

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE

MONIELLY VIOMAR MACHADO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*  
DE IBUPROFENATO INTERCALADO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES  
DISPERSOS EM MEMBRANAS DE QUITOSANA/ALGINATO**

GUARAPUAVA

2019

MONIELLY VIOMAR MACHADO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*  
DE IBUPROFENATO INTERCALADO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES  
DISPERSOS EM MEMBRANAS DE QUITOSANA/ALGINATO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual do Centro-Oeste, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Marangoni

Coorientador: Prof. Dr. Marins Danczuk

GUARAPUAVA

2019

Catálogo na Publicação  
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Cedeteg

M149s

Machado, Monielly Viomar

Síntese, caracterização e estudos de liberação in vitro de ibuprofenato intercalado em hidróxidos duplos lamelares dispersos em membranas de quitosana/alginato / Monielly Viomar Machado. – – Guarapuava, 2019

xiv, 93 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, 2019

Orientador: Rafael Marangoni

Coorientador: Marins Danczuk

Banca examinadora: Eryza de Castro Guimarães, Fernando Wypych, Rafael Marangoni

Bibliografia

1. Química. 2. Hidróxidos duplos lamelares. 3. Biomateriais poliméricos. 4. Membranas híbridas. 5. Liberação controlada de fármacos. 6. Ibuprofeno. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Química.

CDD 542

**MONIELLY VIOMAR MACHADO**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS DE LIBERAÇÃO IN VITRO DE  
IBUPROFENATO INTERCALADO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES  
DISPERSOS EM MEMBRANAS QUITOSANA/ALGINATO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 22 de fevereiro de 2019.

  
Prof. Dr. Fernando Wypych - UFPR

  
Prof. Dr. Eryza Guimarães de Castro - UNICENTRO

  
Prof. Dr. Rafael Viarangoni  
Orientador

GUARAPUAVA-PR

2019

Dedico esta dissertação à toda a minha família e especialmente à minha mãe Maria Raquel Viomar, por todo apoio, carinho e dedicação a mim em todos os momentos da minha vida e também no tempo em que estive desenvolvendo este trabalho.

Também dedico ao meu orientador Prof. Dr. Rafael Marangoni por confiar em meu trabalho desde a graduação e perpetuando no mestrado, pela sua competência e atenção.

## AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, benção e proteção.

À minha mãe Maria Raquel Viomar, por todo apoio, incentivos, confiança dedicados a mim neste período.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rafael Marangoni pela confiança e incentivos frente as dificuldades e principalmente pela amizade.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Marins Danczuk por todo incentivo e motivação na realização deste trabalho.

À colega de pós-graduação Dr<sup>a</sup>. Silvia Jaerger pela colaboração e análises de DRX realizadas na UFPR.

Ao Prof. Dr. Leandro Zatta pelas análises de ATR realizadas na UTFPR de Pato Branco.

À colega Patrícia C. Oliveira pelas análises de DSC/TGA realizadas no Laboratório de Física Aplicada em Materiais na UNICENTRO.

E aos demais colegas do laboratório LabMat que de alguma forma contribuíram no desenvolvimento do trabalho.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, e com os demais órgãos de fomento (CNPq – projeto nº 455906/2014-9 e Finep).

Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas,  
mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.

**Carl Jung**

Quando a dor do próximo não lhe afeta,  
quem precisa de ajuda é você.

**Roniere Miranda**

## RESUMO

Os hidróxidos duplos lamelares (HDLs) de Zn/Al nas razões molares 2:1 e 3:1 intercalados com o fármaco Ibuprofeno (reagente de grau farmacológico) foram sintetizados pelo método de co-precipitação a pH constante. Esses compostos lamelares foram caracterizados pelas técnicas instrumentais DRX, FTIR e TGA/DSC, as quais comprovaram a formação dos HDLs contendo o fármaco intercalado pelo deslocamento para menores ângulos em  $2\theta$  do pico basal referente ao plano (003) e pela presença dos picos referentes aos planos (012) e (110), característicos para compostos lamelares observados pela técnica de DRX, estiramentos e deformações angulares característicos do fármaco que se encontra intercalado observado pela técnica de FTIR e foi possível estimar a fórmula geral dos HDLs obtidos através dos resultados de TGA/DSC. Depois de devidamente caracterizados, foram realizados testes de liberação *in vitro* dos HDLs nos meios de água destilada e solução tampão fosfato (PBS), onde foi possível observar a liberação mais lenta do fármaco para o meio. Assim, os HDLs sintetizados foram adicionados às membranas de quitosana/alginato, sendo a quitosana utilizada de grau farmacológico, visando a utilização de reagentes de baixo custo. Nos testes de liberação *in vitro* dos HDLs contidos nas membranas, foi possível observar aumento na insolubilidade do fármaco que se encontra intercalado no espaço interlamelar desses HDLs, sendo esse aumento na insolubilidade observado na porcentagem de liberação do fármaco ser inferior à porcentagem de liberação do fármaco nas amostras livres e visualmente pela translucidez das membranas. Foram obtidas as seguintes porcentagens de liberação 15,48 % e 17,5 % do fármaco em água, e 23,22 % e 26,25 % do fármaco em solução tampão PBS, respectivamente para as amostras das membranas contendo os HDLs Zn/Al-IBU 2:1 e Zn/Al-IBU 3:1. Sendo assim, as membranas híbridas sintetizadas (quitosana/alginato – HDLs-Ibuprofeno) são bastante promissoras na aplicação como enxerto ósseo aloplástico com liberação lenta de fármacos.

**Palavras-chaves:** Hidróxidos duplos lamelares, biomateriais poliméricos, membranas híbridas, liberação controlada de fármacos, ibuprofeno.



## ABSTRACT

The layered double hydroxides (LDH) of Zn/Al in molar ratio 2:1 and 3:1 intercalated with the drug Ibuprofen (pharmacological grade reagent) were synthesized by the co-precipitation method at constant pH. These layered compounds were characterized by the XRD, FTIR and TGA/DSC instrumental techniques, which have shown the formation of the LDH containing the drug intercalated by the displacement to smaller angles in  $2\theta$  of the basal peak referring to the plane (003) and by the presence of the peaks referring to the (012) and (110), characteristic for layered compounds, observed by the XRD technique, characteristic stretching and bending deformations for the intercalated drug was observed by the FTIR technique, and it was possible to estimate the general formula for the LDH obtained through the results of TGA/DSC. After the LDH/IBU was characterized, the *in vitro* release of LDH in distilled water and phosphate buffer solution (PBS) were performed, where was observed the slower release of the drug into the medium. Thus, the synthesized LDH were added to the chitosan/alginate membranes, where the chitosan used was pharmacological grade, aiming at the use of low-cost reagents. In the *in vitro* release tests of the LDH contained in the membranes, it was possible to observe an increase in the insolubility of the drug that is intercalated in the interlayer space of these LDH, this increase in insolubility observed because the percentage of drug release was lower than the percentage of release of the drug in the free samples and visually by the translucency of the membranes. Thus, the following percentages of release 15,48% and 17,5% of the drug in water and 23,22% and 26,25% of the drug in PBS buffer respectively for the membranes samples containing the LDH Zn/Al-IBU 2:1 and Zn/Al-IBU 3:1. Thus, the synthesized hybrid membranes (chitosan/alginate - LDH-Ibuprofen) are very promising in the application as alloplastic bone graft with controlled release of drugs.

**Keywords:** Layered double hydroxides, polymeric biomaterials, hybrid membranes, controlled release of drugs, ibuprofen.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Esquema de uma prótese implantossuportada .....	18
<b>Figura 2</b> - Esquema de um implante ósseo integrado .....	18
<b>Figura 3</b> - Esquema de um enxerto aloplástico de revestimento .....	19
<b>Figura 4</b> - Esquema de uma membrana sintética associada .....	19
<b>Figura 5</b> - Representação estrutural da quitosana .....	21
<b>Figura 6</b> - Reação de desacetilação da quitina .....	22
<b>Figura 7</b> - Representação estrutural do alginato .....	23
<b>Figura 8</b> - Representação estrutural do glutaraldeído .....	25
<b>Figura 9</b> - Representação estrutural do etilenoglicol .....	26
<b>Figura 10</b> - Esquema dos tipos de compósitos que podem ser obtidos entre a interação entre um polímero e um material lamelar .....	27
<b>Figura 11</b> - Direções cristalográficas em um material lamelar genérico (Visão superficial de duas lamelas sobrepostas) .....	29
<b>Figura 12</b> - Estrutura da Brucita, (a) visão lateral e (b) visão da superfície. Átomos de hidrogênio e oxigênio foram removidos da estrutura para facilitar a visualização .....	30
<b>Figura 13</b> - Estrutura e nomenclatura de um HDL genérico com polítipo 3R .....	31
<b>Figura 14</b> - Representação dos polítipos (a) 3R, (b) 2H e (c) 1H para os HDLs. Os ânions e hidroxilas não estão representados para melhor visualização .....	32
<b>Figura 15</b> - Representação estrutural dos dois enantiômeros do Ibuprofeno (A) R-(-)-Ibuprofeno e (B) S-(+)-Ibuprofeno .....	34
<b>Figura 16</b> - Esquema ilustrativo da variação da concentração de Ibuprofeno quando (a) administrado pelo sistema tradicional com multidosagens/tempo e (b) pelo sistema de liberação controlada .....	37

<b>Figura 17</b> - Fluxograma para o método de síntese dos HDLs intercalados com Ibuprofeno .....	40
<b>Figura 18</b> - Fluxograma para a síntese das membranas híbridas .....	42
<b>Figura 19</b> - Aparato experimental utilizado para a realização dos testes de liberação <i>in vitro</i> .....	44
<b>Figura 20</b> - Difratoograma de raios X para o Ibuprofeno .....	45
<b>Figura 21</b> - Espectro de infravermelho para o Ibuprofeno .....	46
<b>Figura 22</b> - Espectro na região do ultravioleta do Ibuprofeno .....	47
<b>Figura 23</b> - Curva de análise térmica (TGA e DSC) do Ibuprofeno .....	47
<b>Figura 24</b> - Imagem de microscopia eletrônica de varredura do Ibuprofeno, com ampliação de 1000x .....	48
<b>Figura 25</b> - Espectro de infravermelho para a quitosana .....	49
<b>Figura 26</b> - Difratoograma de raios X para a quitosana .....	50
<b>Figura 27</b> - Curva de análise térmica (TGA e DSC) da quitosana .....	51
<b>Figura 28</b> - Imagem de microscopia eletrônica de varredura para a quitosana, com ampliação de 200x .....	51
<b>Figura 29</b> – Espectro de infravermelho do alginato .....	53
<b>Figura 30</b> – Difratoograma de raios X do alginato .....	54
<b>Figura 31</b> - Curva de análise térmica (TGA e DSC) do alginato .....	55
<b>Figura 32</b> - Imagens de microscopia eletrônica de varredura do alginato, com ampliação de (a) 200x e (b) 1000x .....	55
<b>Figura 33</b> - Difratoogramas de raios X do (a) Ibuprofeno, (b) HDL Zn/Al-IBU 2:1 e (c) Zn/Al-IBU 3:1 .....	57
<b>Figura 34</b> - Representação esquemática da estrutura do HDL Zn/Al-IBU 3:1 .....	58
<b>Figura 35</b> - Espectros de infravermelho para (a) o Ibuprofeno, (b) HDL Zn/Al-IBU 2:1 e (c) HDL Zn/Al-IBU 3:1 .....	59

<b>Figura 36</b> - Curva de análise térmica (TGA e DSC) do HDL Zn/Al-IBU 2:1 .....	61
<b>Figura 37</b> - Curva de análise térmica (TGA e DSC) do HDL Zn/Al-IBU 3:1 .....	62
<b>Figura 38</b> - Imagens de microscopia eletrônica de varredura para os HDLs (a) Zn/Al-IBU 2:1 e (b) Zn/Al-IBU 3:1, com ampliação de 1000x .....	63
<b>Figura 39</b> - Membrana de quitosana/alginato solubilizada em Ácido Acético/Acetona .....	64
<b>Figura 40</b> - Membrana de quitosana solubilizada em HCl (0,1 molL <sup>-1</sup> ) .....	64
<b>Figura 41</b> - Membrana quitosana/alginato solubilizada em HCl (0,1 molL <sup>-1</sup> ) .....	65
<b>Figura 42</b> - Membrana quitosana/alginato obtida após os processos de imersões ..	65
<b>Figura 43</b> - Membrana quitosana/alginato contendo Ibuprofeno .....	66
<b>Figura 44</b> - Membrana quitosana/alginato contendo Ibuprofeno solubilizado em etanol (50 %v/v) .....	66
<b>Figura 45</b> - Membrana quitosana/alginato contendo HDL Zn/Al-IBU 2:1 .....	66
<b>Figura 46</b> - Membrana quitosana/alginato contendo HDL Zn/Al-IBU 3:1.....	66
<b>Figura 47</b> - Difractogramas de raios X dos polímeros (a) alginato, (b) quitosana, (c) membrana quitosana/alginato sem reticulante e (d) membrana de quitosana/alginato com reticulante .....	67
<b>Figura 48</b> - Difractogramas de raios X para as membranas quitosana/alginato contendo (a) Ibuprofeno, (b) HDL Zn/Al-IBU 2:1 e (c) HDL Zn/Al-IBU 3:1 .....	68
<b>Figura 49</b> - Curva de TGA/DSC da membrana quitosa/alginato com reticulante .....	69
<b>Figura 50</b> - Curva de TGA/DSC da membrana quitosana/alginato contendo Ibuprofeno .....	70
<b>Figura 51</b> - Curva de TGA/DSC da membrana quitosana/alginato contendo HDL Zn/Al-IBU 2:1 .....	71
<b>Figura 52</b> - Curva de TGA/DSC da membrana quitosana/alginato contendo HDL Zn/Al-IBU 3:1 .....	72
<b>Figura 53</b> - Curva de calibração para o Ibuprofeno solubilizado em água .....	73

<b>Figura 54</b> - Curva de calibração para o Ibuprofeno solubilizado em solução PBS ...	73
<b>Figura 55</b> - Perfis de liberação <i>in vitro</i> das amostras em água destilada .....	74
<b>Figura 56</b> - Perfis de liberação <i>in vitro</i> das amostras em solução PBS .....	75
<b>Figura 57</b> - Perfis de liberação <i>in vitro</i> das membranas em água destilada .....	76
<b>Figura 58</b> - Perfis de liberação <i>in vitro</i> das membranas em solução PBS .....	77
<b>Figura 59</b> - Curva da titulação potenciométrica da quitosana e sua primeira derivada .....	93

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Produtos já existentes no mercado à base de quitosana .....	22
<b>Tabela 2</b> - Módulo de Análise Química (EDS) da quitosana .....	52
<b>Tabela 3</b> - Módulo de Análise Química (EDS) para os HDLs Zn/Al-IBU .....	63
<b>Tabela 4</b> - Parâmetros experimentais para o preparo das membranas quitosana e alginato .....	90

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	19
2.1	IMPLANTODONTIA E ENXERTOS ÓSSEOS ALOPLÁSTICOS .....	19
2.2	BIOMATERIAIS POLIMÉRICOS.....	21
2.2.1	Quitosana.....	22
2.2.2	Alginato .....	24
2.2.3	Reticulantes.....	25
2.2.4	Plastificantes .....	26
2.3	COMPÓSITOS POLIMÉRICOS .....	27
2.4	COMPOSTOS LAMELARES.....	29
2.4.1	Hidróxidos duplos lamelares.....	30
2.5	CONTROLE DA DOR NO PÓS-OPERATÓRIO EM IMPLANTODONTIA.....	34
2.5.1	Analgésicos antiinflamatórios não esteroidais (AINES) .....	34
2.5.2	Ibuprofeno.....	35
2.6	LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS.....	36
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	39
3.1	OBJETIVO GERAL.....	39
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	40
4.1	REAGENTES UTILIZADOS.....	40
4.2	SÍNTESE DOS HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES INTERCALADOS COM IBUPROFENO .....	40
4.3	PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS HÍBRIDAS DE QUITOSANA/ALGINATO.....	42
4.4	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO .....	43
4.5	TESTE DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	44
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	46

5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS REAGENTES PRECURSORES – IBUPROFENO, QUITOSANA E ALGINATO .....	46
5.1.1	Caracterização do Ibuprofeno .....	46
5.1.2	Caracterização da quitosana .....	49
5.1.3	Caracterização do alginato .....	53
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS HDLs-IBU .....	57
5.3	PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS HÍBRIDAS .....	65
5.4	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS HÍBRIDAS .....	68
5.5	TESTES DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	74
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>80</b>
<b>7</b>	<b>ETAPAS FUTURAS</b> .....	<b>81</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>82</b>
<b>9</b>	<b>APÊNDICE</b> .....	<b>88</b>
9.1	LAUDO TÉCNICO DO IBUPROFENO.....	88
9.2	LAUDO TÉCNICO DA QUITOSANA.....	90
<b>10</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>91</b>
10.1	METODOLOGIA PARA A PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS QUITOSANA/ALGINATO PROPOSTA NO PROJETO DE PESQUISA.....	91
10.2	DETERMINAÇÃO DO GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA.....	93



## 1 INTRODUÇÃO

Existem várias razões clínicas para o desenvolvimento de materiais ósseos na reconstrução de defeitos, incluindo a necessidade de implantes ósseos na odontologia que sejam mais adequados ao seu ambiente biológico. Os métodos tradicionais para a reparação destes defeitos geralmente incluem enxertos autólogos (provenientes do mesmo paciente), homólogos (provenientes de outros indivíduos da mesma espécie) e xenogênicos (provenientes de indivíduos de espécies diferentes – ex.: bovino). Os métodos tradicionais para reparação desses defeitos podem ser ineficientes, uma vez que os enxertos ósseos são avasculares e dependentes de difusão e a reabsorção óssea é um processo imprevisível, o enxerto pode ser reabsorvido pelo corpo antes da osteogênese ser completa. [1, 2, 3] Outro fator muito importante que limita a utilização desses enxertos é devido ao tamanho do defeito, a viabilidade do leito hospedeiro, pois muitas vezes o tecido doador é escasso, tornando o procedimento dispendioso e podendo ocorrer significativa morbidade local, associada à dor, infecção e hematomas, que podem provocar uma diminuição ou perda total dos fatores indutores do crescimento ósseo. [4, 5, 6]

Para minimizar esses problemas, substitutos ósseos vêm sendo estudados, que possuam melhores propriedades físicas, químicas e mecânicas do que as usadas atualmente e sem a necessidade de criar um sítio doador. Esses materiais alternativos podem ser cerâmicos, poliméricos, metálicos e compósitos, denominados enxertos aloplásticos. Diante disso, a engenharia tecidual óssea busca um material que funcione como *scaffold* (matriz acelular), biocompatível, bioreabsorvível e que induzem a formação óssea a partir do tecido circundante, agindo ainda como um transportador ou modelo para células ósseas no local deficiente. [7-10]

