já a imagem de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (Figura 14c) mostra o arranjo ordenado de poros do material, cujo diâmetro médio medido é de aproximadamente 30 Å e a espessura da parede de aproximadamente 11 Å.

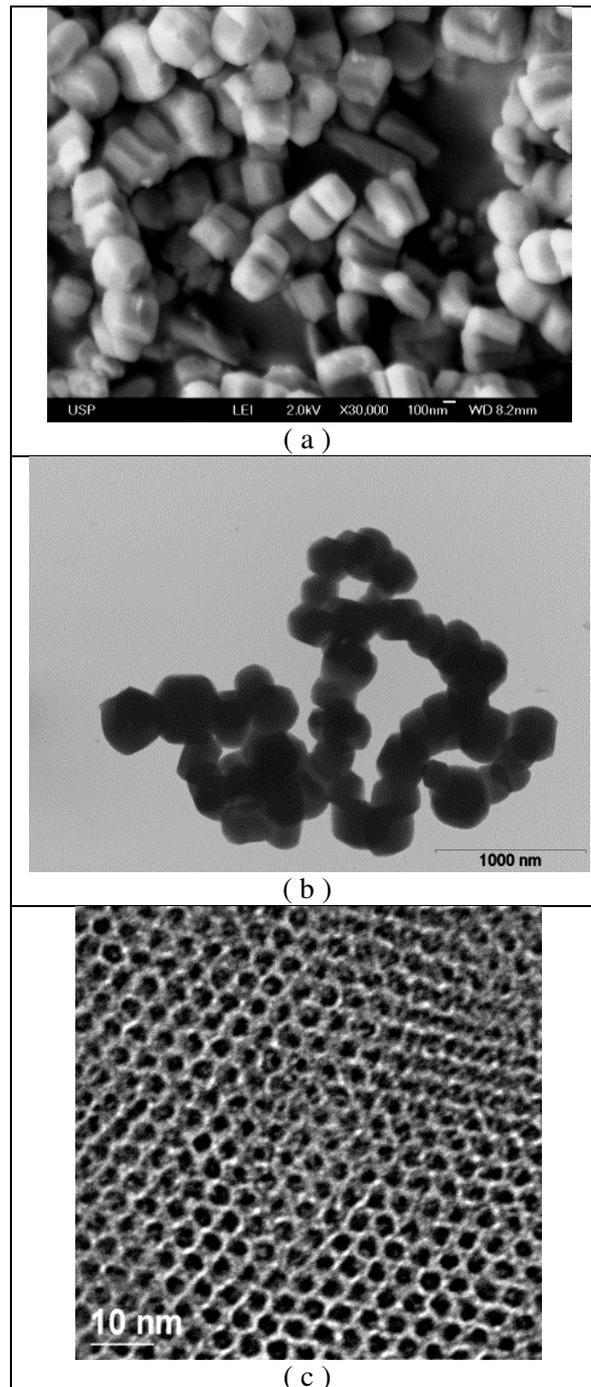


Figura 14: Imagens da MCM-41 registradas por microscopia eletrônica de varredura (a), microscopia eletrônica de transmissão convencional (b) e de alta resolução (c).

A curva isoterma de fisissorção de  $N_2$  da MCM-41 mostrada na Figura 15 apresenta um perfil tipo IV, característico de materiais mesoporosos<sup>35</sup>. A histerese de fisissorção é totalmente reversível, o que ocorre é uma característica dos poros cilíndricos da MCM-41<sup>36</sup>. A área superficial calculada pelo método Brunauer-Emmet-Teller (BET) foi de  $925,61 \text{ m}^2$ , o volume de poros calculado pelo método Barret-Joyner-Halenda (BJH) foi de  $0,58 \text{ cm}^3/\text{g}$  e o diâmetro de  $28 \text{ \AA}$ . Subtraindo o diâmetro de poro obtido nesta análise do parâmetro de rede obtido no DRX foi possível estimar o valor da espessura de parede dos poros do material em  $1,2 \text{ nm}$ , este valor está dentro do esperado para a MCM-41 com poros em estrutura hexagonal<sup>57</sup>.

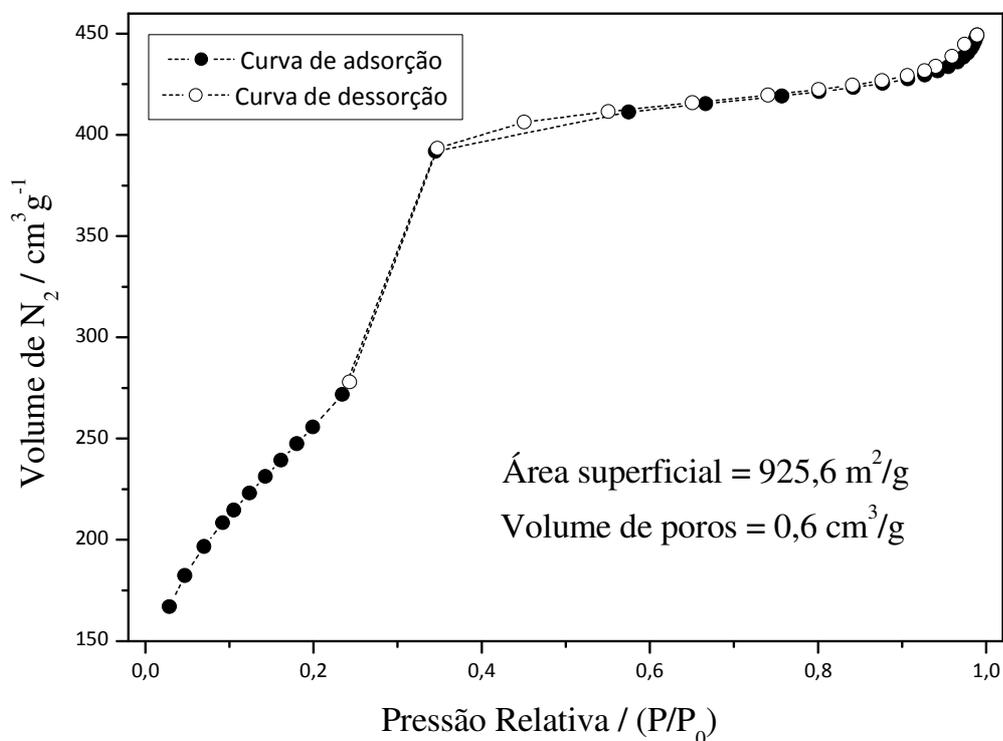


Figura 15: Curvas isotermas de fisissorção de  $N_2$  da MCM-41.

### 5.1.2 - Síntese da $C_{16}$ -MCM-41 por co-condensação com hexadeciltrimetoxissilano

Esta é a primeira vez que a síntese dessa sílica é descrita. O difratograma de raios X registrado do material  $C_{16}$ -MCM-41 apresenta os picos característicos da fase hexagonal da MCM-41<sub>mesof</sub>, tanto antes da remoção do  $CTA^+$  (Figura 16a) quanto após (Figura 16b). O padrão de difração, bem como a intensidade dos picos indica que a mesoestrutura foi preservada. O valor calculado para  $d_{(100)}$  de  $38,4 \text{ \AA}$  e

de  $a_0$  de 44,3 Å antes da remoção do molde e de 37 Å ( $d_{(100)}$ ) e 42,7 Å ( $a$ ) após a remoção também são semelhantes ao da MCM-41<sub>mesof</sub>, porém nota-se que após o processo de extração houve uma diminuição no valor destes parâmetros.

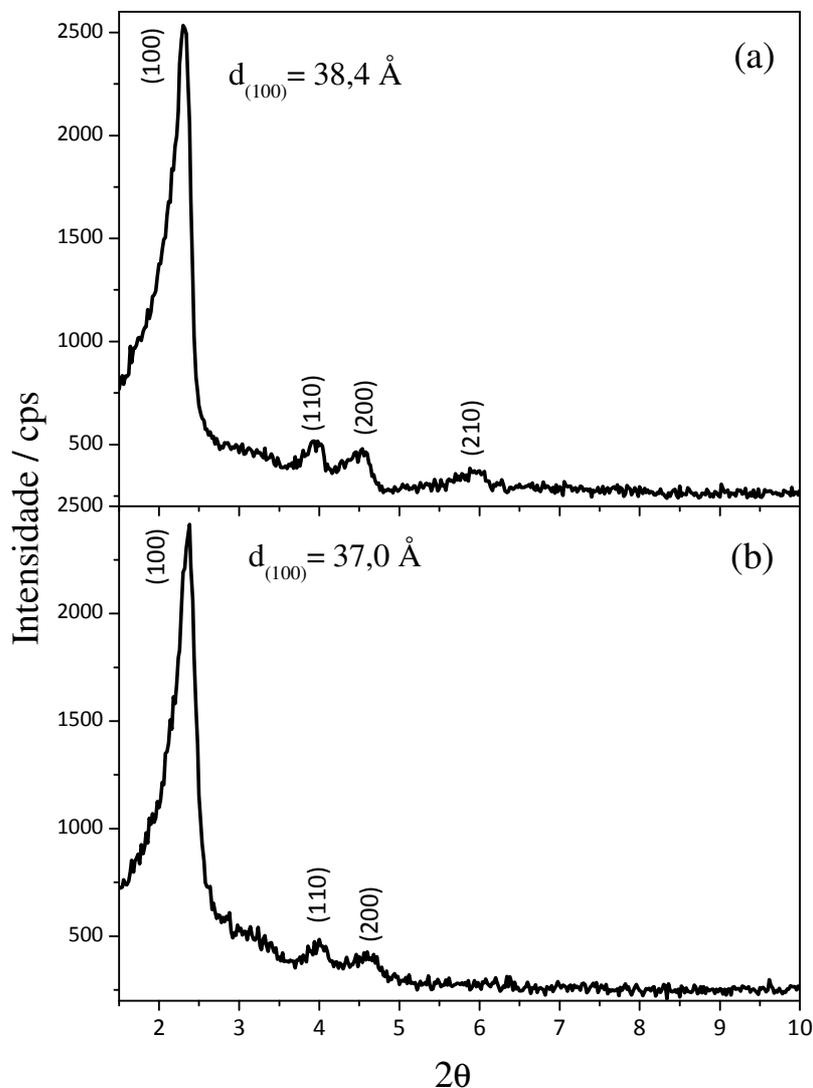


Figura 16: Difratomogramas de raios x da C<sub>16</sub>MCM-41 (a) antes da remoção do CTA<sup>+</sup> e (b) após a remoção do CTA<sup>+</sup> com solução de etanol e HCl.

O espectro de FTIR registrado do C<sub>16</sub>-MCM-41 (após remoção do molde) mostrado na Figura 17 apresenta as mesmas bandas observadas no espectro da MCM-41<sub>mesof</sub> (Figura 12a), valendo neste caso a mesma atribuição feita anteriormente. O espectro registrado confirma que a cadeia com 16 átomos de carbono do (C<sub>16</sub>TES) permanece presente no material.

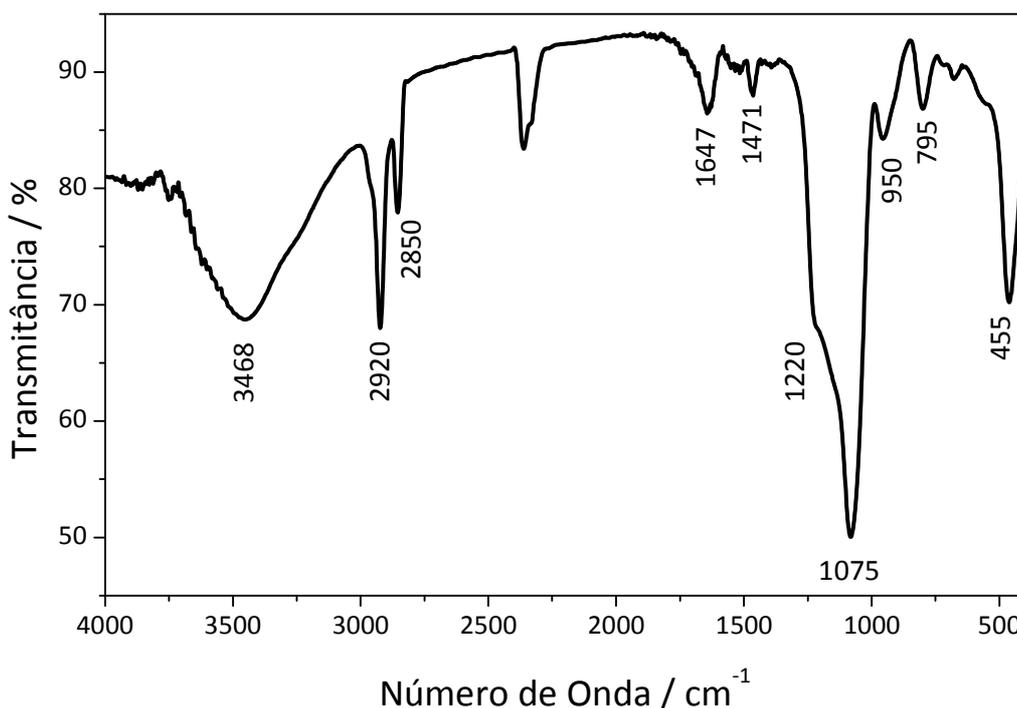


Figura 17: Espectro vibracional no infravermelho da  $C_{16}$ -MCM-41 após a extração do  $CTA^+$  com uma mistura de etanol e HCl.

O padrão de decomposição térmica observado nesse material (Figura 18) é semelhante ao da  $MCM-41_{mesof}$  (Figura 13) discutido anteriormente envolvendo 2 eventos principais. Entretanto, a decomposição completa da matéria orgânica (evento que ocorre acima de  $150^{\circ}C$ ) é observada ao redor de  $600^{\circ}C$ , enquanto que na  $MCM-41_{mesof}$  essa temperatura é por volta dos  $450^{\circ}C$ . O conteúdo de matéria orgânica no  $C_{16}$ -MCM-41 antes de remover o  $CTA^+$ , também é maior do que observado na  $MCM-41_{mesof}$ . Isso ocorre porque embora as cadeias carbônicas sejam semelhantes no comprimento a composição química delas é diferente. Após a remoção do  $CTA^+$  do material é possível observar (Figura 18) que a quantidade de matéria orgânica cai pela metade, o que indica que todo o surfactante foi removido do material. Outro aspecto que chama a atenção é que o perfil da curva de perda de massa do material após a remoção do surfactante muda em relação a do material antes de remover o  $CTA^+$  (Figura 18) e, também, em relação a  $MCM-41_{mesof}$  (Figura 13), fato que reforça a hipótese de que o  $CTA^+$  foi completamente removido e que a cadeia carbônica remanescente está covalentemente ligada ao esqueleto inorgânico da

sílica. Considerando a perda de massa de 27% após o processo de extração do surfactante a fórmula química calculada para o C<sub>16</sub>-MCM-41 é (C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)<sub>x</sub>SiO<sub>2</sub>.