Além da biocompatibilidade e regeneração óssea, outra necessidade encontrada é no controle da dor pós-operatória em cirurgias de enxertos ósseos de grande extensão, acentuando na área de odontologia, sendo o problema da dor é maior que em outras especialidades médicas. Como causa desse tipo de dor orofacial tem-se a reação inflamatória periodontal primária devido ao trauma cirúrgico na região periapical, onde a dor pode ser contínua e pulsátil por um tempo prolongado, geralmente em conjunto com a formação de abscessos e pirexia. A dor, assim como o

processo inflamatório e piroxia, são fenômenos biológicos importantes na defesa do organismo, e considerada comum em qualquer caso cirúrgico, porém, desconfortável para o indivíduo acometido e com possível desenvolvimento de patologias, necessitando de terapêutica sintomática com a utilização de medicamentos analgésicos não opióides (AINES – Analgésicos e antiinflamatórios não esteroidais) – como o Ibuprofeno - e em algumas situações, associadas com opióides. [11, 12]

Geralmente esses medicamentos são receitados para administração via oral, porém em casos pós-cirúrgicos há a necessidade de administração em várias doses diárias para o alívio dos sintomas. Devido às altas doses, ocorre efeitos colaterais como problemas gástricos, podendo se agravar à úlceras, problemas pró-trombóticos que podem levar a problemas cardiovasculares, decorrentes do uso contínuo desses medicamentos. [13, 14, 15]

Todos estes fatores delinearão a pesquisa no sentido de desenvolver sistemas de liberação controlada de fármacos, sofisticando seu sistema de transporte, contando com diferentes métodos de síntese e processos matriciais que fossem capazes de permitir a liberação de princípios ativos em velocidade predeterminadas durante um intervalo de tempo pré-estabelecido, sendo seu comportamento dependente do meio onde ele é administrado. Este método faz com que necessite de menores administrações, apresentando uma concentração plasmática constante da droga, diminuindo os níveis de toxicidade que são comuns nos métodos de administração tradicionais. [16, 17]

Diversos sistemas para liberação controlada de fármacos têm sido estudados e descritos, comparando suas vantagens e desvantagens, e sendo classificados em quatro grupos principais: carregadores virais, compostos catiônicos orgânicos, proteínas recombinantes e nanopartículas inorgânicas. Os hidróxidos duplos lamelares (HDLs) podem se enquadrar no grupo das nanopartículas inorgânicas e são promissores nessa área, pois apresentam baixa toxicidade, biocompatibilidade e também altamente promissores para promover a liberação controlada de fármacos (que podem ser os antiinflamatórios não esteroidais). A liberação controlada dos HDLs ocorre devido a dissolução da matriz lamelar em função do ataque ácido ou de uma reação de troca aniônica. [18, 19, 20]

Neste trabalho, o uso do AINES Ibuprofeno intercalado em um HDL tem como objetivo a liberação lenta do fármaco no sítio de inserção do enxerto aloplástico odontológico, disperso em uma membrana híbrida composta de quitosana e alginato, onde esta membrana promoverá a regeneração óssea do local deficiente. Aliando maior eficácia no controle dos sintomas do pós-operatório juntamente com regeneração óssea mais rápida, promovendo então maior rapidez em casos cirúrgicos de enxertos ósseos.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 IMPLANTODONTIA E ENXERTOS ÓSSEOS ALOPLÁSTICOS

A perda dentária, por qualquer que seja a causa (trauma ou doenças no tecido periapical), é normalmente acompanhada de uma reabsorção óssea, que pode ser em maior ou menor grau, do osso alveolar, podendo impedir a ancoragem ou comprometer a estética de uma prótese implantossuportada (Figura 1). A implantodontia é o nome da especialidade odontológica que visa personalizar um conjunto de técnicas empregadas para implantar ou reimplantar dentes utilizando o implante ósseo integrado. [21]

**Figura 1:** Esquema de uma prótese implantossuportada.



Fonte: <http://blog.dentalcremer.com.br/proteses-implantossuportadas-cimentadas-ou-parafusadas-criterios-que-podem-nortear-a-escolha> (2018).

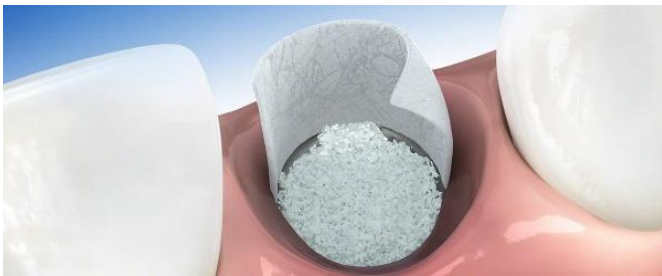
**Figura 2:** Esquema de um implante ósseo integrado.



Fonte: <http://clinicaallere.com.br/enxerto-osseo-em-brasilia> (2018).

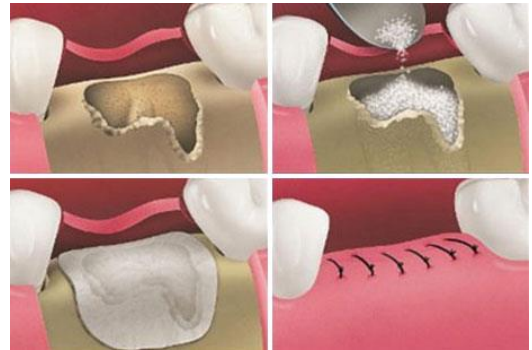
Nos últimos anos, a utilização de substitutos ósseos foi amplamente descrita pela literatura. Esses materiais são denominados enxertos ósseos aloplásticos, utilizados em cirurgia pré-implantar de forma a revestir a prótese implantossuportada agindo como suporte (Figura 3), favorecendo o crescimento ósseo ao redor do implante e com isso melhor fixação do implante no osso alveolar. Também é utilizado como membrana associada a outro tipo de enxerto (Figura 4), que pode ser autólogo, homólogo ou xenogênico, que funciona como uma barreira que se opõe a proliferação epitélioconjuntiva e favorece dessa forma o crescimento ósseo. [22, 23, 24]

**Figura 3:** Esquema de um enxerto aloplástico de revestimento.



Fonte: <http://chedidodonto.com.br/qual-e-a-finalidade-do-enxerto-osseo-para-o-implante-dentario> (2018).

**Figura 4:** Esquema de uma membrana sintética associada.



Fonte: <https://www.imagenesmy.com/imagenes/implant-bone-graft-98.html> (2018).

Esses materiais são subdivididos em reabsorvíveis ou não reabsorvíveis, e vem ganhando cada vez mais aceitação no mercado em razão do fácil uso, manipulação e por diminuir a morbidade do sítio doador do enxerto. Outros benefícios são a diminuição do tempo cirúrgico, além de múltiplos tamanhos e formatos disponíveis. Como desvantagens, esses tipos de materiais correm o risco de rejeição seguida de infecção, com necessidade de nova intervenção cirúrgica. Nesses casos, materiais reabsorvíveis são preferidos, pois estudos mostram que alguns materiais não reabsorvíveis podem causar lesões a longo prazo. [24]

Dentre os materiais mais comumente utilizados incluem: cerâmicas (hidroxiapatita), cimentos (beta-fosfato-tricálcio,  $\beta$ -TCP), polímeros, vidros bioativos (45% de sílica, 24,5% de óxido de cálcio, 24,5% óxido dissódico e 6% de pirofosfato) e metais (titânio e malha metálica). Na classe dos polímeros para esta aplicação, as primeiras membranas utilizadas com sucesso em regeneração óssea guiada eram de

politetrafluoroetileno expandido (e-PTFE) e não reabsorvível, necessitando de sua remoção. Esses inconvenientes levaram ao desenvolvimento de membranas reabsorvíveis, sendo os mais utilizados: colágeno de origem suína ou sob a forma de polímeros, de ácido polilático (PLA), polimetilmetacrilado coberto por hidróxido de cálcio (PMMA), poliidroxiethylmetacrilato (PHMEMA ou HTR), ácido poliglicólico (PGA), ácido polihidroxi-butirato (PHB) e pellicaprolactona (PCL). [21, 25]

## 2.2 BIOMATERIAIS POLIMÉRICOS

Os polímeros, também chamados de macromoléculas, são constituídos por um grande número de unidades moleculares que estão ligadas entre si por ligações covalentes. Segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) um polímero é definido como: “uma substância composta de moléculas caracterizada por uma repetição múltipla de uma ou mais espécies de átomos ou grupos de átomos (unidade constitucional), ligadas umas nas outras em quantidades suficientes formando um conjunto de propriedades, que não variam com a adição ou remoção de uma ou algumas unidades constitucionais”.

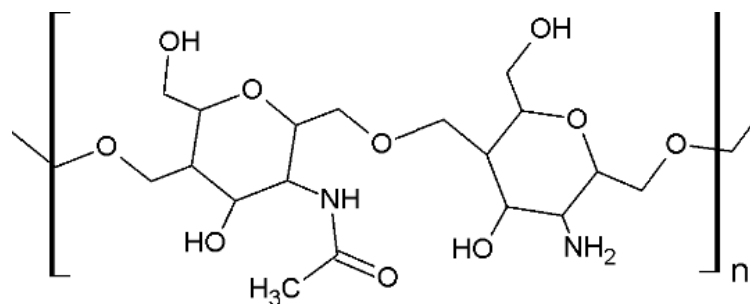
Os polímeros podem ser classificados como naturais e sintéticos, os polímeros naturais, também chamados de biopolímeros, são formados na natureza durante o ciclo de alguns organismos envolvendo processos catalisados por enzimas e crescimento das cadeias por reações de polimerização (ex.: amido, celulose, quitina e polipeptídeos com o colágeno). Os polímeros sintéticos correspondem ao agrupamento de monômeros por reações de polimerização (adição ou condensação) formando macromoléculas (ex.: poliésteres, poliamidas, poliuretanas, entre outros). [26]

O que caracteriza um polímero com um biomaterial é a sua principal característica de biodegradabilidade. Os polímeros sintéticos são geralmente degradados por hidrólise simples, enquanto que os polímeros naturais são principalmente degradados enzimaticamente. Ambos os polímeros têm sido utilizados pela engenharia tecidual para o desenvolvimento moldes tridimensionais para confecção de cartilagens, ligamentos, e entre outras aplicações. [27]

### 2.2.1 Quitosana

A quitosana (Figura 5) é um biopolímero com uma estrutura química única formando um polímero linear em meio ácido, com elevada densidade de carga e de grupos reativos, assim como inúmeras ligações de hidrogênio. Estas características permitem que exiba uma excelente biocompatibilidade que seja facilmente processada. [28]

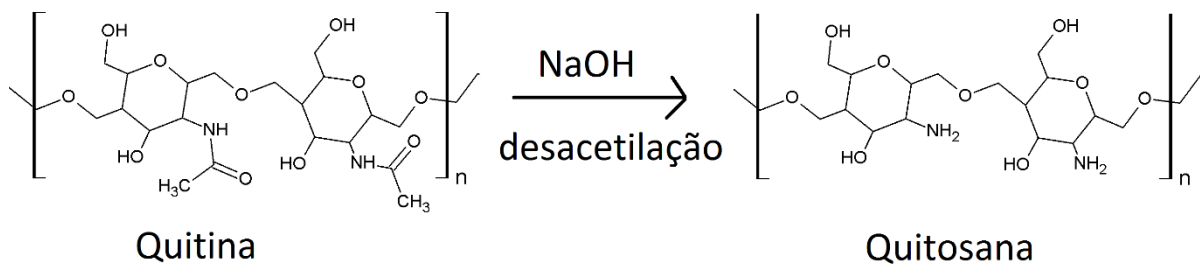
**Figura 5:** Representação estrutural da quitosana.



Fonte: O autor (2017).

Para a produção da quitosana, é utilizado como matéria prima a quitina, que existe abundantemente na natureza como componentes estrutural do exoesqueleto de artrópodes (incluindo crustáceos e insetos), diatomáceas, algas e paredes celulares de alguns fungos. Para processamento industrial, a fonte de quitina é obtida das cascas de crustáceos e micélios fúngicos. A sua extração envolve a remoção ácida do carbonato de cálcio (desmineralizado) e desproteinização em solução básica quente. [29, 30]

Entretanto, a quitina tem pouca funcionalidade por ser pouco solúvel (em água e na maioria dos solventes orgânicos) e pouco reativa. No entanto, a sua estrutura pode ser modificada através da remoção parcial dos grupos acetila que se encontram ligados a radicais amina produzindo um derivado desacetilado, reação denominada desacetilação alcalina (Figura 6). Sendo formado a quitosana, um material com propriedades químicas importantes, como reatividade em diferentes meios e com diferentes materiais, como orgânicos e inorgânicos. [30,31]

**Figura 6:** Reação de desacetilação da quitina.

Fonte: O autor (2017).

A quitosana é um polissacarídeo linear, composto de unidades de glicosamina e N-acetil-glicosamina, unidas por ligações glicosídicas  $\beta$  (1-4), conforme esquematizado na Figura 5, sendo encontrada na natureza em pequenas quantidades em muitos tipos de fungos. Quando a fração de grupos amina acetilados é reduzida para 35 ~ 40%, copolímero resultante é denominado quitosana. A quitosana é assim caracterizada pelo seu peso molecular (PM) e grau de desacetilação (%GD), onde é comercializada com grau desacetilação >85% e peso molecular compreendido entre 100-1000 kDa. [31, 32]

Dentre as inúmeras propriedades biológicas descritas para a quitosana, a capacidade antioxidante, antimicrobiana, inibição de formação de biofilmes, anti-inflamatória e cicatrizante são talvez as mais relevantes para a odontologia. Atualmente existem diversas aplicações da quitosana na odontologia (Tabela 1), sendo mais comumente utilizada nos consultórios como na forma de cimentos e cones endodônticos para o tratamento de canal, devida as suas propriedades antiinflamatórias e de regeneração tecidual. [33-46]

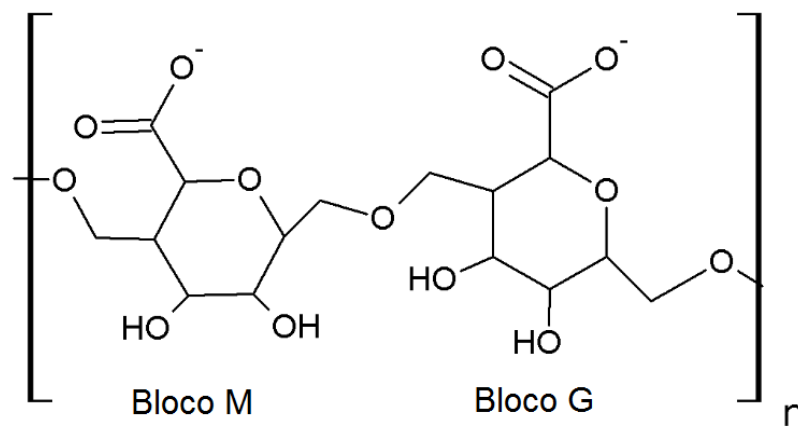
**Tabela 1:** Produtos já existentes no mercado à base de quitosana.

<b>Produto</b>	<b>Ação proposta</b>
Gel de quitosana	Tratamento de periodontite crônica
Hidrogéis	Tratamento de aftas
Filmes	Atividade antifúngica
Micropartículas quitosana/flúor	Proteção a cáries
Cimentos endodônticos e cones	Regeneração tecidual, ação anti-inflamatória e material de obturação dos canais radiculares
Colutórios	Redução da placa bacteriana

### 2.2.2 Alginato

O alginato é um copolímero linear constituído de ácidos  $\alpha$ -L-gulurônicos e  $\beta$ -D-manurônicos com ligações 1-4 (Figura 7). O material varia extensamente em termos de sua proporção entre os resíduos manurônicos (Bloco M) e gulurônicos (Bloco G), bem como em sua estrutura sequencial e grau de polimerização. Desta forma, o material pode apresentar sequências alternadas de resíduos MG e blocos constituídos de dois ou mais resíduos M ou G. É atualmente obtido de algas marrons coletadas em regiões costeiras no mar, podendo constituir até 40% da massa seca destas algas. [47]

**Figura 7:** Representação estrutural do alginato.



Fonte: O autor (2017).

O alginato é utilizado em aplicações na área médica, sendo utilizado com excipiente de liberação de medicamentos, curativos inteligentes, bem como materiais de impressão dental já são conhecidos. O biopolímero a base de alginato é usado na elaboração de hidrogel, material utilizado em engenharia tecidual e óssea. [48]

Estudos recentes avaliam o potencial de estruturas homopoliméricas de Alginato. Entre as aplicações reportadas na literatura para estes materiais, está o estímulo às células do sistema imune, como citoquinas. Estruturas constituídas somente de grupos gulurônicos foram propostas para o tratamento de pacientes portadores de fibrose cística em função de sua capacidade de modificar as características reológicas da mucina. [48, 49]

O alginato tem sido também utilizado em combinação com outros materiais principalmente nas áreas biotecnológica e biomédica. Compósitos de alginato como



alginato-PEGAc (alginato de polietilenoglicol acrilato), um gel que combina as propriedades do alginato com as características mucoadesivas do polietileno glicol, demonstram que o material não apresenta citotoxicidade. Os estudos demonstraram o potencial terapêutico deste material na promoção da angiogênese, bem como na engenharia tecidual. [49]

Os alginatos são de grande interesse como potencial componente estrutural de filmes e coberturas por causa de suas propriedades coloidais únicas. É o único polissacarídeo que contém, naturalmente, grupos carboxílicos em cada constituinte residual, e possui várias habilidades funcionais. A propriedade mais utilizada é sua habilidade de reagir com cátions polivalentes, especialmente íons cálcio, para produzir géis fortes ou polímeros insolúveis. [50]

### 2.2.3 Reticulantes

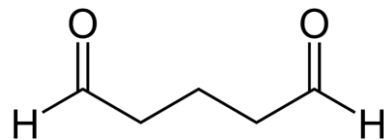
A reticulação de cadeias poliméricas, processo também denominado de reação de entrecruzamento, é um tipo de modificação química que visa unir as cadeias poliméricas de um polímero, ou ainda, ligar suas cadeias às de outros polímeros, gerando redes poliméricas híbridas. Esse procedimento ocorre por meio da reação entre sítios reativos específicos presentes nas unidades estruturais dos polímeros e de alguns reagentes reticulantes. No caso da quitosana, os sítios mais reativos são os grupos amino e hidroxilas das unidades glicosamina e N-acetil-glicosamina, e para o alginato os sítios reativos são os grupos ácidos e as hidroxilas do anel glicosídico. [51]

Reações de reticulação visam principalmente modificar determinadas propriedades do biopolímero, tais como, estabilidades química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor, eficiência em quelação e capacidade de imobilização proteica e celular. [52]

A maior parte dos processos de reticulação une covalentemente as cadeias poliméricas por meio de mecanismo reacionais distintos e dependentes do tipo de agente de entrecruzamento empregado. Essas reações ocorrem unindo de forma permanente sítios reativos de cadeias poliméricas diferentes através de ligações

intermoleculares, ou regiões distintas de uma mesma cadeia por meio de ligações intramoleculares. O agente reticulante glutaraldeído (Figura 8) se reticula com a quitosana via adição nucleofílica na amina da quitosana à carbonila do glutaraldeído. [51, 52]

**Figura 8:** Representação estrutural do glutaraldeído.



Fonte: O autor (2018).

#### 2.2.4 Plastificantes

Alguns filmes poliméricos são quebradiços e dependendo da espessura final, podem tornar-se ainda mais frágeis e assim, a adição de plastificantes pode melhorar esta característica. [53]

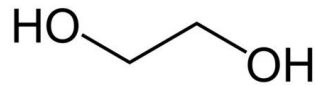
A IUPAC definiu um plastificante como uma substância incorporada em um material como o intuito de melhorar sua flexibilidade e funcionalidade. Estas substâncias reduzem a tensão de deformação, dureza, viscosidade, ao mesmo tempo que aumenta a flexibilidade e resistência à fratura. O baixo peso molecular do plastificante permite que este ocupe espaços intermoleculares entre as cadeias dos polímeros, reduzindo as forças secundárias entre eles. Uma vez que o grau de plastificação de um polímero está diretamente relacionado à estrutura química do plastificante, uma mudança no tipo e na concentração irá afetar as propriedades finais dos filmes, membranas ou blends. [54 55, 56]

Vários tipos de agentes plastificantes podem ser adicionados, como os oligossacarídeos (glicose, sacarose), lipídios (ácidos graxos saturados, monoglicerídeos e surfactantes) e os polióis (glicerol, sorbitol, etilenoglicol). Dentre eles, os polióis são os mais utilizados para filmes de polissacarídeos e atuam aumentando a flexibilidade provavelmente pela redução das interações polímero-polímero, tornando o manuseio do filme mais fácil. [57]

O etilenoglicol (Figura 9) atua na substituição das ligações polímero-polímero pelas ligações de hidrogênio formadas entre as cadeias do polissacarídeo e os grupos

OH do plastificante, levando a formação de filmes menos quebradiços e com maior flexibilidade. [58]

**Figura 9:** Representação estrutural do etilenoglicol.



Fonte: O autor (2018).

### 2.3 COMPÓSITOS POLIMÉRICOS

Os compósitos poliméricos são misturas de materiais, no qual um dos materiais atua como uma matriz e outro na forma de carga. Os materiais que compõem um compósito podem ser de natureza inorgânica/inorgânica, inorgânica/orgânica ou orgânica/orgânica. O tipo de material utilizado neste trabalho é de natureza inorgânica/orgânica (membranas híbridas).

A incorporação de cargas inorgânicas em polímeros origina materiais com maior estabilidade térmica, contendo baixo teor de carga inorgânica (cerca de 2-5%), comparados com aditivos utilizados nos polímeros clássicos (com até 50%). Além disso atribuem também melhores propriedades óticas, magnéticas ou elétricas à matriz. [59, 60, 61, 62]

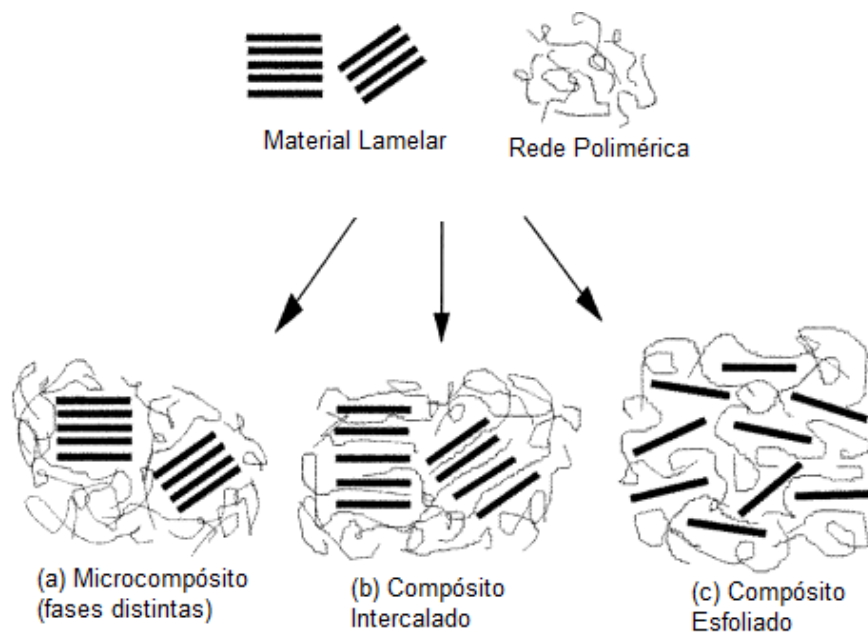
As estruturas dos compósitos poliméricos reforçados com materiais lamelares, as quais dependem do método de preparação e dos componentes utilizados em seu preparo, são classificados em três tipos principais: [63]

Microcompósito com fases separadas: esse tipo é observado quando o polímero está adsorvido às lamelas, e duas fases distintas são obtidas (Figura 10-a).

Compósito intercalado: esse tipo é obtido quando as cadeias poliméricas são intercaladas em seus espaçamentos interlamelares, de forma alternada. Nesse caso, a intercalação do polímero geralmente acarreta um aumento no espaçamento interlamelar (Figura 10-b).

Compósito esfoliado: observa-se este tipo de compósito quando o material não apresenta mais ordenamento ao longo do eixo de empilhamento das lamelas, ou seja, ocorre a quebra das ligações entre as lamelas e separação das lamelas em forma de unidades individuais, ou então, quando o espaçamento entre as lamelas inorgânicas é maior que 8 nm (Figura 10-c).

**Figura 10:** Esquema dos tipos de compósitos que podem ser obtidos entre a interação entre um polímero e um material lamelar.



Fonte: Adaptado de ALEXANDRE et al, 2000.

Diversas rotas de síntese vêm sendo utilizadas no intuito de se preparar os compósitos poliméricos reforçados com materiais lamelares, entre elas, podemos citar as principais: [62]

- *Polimerização intercalativa in situ*: onde o material lamelar é intumescido dentro de uma solução contendo o monômero, com o intuito de se intercalar o monômero entre as lamelas. A seguir ocorre a reação de polimerização de forma que o polímero seja formado diretamente na região interlamelar. A reação de polimerização é iniciada normalmente pela ação do calor ou de radiação, através de um iniciador orgânico, ou por um catalisador fixo.
- *Esfoliação-adsorção*: inicialmente é feita a esfoliação do material lamelar em um solvente em que o polímero seja solúvel. Alguns compostos lamelares apresentam forças de interações fracas entre as lamelas e podem ser

facilmente esfoliados em solventes adequados. O polímero é passível se der adsorvido nas lamelas esfoliadas e, quando o solvente é evaporado, estas remontam a estrutura do material, intercalando o polímero para formar uma estrutura multilamelar ordenada.

- *Intercalação do polímero fundido*: esta técnica envolve a mistura do material lamelar com a matriz polimérica em seu estado fundido. Nesse caso, se as superfícies das lamelas forem suficientemente compatíveis com o polímero desejado, o polímero pode penetrar no espaço interlamelar e formar um compósito esfoliado ou intercalado.
- *Síntese através de um modelo*: esse método é somente utilizado com polímeros solúveis em água. Neste caso, o material lamelar é formado in situ em uma solução aquosa que contenha o polímero desejado.
- *Método por Casting*: neste método, o material lamelar após ser submetido a um tratamento de desagregação em banho de ultrassom, é adicionado ao polímero previamente solubilizado, esta mistura é homogeneizada e transferida para uma forma onde o solvente é evaporado, obtendo assim o compósito.

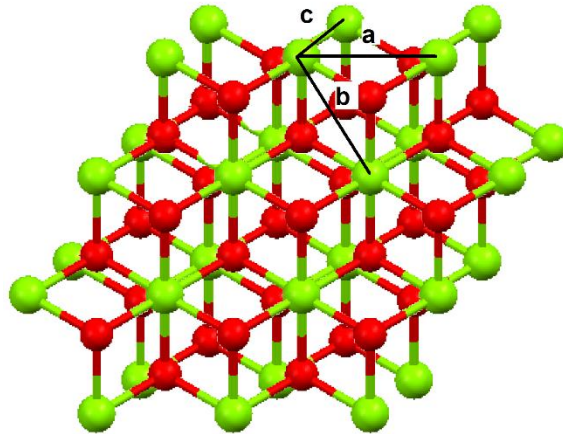
Com a diversidade de compostos lamelares existentes, estes vem sendo extensivamente empregados na síntese de compósitos orgânico/inorgânicos, onde podem ser obtidos membranas (estrutura fina, tipicamente plana, que separa dois ambientes, uma vez que se dispõe entre ambientes ou fases e que controlam seletivamente o transporte de massa entre as fases ou ambientes), filmes (possuem estrutura fina, que pode possuir alta resistência a tensão, estabilidade química e térmica, possuir cor, opacidade ou serem translúcidos, geralmente utilizados como revestimentos) e blendas (mistura de pelo menos dois polímeros para criar um novo material com propriedades físicas e químicas diferentes). O híbrido estudado se enquadra na rota de síntese por casting.

## 2.4 COMPOSTOS LAMELARES

Os compostos lamelares (Figura 11) pertencem a uma classe especial de materiais nas quais os cristais são constituídos de lamelas a partir do empilhamento

ao longo da direção cristalográfica “c” e ligadas umas às outras através de forças fracas de Van der Waals ou através de interações entre os íons interlamelares ao longo das direções cristalográficas “a” e “b”. A região de interação fraca entre as lamelas é conhecida como espaço interlamelar. [63]

**Figura 11:** Direções cristalográficas em um material lamelar genérico (Visão superficial de duas lamelas sobrepostas).



Fonte: Adaptado de NAKAGAKI et al, 2016.

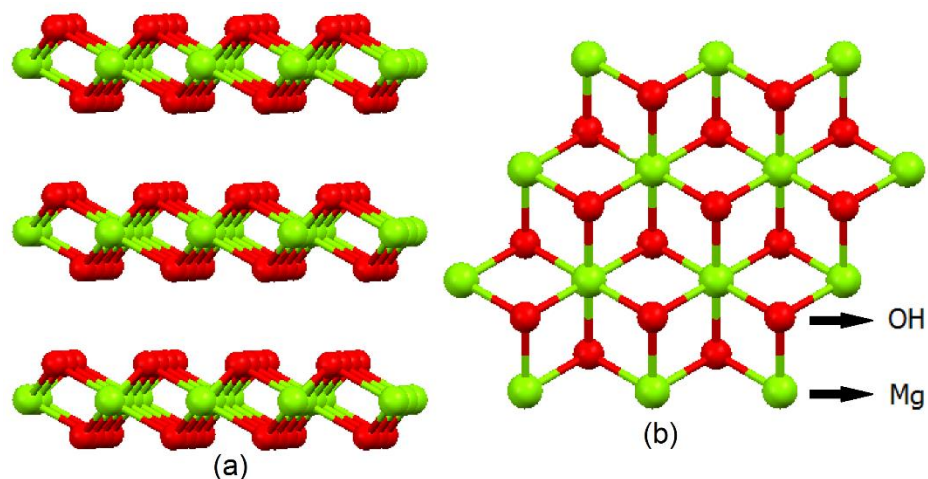
Quando se considera a distribuição de cargas elétricas na estrutura lamelar, podem ocorrer processos de intercalação, e esses processos estão relacionados com as 3 classes distintas, a primeira classe é de compostos com carga negativa nas lamelas, chamados de argilas catiônicas (ex.: (filo)silicatos lamelares), a segunda classe é de compostos com lamelas neutras (ex.: grafite) e terceira classe é de compostos que possuem carga positivas lamelas, também conhecidos como argilas aniônicas (ex.: hidrotalcita ou hidróxidos duplos lamelares). Para que ocorra a neutralização das cargas nas lamelas, ânions ou cátions são inseridos no espaço interlamelar, que dependem da carga das lamelas. [64, 65, 66]

#### 2.4.1 Hidróxidos duplos lamelares

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL's) se caracterizam pela presença de dois tipos de cátions metálicos nas lamelas destes compostos, sendo também conhecidos como argilas aniônicas, devido a sua característica de troca aniônica. [67]

A estrutura de um HDL pode ser descrita como derivada do mineral brucita (Figura 12), que é composto por hidróxido de magnésio  $[\text{Mg}(\text{OH})_2]$ . Na brucita os átomos de magnésio estão octaédricamente coordenados a grupos hidroxilas e as unidades octaédricas compartilham vértices com três octaedros adjacentes, formando uma lamela bidimensional infinita. Os octaédros são compostos de íons magnésio com carga 2+ ligada a seis hidróxidos que possuem carga 1-, e cada um dos hidróxidos está ligado a três átomos de magnésio. O resultado desse arranjo é uma camada neutra, pois  $2/6+ = 1/3+$  (carga 2+ do magnésio dividida por seis ligações com hidroxilas) e  $1/3-$  (carga 1- das hidroxilas dividida entre três átomos de magnésio), com isso as cargas se cancelam. [68]

**Figura 12:** Estrutura da Brucita, (a) visão lateral e (b) visão da superfície. Átomos de hidrogênio e oxigênio foram removidos da estrutura para facilitar a visualização.



Fonte: Adaptado de NAKAGAKI et al, 2016.

Os íons divalentes podem ser substituídos isomorficamente por íons trivalentes gerando um excedente de carga positiva, que é compensada por ânions que se situam no espaço interlamelar, concedendo a esses materiais a sua propriedade de troca iônica, devido à livre movimentação dos mesmos. Os íons aptos a serem trocados podem ser inorgânicos, orgânicos e até complexos com diversos estados de oxidação. [68, 69, 70]

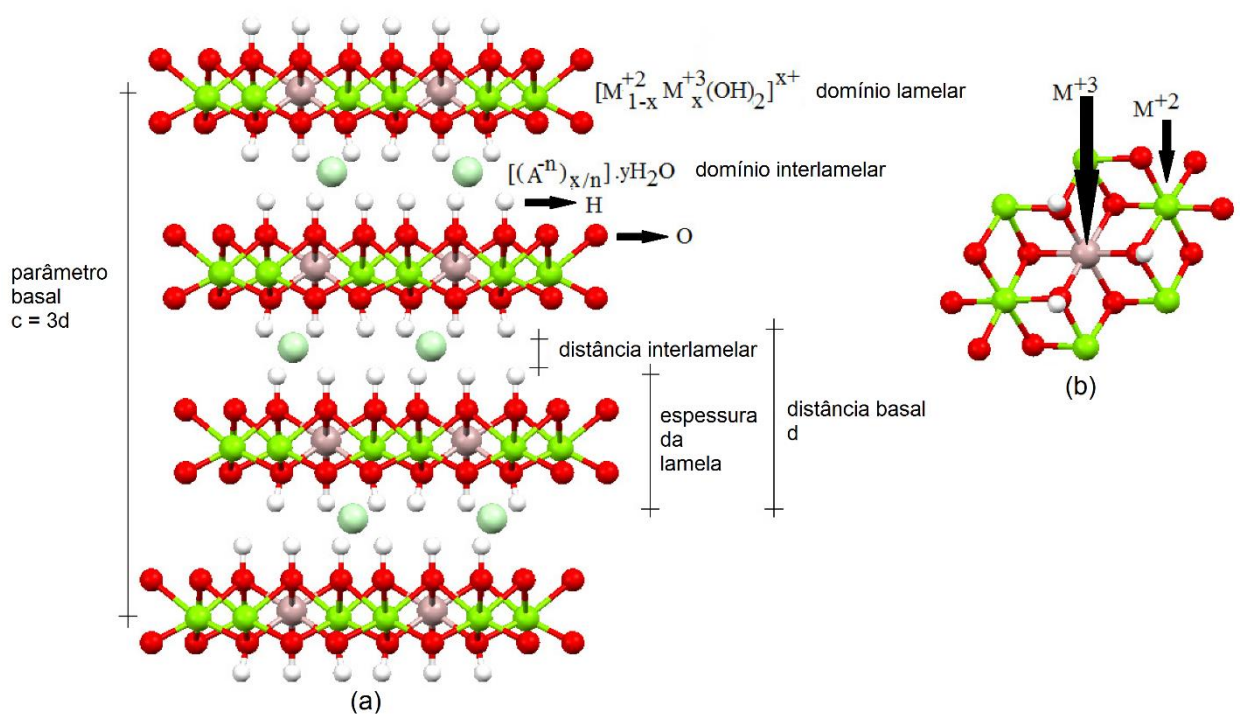
A composição dos hidróxidos duplos lamelares pode ser demonstrada pela seguinte fórmula:  $[\text{M}^{\text{II}}_{1-x}\text{M}^{\text{III}}_x(\text{OH})_2][\text{A}^{n-}]_x/n^+ y\text{H}_2\text{O}$ , onde  $\text{M}^{\text{II}}$  representa um cátion divalente (exemplos:  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ),  $\text{M}^{\text{III}}$  representa um cátion metálico trivalente (exemplo:  $\text{Al}^{3+}$ ),  $\text{A}^{n-}$  representa um ânion hidratado intercalado podendo ser ânions

inorgânicos ou orgânicos (exemplos:  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$ , respectivamente) e  $y$  refere-se a um número variável de moléculas de água presente no material. [71]

A razão molar dos metais di e trivalentes é limitada e pode variar numa faixa de 1 a 8, o que corresponde a uma faixa de “ $x$ ”, que se encontra na fórmula geral, de  $0,5 > x > 0,14$ , este valor determina a densidade de carga da lamela de um HDL. Com isso, o aumento da razão molar  $M^{2+}/M^{3+}$  diminui a densidade de carga e conseqüentemente, diminui o número de ânions intercalados e diminui também a capacidade de troca aniônica (CTA) desses materiais. Essa diminuição de ânions intercalados faz com que os ânions fiquem suficientemente separados no espaço interlamelar, o que minimiza as interações entre as lamelas, facilitando então a delaminação (cristais lamelares com menores números de lamelas) e esfoliação (lamelas individuais) das mesmas. [71]

A estrutura e nomenclatura de um HDL genérico é descrita na Figura 13.

**Figura 13:** Estrutura e nomenclatura de um HDL genérico com politipo 3R.



Fonte: Adaptado de NAKAGAKI et al, 2016.

Quando analisados pela técnica de difração de raios X em pó, os HDLs apresentam um padrão característico:

- Reflexões basais ( $00l$ ): são relacionadas ao empilhamento das lamelas.