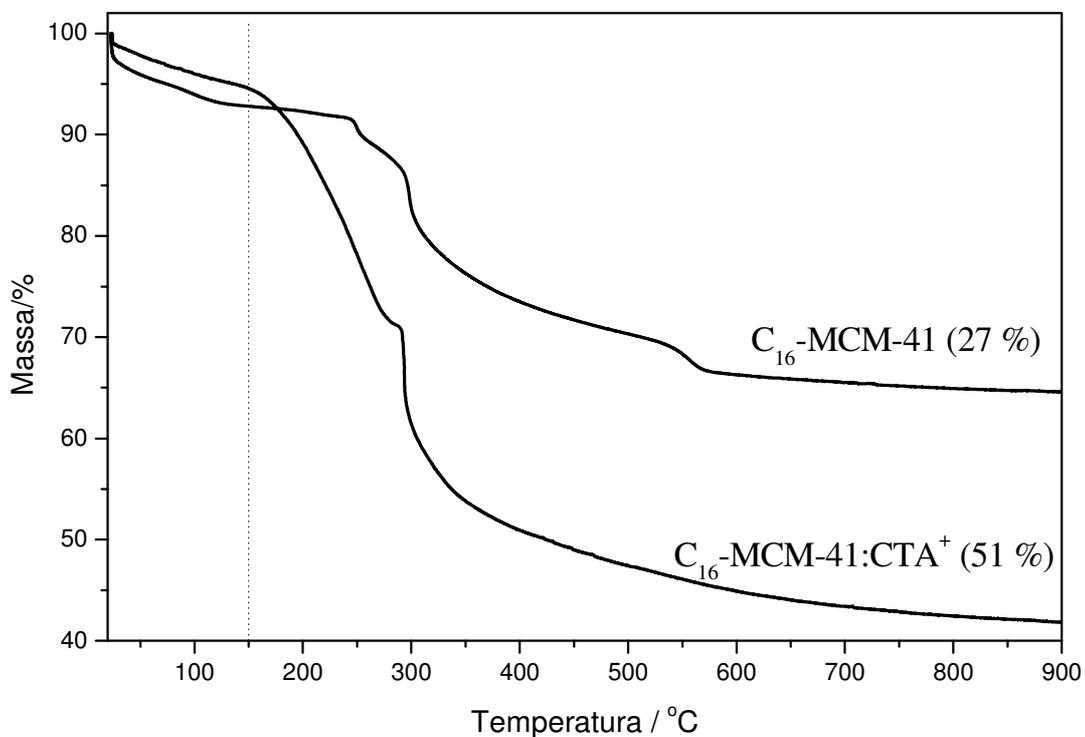


Figura 18: Curvas termogravimétricas da C<sub>16</sub>-MCM-41 antes da remoção do CTA<sup>+</sup> e após a remoção com etanol e HCl.

Os resultados da análise elementar (C H N) mostrados Tabela 2 estão em conformidade com os resultados da ATG e novamente evidenciam que todo o CTA<sup>+</sup> foi removido, pois a quantidade de N de 0,15 % indicada pela análise é insignificante, e este valor observado deve ser resultante da contaminação com N<sub>2</sub> atmosférico.

Tabela 2: Quantidades de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidos pela análise elementar da C<sub>16</sub>-MCM-41, antes e após a remoção do CTA<sup>+</sup>, comparadas com a composição química calculada pela termogravimetria.

Composto	Técnica	% C	% H	% N
C <sub>16</sub> -MCM-41:CTA <sup>+</sup>	Calculado (ATG)	36,0	6,3	0,8
	Experimental	37,3	7,5	1,3
C <sub>16</sub> -MCM-41	Calculado (ATG)	27,2	4,2	0,0
	Experimental	19,8	4,5	0,15

### 5.1.3 - Carregamento do ibuprofeno na MCM-41<sub>mesof</sub>, C<sub>16</sub>-MCM-41 e MCM-41.

O ibuprofeno foi imobilizado nas sílicas MCM-41<sub>mesof</sub>, C<sub>16</sub>-MCM-41 e MCM-41 por adsorção. A manutenção do ordenamento estrutural após o processo de adsorção foi avaliada por DRX como mostrado na Figura 19. Os resultados indicam que não houve perda significativa do ordenamento estrutural tendo em vista que o pico atribuído ao plano (100) continua sendo observado em todas as sílicas após a imobilização do ibuprofeno. A maior alteração foi observada no difratograma do C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU onde foi observado o desaparecimento dos picos referentes aos planos (110), (200) e (210), o que demonstra uma maior diminuição do contraste eletrônico nesse material após a adsorção do ibuprofeno. Uma possível explicação para esse fato está no empacotamento diferente das cadeias carbônicas presentes nos poros deste material em razão delas estarem covalentemente ligadas ao esqueleto inorgânico. No caso da MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU, moléculas do CTA<sup>+</sup> podem ser removidas para dar lugar a moléculas do fármaco. Os valores de  $d_{100}$  e de  $a_0$  após a imobilização do ibuprofeno na MCM-41 passaram para, respectivamente, 33,2 e 38,3 Å, para a mesofase 37,4 Å e 43,2 Å e para a C<sub>16</sub>-MCM-41 35,9 Å e 41,5 Å.

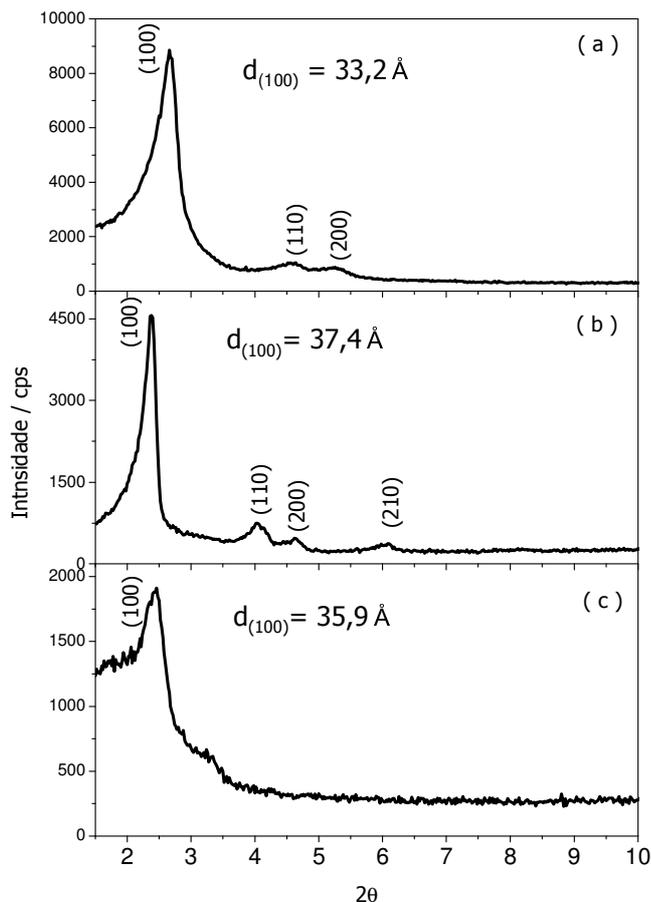


Figura 19: Difratomogramas de raios X da (a) MCM-41:IBU, da (b) MCM-41<sub>mesof.</sub>:IBU e da (c) C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU.

Para confirmar que o ibuprofeno foi imobilizado nas sílicas, os materiais foram analisados por FTIR como mostrado na Figura 20. Além das bandas cujas atribuições já foram discutidas anteriormente surgem nestes espectros novas bandas referentes à molécula do ibuprofeno mostrada na Figura 7. A seguir serão discutidas as bandas que apareceram nos espectros das três amostras. A banda em torno de 1460 cm<sup>-1</sup> atribuída à deformação axial das ligações entre carbonos no anel aromático. A banda em 1390 cm<sup>-1</sup> referente à deformação angular da ligação C—O—H do grupo ácido carboxílico do fármaco.

Na MCM-41:IBU (Figura 20a) ainda aparece uma banda em 1515 cm<sup>-1</sup> que é referente ao estiramento das ligações C=C do anel aromático, outro efeito do acoplamento do ibuprofeno no espectro da MCM-41 é o surgimento das bandas em 2952 cm<sup>-1</sup> e 2960 cm<sup>-1</sup> referentes, respectivamente, ao estiramento assimétrico e simétrico da metila.

A banda em  $1555\text{ cm}^{-1}$ , que aparece nos espectros da  $\text{MCM-41}_{\text{mesof}}:\text{IBU}$  (Figura 20b) e da  $\text{C}_{16}\text{-MCM-41}:\text{IBU}$  (Figura 20c), é referente ao estiramento assimétrico das ligações  $\text{O}-\text{C}-\text{O}^-$  dos ânions carboxilatos que estão presentes no ibuprofeno quando desprotonado, a indicação da presença desses grupos no ibuprofeno imobilizado mostra que pode estar havendo uma interação eletrostática no interior dos poros da sílica e que a saída no fármaco seria facilitada em uma solução com maior quantidade de íons positivos.

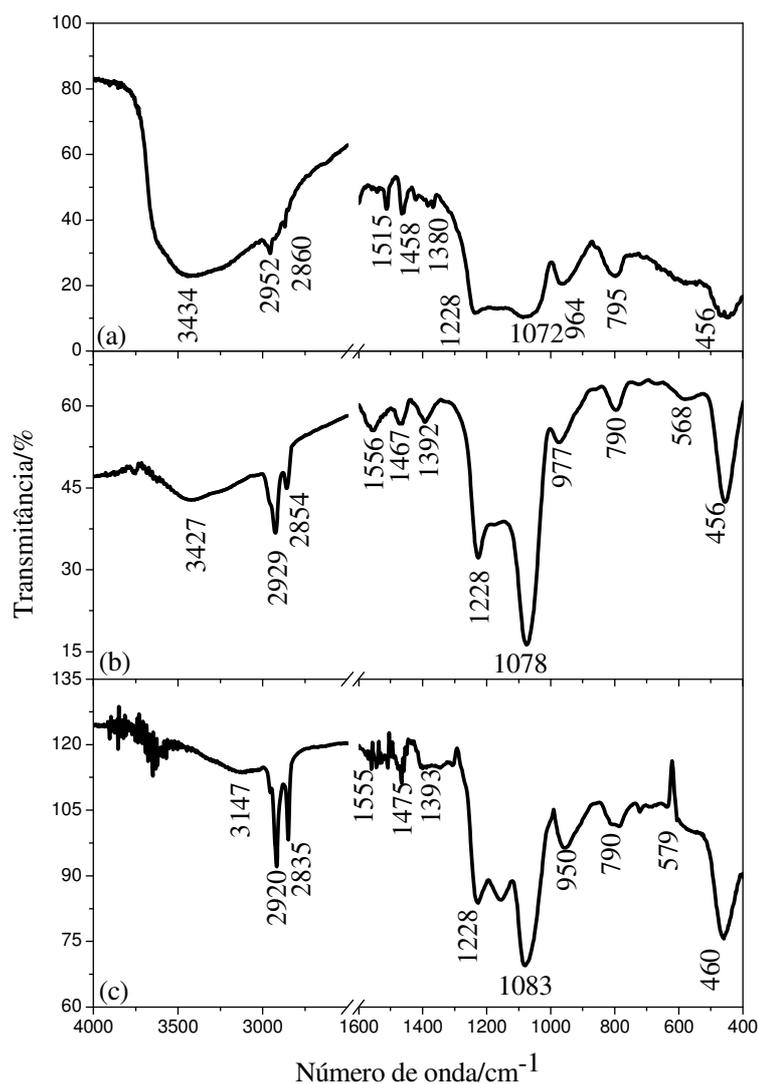


Figura 20: Espectros vibracionais no infravermelho da (a)  $\text{MCM-41}:\text{IBU}$ , da (b)  $\text{MCM-41}_{\text{mesof}}:\text{IBU}$  e da (c)  $\text{C}_{16}\text{MCM-41}:\text{IBU}$ .

A quantidade de ibuprofeno imobilizado na MCM-41:IBU e na C<sub>16</sub>-MCM-41 foi estimada por ATG. O primeiro evento de perda de massa para as duas amostras se deve a perda de água adsorvida na sílica e ocorre até a temperatura de 150°C. O segundo evento gerou uma perda de massa de 31,4% para a MCM-41:IBU e é referente à decomposição térmica do ibuprofeno adsorvido e à perda de água produto da condensação dos grupos silanóis, descontando a massa perdida por causa da condensação foi possível chegar numa fórmula mínima de (C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>)<sub>0,1</sub>SiO<sub>2</sub>.

Como as cadeias orgânicas estão covalentemente ligadas ao esqueleto inorgânico na C<sub>16</sub>-MCM-41, ela não será liberada no meio durante o processo de adsorção do ibuprofeno. Em razão disso, a adsorção do fármaco resultará em um aumento de massa do material. Esta análise não foi feita para a MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU, pois, como discutido anteriormente, pode ocorrer a liberação de CTA<sup>+</sup> no meio durante o processo de imobilização do ibuprofeno. A curva TG registrada para o C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU é mostrada na Figura 21. O primeiro evento com 4 % de perda de massa, como discutido anteriormente, se deve principalmente à liberação de moléculas água adsorvida na amostra. O segundo evento com 46,9 % de perda de massa se referente à decomposição térmica da matéria orgânica presente no material além da condensação dos grupos silanóis. Em relação ao material antes da adsorção do fármaco (C<sub>16</sub>-MCM-41), houve um incremento de 19,9 % na massa de matéria orgânica. Esse aumento se deve ao ibuprofeno incorporado ao material, o que permite estimar a composição química do material com (C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>)<sub>0,1</sub>(C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)<sub>0,14</sub>SiO<sub>2</sub>.

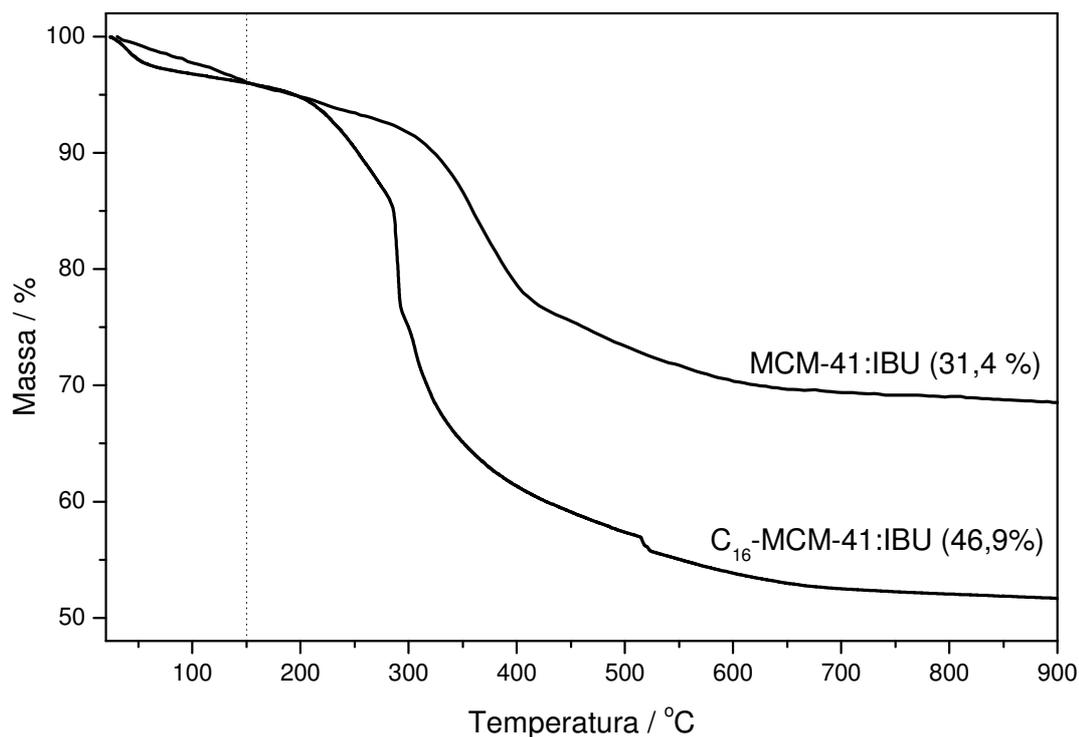


Figura 21: Curva termogravimétricas da MCM-41:IBU e da C<sub>16</sub>-MCM-41-IBU.

#### 5.1.4 - Imobilização do ibuprofeno por ligação amida

A imobilização do ibuprofeno por ligação amida, conforme descrito na parte experimental, foi feita em 2 etapas. Primeiro a MCM-41 foi pós-funcionalizada com APTES. Este processo não causou a desestruturação da mesoestrutura conforme mostra o DRX da MCM-41:NH<sub>2</sub> mostrada na Figura 22. A menor intensidade do pico de difração (100) e o desaparecimento dos picos atribuídos como (110) e (200) ocorrem devido a alteração do contraste eletrônico causado pelos grupos funcionais no interior dos poros, conforme já discutido anteriormente. O valor de  $a_0$  para este material foi de 39,02 Å.