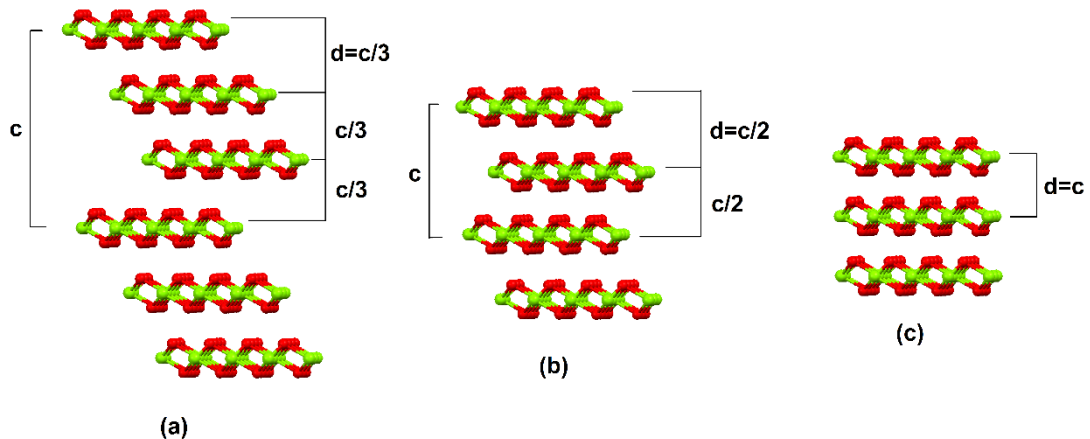


- Reflexões ( $0kl$ ): são relacionadas com a ordenação de uma lamela em relação a outra.
- Reflexões ( $hk0$ ): são relacionadas à organização da estrutura no interior das lamelas.

Em relação com a ordenação das lamelas, existem três politipos descritos: 3R, quando a distância interlamelar é igual a  $c/3$  (este politipo é encontrado na grande maioria dos HDLs); 2H, com distancia interlamelar igual a  $c/2$  (mais raro e associado à formação em altas temperaturas e pressões) e o politipo 1H, com distância interlamelar igual a  $c$  (bastante raro e associado à HDLs altamente hidratados, frequentemente intercalados com ânion sulfato). [70]

A Figura 14 mostra os diferentes politipos para os HDLs.

**Figura 14:** Representação dos politipos (a) 3R, (b) 2H e (c) 1H para os HDLs. Os ânions e hidroxilas não estão representados para melhor visualização.



Fonte: Adaptado de NAKAGAKI et al, 2016.

Os HDL's, apesar de não existirem em quantidades consideráveis na natureza, podem ser sintetizados facilmente em laboratório, onde os principais métodos de síntese utilizados são:

- Co-precipitação;
- Método do sal-óxido;
- Síntese hidrotérmica;
- Método de hidrólise induzida;
- Método sol-gel;

- Troca iônica direta em solução;
- Troca iônica do ânion interlamelar do precursor em meio ácido;
- Reconstrução.

Onde os métodos de síntese são amplamente discutidos na literatura. [71]

## 2.5 CONTROLE DA DOR NO PÓS-OPERATÓRIO EM IMPLANTODONTIA

Toda intervenção cirúrgica provoca danos teciduais, gerando uma resposta inflamatória, cujo principal sintoma é a dor.

A dor além de ser um constante medo dos pacientes, é umas das principais preocupações dos cirurgiões-dentistas, especialmente no pós-operatório. E juntamente com a dor, pode ocorrer o aparecimento de inchações e sangramentos no período pós-operatório. A resposta inflamatória tem como perfil a hiperalgesia persistente e o edema, que podem acarretar a limitação da função mastigatória e até mesmo prejudicar as atividades diárias do paciente [72].

Os nociceptores envolvidos no processo da dor inflamatória são sensíveis a diferentes tipos de estímulos, com alto limiar de excitabilidade. Isto quer dizer que um mínimo estímulo nociceptivo (mecânico, térmico ou químico) é incapaz de ativá-los caso se encontrem em seu estado normal. Entretanto, os nociceptores podem se tornar extremamente sensíveis a estes estímulos, configurando o quadro de hiperalgesia. Este fenômeno é decorrente de eventos bioquímicos que geram impulsos nervosos ao sistema nervoso central, amplificando a sensação dolorosa [73].

Para o controle da dor pós-operatória, que é de caráter inflamatório, é necessária a utilização de drogas que tem por objetivo inibir biossíntese da ciclooxigenase, e entre estas se encontram os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). Onde o uso desse tipo de droga em Implantodontia é eficiente para o controle dos sintomas pós-operatórios [74].

### 2.5.1 Analgésicos antiinflamatórios não esteroidais (AINES)

Tradicionalmente este grupo de medicamentos está indicado no controle dos processos inflamatórios e nas dores agudas de moderada à severa intensidade. Agem inibindo as enzimas ciclooxigenases: COX1 – ciclooxigenase 1, onde estão incluídos os medicamentos como o Ácido Acetilsalicílico, Ibuprofeno, Diclofenacos e entre outros; COX2 – ciclooxigenase 2, como o fármaco Nimesulida.

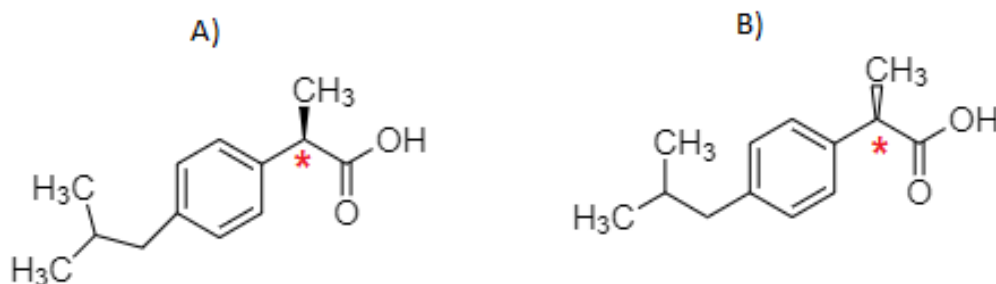
A COX1 está distribuída por todo o organismo, age liberando prostaglandinas que apresentam um papel importante na formação da inflamação e da dor, além de ter um papel protetor da mucosa do estômago, na formação da agregação plaquetária e na função renal quando administradas doses baixas. A COX2 está distribuída em poucos tecidos especializados, age especificamente induzindo prostaglandinas que iniciam e desenvolvem a inflamação, mas que não apresenta nenhum papel como protetor da mucosa gástrica e na formação da agregação plaquetária.

Os anti-inflamatórios quando administrados na forma tópica, exercem seu efeito na periferia, próximo ao sítio de aplicação. Esta forma de administração reduz as reações adversas causadas pela administração oral e potencializa o efeito local e minimiza a toxicidade sistêmica [75-76].

### 2.5.2 Ibuprofeno

O Ibuprofeno, também conhecido como (RS)-2-(4-(2-metilpropil)fenil) ácido propanóico (Figura 15). Esse fármaco vem se apresentando muito promissor como relaxante em queimaduras e lesões de graus variados, pois ele alivia a dor intensa, inflamação e febre [77].

**Figura 15:** Representação estrutural dos dois enantiômeros do Ibuprofeno (A) R(-)-Ibuprofeno e (B) S-(+)-Ibuprofeno.



Fonte: O autor (2018).

Ele possui um centro quiral na posição alfa, assinalado na Figura 6 com \*. Como tal, existem dois possíveis enantiômeros do Ibuprofeno, sendo o enantiômero S-(+)-Ibuprofeno aquele que apresenta atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética e seu outro enantiômero é inativo [78].

Esse fármaco é comercializado como mistura racêmica há cerca de 30 anos porque, por um lado, o custo de produção de um único enantiômero é elevado, e por outro lado, devido a presença do organismo humano de uma enzima do tipo isomerase (2-arilpropil-CoA epimerase) que converte uma fração substancial de R-(-)-Ibuprofeno (50 a 60%) no enantiômero S-(+)-Ibuprofeno [79].

## 2.6 LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

Geralmente os AINES requerem altas dosagens para atingir suas ações anti-inflamatórias, maior do que para seus efeitos analgésicos. Por exemplo, 200 a 600 mg de Ibuprofeno três vezes ao dia ou 200 mg quatro vezes ao dia poderão ser necessários para um efeito analgésico, mas para efeito anti-inflamatório serão necessárias doses variando entre 2400 a 3000 mg diariamente.

A dose analgésica recomendada para o Ibuprofeno é de 400 a 600 mg a cada seis horas. A administração pré-operatória de Ibuprofeno pode retardar o início e diminuir a intensidade da dor pós-operatória.

Os efeitos colaterais desses medicamentos que inibem principalmente a COX1, náusea (efeito colateral mais comum), irritação gástrica (que pode associar vômitos e sangramento oculto nas fezes). Devido ao fato da liberação das prostaglandinas facilitar a agregação plaquetária à inibição de sua síntese, aumenta o grau de sangramentos e sendo bastante comum, alergia a esses medicamentos [11].

A liberação tradicional de fármacos por administração oral ainda é a preferida, uma vez que oferece aos pacientes menos dor, melhor conveniência, maiores probabilidades da colaboração dele com o tratamento. Porém está associada a uma série de desvantagens, relacionada à sua distribuição por todo o organismo de acordo com suas propriedades físicas, como solubilidade e coeficiente de partição e carga, podendo ocasionar uma atividade indesejada do mesmo, possibilitando que o fármaco

possa alcançar zonas que encontrem fora do seu intervalo terapêutico, que o mesmo seja inativado, ou mesmo que sua ação seja indesejada ou nociva; resultando em efeitos colaterais sistêmicos que podem ser desastrosos [80].

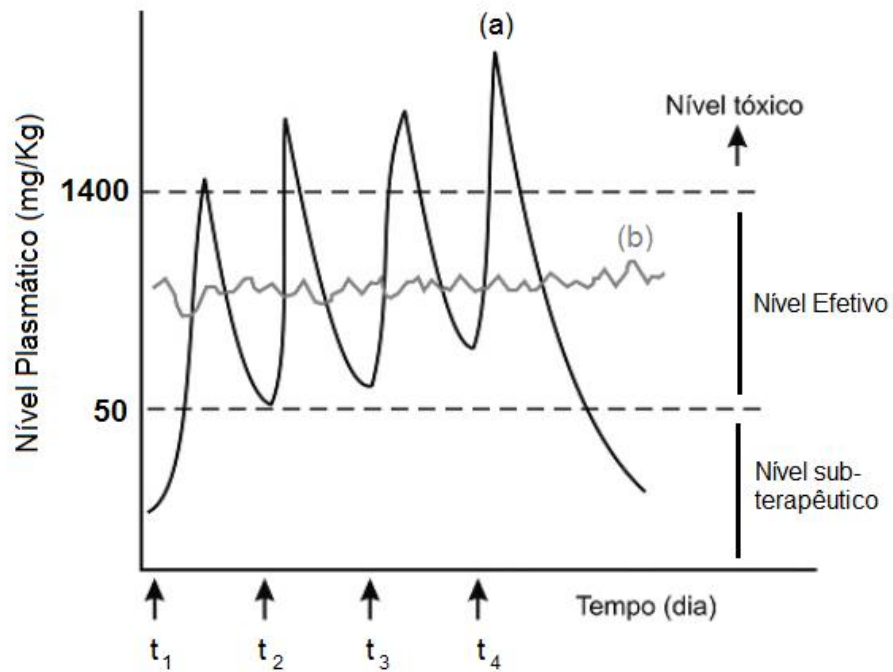
Todos estes fatores delinearão a ciência no sentido de desenvolver sistemas de liberação controlada de fármacos, destinando-se a alterar a farmacocinética e a biodistribuição de medicamentos. Os sistemas de administração de fármacos (DDS) com base orgânica tem algumas desvantagens, como altas toxicidade, baixas cargas e fácil liberação dos fármacos, o que reduzem a eficiência da administração [81].

Carreadores inorgânicos com base em nanomateriais inorgânicos, como materiais de sílica, mostram propriedades muito melhores do os carreadores orgânicos, incluindo a facilidade no controle de síntese. Assim, os materiais inorgânicos são superiores aos outros por permitir um controle definido de sua estrutura, métodos de síntese e industrialização e com lenta liberação de fármacos em uma visão a longo prazo [82].

Os materiais inorgânicos possuem eficiência na administração com baixa biotoxicidade, síntese relativamente fácil, aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água, aumento da estabilidade do fármaco frente à luz, calor, umidade, oxigênio e outros. A liberação controlada pode manter a concentração plasmática do fármaco em níveis desejados por um período maior de tempo e com isso a diminuição dos efeitos colaterais de fármacos quando administrados oralmente [83].

Idealmente, tais materiais necessitam de menores administrações, apresentando uma concentração plasmática constante do fármaco, diminuindo os níveis de toxicidade que são comuns, os quais apresentam um pico máximo do fármaco na corrente sanguínea acompanhado de seu declínio. Assim, cada fármaco possui uma faixa terapêutica (Figura 16), onde acima dela é tóxico, e abaixo ineficaz, tendo sua atividade terapêutica dependente da frequência de administração do mesmo, o que pode ser crítico quando sua dose efetiva tiver adjacência à sua dose tóxica. Entre outros objetivos, os sistemas de liberação controlada almejam através de uma única administração, a manutenção de uma concentração terapêutica efetiva do fármaco no sistema circulatório por um extenso período de tempo [16, 17].

**Figura 16:** Esquema ilustrativo da variação da concentração de Ibuprofeno quando (a) administrado pelo sistema tradicional com multidosagens/tempo e (b) pelo sistema de liberação controlada.



Fonte: Adaptado de RIBEIRO, 2013.

Apesar de inúmeras vantagens associadas a estes sistemas, algumas limitações ainda devem ser tratadas como: restrições de aplicações em fármacos que apresentam baixo tempo de meia-vida, dificuldade de absorção no trato gastrointestinal, a impossibilidade de interrupção da administração em casos de intolerância e risco de acúmulo do mesmo em casos de excreção lenta [17, 83].

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar as membranas híbridas de quitosana/alginato contendo HDLs intercalados com o fármaco Ibuprofeno para potencial aplicação como enxerto aloplástico odontológico.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os HDLs contendo os metais  $Zn^{2+}/Al^{3+}$  com razões 2:1 e 3:1 intercalados com o fármaco Ibuprofeno;
- Sintetizar as membranas híbridas de quitosana/alginato contendo os HDLs Zn/Al-IBU 2:1 e Zn/Al-IBU 3:1;
- Caracterizar os HDLs e as membranas híbridas por Difractometria de Raios X (DRX), Espectroscopia no Infravermelho (FTIR) e no Ultravioleta-Visível (UV-Vis), Análise Térmica Simultânea (TGA/DSC), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS);
- Testes de liberação *in vitro* dos HDLs sintetizados e também das membranas híbridas contendo os HDLs, em meio aquoso e em solução de tampão fosfato (PBS).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 REAGENTES UTILIZADOS

Para a realização deste projeto, foram utilizados os seguintes reagentes:

- Nitrato de Alumínio Nonahidratado P.A. – Neon;
- Nitrato de Zinco Hexahidratado P.A. – Synth;
- Hidróxido de Sódio em Micro Pérola P.A. – Neon;
- Alginato de Sódio de baixa viscosidade – Vetec;
- Ácido Clorídrico P.A. A.C.S. – Anidrol;
- Glutaraldeído Solução 25 % P.S. – Alphatec;
- Etilenoglicol P.A. – Dinâmica;
- Bicarbonato de Sódio P.A. – Neon;
- Fosfato de Potássio Monobásico Anidro P.A. – Neon;
- Cloreto de Potássio P.A. – Neon;
- Ibuprofeno – Fagron\*;
- Quitosana Pó Fino (High Density) – Galena\*;

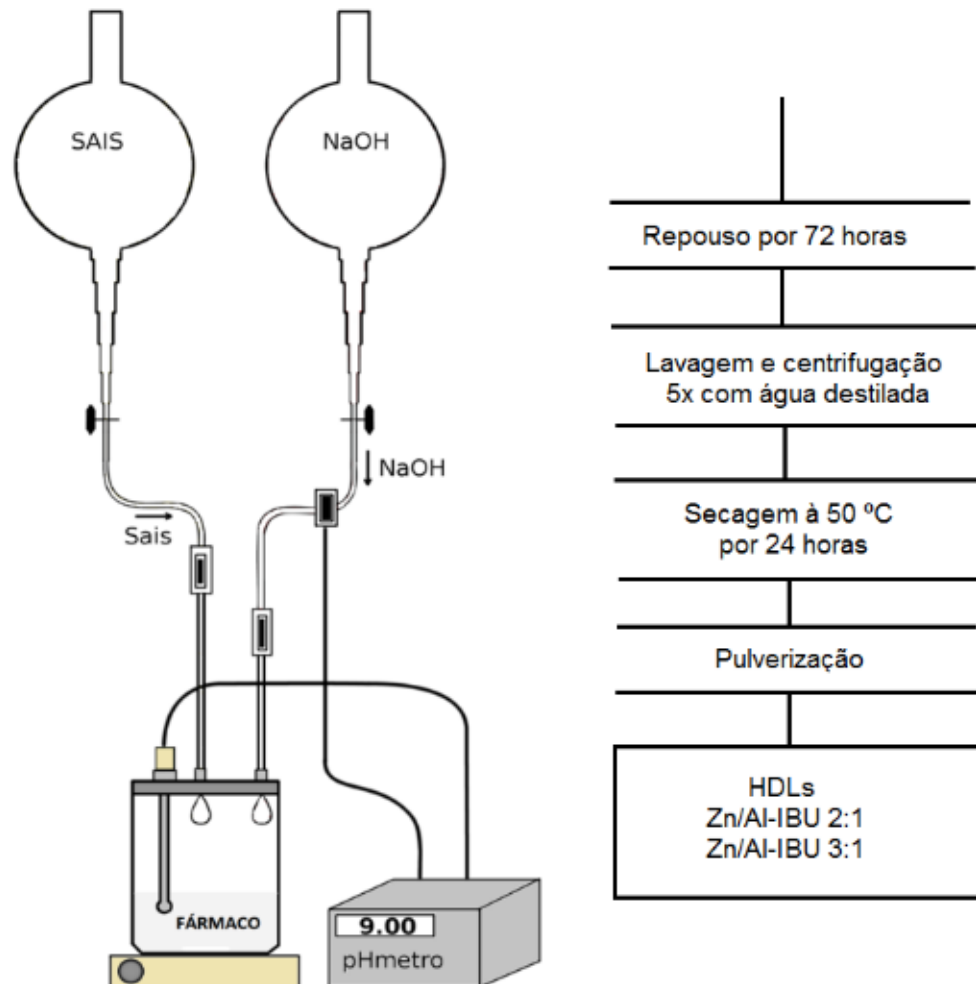
(\*: Reagentes de grau farmacológico)

### 4.2 SÍNTESE DOS HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES INTERCALADOS COM IBUPROFENO

Os HDLs foram preparados pelo método de co-precipitação a pH constante (O fluxograma para esta síntese é apresentado na Figura 17), onde, uma solução contendo os sais dos metais di e tri valentes ( $M^{2+}/M^{3+}$ ) com razões 2:1 e 3:1 foram adicionadas lentamente a uma solução contendo um excesso do ânion a ser intercalado (a quantidade do sal de Ibuprofeno - corresponde a 4 vezes a capacidade de troca aniônica (CTA) do HDL para a síntese).

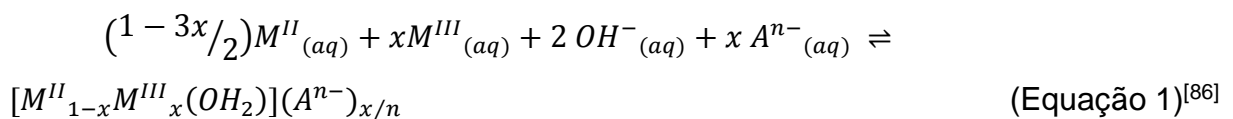


**Figura 17:** Fluxograma para o método de síntese dos HDLs intercalados com Ibuprofeno.



Fonte: O autor (2018).

A equação estequiométrica dos correspondentes intermediários (metais di e trivalentes solvatados e o sal do ânion a ser intercalado) para a formação do produto é descrita na equação 1.



Sendo,  $M^{II} = Zn$ ,  $M^{III} = Al$  e  $A^{n-} = C_{13}H_{17}O_2^{-}$ . As moléculas de água de hidratação não estão incluídas.

A adição foi realizada a pH constante 8 ~ 9 (o pH foi corrigido conforme necessário através da adição de uma solução de NaOH de  $0,5 \text{ molL}^{-1}$  simultaneamente à solução dos sais), com agitação vigorosa da solução. Após a precipitação, o material foi mantido em repouso em contato com o meio reacional por aproximadamente 72 horas. E então, os sólidos resultantes foram isolados da solução mãe e lavados por cinco vezes com água ultrapura visando retirar o excesso de íons livres presentes no material sintetizado. Em seguida, pulverizados e armazenados ao abrigo de calor e umidade.

#### 4.3 PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS HÍBRIDAS DE QUITOSANA/ALGINATO

No preparo das membranas, uma solução contendo 5% (m/v) de quitosana em HCl  $0,1 \text{ molL}^{-1}$ , mantendo o sistema fechado e em agitação por 24 horas. Em seguida, foi realizado o processo de centrifugação em rotação de 3500 rpm por 15 min, a fim de retirar possíveis contaminantes e quitosana não solubilizada.

A solução de quitosana preparada foi adicionada em 90 mL de solução de Alginato de sódio a 5% (m/v). Em seguida foi adicionado o agente reticulante (Glutaraldeído) 4% (m/v) e o agente plastificante (Etilenoglicol) 25% (g de agente plastificante/g massa seca de Quitosana). O sistema foi mantido em agitação por 24 horas à  $55 \text{ }^{\circ}\text{C}$  em frasco hermeticamente selado.

Por fim, foram adicionados 6 mg dos HDLs sintetizados em 25 ml da solução quitosana/alginato (para a formação de uma única membrana) e o sistema foi mantido sob agitação por 30 minutos seguido de banho-ultrasônico por 30 minutos, para que ocorresse uma melhor homogeneização das partículas do HDL com o polímero formado. A mistura foi vertida em placas de Petri e secas a  $40^{\circ}\text{C}$  em estufa por 24 horas.

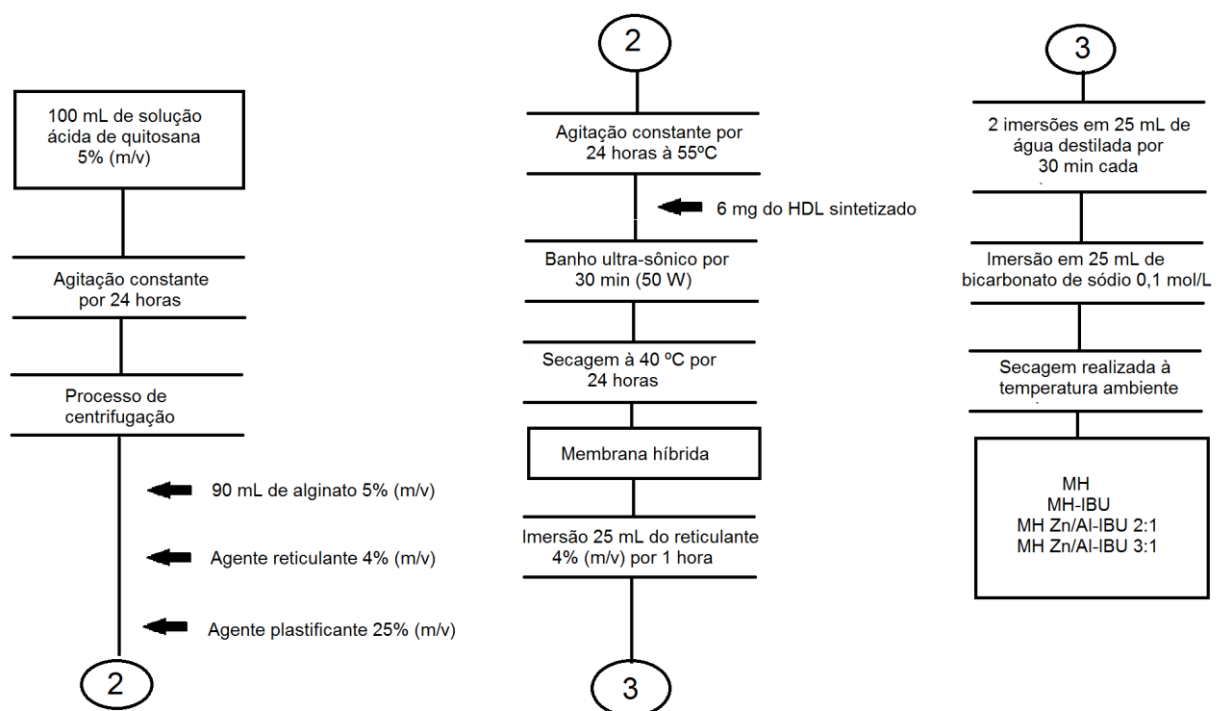
Posteriormente, cada membrana obtida foi imersa em 25 mL do agente reticulante a 4% (m/v) por 1 h para reticular as cadeias de Alginato e Quitosana que ainda se encontravam livres. Para retirada do reticulante em excesso foram realizadas mais duas imersões em 25 mL de água ultrapura por 30 minutos cada e para

neutralização do ácido nas membranas foi realizada uma imersão em 25 mL de Bicarbonato de Sódio 0,1 molL<sup>-1</sup>.

A secagem final foi realizada em temperatura ambiente por 24 horas e as amostras armazenadas adequadamente (ao abrigo de calor e umidade).

O fluxograma da síntese das membranas híbridas é apresentado na Figura 18.

**Figura 18:** Fluxograma para a síntese das membranas híbridas.



Fonte: O autor (2018).

#### 4.4 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

As medidas de difração de raios X foram realizadas nos Difrátômetro de Raios X-D2 Phaser Bruker, com varredura de 5 a 70° em 2θ, no passo de 0,05 e rotação de 5 rpm e no Difrátômetro de Raios X Shimadzu XRD6000 com varredura de 3 a 70° em 2θ, no passo de 0,05 e rotação de 5 rpm.

Espectros UV-Vis foram obtidos em um espectrofotômetro da Shimadzu, modelo UV-1800, com fontes halogênio 20 W e deutério e detector de silicone fotodiodo. Enquanto os espectros no infravermelho (FTIR) foram obtidos em um espectrofotômetro da Perkin Elmer, modelo Frontier, pelo acúmulo de 32 varreduras na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . As análises foram realizadas utilizando pastilhas de KBr contendo 1% em massa das amostras diluídas. Todas as amostras foram diluídas na mesma concentração para comparação de intensidades das bandas nos espectros.

O equipamento utilizado foi um Analisador Térmico simultâneo (TG) e Análise térmica diferencial DTA, equipamento da SEIKO TG/DSC 6300, sob atmosfera dinâmica de ar sintético com razão de aquecimento 10  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ; suporte de amostra de Pt. Os experimentos foram realizados da temperatura ambiente até 1000  $^{\circ}\text{C}$ .

As micrografias e a microanálise foram obtidas no microscópio eletrônico de varredura SwiftED 3000 Energy Dispersive X-ray Spectrometer acoplado com módulo de análise química (EDS).

#### 4.5 TESTE DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Para o estudo de liberação *in vitro*, inicialmente foram feitas as curvas analíticas para o Ibuprofeno solubilizado nos meios em que serão realizados os testes (água e em solução PBS). As curvas analíticas foram realizadas em triplicatas partindo de uma solução estoque (1  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e diluindo para concentrações de 0,001 a 0,01  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

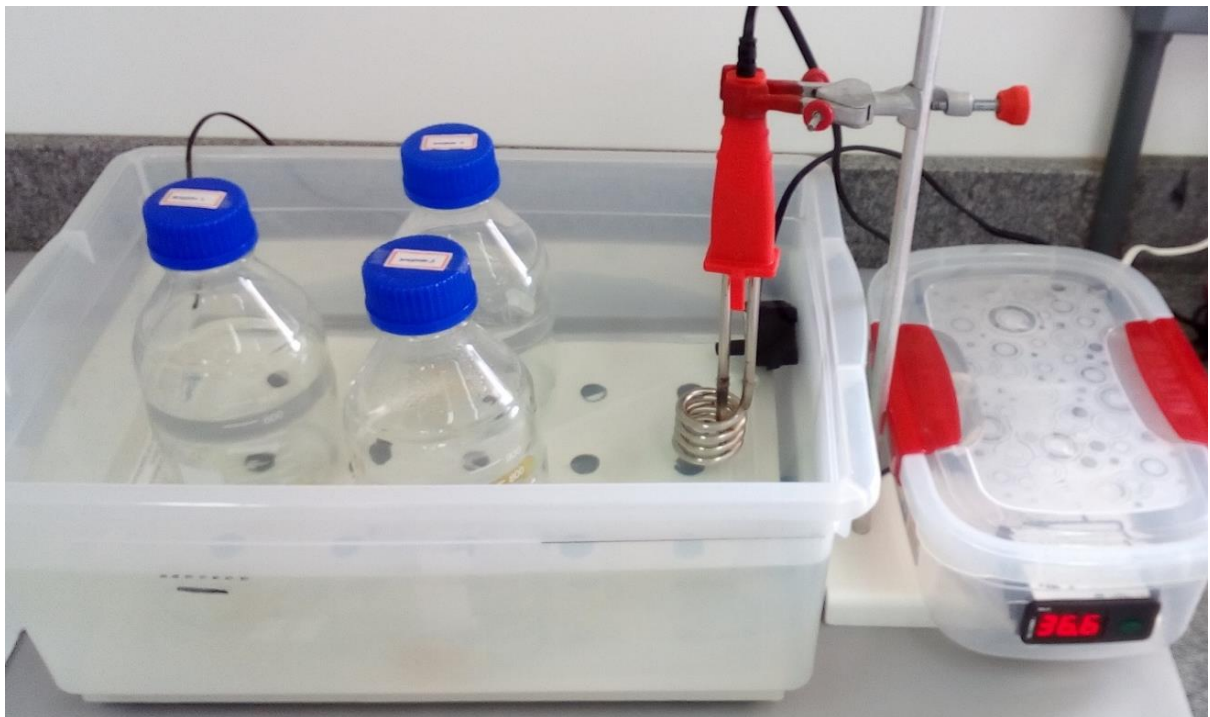
Foram adicionados cada amostra separadamente em 800 mL de solução (meio de liberação: água e solução PBS com pH = 7,4 – pH sanguíneo) mantendo agitação magnética constante de 200 a 500 rpm e temperatura de 36,5 ~ 37  $^{\circ}\text{C}$  (temperatura corporal). Onde o volume do meio deve ser superior à 3x do ponto de saturação da substância e dentro da faixa de 500 a 1000 mL, essa condição é denominada Sink, ou seja, a concentração do meio deve estar 3x abaixo do ponto de saturação. A concentração das amostras livres e das amostras contidas nas membranas foram de 0,0075  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Foram retiradas alíquotas de 5 mL de cada amostra de 10 em 10 min até 1 hora de experimento, seguidos de alíquotas de 30 em 30 minutos até 3 horas de experimento, de 1 em 1 hora até 6 horas de experimento, de 12 em 12 horas até 24 horas de experimento e de 24 em 24 horas até 168 horas (7 dias ou 10080 minutos) de experimento. Todas as alíquotas retiradas foram repostas devidamente aos seus respectivos frascos.

Os testes foram realizados em triplicatas e as alíquotas foram analisadas por Espectroscopia no UV-Visível com  $\lambda_{\text{máximo}} = 222 \text{ nm}$  e faixa de varredura de 300 a 190 nm, para a determinação das quantidades liberadas do fármaco para as soluções.

O aparato experimental utilizado para a realização dos testes de liberação *in vitro* é demonstrado na Figura 19.

**Figura 19:** Aparato experimental utilizado para a realização dos testes de liberação *in vitro*.



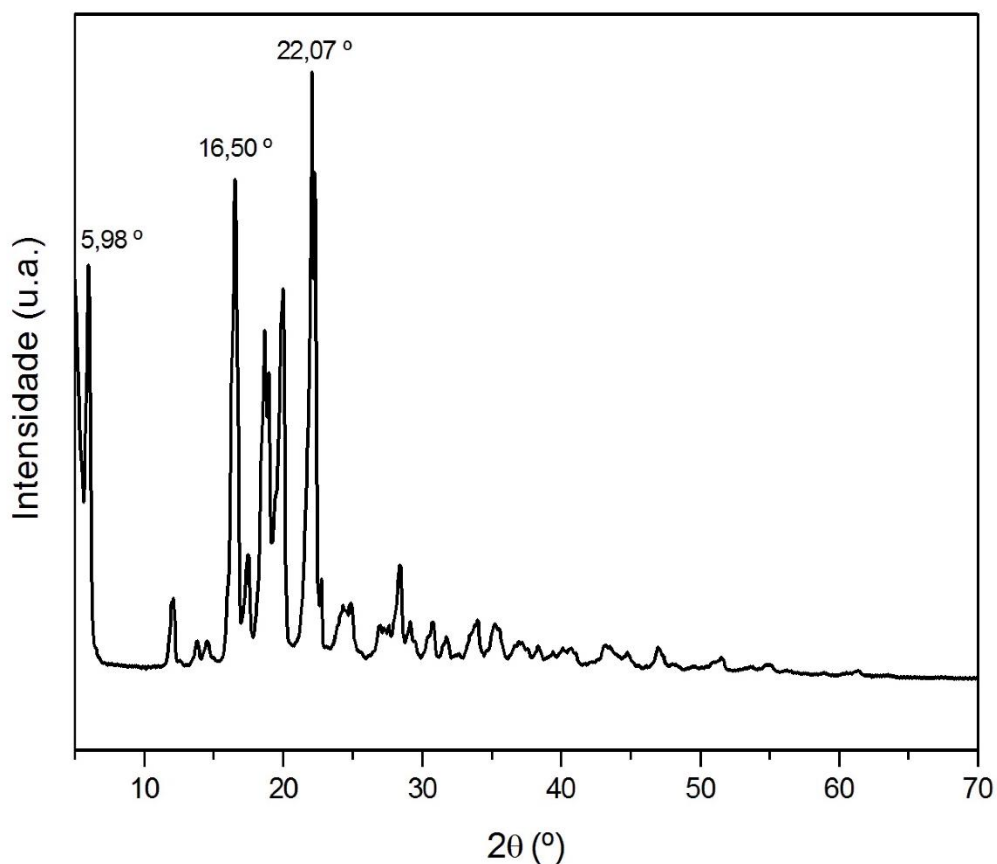
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS REAGENTES PRECURSORES – IBUPROFENO, QUITOSANA E ALGINATO

#### 5.1.1 Caracterização do Ibuprofeno

Na Figura 20 é apresentado o difratograma de raios X do Ibuprofeno utilizado como reagente de partida para as sínteses dos HDLs. Observa-se alta cristalinidade para o Ibuprofeno e picos característicos em 5,98, 16,50 e 22,07° em  $2\theta$ , corroborando com o que é encontrado na literatura [85].

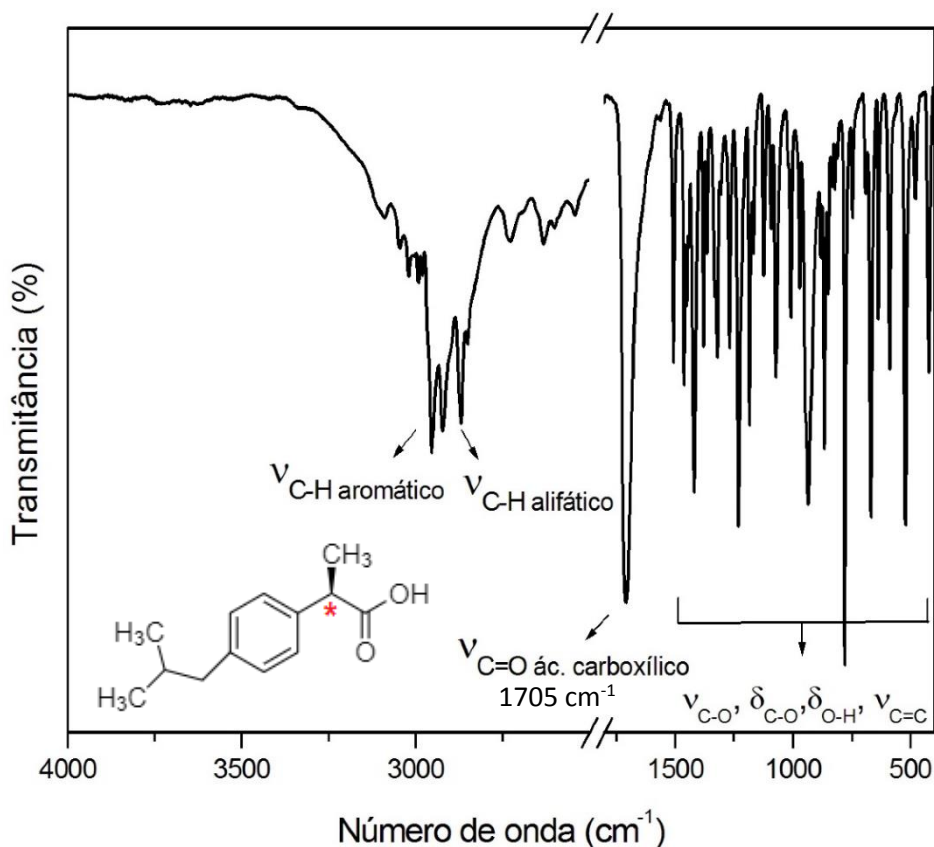
**Figura 20:** Difratograma de raios X do Ibuprofeno.