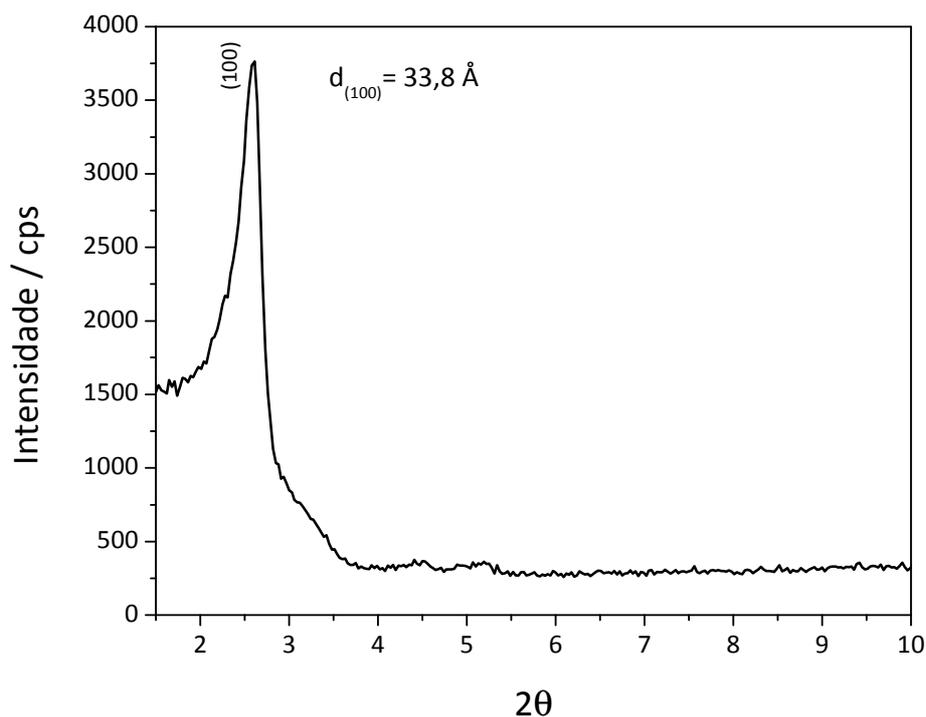
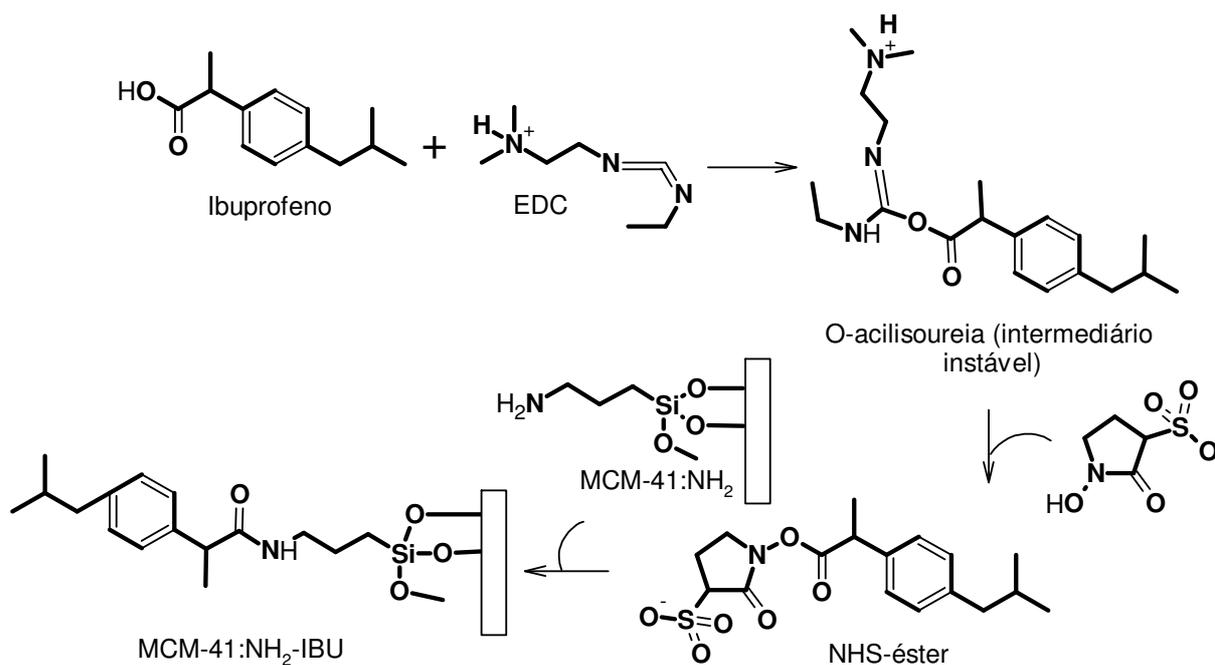


Figura 22: Difratograma de raios X da MCM-41:NH<sub>2</sub>.

O posterior acoplamento do ibuprofeno ocorreu pela reação do grupo ácido carboxílico do ibuprofeno com o grupo amina da MCM-41:NH<sub>2</sub>. Esta reação foi realizada utilizando como agentes de acoplamento o EDC/NHS. O EDC reage com o ácido carboxílico formando um intermediário O-acilisourea, porém, por este intermediário ser instável quimicamente, é utilizado o NHS, que é acoplado formando um éster de NHS, um intermediário mais quimicamente estável, que permite que a reação com a amina primária ocorra. As etapas envolvidas com esta reação é mostrada no

Esquema 1.

A reação de acoplamento foi realizada em duas temperaturas 37°C e 80°C e os espectros de FTIR registrados da MCM-41:NH<sub>2</sub> e após a reação (MCM-41:NH<sub>2</sub>-IBU<sub>37</sub> e MCM-41:NH<sub>2</sub>-IBU<sub>80</sub>) são mostrados na Figura 23. O ponto principal para atestar a efetividade do processo de acoplamento é o aparecimento das bandas referentes à ligação amida conforme mostra o Esquema 1.



Esquema 1: Etapas envolvidas na formação da ligação amida entre o ibuprofeno e a amina primária contida na MCM-41:NH<sub>2</sub> através dos agentes de acoplamento EDC/NHS.

Todos os espectros registrados apresentam em comum as bandas referentes ao esqueleto inorgânico de sílica já discutidas anteriormente. A funcionalização da sílica com o grupo propilamino pôde ser confirmada através do FTIR (Figura 23a), pelo alargamento da banda com máximo em redor de 3160 cm<sup>-1</sup> devido à combinação dos estiramentos O—H da sílica e N—H. Observa-se também o aparecimento de uma banda em 1510 cm<sup>-1</sup> referente ao estiramento simétrico dos grupos —CH<sub>2</sub> presentes no grupo propilamino<sup>56</sup> e o desaparecimento da banda referente aos grupos silanóis superficiais que estavam presentes na MCM-41 em 3750 cm<sup>-1</sup>. A posterior formação da ligação amida foi confirmada no espectro registrado da MCM-41:NH<sub>2</sub>-IBU<sub>37</sub> (Figura 23b), devido ao aparecimento de novas bandas na região entre 1750 e 1550 cm<sup>-1</sup>. Nesta região se encontram as bandas chamadas de I e II da ligação amida. A banda I é referente ao estiramento da ligação C=O e aparece no espectro da MCM-41:NH<sub>2</sub>-IBU<sub>37</sub> ao redor de 1647 cm<sup>-1</sup>. A banda II é atribuída à flexão das ligações N—H e aparece com menor intensidade em 1526 cm<sup>-1</sup>. Uma ampliação dessa região para uma melhor visualização dessas bandas é mostrada na Figura 24. Há também o aparecimento de uma banda em 1425 cm<sup>-1</sup>, característica de estiramento C—N de amidas<sup>37</sup>. O espectro da MCM-41:NH<sub>2</sub>:IBU<sub>80</sub> mostrado na Figura 23c é semelhante ao da MCM-41:NH<sub>2</sub> (Figura 23a),

indicando que a reação com o ibuprofeno não ocorreu. Além disso, ao se comparar a banda das três amostras que aparecem na região entre  $3160$  e  $3380\text{ cm}^{-1}$ , nota-se que para a MCM-41:NH<sub>2</sub> (Figura 23a) e a MCM-41:NH<sub>2</sub>-IBU<sub>80</sub> (Figura 23c) há um alargamento maior, como discutido anteriormente esta deformação costuma ocorrer quando existem grupos NH<sub>2</sub> na sílica, no espectro da MCM-41:NH<sub>2</sub>-IBU<sub>37</sub> esta banda aparece mais estreita, compatível com os espectros da sílica na ausência de grupos NH<sub>2</sub>, isto indica que estes grupos foram consumidos ao reagir com o grupo ácido carboxílico do ibuprofeno, formando então a ligação amida. Na reação realizada à  $80^{\circ}\text{C}$  é possível que tenha ocorrido degradação dos agentes de acoplamento EDC/NHS, impedindo que houvesse a reação entre a amina e o ácido carboxílico, outro indício de que isto ocorreu foi o odor de enxofre e coloração amarelada da reação. Por essa razão apenas o material preparado a  $37^{\circ}\text{C}$  foi considerado nos ensaios posteriores.

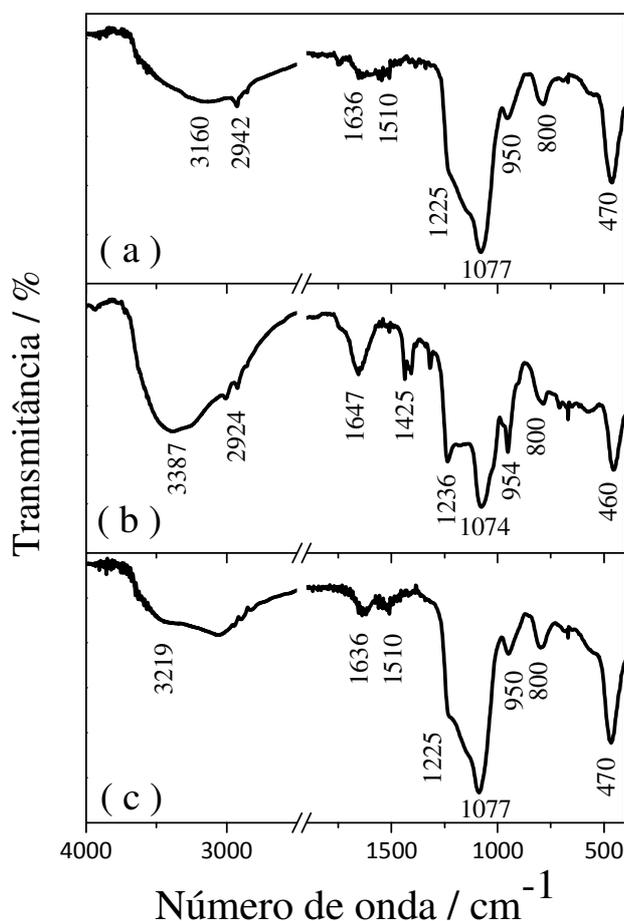


Figura 23: Espectros vibracionais no infravermelho da (a) MCM-41:NH<sub>2</sub>, (b) MCM-41:NH<sub>2</sub>:IBU<sub>37</sub> e da (c) MCM-41:NH<sub>2</sub>:IBU<sub>80</sub>.

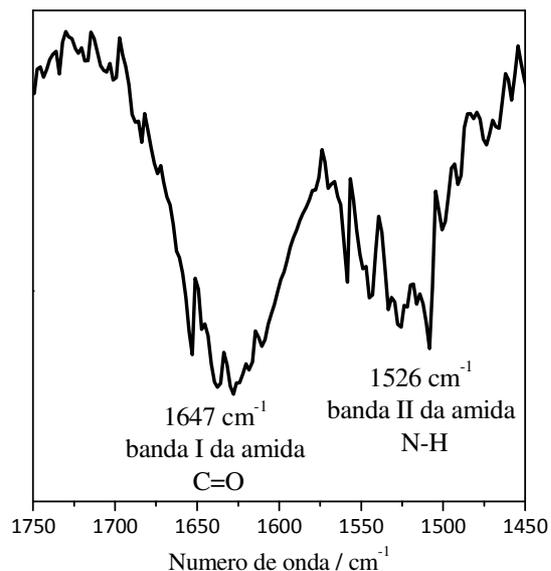
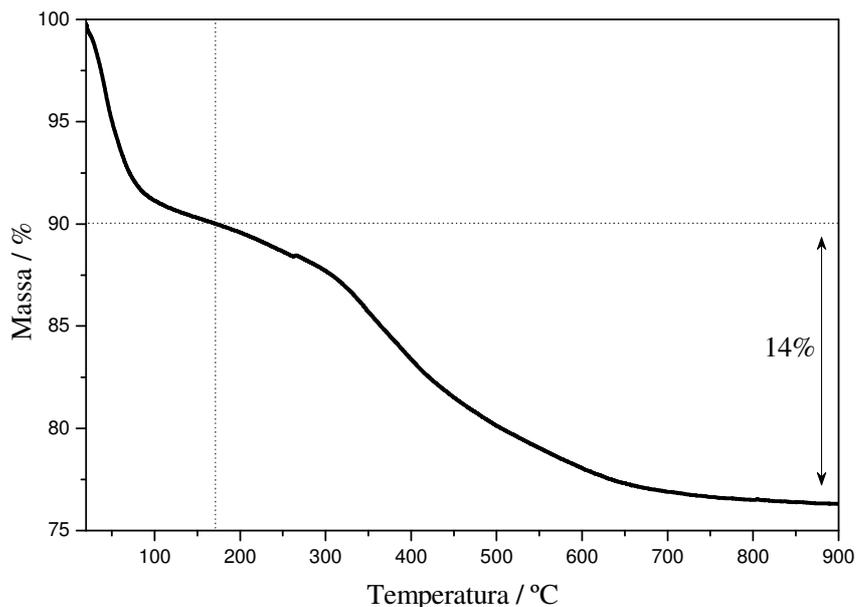


Figura 24: Ampliação da região entre  $1750\text{ cm}^{-1}$  e  $1550\text{ cm}^{-1}$  do espectro vibracional no infravermelho da MCM-41:NH<sub>2</sub>-IBU<sub>37</sub> mostrando a região das bandas amida I e II.

Para definir as concentrações dos reagentes para a reação de acoplamento do ibuprofeno, a quantidade de grupo NH<sub>2</sub> presentes na MCM-41:NH<sub>2</sub> foi determinada por ATG e análise elementar (C H N). A curva TG da MCM-41:NH<sub>2</sub> é mostrada na Figura 25 e é observado o mesmo perfil de perda de massa já discutido anteriormente. O primeiro evento com 10 % de perda de massa que ocorre até 170°C é referente à perda de água adsorvida no material. O evento que se segue com 14 % de perda de massa é devido a degradação térmica dos grupo propilamino. A perda de massa observada indica que há 2,8 mmol de NH<sub>2</sub> por grama de sílica. Considerando a quantidade de grupos silanóis da MCM-41 de 9,9 mmol/g é possível estimar que a estequiometria da reação de pós-funcionalização foi de 1 propilamino :3 silanóis. A composição calculada para o material é (C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>N)<sub>0,2</sub>MCM-41, que foi confirmada pela análise elementar, cujos resultados são apresentados na Tabela 3.

Figura 25: Curva termogravimétrica da MCM-41:NH<sub>2</sub>.Tabela 3: Quantidades de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidas pela análise elementar da MCM-41:NH<sub>2</sub> comparada a composição química calculada pela termogravimetria.

	% C	% H	% N
<b>Calculado (ATG)</b>	10,0	2,5	3,9
<b>Experimental</b>	9,6	2,7	3,5

### 5.1.5 - Imobilização do ibuprofeno por ligação éster

Conforme apresentado na parte experimental, a imobilização do ibuprofeno por ligação éster foi realizada por 3 procedimentos: pós-funcionalização em 2 etapas, pós-funcionalização em uma etapa com um silano pré-modificado e pela síntese direta por co-condensação usando o silano pré-modificado. Em todos os DRX registrados dos materiais preparados mostrados na Figura 26 a presença do pico de difração (100) é observada, o que indica a presença de ordenamento estrutural e que não ocorreu desestruturação das sílicas durante as etapas de modificação química. Como o esperado, a MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> (Figura 26a) apresenta um valor de  $d_{(100)}$  maior do que das demais amostras, por não ter passado em nenhum momento pelo processo de calcinação. Os valores de  $a_0$  para estes materiais foi de 41,1 Å para a MCM-41:GP, de 39,5 Å para a MCM-41:GP-IBU, de 41,1 Å para a MCM-41:GP-IBU<sub>SPM</sub>.