A Figura 21 representa o espectro de infravermelho obtido do Ibuprofeno. O aparecimento das bandas na região acima de  $3000\text{ cm}^{-1}$  são referentes ao estiramento

de ligação C-H do anel aromático e abaixo de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , são bandas características do estiramento da ligação C-H alifática ( $\sim 2900\text{ cm}^{-1}$  CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> e  $\sim 2880\text{ cm}^{-1}$  C-H de carbono terciário).

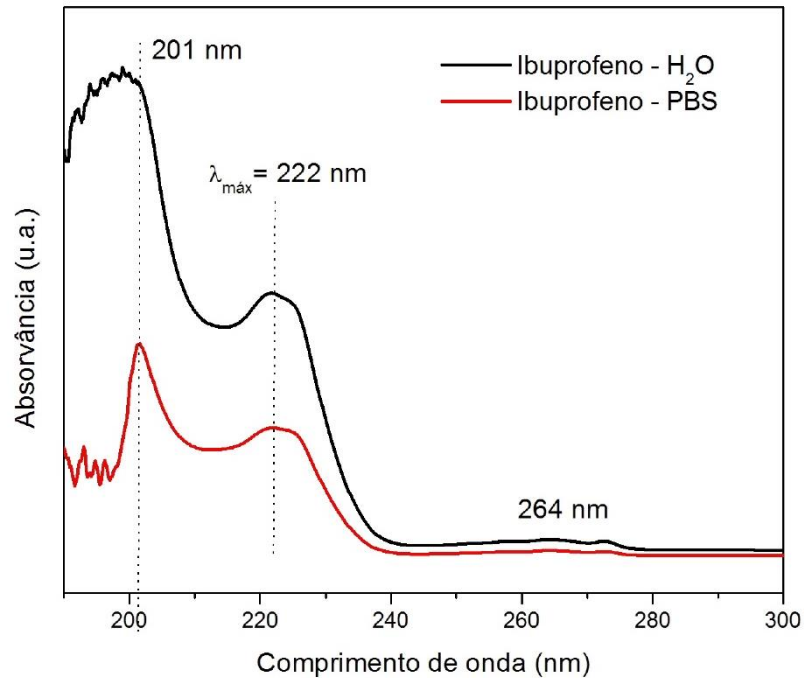
**Figura 21:** Espectro de infravermelho do Ibuprofeno.



A banda em  $1705\text{ cm}^{-1}$  é característica do estiramento C=O do ácido carboxílico e abaixo de  $1500\text{ cm}^{-1}$  são bandas que estão relacionadas ao estiramento e deformações angulares da ligação C-O de ácidos carboxílicos, deformação angular fora do plano da ligação O-H do ácido carboxílico e estiramento da ligação C=C do anel aromático.

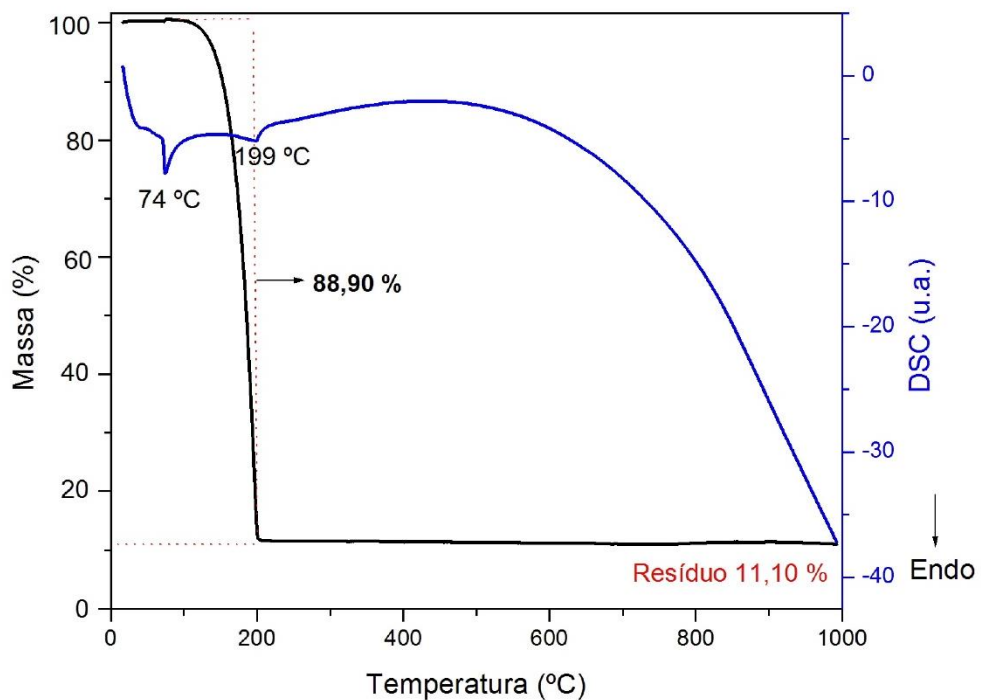
O espectro na região do ultravioleta do Ibuprofeno em diferentes solventes é apresentado na Figura 22. A banda de absorção na região de 201 nm está relacionada com a transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  ( $\pi$ -ligante para  $\pi$ -antiligante) do anel benzênico e efeito do solvente. A banda de absorção intensa em 222nm está relacionada com a transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  do anel benzênico substituído pelo grupamento COOH. E a banda de baixa absorção na região de 264 nm está relacionada com o efeito hipsocrômico da transição  $n \rightarrow \pi^*$  do grupamento COOH.

**Figura 22:** Espectro na região do ultravioleta do Ibuprofeno (em diferentes concentrações).



O perfil das curvas de TGA e DSC do Ibuprofeno são apresentadas na figura 23, onde são observados dois eventos. O primeiro evento endotérmico ocorre à 74 °C e está relacionado com o processo de fusão do Ibuprofeno.

**Figura 23:** Curva de análise térmica (TGA e DSC) do Ibuprofeno.

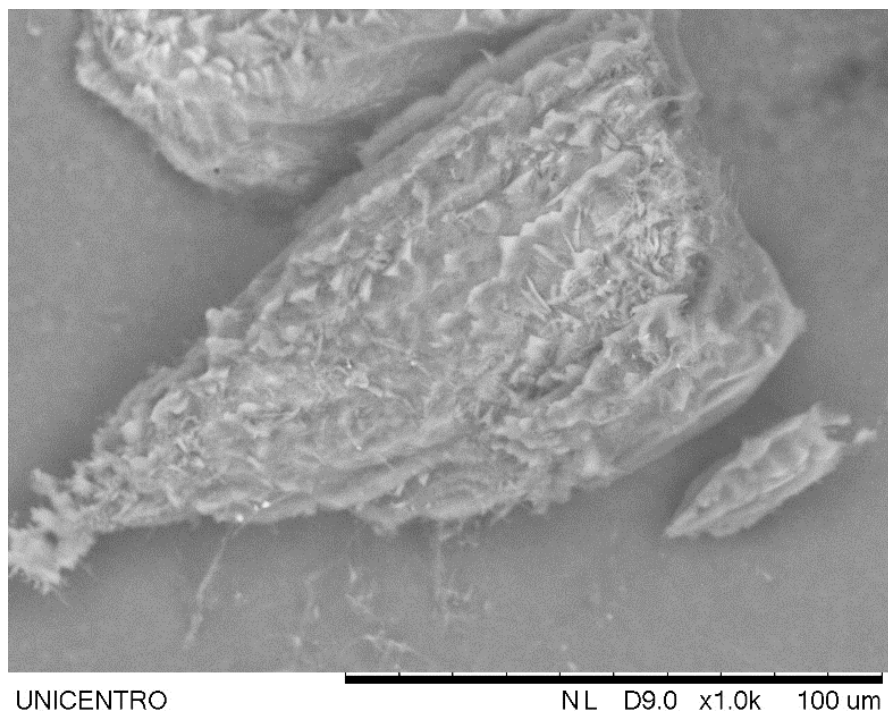




O segundo evento ocorre a 199 °C e está relacionada com a decomposição térmica do fármaco, restando uma massa residual de 11,10 %. Sendo o alto valor residual relacionado com impurezas da própria amostra.

Na figura 24 é apresentado a imagem de microscopia eletrônica de varredura do Ibuprofeno. Onde é observada uma morfologia de aspecto fibroso e com formação de placas.

**Figura 24:** Imagem de microscopia eletrônica de varredura do Ibuprofeno, com ampliação de 1000x.



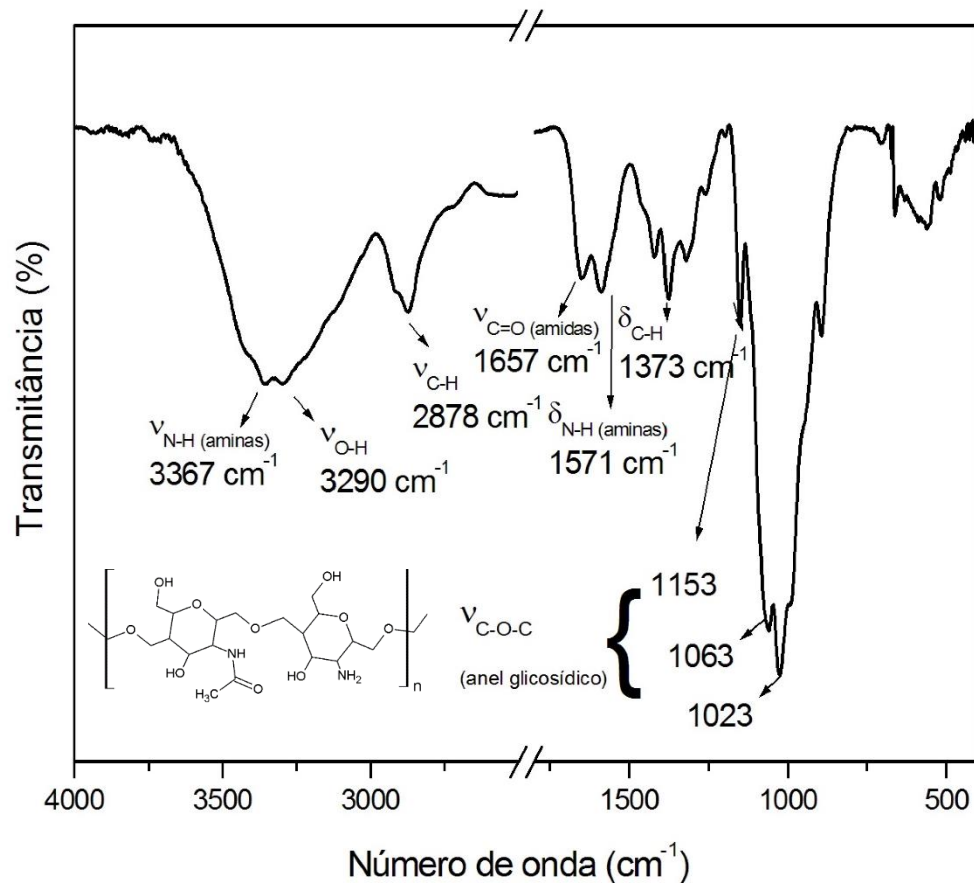
### 5.1.2 Caracterização da quitosana

O espectro de infravermelho obtido da quitosana é apresentado na Figura 25. A primeira banda em  $3367\text{ cm}^{-1}$  está relacionada com o estiramento das ligações N-H de  $\text{NH}_2$  de aminas primárias e a banda em  $3290\text{ cm}^{-1}$  é relacionado com a ligação O-H associado. Em  $2878\text{ cm}^{-1}$  está relacionado com o estiramento da ligação C-H alifática.

As bandas em  $1657\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas com o estiramento da ligação C=O em amidas N-substituídas e em  $1571\text{ cm}^{-1}$  é em relação a deformação angular simétrica no plano para a ligação N-H de aminas primárias.

A banda em  $1379\text{ cm}^{-1}$  é relacionada com a deformação angular da ligação C-H de  $\text{CH}_3$  terminal. Em  $1368$  e  $1411\text{ cm}^{-1}$ , são bandas características de deformação angular das ligações O-H e C-H do anel glicosídico. E as bandas em  $1023$ ,  $1063$  e  $1153\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas com os estiramentos da ligação C-O-C do anel glicosídico. [38]

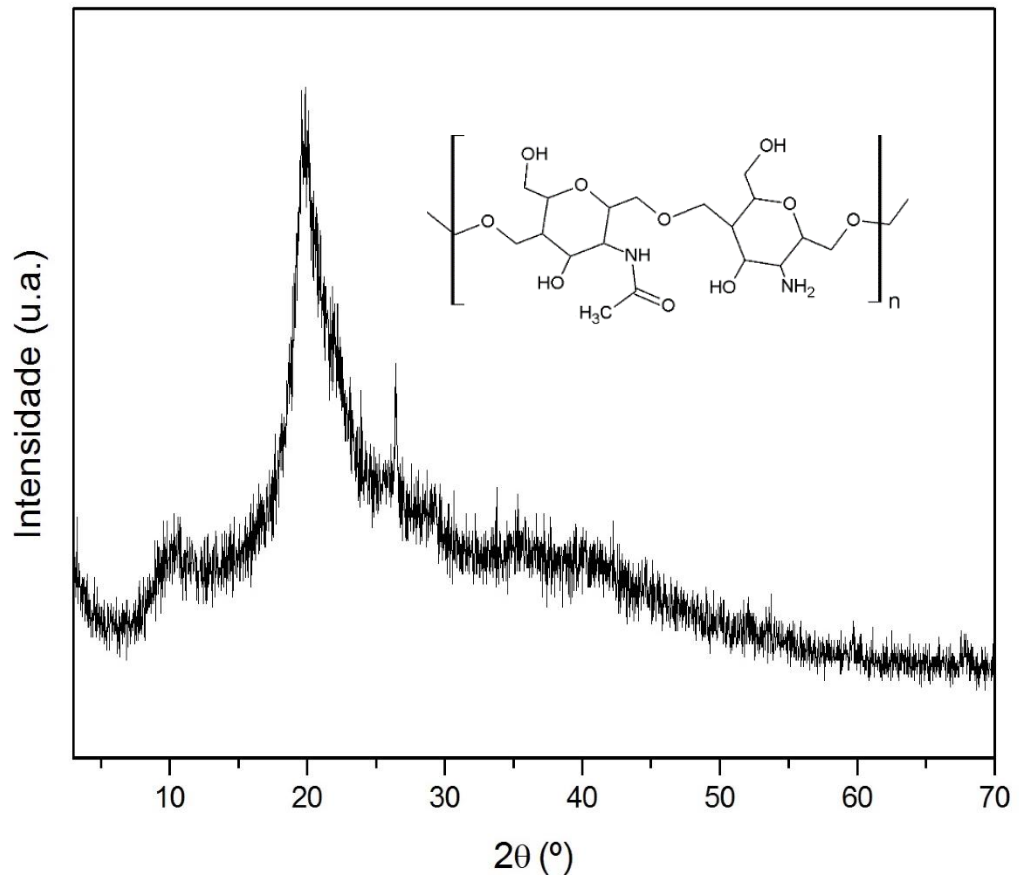
**Figura 25:** Espectro de infravermelho da quitosana.



Na Figura 26 é apresentado o difratograma de raios X da quitosana. Pode-se observar um pico na região de  $20^\circ$  em  $2\theta$ , indicando que a base polimérica da quitosana seguida pelas ligações N-glicosídicas que ligam aos monômeros, fazendo com que essa estrutura não tenha um ordenamento cristalino.

As ligações amino terminais da estrutura da quitosana também contribuem para o caráter amorfo da estrutura, pois as ligações de hidrogênio que atuam como ligações secundárias também contribuem para a mudança do ângulo de ligação entre as moléculas de quitosana. [84]

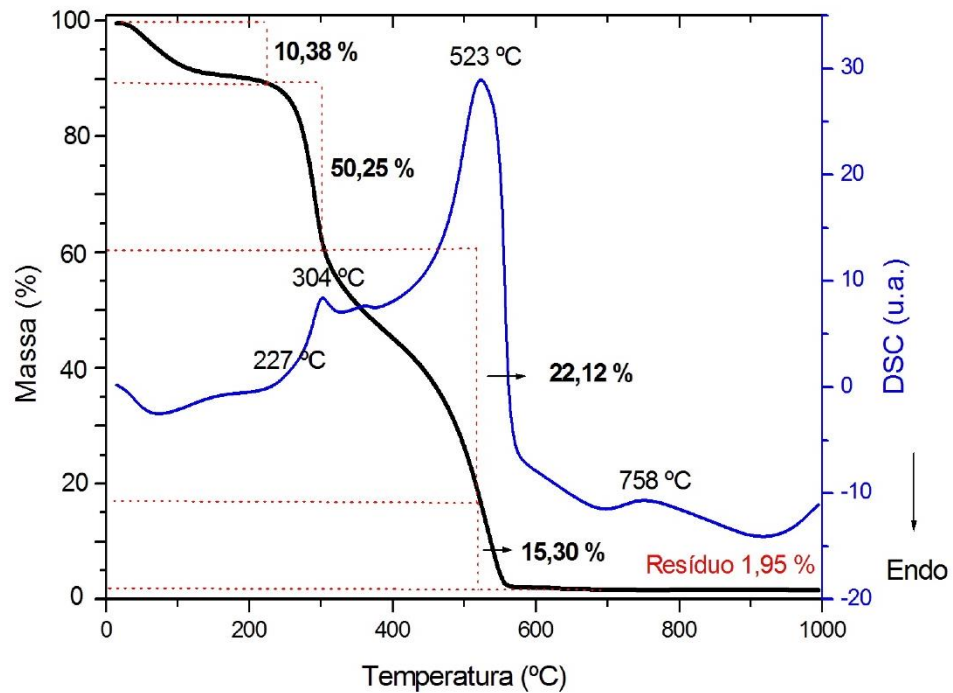
**Figura 26:** Difratoograma de raios X da quitosana.



Na Figura 27 é apresentado o perfil da curva de TGA e DSC da quitosana. O primeiro evento que ocorre até 227 °C, está relacionado com a evaporação de substâncias voláteis, como moléculas de água que estão ligadas através de ligação de hidrogênio com grupos hidroxilas da quitosana, com perda de massa de 10,38 %.