PF e de  $47,57 \text{ \AA}$  para a  $\text{MCM-41:GP-IBU}_{\text{SPM-CO}}$ , nota-se que os valores de  $a_0$  e de  $d_{100}$  é maior para o último material, que não sofreu calcinação.

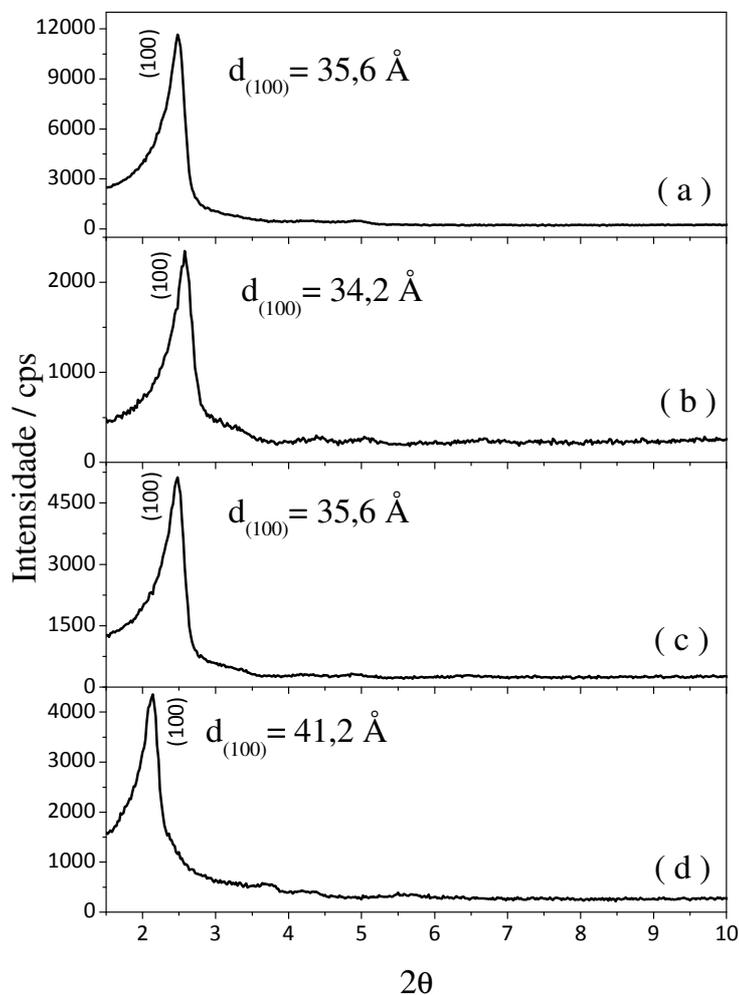
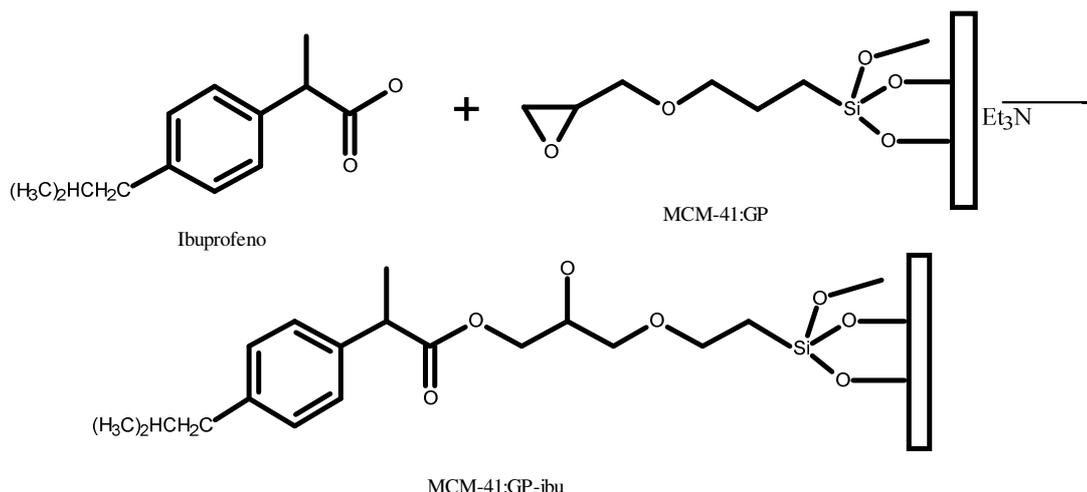


Figura 26: Difratoogramas de raios x da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU, da (c) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> e da (d) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO}</sub>.

No processo de pós-funcionalização em 2 etapas, a primeira etapa envolveu a modificação da MCM-41 com o GPTMS para a obtenção de grupos epóxi superficiais e depois realizada a reação de acoplamento do ibuprofeno, conforme mostrado no Esquema 2.



Esquema 2: Etapas envolvidas com a reação de acoplamento do ibuprofeno na MCM-41:GP para formação da ligação éster.

A efetivação dessa reação pode ser observada no FTIR registrado (Figura 27a), no qual se observa o desaparecimento da banda referente aos grupos silanóis superficiais em  $3750\text{ cm}^{-1}$  e o aparecimento das bandas em  $2949$  e  $2873\text{ cm}^{-1}$  atribuídas respectivamente ao estiramento assimétrico e simétrico das ligações C—H dos grupos metílicos<sup>56</sup> presentes no fragmento glicidil-isopropil-éter. As bandas referentes ao anel epóxi são muito fracas para serem observadas no espectro de infravermelho e a banda de estiramento do grupo éter (C—O—C) está totalmente encoberta pelo estiramento Si—O—Si do esqueleto inorgânico, que ocorre na mesma região<sup>53,56</sup>. Com o acoplamento do ibuprofeno o perfil do espectro muda (Figura 27b), ocorrendo o aparecimento de bandas características dos grupos funcionais presentes na molécula do ibuprofeno. A formação da ligação éster entre o ibuprofeno e o grupo glicidil-isopropil-éter é confirmada pela presença da banda em  $1735\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento C=O de ésteres alifáticos<sup>37</sup>. Na região entre  $2960$  a  $2870\text{ cm}^{-1}$  aparecem os estiramentos C—H antissimétricos e simétricos dos grupos metila e metílicos. Na região entre  $1520$  e  $1465\text{ cm}^{-1}$  aparecem as bandas características do estiramento das ligações C=C—C do anel aromático, em  $1386\text{ cm}^{-1}$  aparece a banda referente à flexão das ligações da metila<sup>37</sup>.

A imobilização do ibuprofeno na sílica utilizando o silano pré-modificado GP-IBU pelos processos de pós-funcionalização em uma etapa e co-condensação também foi confirmada por FTIR. Os espectros no infravermelho da MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> (Figura 27c) e da MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> (Figura 27d) são

semelhantes ao registrado para a sílica funcionalizada em 2 etapas (Figura 27b), porém no caso da MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> as bandas referentes aos estiramentos assimétrico e simétrico das ligações C–H dos grupos metilenos aparecem bem mais intensas pois este material ainda apresenta em sua estrutura o surfactante CTA<sup>+</sup>.

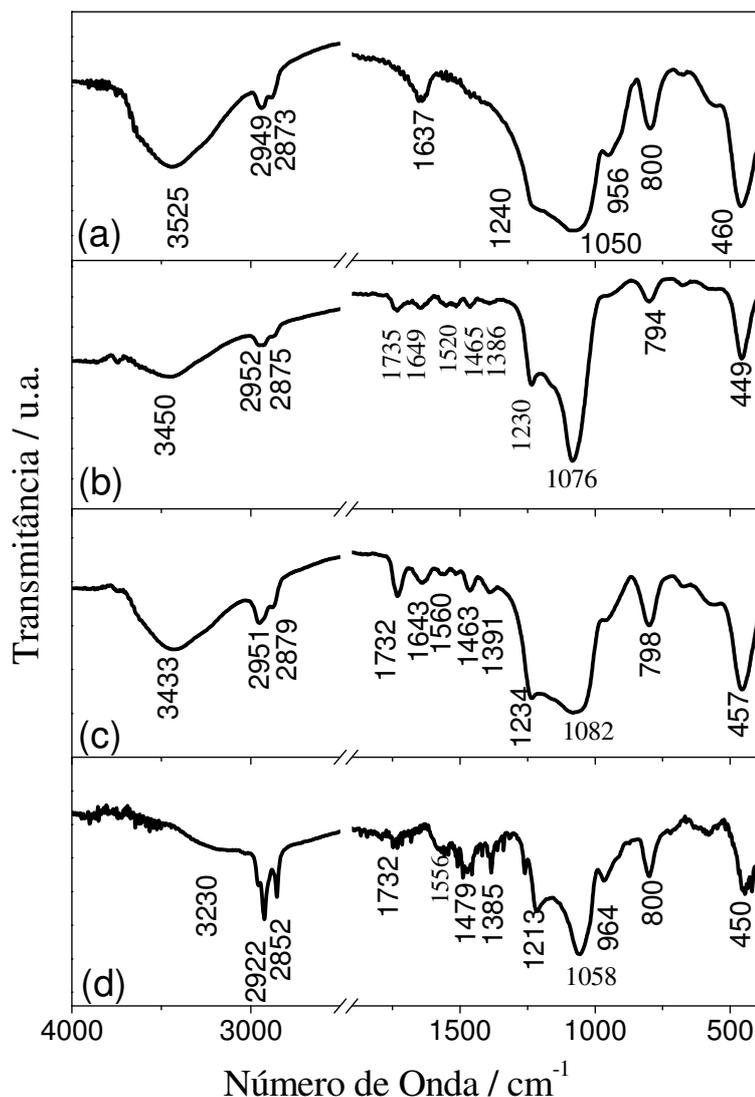


Figura 27: Espectros vibracionais no infravermelho da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU, da (c) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> e da (d) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub>.

Como as bandas do esqueleto inorgânico da sílica são muito intensas no infravermelho, devido às ligações serem bastante polarizadas, os materiais foram também analisados por espectroscopia vibracional Raman, tendo em vista que nesta técnica de caracterização as bandas referentes aos grupos orgânicos aparecem mais intensas do que as da sílica.

No espectro Raman da MCM-41:GP (Figura 28a) as bandas em  $1259\text{ cm}^{-1}$  e  $903\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas, respectivamente, ao estiramento simétrico e assimétrico do anel epóxi, as quais não aparecem no espectro infravermelho<sup>37</sup>. A banda em  $1135\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento simétrico da ligação C—O—C no grupo éter no fragmento glicidil-isopropil-éter, a qual estava encoberta por bandas intensas da matriz de sílica no espectro infravermelho. As bandas em  $1459\text{ cm}^{-1}$ ,  $1481\text{ cm}^{-1}$  e  $1417\text{ cm}^{-1}$  são referentes à deformação angular simétrica da ligação C—H metila e metileno e a banda em  $1299\text{ cm}^{-1}$  é atribuída à deformação angular da ligação C—H dos grupos. As bandas em  $1204\text{ cm}^{-1}$  e  $1060\text{ cm}^{-1}$  são referentes à flexão C—H fora do plano e em  $761\text{ cm}^{-1}$  à flexão no plano<sup>37</sup>.

Com o acoplamento do ibuprofeno, é possível observar no espectro Raman (Figura 28b) o aparecimento da banda em  $1738\text{ cm}^{-1}$ , que é atribuída ao estiramento da ligação C=O presente em aril-alquil-ésteres, conjuntamente com a diminuição da intensidade das bandas referentes ao anel epóxi em  $1259$  e  $903\text{ cm}^{-1}$ . Novas bandas referentes aos grupos funcionais presentes na molécula do ibuprofeno também são observadas. A banda em  $1461\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação angular simétrica (C—H) dos grupos CH<sub>2</sub> e em  $1341\text{ cm}^{-1}$  à deformação angular assimétrica da metila. Em  $1414\text{ cm}^{-1}$  está a banda atribuída à flexão no plano da ligação C—O—H, em  $1284\text{ cm}^{-1}$  aparece o estiramento da ligação C—O, e em  $1205\text{ cm}^{-1}$  o estiramento O=C—O, em  $956\text{ cm}^{-1}$  aparece o estiramento O—H fora do plano, em  $1001\text{ cm}^{-1}$  está a banda referente ao estiramento da ligação C—O—C. As bandas que aparecem devido ao anel aromático estão na região entre  $1615$  e  $1576\text{ cm}^{-1}$ , onde aparece o estiramento das ligações C=C do anel aromático, em  $1185\text{ cm}^{-1}$  e  $835\text{ cm}^{-1}$  aparecem as bandas referentes, respectivamente à flexão no plano e fora do plano das ligações C—H do anel, as bandas que aparecem em  $638$  e  $754\text{ cm}^{-1}$  são referentes, respectivamente, à flexão no plano e fora do plano das ligações C=C<sup>56</sup>. As bandas que apareceram no espectro Raman da MCM-41:GPTM-IBU<sub>SPM-PF</sub> (Figura 28c) foram as mesmas bandas do espectro da MCM-41:GP-IBU (Figura 28b), com exceção da que aparece em  $1260\text{ cm}^{-1}$ , que aparece para a MCM-41:GP-IBU e não para a MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub>, esta banda, como visto na análise da MCM-41:GP, é atribuída ao estiramento simétrico do anel epóxi, a sua ausência indica que a reação entre o ibuprofeno e o silano GPTMS ocorreu de forma estequiométrica para a MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> e não estequiométrica para a MCM-41:GP-IBU, pois ainda restaram anéis epóxi na sílica.

No espectro da MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> é possível observar alguns aspectos em comum com as matrizes contendo o ibuprofeno ligado por ligação éster discutidas anteriormente e a ausência de outras, as bandas entre 1410 e 1110  $\text{cm}^{-1}$  estão neste caso sobrepostas por uma banda mais intensa em 1300  $\text{cm}^{-1}$ , que é referente ao estiramento C—C presente nas moléculas de surfactante que preenchem os poros desta amostra, aparece também exclusivamente nesta amostra a banda em 760  $\text{cm}^{-1}$  referente à deformação angular assimétrica dos grupo metileno<sup>38</sup>. A ausência da banda do anel epóxi indica que a reação com o ibuprofeno foi estequiométrica.

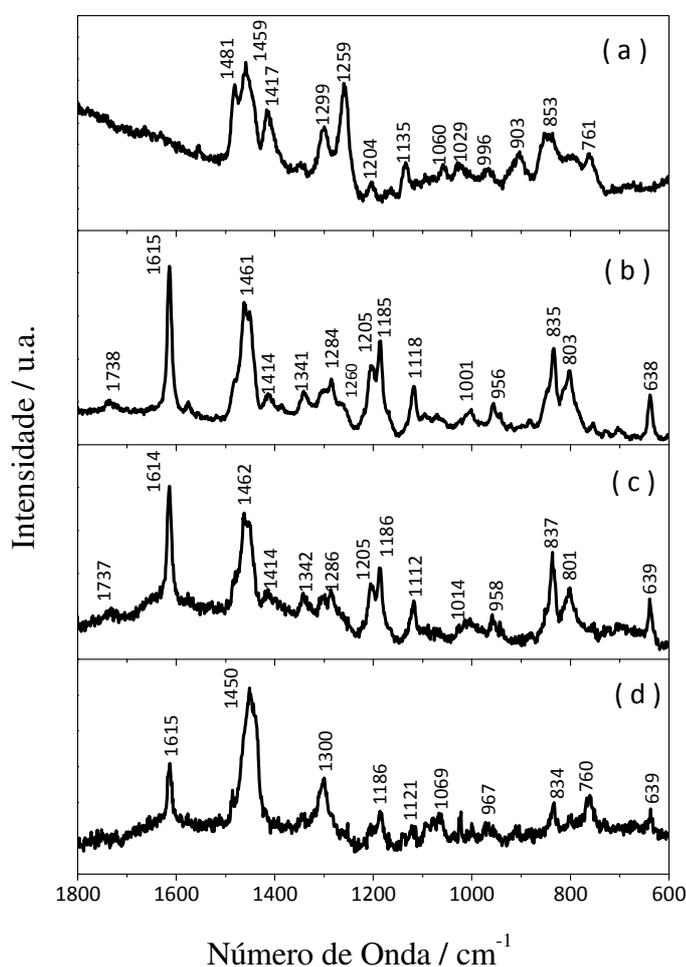


Figura 28: Espectros vibracionais Raman da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU, da (c) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> e da (d) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub>.

Considerando o procedimento em 2 etapas, a quantidade de grupos funcionais da MCM-41:GP e de ibuprofeno posteriormente ancorado foram determinadas por análise termogravimétrica. Com a funcionalização da MCM-41, espera-se que todos os grupos silanóis reajam com o GTPMS e que a perda

de massa observada no 2º evento seja atribuída à decomposição térmica do grupo glicidil-isopropil-éter (GP). Dessa forma, a perda de 25,2 % observada nesse evento para a MCM-41:GP (Figura 29a) indica a presença de 3,2 mmol de GP ( $C_6H_{11}O_2$ ) por grama de MCM-41, o que corresponde a uma estequiometria da reação de funcionalização de 1 glicidil-isopropil-éter : 3 silanóis. A composição química calculada para o material é  $(C_6H_{11}O_2)_{0,2}SiO_2$ . Com o posterior acoplamento do ibuprofeno ( $C_{13}H_{18}O_2$ ) é observado um aumento de 11,8% na massa perdida no 2º evento (Figura 29b). Esse valor é menor do que o esperado no caso da reação entre os grupos epóxi e o ibuprofeno tivesse ocorrido de forma estequiométrica. Essa perda de massa adicional indica que apenas 25% dos grupos epóxi reagiram com a droga e a composição química calculada para o material é  $(C_{13}H_{18}O_2)_{0,05}(C_6H_{11}O_2)_{0,2}SiO_2$ . Ressalta-se que o espectro Raman registrado para esse material (Figura 28b) já havia indicado a presença de grupos epóxi que não reagiram com o ibuprofeno.

Observando a curva TG da MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> (Figura 29c) e considerando os mesmos eventos de perda de massa do material funcionalizado em 2 etapas, a composição química estimada é  $(C_{13}H_{18}O_2)_{0,1}(C_6H_{11}O_2)_{0,1}SiO_2$ , o que corresponde a 1,8 mmol de grupo funcional (GP-IBU) por grama de MCM-41 e representa uma estequiometria de 1 grupo funcional para cada 5 grupos silanóis. Isso ocorre porque a molécula do silano modificado GP-IBU é consideravelmente maior que a molécula do GPTMS, o que provoca maior impedimento estérico aumentando o espaçamento entre os grupos funcionais. Entretanto, mesmo com um menor recobrimento dos poros, a quantidade de ibuprofeno resultante desse método é o dobro da obtida pelo método de funcionalização em 2 etapas.

Na MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> (Figura 29d) a perda de massa que ocorre no segundo evento é referente não só a decomposição térmica do grupo GP-IBU, mas também do CTA<sup>+</sup> presente na amostra. Esta perda de massa é equivalente a 54,5% e a partir das quantidades de material utilizado na síntese a composição estimada é  $(C_{19}H_{42}N)_{0,125}(C_{22}H_{38}O_6)_{0,1}SiO_2$ .

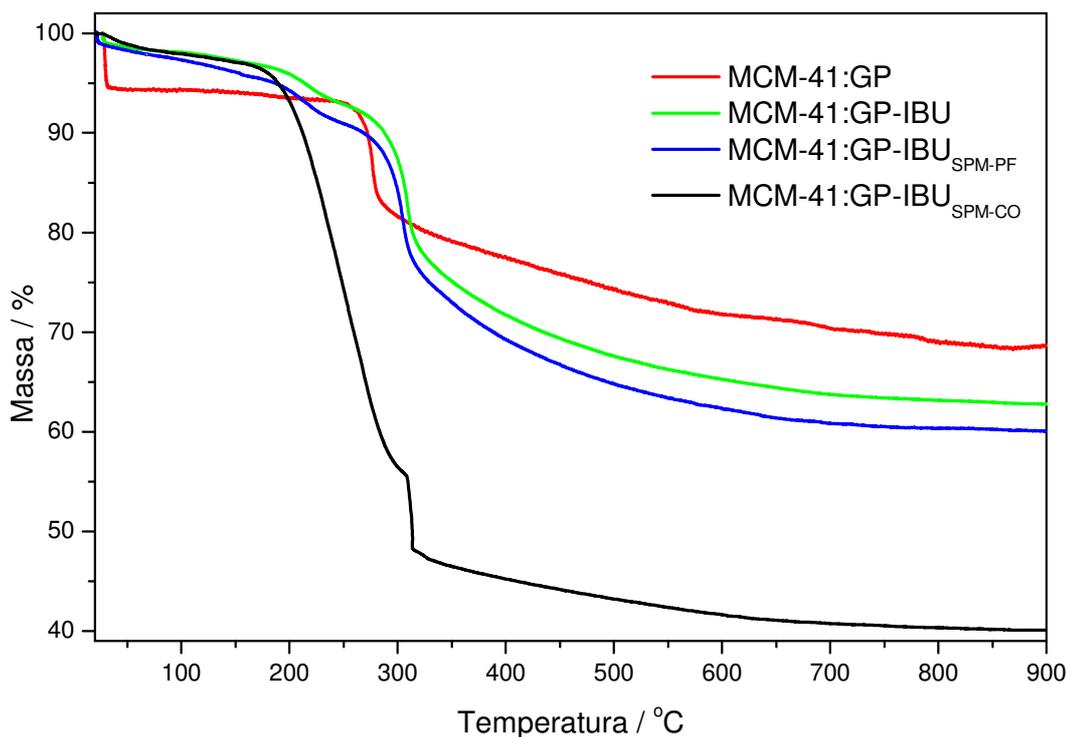


Figura 29: Curvas termogravimétricas da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU, da (c) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> e da (d) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub>.

As composições químicas estimadas pela análise termogravimétrica são compatíveis com o teor de carbono e hidrogênio dos materiais determinados pela análise elementar, cujos resultados são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Quantidades de carbono e hidrogênio obtidos pela análise elementar da MCM-41:GP, MCM-41:GP-IBU e MCM-41:GP-IBU<sub>(SPM)</sub> comparada a composição química calculada pela termogravimetria.

Composto	Técnica	% C	% H
MCM-41:GP (C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>0,2</sub> MCM-41	Calculado (ATG)	17,3	2,6
	Experimental	15,7	2,8
MCM-41:GP-IBU (C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>0,05</sub> (C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>0,2</sub> MCM-41	Calculado (ATG)	23,8	3,1
	Experimental	22,5	3,7
MCM-41:GP-IBU <sub>SPM-PF</sub> (C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>0,1</sub> (C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>0,1</sub> MCM-41	Calculado (ATG)	27,7	3,6
	Experimental	22,8	3,9

Na Figura 30 estão apresentadas as isotermas de fisissorção de N<sub>2</sub> registradas para os compostos MCM-41:GP, MCM-41:GP-IBU e MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub>. Este ensaio não foi realizado para MCM-

41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> em razão da presença do CTA<sup>+</sup> que não foi removido dos poros desse material, e por essa razão não apresentaria porosidade. O tipo de curva obtido da isoterma da MCM-41:GP (Figura 30a) é do tipo IV, como da MCM-41 característico de materiais mesoporosos com poros cilíndricos. Como o esperado, a MCM-41:GP apresenta área superficial menor do que da MCM-41, pois seus poros estão parcialmente preenchidos com o grupo funcional. Após o ancoramento do ibuprofeno a área superficial diminui ainda mais e o perfil da curva muda para o tipo I, característica de materiais microporosos. Isso é resultado da ocupação dos poros pela molécula de ibuprofeno, deixando menos volume livre. Este mesmo perfil de curva é observado para o MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub>.

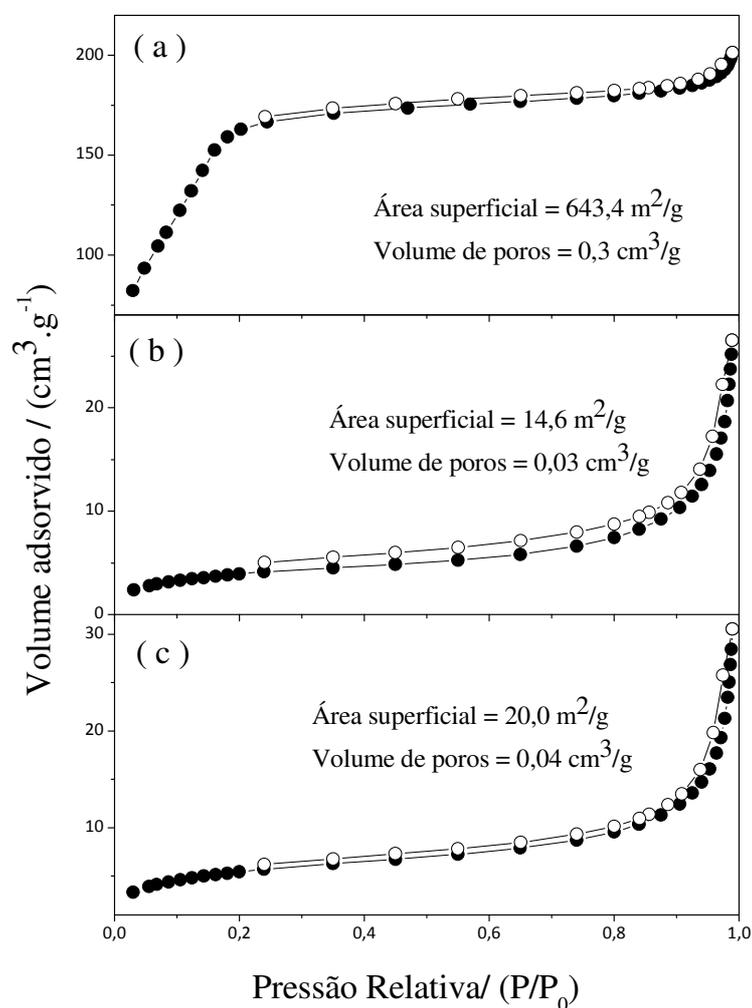


Figura 30: Isothermas de fisissorção de N<sub>2</sub> da (a) MCM-41:GP, da (b) MCM-41:GP-IBU e da (c) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub>.

## 5.2 - Ensaio de Liberação do Ibuprofeno

### 5.2.1 - Liberação prolongada

Nestes ensaios foram utilizadas as sílicas nas quais o ibuprofeno foi imobilizado por adsorção (MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU, C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU e MCM-41:IBU). As curvas de liberação registradas são mostradas na Figura 31. Comparando-se a curva de liberação da MCM-41:IBU e da C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU é possível notar pela inclinação da reta nos instantes iniciais de liberação que a velocidade é significativamente menor para as matrizes que contém os poros preenchidos, o que era esperado, pois os grupos funcionais irão atuar como uma barreira física dificultando a difusão do ibuprofeno para o exterior dos poros. Comparando as duas matrizes com os poros preenchidos a C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU tem uma velocidade de liberação mais lenta que da MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU, esta diferença se dá possivelmente devido a saída do molde orgânico da MCM-41<sub>mesof</sub> durante o teste, liberando os canais para a saída do ibuprofeno, no caso da C<sub>16</sub>-MCM-41 o molde está ligado covalentemente no interior dos poros, o que dificultaria a difusão do ibuprofeno para fora da matriz.

Nem a MCM-41:IBU nem a C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU apresentaram 100% de liberação do ibuprofeno após 6 horas de teste, indicando o potencial desses materiais para a aplicação em liberação prolongada de drogas. Não sabendo a quantidade inicial presente na MCM-41<sub>mesof</sub> não podemos afirmar que não houve 100% de liberação, porém o patamar não ter sido atingido é um indício de que isso não ocorreu.

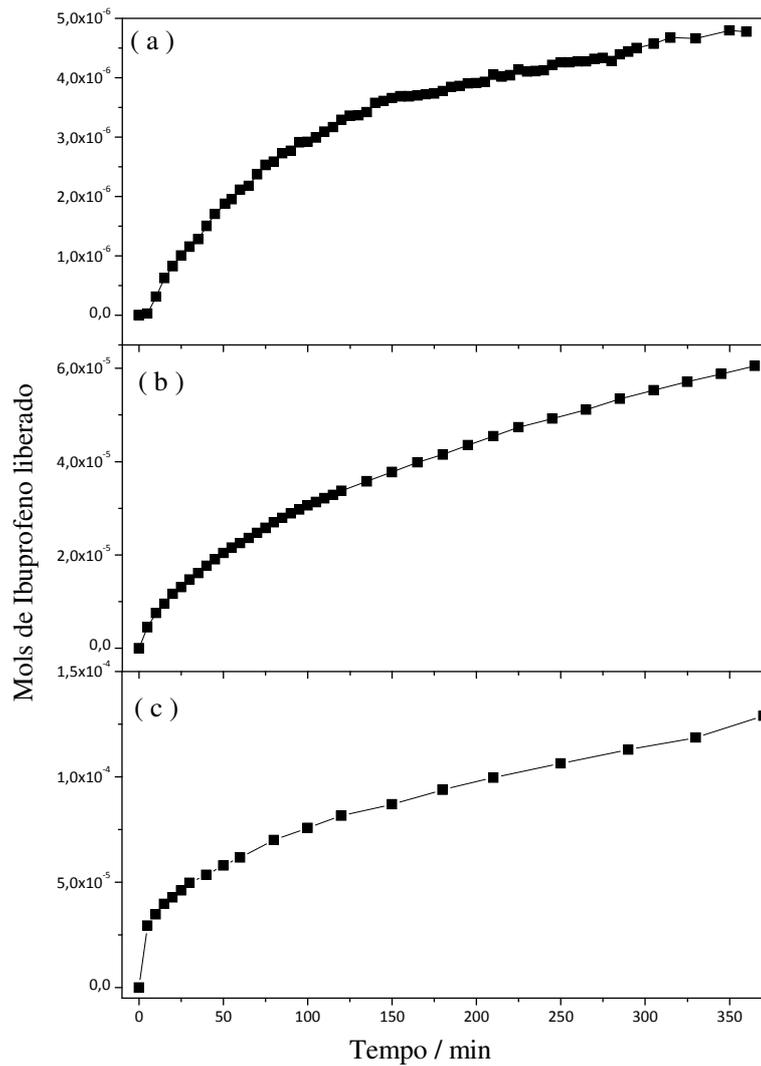


Figura 31: Curvas de liberação da (a) MCM-41:IBU, da (b) MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU e da (c) C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU.

A liberação de fármacos imobilizados em matrizes sólidas pode ser descrita por diferentes modelos matemáticos que servem para auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos com os sistemas de liberação. Esses modelos procuram descrever o perfil de dissolução do fármaco através de diferentes funções matemáticas que levam em conta os diversos parâmetros envolvidos na velocidade de liberação.

Os modelos aplicados neste estudo foram o modelo de ordem zero; modelo de primeira ordem; Higuchi; Korsmeyer-Peppas; Hixson-Crowell; Bhaskar e o modelo da difusão parabólica. Cada um deles será descrito a seguir de forma sucinta.