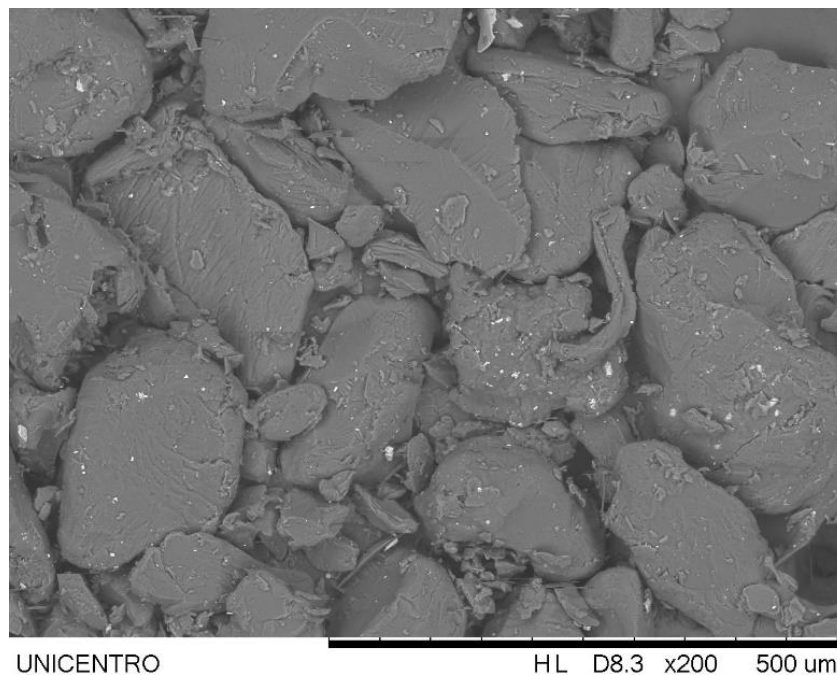
O segundo evento que ocorre é a 304 °C provavelmente relacionado ao processo de desidroxilação da rede polimérica, com perda de massa de 50,25 %. O terceiro evento à 523 °C corresponde ao processo de combustão da quitosana, com perda de massa de 22,12 %. E o quarto evento que ocorre à 758 °C é devido a formação de óxidos com metais que se encontram como contaminantes na amostra, restando um resíduo de aproximadamente 2%.

**Figura 27:** Curva de análise térmica (TGA e DSC) da quitosana.



A imagem de microscopia eletrônica de varredura da quitosana é apresentada na Figura 28, onde é observado partículas grandes e angulosas contendo partículas menores (pontos brancos) referente a contaminações de outros metais provenientes do processo de extração da quitina.

**Figura 28:** Imagem de microscopia eletrônica de varredura da quitosana, com ampliação de 200x.



A técnica de EDS acoplada à técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) apresentada na Tabela 2, os elementos encontrados na quitosana.

**Tabela 2:** Módulo de Análise Química (EDS) da quitosana.

<b>Elemento</b>	<b>C</b>	<b>O</b>	<b>Na</b>	<b>Al</b>	<b>Si</b>	<b>Zn</b>
<b>% atômica</b>	47,08	38,05	2,03	2,51	7,52	0,82
<b>Elemento</b>	<b>Cl</b>	<b>Cr</b>	<b>Fe</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	
<b>% atômica</b>	0,16	0,39	1,12	0,18	0,14	

A % atômica é em relação à média de 5 medidas realizadas em pontos diferentes.

Apresentando porcentagem atômica de 47,08 % de carbono, 38,05 % de oxigênio, além de outros elementos que totalizam 14,87 %, que são os contaminantes.

### 5.1.3 Caracterização do alginato

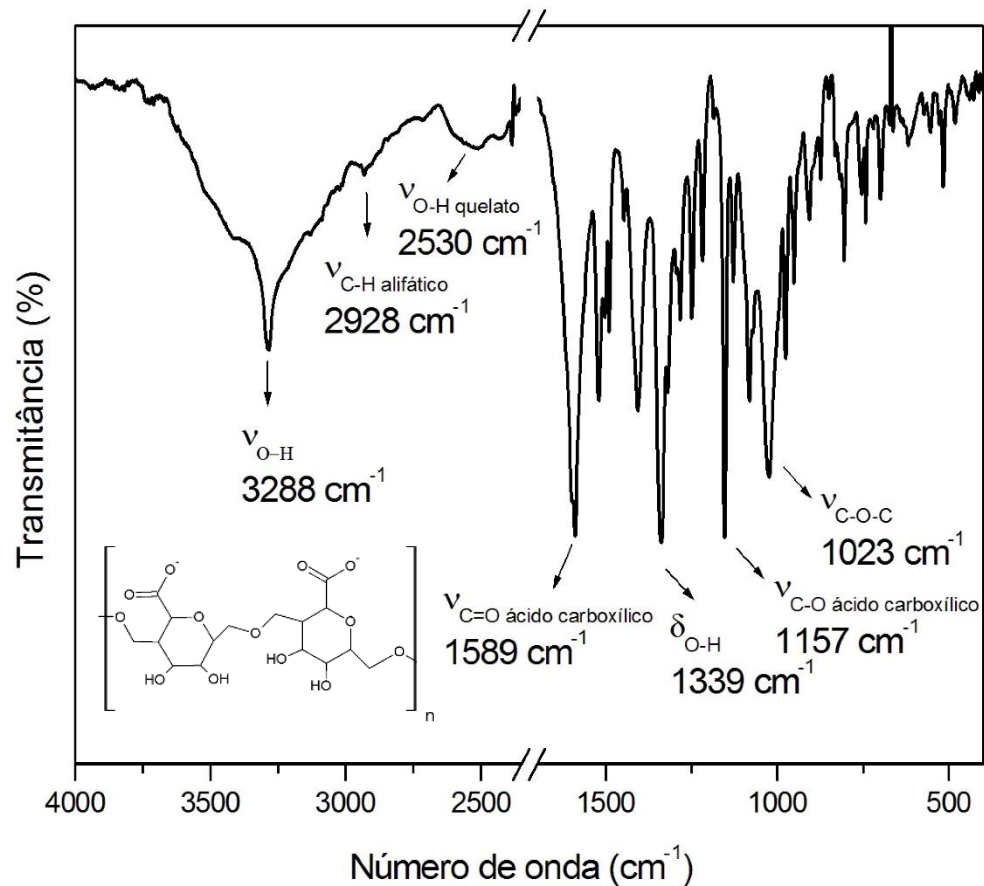
Na Figura 29 é apresentado o espectro de infravermelho obtido do alginato. A banda em  $3288\text{ cm}^{-1}$  é relacionada com o estiramento da ligação O-H associado, resultante da associação polimérica. Em  $2928\text{ cm}^{-1}$  é a banda característica do estiramento da ligação C-H alifática de carbono terciário. Em  $2530\text{ cm}^{-1}$ , banda relacionada com o estiramento da ligação O-H quelato, resultante da ligação de hidrogênio intramolecular com C=O.

Em  $1589\text{ cm}^{-1}$ , banda característica do estiramento da ligação C=O de ácido carboxílico. Em  $1339\text{ cm}^{-1}$ , banda relacionada com a deformação angular no plano da ligação  $\text{OH}\cdots\text{O}$ , essa banda pode se acoplar com a banda de estiramento da ligação C-O, que resulta em uma banda de intensidade moderada na região de  $1156\text{ cm}^{-1}$ .

Quando um ácido carboxílico se transforma em carboxilato, as ligações C=O e C-O são substituídas por duas ligações equivalentes C-O, as quais são intermediárias em constante de força entre C=O e C-O. Portanto, o íon carboxilato apresenta duas bandas características, uma das quais é intensa, proveniente do estiramento observado em torno de  $1157\text{ cm}^{-1}$  e provém do estiramento simétrico da ligação C-O.

A banda em  $1023\text{ cm}^{-1}$  está relacionada com o estiramento da ligação C-O-C das ligações glicosídicas 1-4.

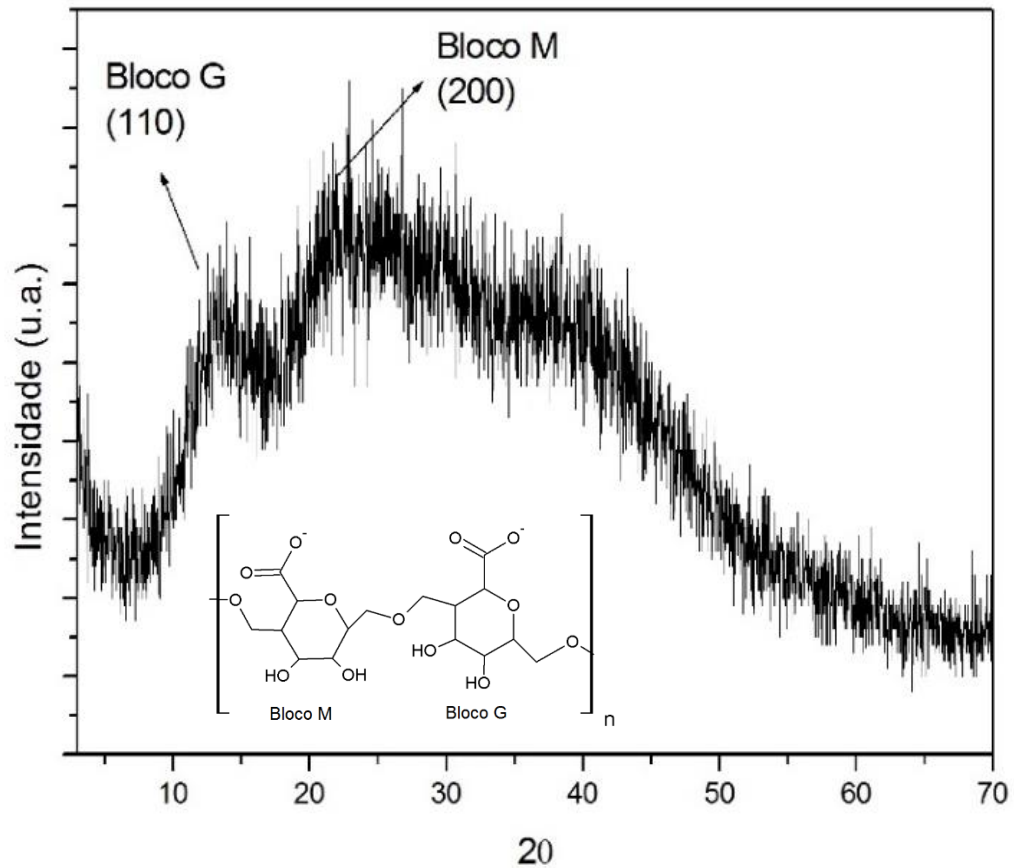
**Figura 29:** Espectro de infravermelho do alginato.



O difratograma de raios X do alginato é apresentado na Figura 30, onde são observados picos alargados em torno de 13 e 23° em  $2\theta$ , esses picos não são análogos pelo fato do padrão de difração do alginato estar associado com a disposição dos grupos G e M na cadeia polimérica e a composição química.

Para o ácido  $\beta$ -D-manurônico referente ao bloco M, na qual duas cadeias ou planos estão organizados paralelamente na direção horizontal. Já para o bloco G que é referente com o ácido  $\alpha$ -L-gulurônico, na qual as cadeias estão dispostas paralelamente na direção vertical. O plano cristalino para o bloco M é referente ao plano (200) e para o bloco G o plano é (110). [39]

**Figura 30:** Difratoograma de raio X do alginato.

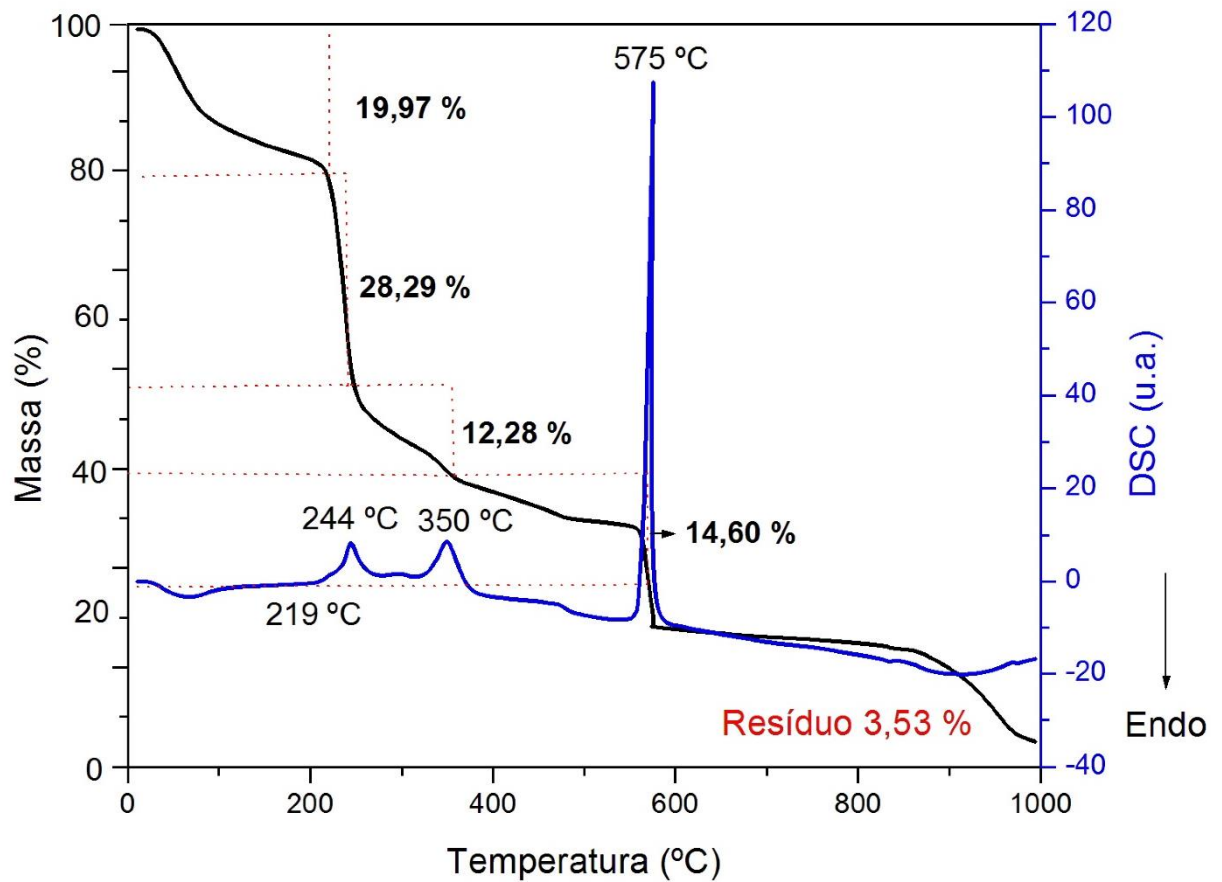


Na Figura 31 é apresentado perfil da Curva de TGA e DSC do alginato. O primeiro evento endotérmico corre da temperatura ambiente até 219 °C, está relacionado com a evaporação de substâncias voláteis, como moléculas de água que estão ligadas através de ligação de hidrogênio com grupos hidroxilas do alginato, com perda de massa de 19,97 %.

Os próximos eventos exotérmicos que ocorrem são à 244, 350 e 575 °C corresponde à combustão do alginato seguida de formação de carbonato de sódio, com perdas de massa de 28,29 %, 12,28 % e 14,60 %. E o último evento que ocorre acima de 900 °C é devido a formação de óxido de sódio (Na<sub>2</sub>O), restando um resíduo de aproximadamente 4% da massa total da amostra.

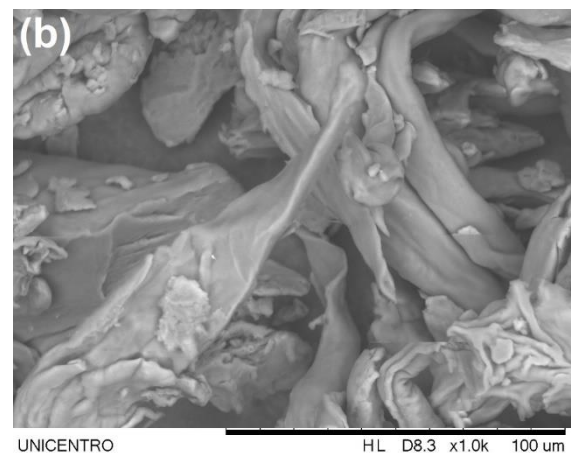
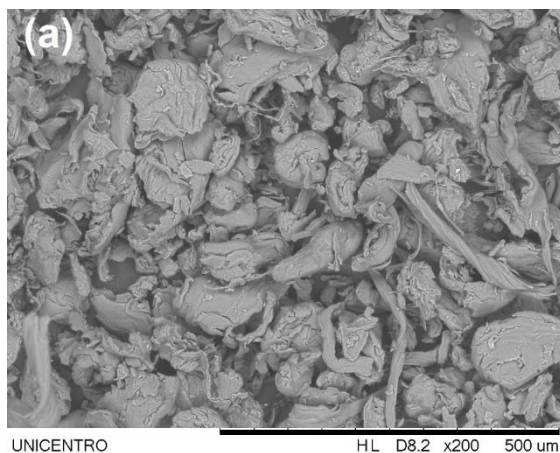


**Figura 31:** Curva de análise térmica (TGA e DSC) do alginato.



Na Figura 32-A e B, são apresentadas imagens de microscopia eletrônica de varredura do alginato. Onde é observado uma morfologia fibrosa na forma de aglomerados e fios de diferentes tamanhos.

**Figura 32:** Imagens de microscopia eletrônica de varredura do alginato, com ampliação de (a) 200x e (b) 1000x.





## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS HDLs-IBU

Foram escolhidos os HDLs de composição Zn/Al devida a biocompatibilidade desses metais, que quando inseridos no organismo não causam uma resposta de rejeição. A escolha da razão desses metais na estrutura lamelar se deve ao fato das razões 2:1 e 3:1 serem as mais facilmente obtidas e essa variação das razões promove diferentes quantidades dos ânions que se encontram intercalados.

Os Difractogramas de Raios X dos HDLs Zn/Al intercalados com Ibuprofeno são apresentados na Figura 33. Os picos representados pelos planos (003) e (006) para o HDL Zn/Al-IBU 3:1 (Figura 33-c), são uma série de reflexões basais que são obtidas em baixos ângulos de  $2\theta$  e permitem a determinação direta do espaçamento basal, que é igual a espessura de uma lamela semelhante ao da brucita somada com o espaço ocupado pelo ânion intercalado. Como o polítipo comum para esse HDL é o 3R e o parâmetro da célula unitária é  $c = 3d$ , a reflexão do ângulo mais baixo é indexada como (003) mesmo que o espaçamento corresponda ao  $d$ .