O modelo de ordem zero descreve o processo de dissolução de formas farmacêuticas que não são degradadas e apresentam um perfil lento de liberação. Um sistema que obedece a esse modelo produz uma reta quando é feito um gráfico da fração não liberada do fármaco pelo tempo e é descrito pela equação 5<sup>58</sup>, onde  $M_t$  é a quantidade de fármaco dissolvido no tempo  $t$ ,  $M_0$  a quantidade inicial de fármaco presente na forma farmacêutica (ou 100%) e  $k_0$  é a constante de liberação de ordem zero.

$$1 - \frac{M_t}{M_0} = k_0 t$$

*equação 5*

O modelo de primeira ordem descreve o perfil de liberação de fármacos hidrossolúveis imobilizados em matrizes porosas. O gráfico do logaritmo da porcentagem do fármaco remanescente na matriz pelo tempo deve gerar uma reta e é descrito pela equação 6, onde  $M_t$  é a quantidade de fármaco dissolvido no tempo  $t$ ,  $M_0$  é a quantidade inicial de fármaco na matriz<sup>58</sup>.

$$\ln(M_0 - M_t) = \ln M_0 - kt$$

*equação 6*

O modelo de Higuchi é aplicado a fármacos imobilizados em matrizes porosas e pressupõe que a concentração inicial da droga na matriz é maior que a sua solubilidade no meio. Este modelo considera que inicialmente o meio penetra os poros da matriz dissolvendo o fármaco lentamente para a posterior difusão do fármaco para fora dos poros da matriz, sendo esta a etapa lenta da liberação. Os processos que obedecem a esse modelo produzem uma reta quando é feito o gráfico da porcentagem de fármaco liberado pela raiz quadrada do tempo, este modelo é descrito pela equação 7, onde  $M_t$  é a quantidade de fármaco dissolvido no tempo  $t$  e  $K_H$  é a constante de liberação de Higuchi<sup>58</sup>.

$$M_t = K_H \sqrt{t}$$

*equação 7*

O modelo de Korsmeyer-Peppas é utilizado normalmente nos casos em que a o mecanismo de liberação ainda não está bem estabelecido, ou quando há mais de um fenômeno envolvido na cinética de liberação. O gráfico do logaritmo da porcentagem de fármaco liberado pelo logaritmo do tempo deve resultar em uma reta, cuja inclinação é a constante  $n$ . Se  $n$  for menor que 0,5 significa que a difusão

obedece à lei de Fick, entre 0,5 e 1,0 indica transporte anômalo, igual a 1 indica transporte de ordem zero e n maior que 1 indica que a difusão não obedece à lei de Fick<sup>58</sup>. A equação 8 descreve esse modelo<sup>58</sup>.

$$\frac{M_t}{M_0} = kt^n$$

*equação 8*

O modelo Hixson-Crowell assume que a liberação é limitada à superfície em contato com a solução, ou seja, não leva em consideração a difusão através dos poros da matriz. Fazendo o gráfico da raiz cúbica da porcentagem de droga remanescente na matriz pelo tempo deve resultar numa reta quando este modelo é obedecido, a equação 9 descreve este modelo<sup>58</sup>.

$$\left(1 - \frac{M_t}{M_0}\right)^{1/3} = 1 - K_\beta t$$

*equação 9*

Onde  $M_0$  é a quantidade inicial do fármaco contido na amostra,  $M_t$  a quantidade restante após decorrido um tempo t.  $K_\beta$  é a constante de liberação.

O modelo de Bhaskar considera como etapa limitante a difusão através de partículas no interior dos poros, ou seja, considera que este fenômeno é o determinante da velocidade de liberação. Fazendo um gráfico de  $\ln[M_0/(M_0-M_t)]$  (onde  $M_0$  = quantidade inicial de fármaco e  $M_t$  quantidade de fármaco no tempo t) pelo  $t^{0,65}$  deve-se produzir uma reta quando este modelo é obedecido<sup>59</sup>. Este modelo é descrito pela equação 10, onde  $d_p$  corresponde ao diâmetro das partículas que compõem o material e D é a constante de difusão.

$$\ln\left(\frac{M_0}{M_0 - M_t}\right) = 1,59\left(\frac{6}{d_p}\right)^{1,3}(Dt)^{0,65}$$

*equação 10*

O modelo de difusão parabólica é um modelo normalmente utilizado para descrever velocidade controlada por difusão em solos constituídos por argilominerais. Se baseia na difusão radial em um cilindro onde as concentrações das espécies são uniformes. Um gráfico de  $(M_t/M_0)/t$  versus  $1/t^{0,5}$  deverá gerar uma reta<sup>60</sup>. A equação 11 descreve este modelo, onde  $M_t$  é a quantidade restante na matriz no tempo

$t$  e  $M_0$  é a quantidade presente no equilíbrio,  $r$  corresponde ao raio do cilindro e  $D$  ao coeficiente de difusão.

$$\frac{M_t}{M_0} = \frac{4}{\pi^{0,5}} \left(\frac{Dt}{r^2}\right)^{0,5} - \frac{Dt}{r^2}$$

*equação 11*

Na Figura 32 estão apresentados os gráficos produzidos conforme os modelos matemáticos descritos anteriormente para a amostra C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU. Considerando como parâmetro de ajuste a uma reta o valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) da reta ajustada com os dados experimentais. Os melhores resultados foram obtidos com os modelos Higuchi e Korsmeyer-Peppas, sendo o modelo Higuchi o que melhor se aplicou, este modelo considera como etapa limitante a difusão através dos poros, a constante de Higuchi para esta liberação foi de 0,6.

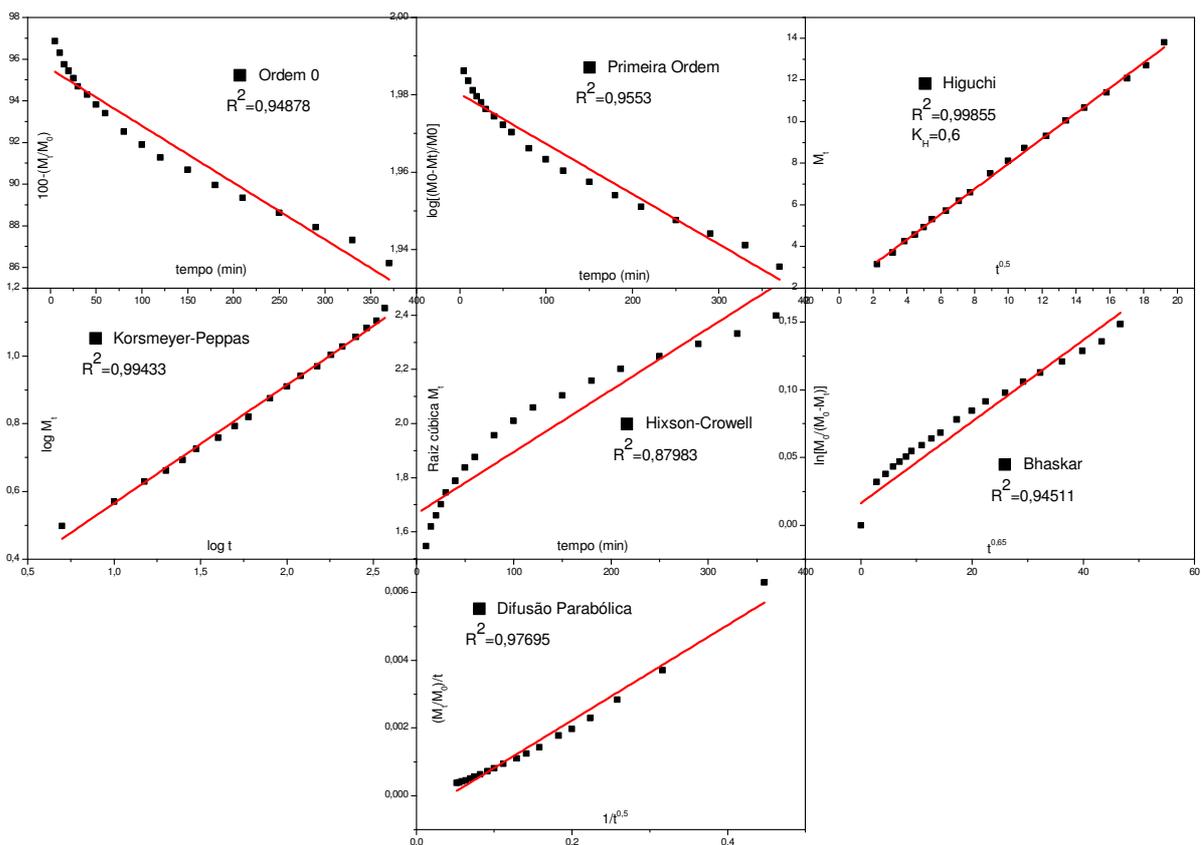


Figura 32: Gráficos dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do ibuprofeno na C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU.

O modelo que melhor se ajustou à curva de liberação da MCM-41:IBU também foi o de Higuchi, o que mostra que tanto para a MCM-41 quanto para a C<sub>16</sub>-MCM-41 a etapa de difusão através dos poros é a mais lenta e portanto a que determina a velocidade de liberação, desta forma a liberação do ibuprofeno de matrizes com poros preenchidos deve ser mais lenta do que a matriz de poros vazios, esta hipótese é confirmado ao compararmos as constantes de Higuchi ( $K_H$ ) das duas matrizes, a C<sub>16</sub>-MCM-41, que tem os poros preenchidos, apresentou uma  $K_H$  de 0,6 enquanto a MCM-41, que tem os poros vazios, apresentou uma de 1,9.

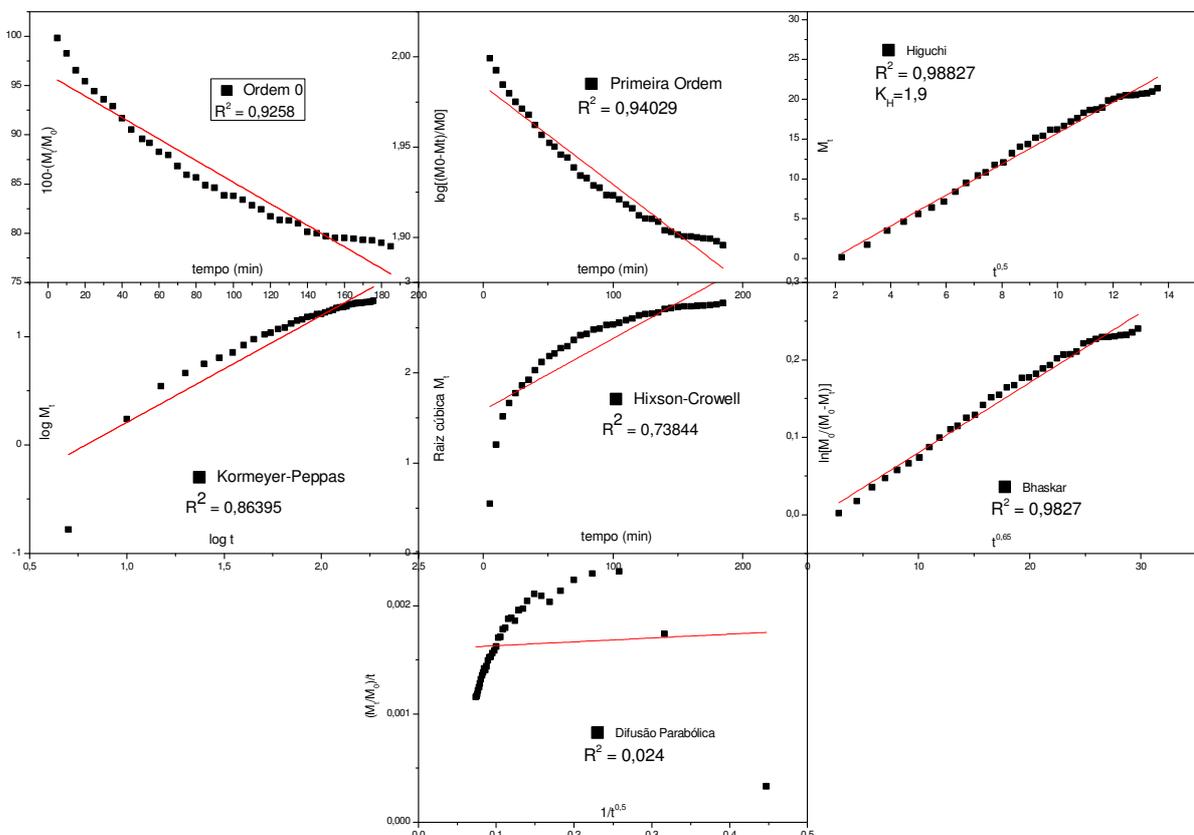


Figura 33: Gráficos dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do ibuprofeno na MCM-41:IBU.

### 5.2.2 - Liberação Controlada

Os ensaios de liberação controlada foram realizados com as sílicas nas quais o ibuprofeno foi ligado covalentemente por ligação éster. Esses ensaios foram realizados em pH 6,6; 7,0 e 7,4. Na Figura 34 é mostrada a cinética de liberação do ibuprofeno da matriz MCM-41:GP-IBU em pH 7,0 e 8,0. A

liberação é mais rápida em pH básico que neutro, porém a mesma análise em pH ácido não foi possível de ser realizada em razão da baixa solubilidade do ibuprofeno nesse meio. Por essa razão os ensaios cinéticos posteriores foram realizados em pH 7,4..

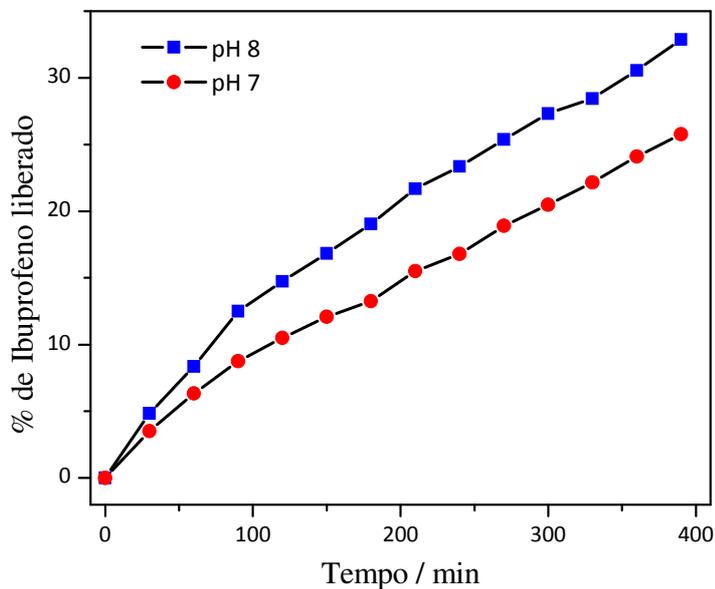


Figura 34: Curvas de liberação do ibuprofeno ancorado na MCM-41:GP em tampão fosfato pH 7 e 8.

Na Figura 35 são apresentadas as curvas de liberação de ibuprofeno registradas em pH 7,4. Há uma nítida diferença entre o perfil de liberação das três matrizes, sendo a matriz MCM-41:GP-IBU que apresentou o processo mais rápido. Nenhuma matriz foi capaz de liberar 100% do ibuprofeno imobilizado no período de 4 dias monitorado. Ressalta-se aqui que os resultados além de 12 horas foram influenciados também pelo processo de evaporação do solvente do meio, já que não era possível garantir um sistema hermeticamente fechado.

Isto deve ter ocorrido pois a reação do ibuprofeno com o anel epóxi quando este estava dentro dos poros da sílica ocorreu em sua maioria com os grupos mais superficiais, devido ao preenchimento dos poros com os grupos funcionais que devem ter causado um impedimento estérico, enquanto o ibuprofeno imobilizado após a reação com o silano, como ocorreu nas outras matrizes, está em todo recobrimento do poro, inclusive em camadas mais profundas, o que deve dificultar sua difusão. Ainda é possível notar que a liberação do ibuprofeno da MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub>(material com os poros preenchidos) é mais rápida

que da MCM-41:GP-IBU<sub>SPM,0</sub> provável motivo para este fato é que durante o processo de liberação o surfactante presente na MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> vai sendo removido facilitando a saída do ibuprofeno.

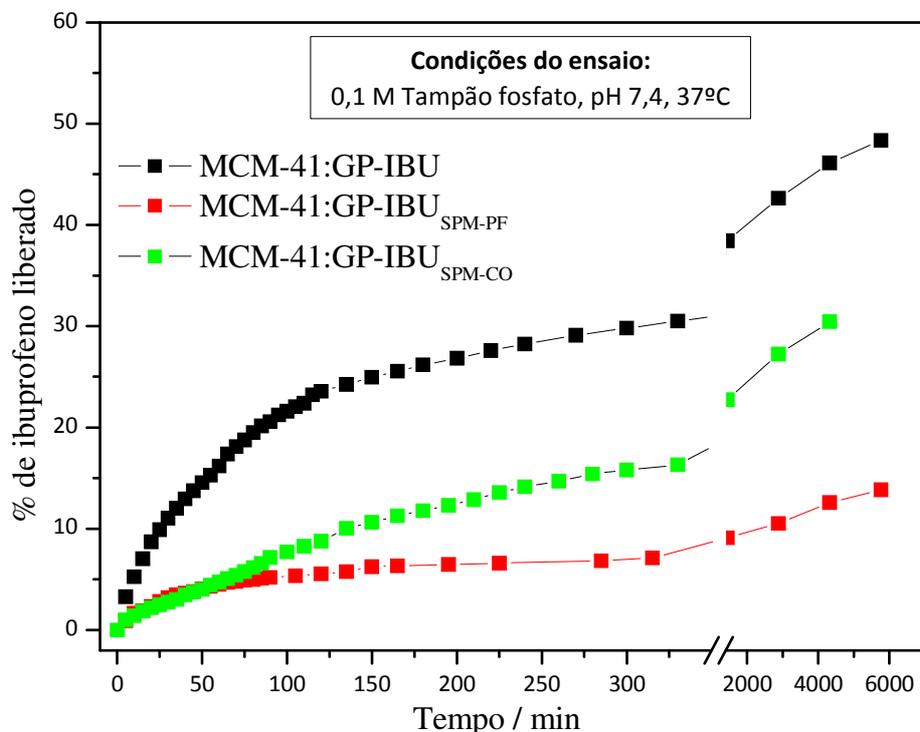


Figura 35: Curvas de liberação do ibuprofeno da (a) MCM-41:GP-IBU, da (b) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> e da (c) MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub>.

Na figura 36 estão apresentados os gráficos produzidos conforme os modelos matemáticos descritos anteriormente para a amostra MCM-41:GP-IBU. Considerando como parâmetro de ajuste a uma reta o valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) da reta ajustada com os dados experimentais. Os melhores resultados foram obtidos com os modelos Higushi, Korsmeyer-Peppas e difusão parabólica. Estes três modelos levam em consideração a etapa de difusão através dos poros como sendo a determinante da velocidade do processo de liberação do fármaco. Dentre esses modelos, o que parece estar mais relacionado ao processo de liberação observado no presente estudo é o de Korsmeyer-Peppas. Como o processo de liberação do ibuprofeno MCM-41:GP-IBU envolve mais de um fenômeno, pois primeiro deve ocorrer a hidrólise do éster formado para a posterior dissolução do fármaco no meio e, então, a difusão para fora dos poros, este é o modelo que deve oferecer o melhor ajuste aos dados experimentais. A análise do valor da inclinação da reta obtida pela aplicação deste modelo ( $n$ ) mostrou

que temos um  $n$  de 0,5103, uma indicação de que a difusão obedece à lei de Fick, ou seja, que o fluxo de difusão ( $J$ ) é proporcional ao gradiente de concentração ( $dC/dx$ ) variando de acordo com a equação 12, onde  $D$  é o coeficiente de difusão.

$$J = -D \frac{dC}{dX}$$

equação 12

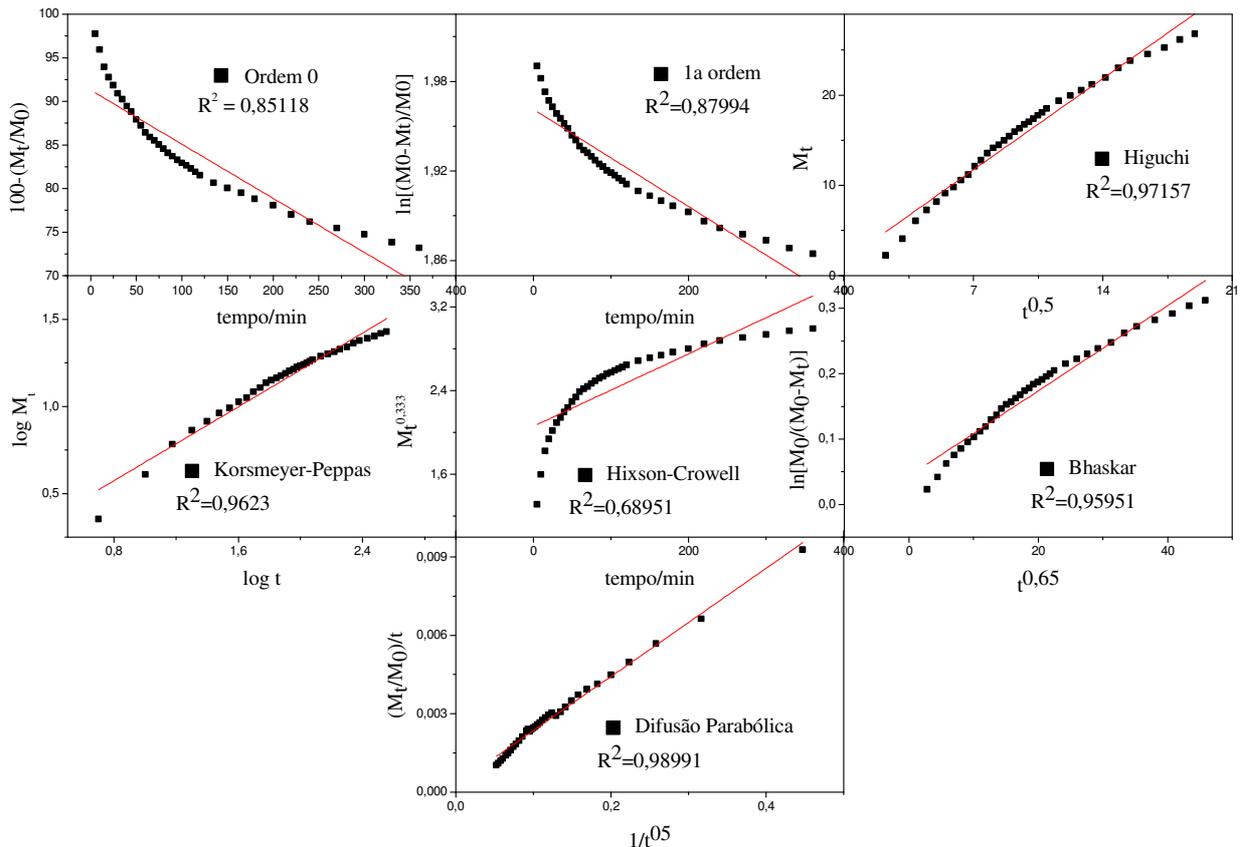


Figura 36: Gráficos dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do ibuprofeno na MCM-41:GP-IBU.

Já para a MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> os modelos que melhor se ajustaram aos dados experimentais foram o de Korsmeyer-Peppas e o de difusão parabólica (Figura 37). Da mesma forma que para o MCM-41:GP-IBU, o modelo de Korsmeyer-Peppas parece ser o mais adequado neste caso também, já que os materiais tem propriedades e estrutura parecidas. O valor de  $n$  obtido aplicando-se o modelo Korsmeyer-Peppas é de 0,32, indicando que a dissolução do fármaco obedece à lei de Fick. O valor de  $n$  menor

também é uma indicação de que o processo de liberação é mais lento para a MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub> do que para a MCM-41:GP-IBU.

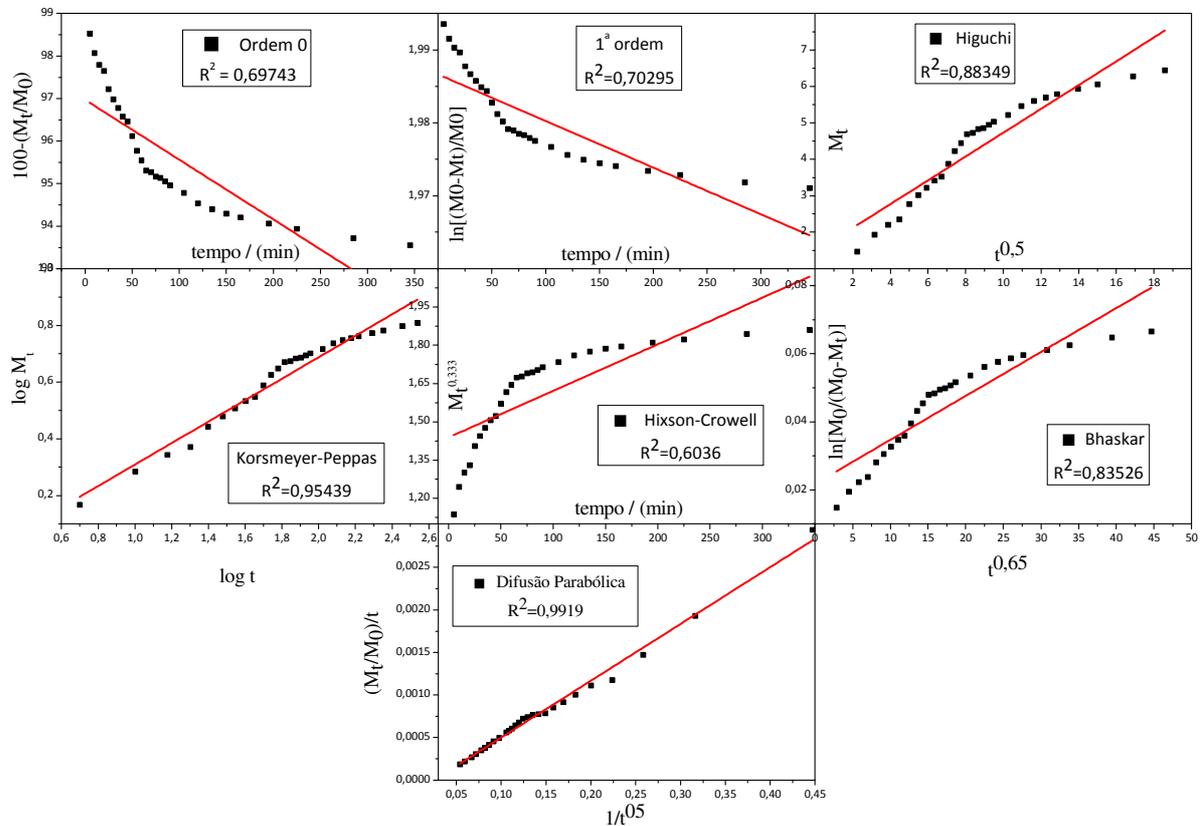


Figura 37: Gráfico dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do ibuprofeno na MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-PF</sub>

O modelo que melhor se aplicou para o perfil de liberação da MCM-41-GP-IBU<sub>SPM-CO</sub> foi o de Bhaskar (Figura 38), este modelo considera como etapa limitante a difusão através de partículas, considerando a resistência dos poros da matriz, o que está de acordo com este tipo de matriz que tem os poros preenchidos pelo surfactante CTA<sup>+</sup>.

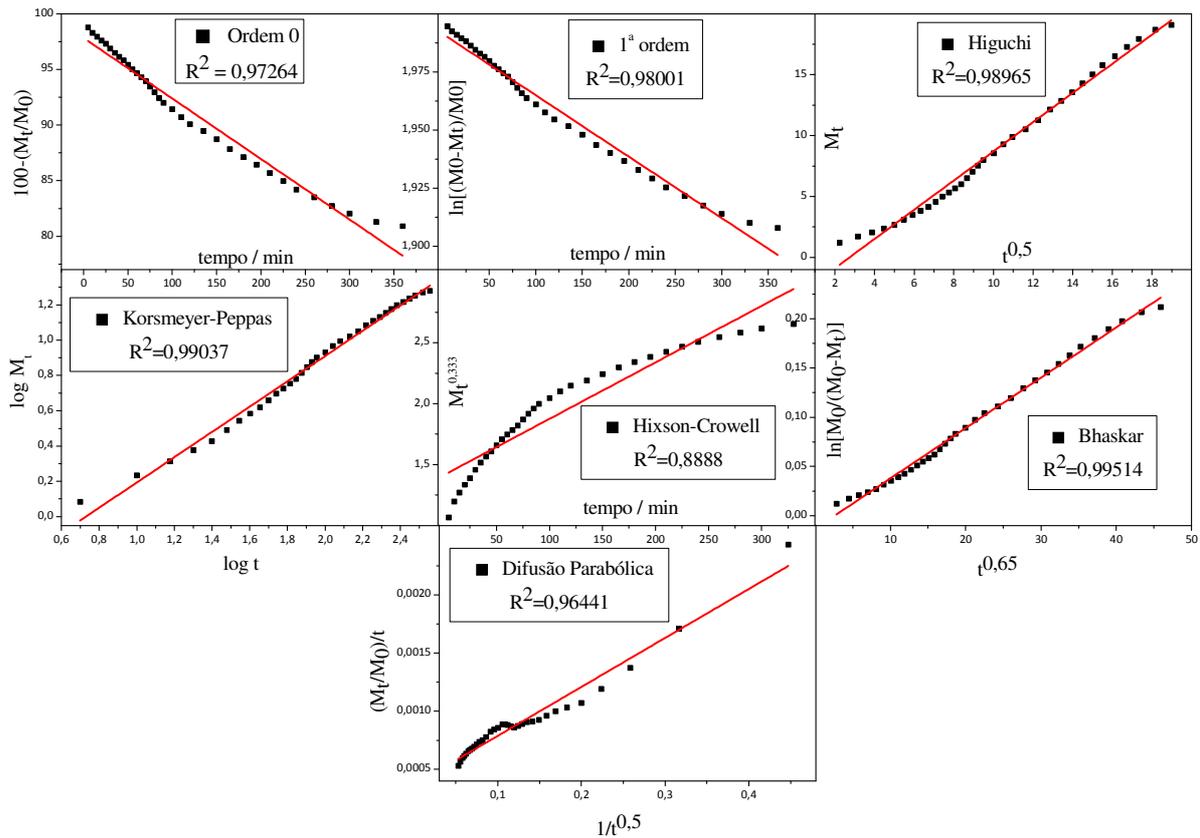


Figura 38: Gráficos dos modelos matemáticos de cinética de liberação aplicados ao perfil de liberação do MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub>.

Na Figura 39 estão representadas todas as curvas de liberação apresentadas anteriormente para efeito de comparação, a curva da MCM-41<sub>mesof</sub>:IBU não pôde ser adicionada a este gráfico pois não foi possível determinar a porcentagem de ibuprofeno imobilizado no material. Ao observarmos todas as curvas coparadas, nota-se que as os perfis de liberação mais lentos foram observados nas sílicas MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-FD</sub>, C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU e MCM-41:GP-IBU<sub>SPM-CO</sub>, tendo as duas últimas os poros preenchidos por longas cadeias carbônicas. É possível concluir que a velocidade de liberação do ibuprofeno imobilizado por interações fracas de van der Waals é da mesma ordem da velocidade de hidrólise da ligação éster. Os perfis de liberação semelhantes observados nas sílicas MCM-41:IBU e MCM-41:GP-IBU indicam que neste último material o ibuprofeno pode ter sido imobilizado preferencialmente na superfície externa e na entrada dos poros devido a problemas de difusão da molécula para o interior. Além disso, nem todo o ibuprofeno pode estar imobilizado por ligações covalentes, o que justificaria o perfil semelhante de liberação em relação ao fármaco apenas adsorvido na

MCM-41. Espera-se que a liberação do ibuprofeno imobilizado por ligação amida seja mais lenta em razão dessa ligação ser mais estável que a ligação éster em reações de hidrólise.

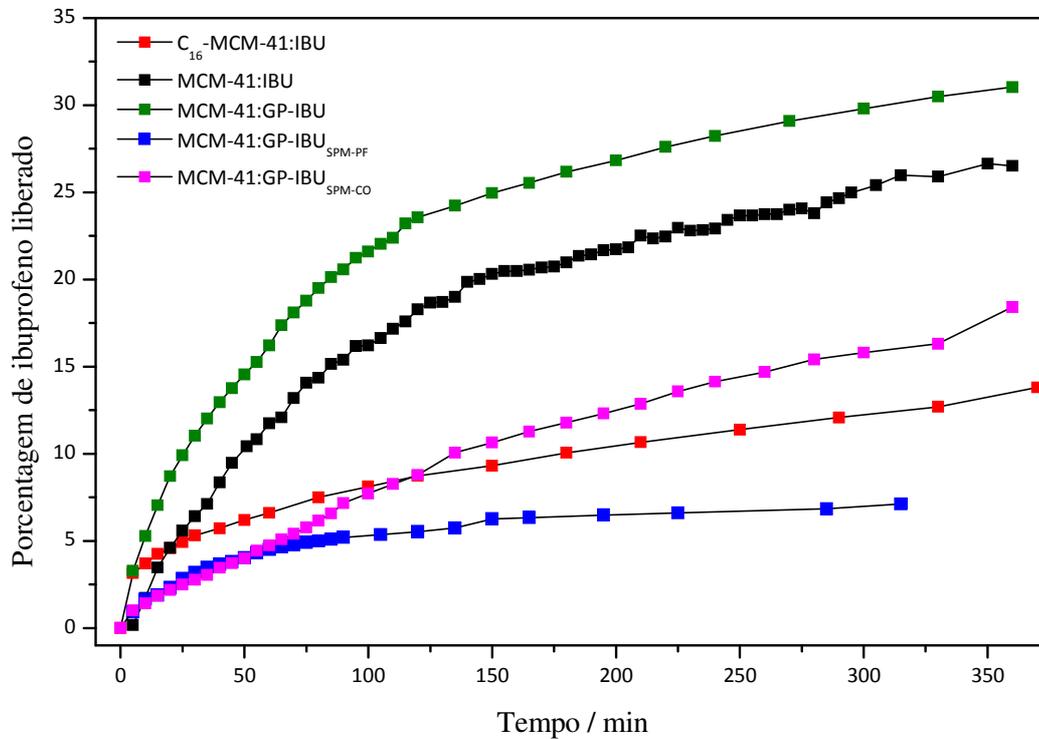


Figura 39: Comparativo entre as curvas de liberação de ibuprofeno imobilizado nas diferentes matrizes de sílica preparadas.

## 6 - Conclusão

Os resultados descritos no presente estudo confirmam que os objetivos propostos foram satisfatoriamente alcançados. Primeiro foi devida sintetizada e caracterizada a sílica mesoporosa C<sub>16</sub>-MCM-41 contendo poros semipreenchidos com cadeias alquílica com 16 átomos de carbono covalentemente ligadas às paredes da sílica. Depois a imobilização do ibuprofeno, tanto por adsorção quanto por ligações covalentes amida e éster, nas matrizes inorgânicas preparadas foi devidamente comprovada através das técnicas de caracterização físico-químicas utilizadas.

Para a formação da ligação éster, o método que produziu o melhor resultado em termos da quantidade de ibuprofeno imobilizado, foi o da pré-modificação do agente sililizante GPTMS com o ibuprofeno, para depois efetuar a pós-funcionalização da MCM-41. No caso do método onde a MCM-41 foi inicialmente pós-modificada com o GPTMS, para depois ancorar o fármaco ao material, apenas 25% dos grupos epóxi reagiram com o grupo ácido carboxílico do ibuprofeno para produzir a ligação éster. O método de síntese direta da MCM-41 com ibuprofeno ancorado pelo método da co-condensação utilizando o silano pré-modificado não foi efetivo, pois foi observado que na etapa de extração do molde a ligação éster era quebrada liberando o ibuprofeno imobilizado.

O método desenvolvido de imobilização do ibuprofeno por ligação amida utilizando a MCM-41:NH<sub>2</sub> e os agentes de acoplamento EDC/NHS foi efetivo para a reação feita em baixa temperatura. Em temperaturas altas foi observada a decomposição do aduto formado entre o EDC e o fármaco.

A sílica C<sub>16</sub>-MCM-41:IBU, cuja síntese da matriz foi inédita, apresentou um perfil bem prolongado de liberação do fármaco, com velocidade semelhante a observada quando o ibuprofeno foi imobilizado na matriz de sílica por ligação éster.

O controle da liberação do ibuprofeno pela hidrólise da ligação covalente em diferentes condições de pH não foi alcançada com a imobilização por ligação éster. Embora a velocidade da reação de hidrólise seja influenciada pelo pH do meio, sendo mais rápida em pH básico do que em ácido, essa reação ocorre em qualquer condição. Em pH ácido, há o problema da solubilidade do ibuprofeno, que impede o adequado registro da curva de liberação.

Os modelos cinéticos de Korsmeyer-Peppas e Higuchi são os que se mostraram mais apropriados para descrever o perfil de liberação do ibuprofeno nas matrizes de sílica preparadas, o que indica que a velocidade de liberação do fármaco é determinada, principalmente, pelo processo de difusão através dos poros.

## 7 - Perspectivas para Estudos Futuros

Por falta de tempo hábil, não foi possível verificar o perfil de liberação do ibuprofeno imobilizado por ligação amida. Entretanto, espera-se que essa ligação propicie um controle mais efetivo do processo de liberação controlado pela hidrólise, tendo em vista o fato desta ligação ser mais estável que a éster.

Uma outra abordagem que poderá ser explorada como estímulo ao processo de liberação do fármaco imobilizado por ligações éster e amida é a quebra dessas ligações por ação enzimática. Uma série de enzimas esterases e amidases presentes em organismos vivos podem atuar na quebra dessas ligações. Essas enzimas são comuns no citoplasma e em endossomos, o que pode propiciar um mecanismo que permite a liberação do fármaco transportado pelas partículas de sílica mesoporosa apenas quando elas forem internalizadas nas células.

Acredita-se que os procedimentos desenvolvidos no presente estudo para a imobilização do ibuprofeno por ligações covalentes possam ser utilizados na imobilização de outros tipos de fármacos e espécies químicas que contenham grupo ácido carboxílico em sua estrutura molecular, e com isso expandir os estudos para a produção de sistemas de liberação controlada e prolongada de fármacos para atuarem no tratamento específico de doenças como cânceres.

## 8 - Referências bibliográficas

- (1) Devadasu, V. R.; Bhardwaj, V.; Kumar, M. N. V. R. *Chem. Rev.* **2013**, *113* (3), 1686.
- (2) Centro de Combate ao Câncer <http://cccancer.net/tratamento/efeitos-colaterais/>.
- (3) Vallet-Regí, M.; Balas, F.; Arcos, D. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2007**, *46* (40), 7548.
- (4) Vocabulário Controlado de Formas Farmacêuticas, Vias de Administração e Embalagens de Medicamentos da ANVISA [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/497d908047458b5f952bd53fbc4c6735/vocabulario\\_controlado\\_medicamentos\\_Anvisa.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/497d908047458b5f952bd53fbc4c6735/vocabulario_controlado_medicamentos_Anvisa.pdf?MOD=AJPERES).
- (5) Anselmo, A. C.; Mitragotri, S. *J. Control. Release* **2014**, *190*, 15.
- (6) Zhang, L.; Gu F. X.; Chan J. M.; Wang, A. Z.; Langer, R. S.; Faroukhzard, O. C. *Clin. Pharmacol. Therapeutics* **2008**, *83*, 761.
- (7) Immordino, M. L.; Cattel, L. **2016**, No. April, 297.
- (8) Duncan, R.; Vicent, M. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65* (1), 60.
- (9) Lee, J. H.; Yeo, Y. *Chem. Eng. Sci.* **2015**, *125*, 75.
- (10) Kelkar, S. S.; Reineke, T. M. *Bioconjug. Chem.* **2011**, *22* (10), 1879.
- (11) Lammers, T.; Aime, S.; Hennink, W. E.; Storm, G.; Kiessling, F. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44* (10), 1029.
- (12) Shukla, R.; Bansal, V.; Chaudhary, M.; Basu, A.; Bhone, R. R.; Sastry, M. *Langmuir* **2005**, *21* (23), 10644.
- (13) Mieszawska, A. J.; Mulder, W. J. M.; Fayad, Z. A.; Cormode, D. P. **2013**.
- (14) Kumar, A.; Zhang, X.; Liang, X.-J. *Biotechnol. Adv.* **2012**, *31* (5), 593.
- (15) Mamaeva, V.; Sahlgren, C.; Lindén, M. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65* (5), 689.
- (16) Tarn, D.; Ashley, C. E.; Xue, M.; Carnes, E. C.; Zink, J. I.; Brinker, C. J. *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46* (3), 792.
- (17) Argyo, C.; Weiss, V.; Bräuchle, C.; Bein, T. **2013**.
- (18) Zhai, W.; He, C.; Wu, L.; Zhou, Y.; Chen, H.; Chang, J.; Zhang, H. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* **2012**, *100 B* (5), 1397.
- (19) Tao, Z. M.; Morrow, M. P.; Asefa, T.; Sharma, K. K.; Duncan, C.; Anan, A.; Penefsky, H. S.; Goodisman, J.; Souid, A. K. *Nano Lett.* **2008**, *8* (5), 1517.
- (20) 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.
- (21) McCusker, L. B. *Rev. Mineral. Geochemistry* **2005**, *57* (1), 1.
- (22) Van Der Voort, P.; Vercaemst, C.; Schaubroeck, D.; Verpoort, F. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *10* (3), 347.
- (23) Beck, J. S.; Vartuli, J. C.; Roth, W. J.; Leonowicz, M. E.; Kresge, C. T.; Schmitt, K. D.; Chu, C. T.-W.; Olson, D. H.; Sheppard, E. W.; McCullen, S. B.; Higgins, J. B.; Schlenkert, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, No. 114, 10834.
- (24) Hartmann, M. *Chem. Mater.* **2005**, *17* (18), 4577.
- (25) Davis, M. E. *Nature* **2002**, *417* (November), 813.

- (26) Meynen, V.; Cool, P.; Vansant, E. F. *Microporous Mesoporous Mater.* **2009**, *125* (3), 170.
- (27) Hoffmann, F.; Cornelius, M.; Morell, J.; Fröba, M. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, *45* (20), 3216.
- (28) Soler-Illia, G. J. D. A. A.; Sanchez, C.; Lebeau, B.; Patarin, J. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (11), 4093.
- (29) Stein, B. A.; Melde, B. J.; Schrodin, R. C. *October* **2000**, No. 19, 1403.
- (30) Vallet-Regi, M.; Rámila, A.; del Real, R. P.; Párez-Pariente, J. *Chem. Mater.* **2000**, *13* (2), 308.
- (31) Yokoi, T.; Kubota, Y.; Tatsumi, T. *Appl. Catal. A Gen.* **2012**, *421-422*, 14.
- (32) Chew, T. L.; Ahmad, A. L.; Bhatia, S. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2010**, *153* (1-2), 43.
- (33) Ma, Y.; Qi, L.; Ma, J.; Wu, Y.; Liu, O.; Cheng, H. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2003**, *229* (1-3), 1.
- (34) Izquierdo-Barba, I.; Vallet-Regí, M.; Kupferschmidt, N.; Terasaki, O.; Schmidtchen, A.; Malmsten, M. *Biomaterials* **2009**, *30* (29), 5729.
- (35) Walcarius, A.; Kuhn, A. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2008**, *27* (7), 593.
- (36) Lu, Y.; Ganguli, R.; Drewien, C.; Anderson, M. T.; Brinker, C.; Gong, W.; Guo, Y.; Soye, H.; Dunn, B.; Huang, M.; Zink, J. *Nature* **1997**, *389* (September), 364.
- (37) Kleitz, F.; Marlow, F.; Stucky, G. D.; Schüth, F. *Chem. Mater.* **2001**, *13* (10), 3587.
- (38) Kim, M.; Na, H.; Kim, Y.; Ryoo, S.; Cho, H. S.; Lee, K. E.; Al, K. I. M. E. T. *ACS Nano* **2011**, No. 5, 3568.
- (39) Lin, Y.-S.; Haynes, C. L. *J Am Chem Soc* **2010**, *132* (16), 4834.
- (40) Vivero-Escoto, J. L.; Slowing, I. I.; Trewyn, B. G.; Lin, V. S.-Y.; Slowing, I. I. *Small* **2010**, *6* (18), 1952.
- (41) Yamada, H.; Urata, C.; Aoyama, Y.; Osada, S.; Yamauchi, Y.; Kuroda, K. *Chem. Mater.* **2012**, *24* (8), 1462.
- (42) Liu, T.; Li, L.; Teng, X.; Huang, X.; Liu, H.; Chen, D.; Ren, J.; He, J.; Tang, F. *Biomaterials* **2011**, *32* (6), 1657.
- (43) Horcajada, P.; Rámila, A.; Párez-Pariente, J.; Vallet-Regí, M. *Microporous Mesoporous Mater.* **2004**, *68* (1-3), 105.
- (44) Balas, F.; Manzano, M.; Horcajada, P.; Vallet-Regí, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (25), 8116.
- (45) Horcajada, P.; Rámila, A.; Farey, G.; Vallet-Regí, M. *Solid State Sci.* **2006**, *8* (10), 1243.
- (46) Mortera, R.; Vivero-Escoto, J.; Slowing, I. I.; Garrone, E.; Onida, B.; Lin, V. S.-Y. *Chem. Commun. (Camb)*. **2009**, No. 22, 3219.
- (47) Meng, H.; Xue, M.; Xia, T.; Zhao, Y. L.; Tamanoi, F.; Stoddart, J. F.; Zink, J. I.; Nel, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (36), 12690.
- (48) Li, Q. L.; Xu, S. H.; Zhou, H.; Wang, X.; Dong, B.; Gao, H.; Tang, J.; Yang, Y. W. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7* (51), 28656.
- (49) Gai, S.; Yang, P.; Ma, P.; Wang, D.; Li, C.; Li, X.; Niu, N.; Lin, J. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21* (41), 16420.
- (50) Gan, Q.; Lu, X.; Yuan, Y.; Qian, J.; Zhou, H.; Lu, X.; Shi, J.; Liu, C. *Biomaterials* **2011**, *32* (7), 1932.
- (51) Lee, J. E.; Lee, N.; Kim, H.; Kim, J. H. J. H.; Choi, S. H.; Kim, T.; Song, I. C.; Park, S. P.; Moon, W. K.; Hyeon, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (2), 552.

- (52) Bloise, M.; Bizeto, M. *Trab. Conclusão Curso Avaliação Lib. Control. Fármacos Imobilizados nos Poros da MCM-41* **2013**.
- (53) Fonseca, L. C.; Faez, R.; Camilo, F. F.; Bizeto, M. A. *Microporous Mesoporous Mater.* **2012**, *159*, 24.
- (54) Marler, B.; Oberhagemann, U.; Vortmann, S.; Gies, H. *Microporous Mater.* **1996**, *6*, 375.
- (55) Ravikovitch, P. I.; Wei, D.; Chueh, W. T.; Haller, G. L.; Neimark, a. V. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101* (19), 3671.
- (56) Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7a ed.; Wiley Global Education, Ed.; 2005.
- (57) Kruk, M.; Jaroniec, M.; Sayari, A. *Chem. Mater.* **1999**, *11* (2), 492.
- (58) Costa, P.; Sousa Lobo, J. M. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, *13* (2), 123.
- (59) Bhaskar, S.; Tian, F.; Stoeger, T.; Kreyling, W.; de la Fuente, J. M.; Grazú, V.; Borm, P.; Estrada, G.; Ntziachristos, V.; Razansky, D. *Part. Fibre Toxicol.* **2010**, *7*, 3.
- (60) Kong, X.; Jin, L.; Wei, M.; Duan, X. *Appl. Clay Sci.* **2010**, *49* (3), 324.