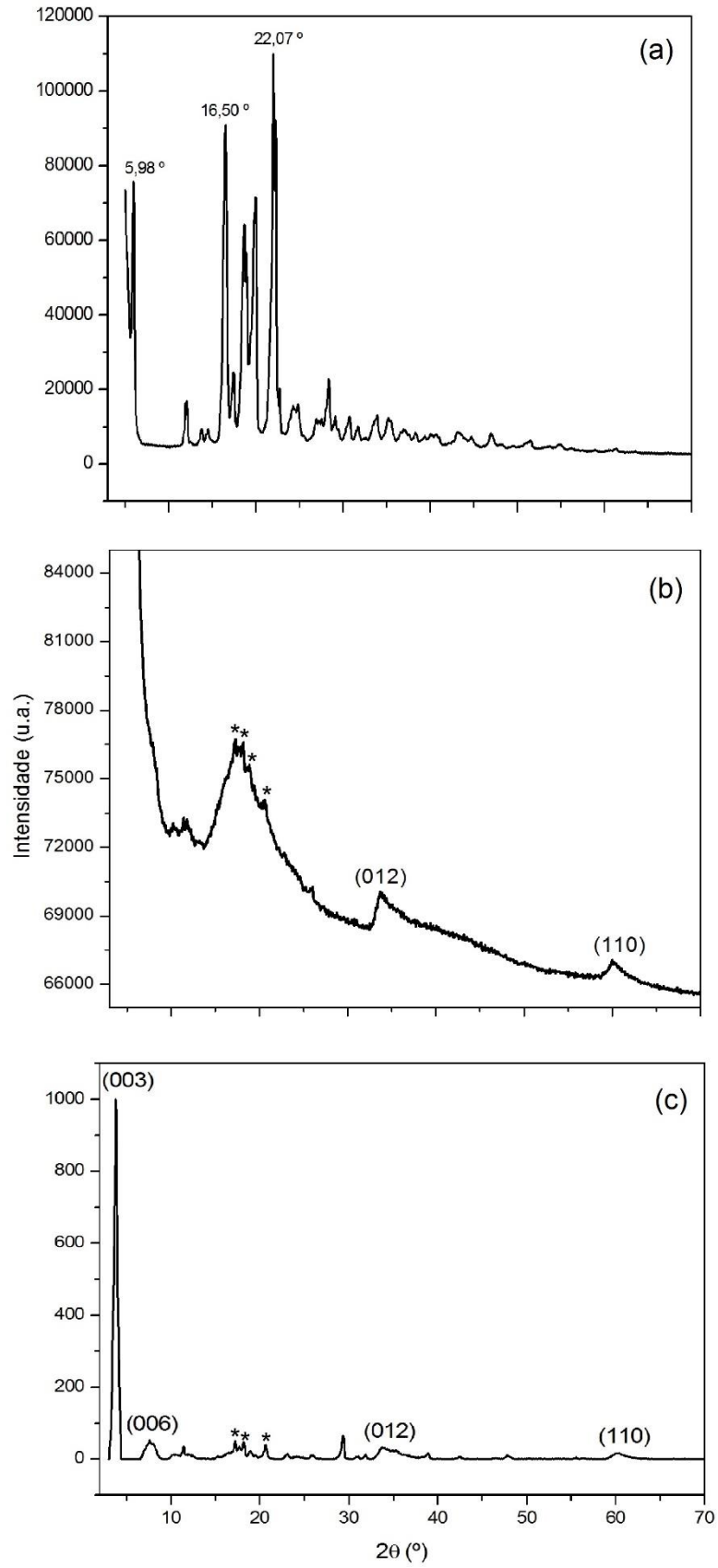
Com isso, o valor de obtido para o espaçamento basal do HDL Zn/Al-IBU 3:1 foi de 2,560 nm (utilizando o plano (006)), valor encontrado através da equação de Bragg (Equação 2).

$$2d\sin\theta = n\lambda, \lambda=0,15418 \text{ nm} \quad (\text{Equação 2})$$

Estes valores de  $d$  propõem que o Ibuprofeno se encontra na forma de bicamada no espaço interlamelar, com o grupamento carboxila orientado no sentido das lamelas, servindo de pilar entre as lamelas (Figura 34). Como o método de síntese utilizado foi o de co-precipitação a pH constante, além do fármaco e moléculas de água, há também a existência do ânion nitrato no espaço interlamelar, que é proveniente sais de partida.

Para o HDL Zn/Al-IBU 2:1 (Figura 33-b), não foi possível a identificação das séries de reflexões basais, pois a escala de varredura foi de 5 a  $70^\circ$  em  $2\theta$ , não sendo possível a visualização do pico referente ao plano de difração (003), que é encontrado em ângulos abaixo de  $5^\circ$ . Mas observa-se a presença de picos alargados na região de 10 a  $25^\circ$  em  $2\theta$ , o que indica um empilhamento desordenado das lamelas e a presença do Ibuprofeno recristalizado que se encontra disperso (indicados com \*).

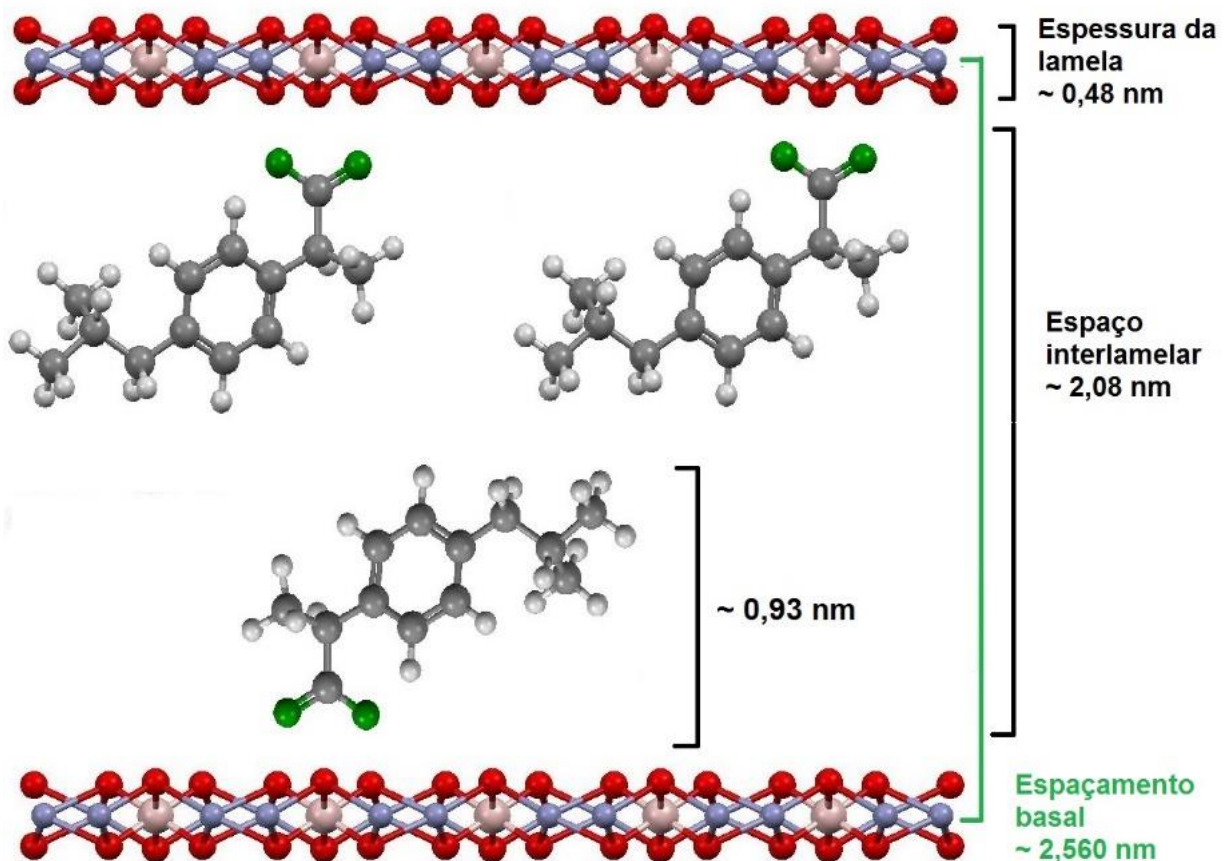
**Figura 33:** Difratoigramas de Raios X do (a) Ibuprofeno, (b) HDL Zn/Al-IBU 2:1 e (c) Zn/Al-IBU 3:1.



Porém observa-se outras reflexões características desses materiais, como o plano de difração (012) em valores intermediários de ângulos em  $2\theta$ , que está relacionado com o padrão de empilhamento das lamelas indicando um polítipo 3R, sendo  $c=3d_{(003)}$ , o parâmetro “c” foi de 7,68 nm para o HDL Zn/Al-IBU 3:1.

O plano de difração (110) e (113) em alto ângulo (aproximadamente  $60^\circ$  em  $2\theta$ ) que em alguns casos o plano de difração (113) se apresenta bem definido, correspondem à distância entre dois cátions metálicos, sendo possível calcular o valor para o parâmetro “a”, onde  $a=2d_{(110)}$ . Obtendo então o valor de “a” de 0,339 e 0,338 nm respectivamente para os HDLs Zn/Al-IBU 2:1 e Zn/Al-IBU 3:1.

**Figura 34:** Representação esquemática da estrutura do HDL Zn/Al-IBU 2:1 (● = OH, ● = O, ● = C, ● = Zn, ● = Al).



Fonte: O autor (2018).

Para o HDL Zn/Al-IBU 3:1 foi possível estimar o tamanho médio dos cristais na direção cristalográfica “c” (espessura do cristal), calculado pela equação de Scherrer (Equação 3), obtendo um tamanho médio estimado de 167 nm.

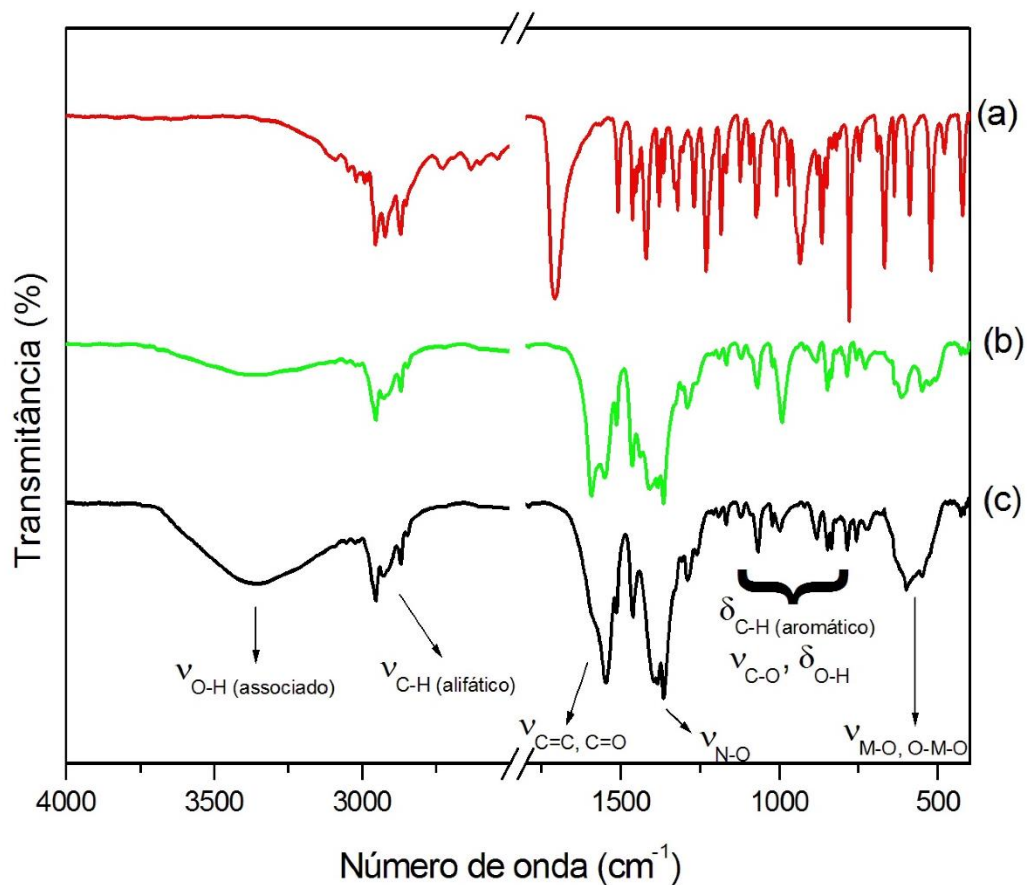
$$t_c = (k\lambda)/(B - b)\cos\theta \quad (\text{Equação 3})$$

$k=0,91^\circ$  (correspondente de partículas esféricas e  $\lambda=0,154$  nm)

Os espectros de infravermelho dos HDLs intercalados com Ibuprofeno são apresentados na Figura 35, bem como o espectro de infravermelho do Ibuprofeno (Figura 35-a) para comparação das bandas características do fármaco.

As bandas na região de  $3400\text{ cm}^{-1}$  dos HDLs estão relacionadas com o estiramento da ligação O-H das hidroxilas que formam as lamelas e de moléculas de água presentes nos materiais. Este estiramento da ligação O-H associado à estrutura das lamelas indicam que os grupos OH das lamelas estão interagindo na forma de ligações de hidrogênio com o ibuprofeno que se encontra no espaço interlamelar.

**Figura 35:** Espectros de infravermelho para (a) o Ibuprofeno, (b) HDL Zn/Al-IBU 2:1 e (c) HDL Zn/Al-IBU 3:1.



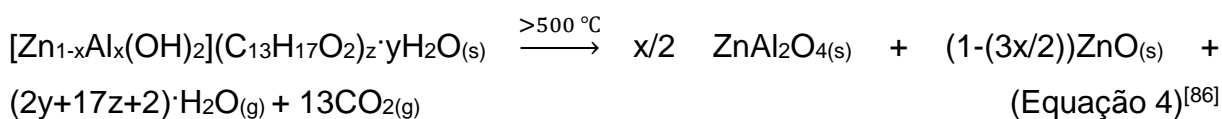
As bandas na região de  $3000$  a  $2800\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas com o estiramento das ligações C-H alifáticas presentes no ânion que se encontra intercalado. Em  $1540$

$\text{cm}^{-1}$  são bandas características de estiramentos das ligações C=C do anel aromático e ligações C=O do grupamento ácido carboxílico do ibuprofeno.

A banda na região de  $1397 \text{ cm}^{-1}$  é característica da ligação N-O, indicando que o ânion nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) também se encontra intercalado no espaço interlamelar desses materiais.

As bandas na região de  $1250$  a  $750 \text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas com o estiramento da ligação C-O e deformações angulares das ligações C-H do anel aromático e das ligações O-H. E as bandas abaixo de  $700 \text{ cm}^{-1}$  podem ser interpretadas como modos de vibração da rede das lamelas, tais como vibrações de estiramento M-OH e O-M-O.

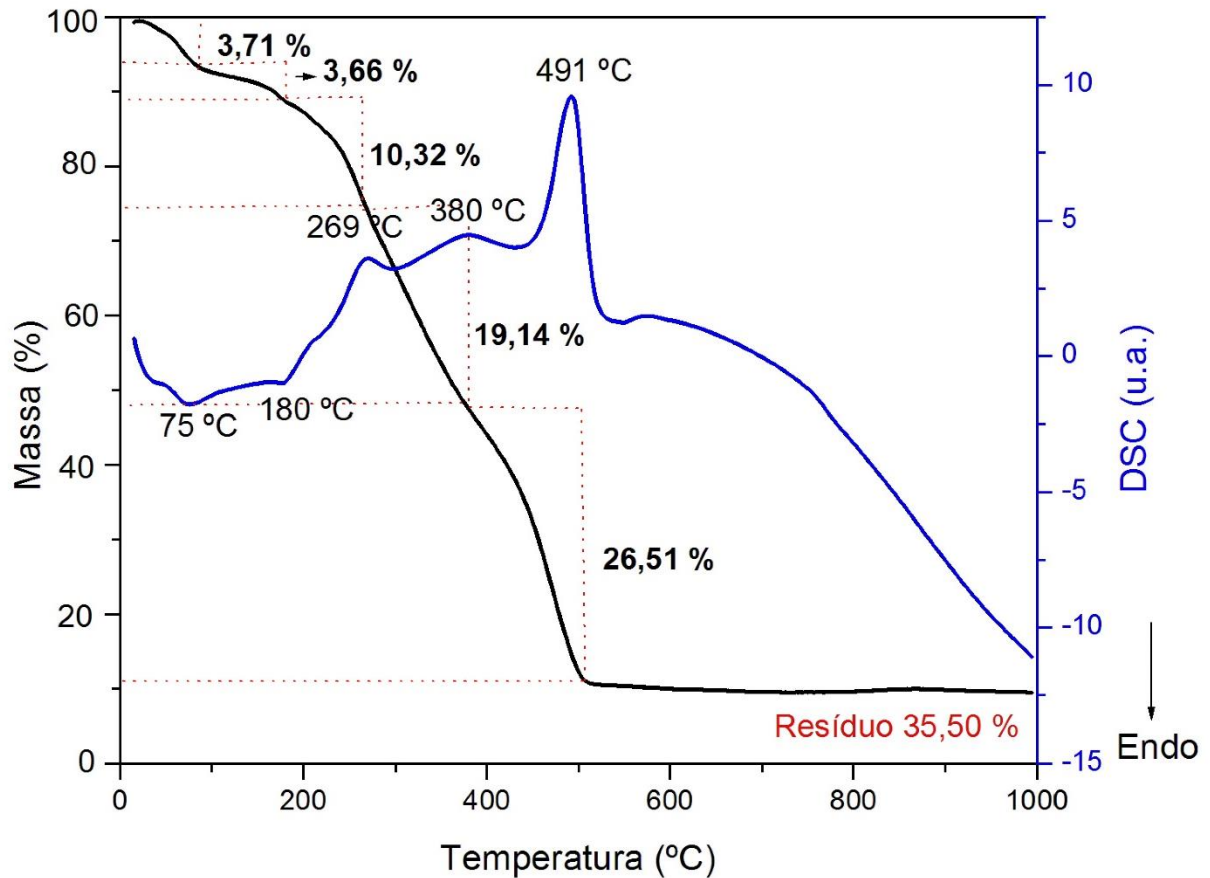
O comportamento térmico dos HDLs foi estudado por meio das medidas de análise térmica (TGA/DSC). O perfil de decomposição térmica dos HDLs são mostrados nas Figuras 36 e 37. A reação genérica de decomposição térmica pode ser descrita da seguinte forma:



Observou-se pela curva de TGA/DSC do HDL Zn/Al-IBU 2:1 (Figura 36) cinco principais perdas de massa. O primeiro evento que ocorre é da temperatura ambiente até  $75 \text{ } ^\circ\text{C}$  e está relacionado com a eliminação de moléculas de água adsorvidas na superfície das lamelas, apresentando perda de massa de 3,71 %. O segundo evento que ocorre à  $180 \text{ } ^\circ\text{C}$  é decorrente da eliminação de moléculas de água que se encontram no espaço interlamelar e ligadas às lamelas através de ligações de hidrogênio, apresentando perda de massa de 3,66 %.

O terceiro evento que ocorre é a  $269 \text{ } ^\circ\text{C}$  e está relacionado com o processo de desidroxilação da estrutura do HDL e à  $380 \text{ } ^\circ\text{C}$  ocorre o evento de eliminação do ânion nitrato, com perdas de massa de 10,32 e 19,14 % respectivamente. E o último evento exotérmico que ocorre é à  $491 \text{ } ^\circ\text{C}$ , que está relacionado com a combustão da matéria orgânica e consequente formação dos óxidos, apresentando perda de massa de 26,51 %. E ao final do processo, apresentando 35,50 % em massa de resíduo.

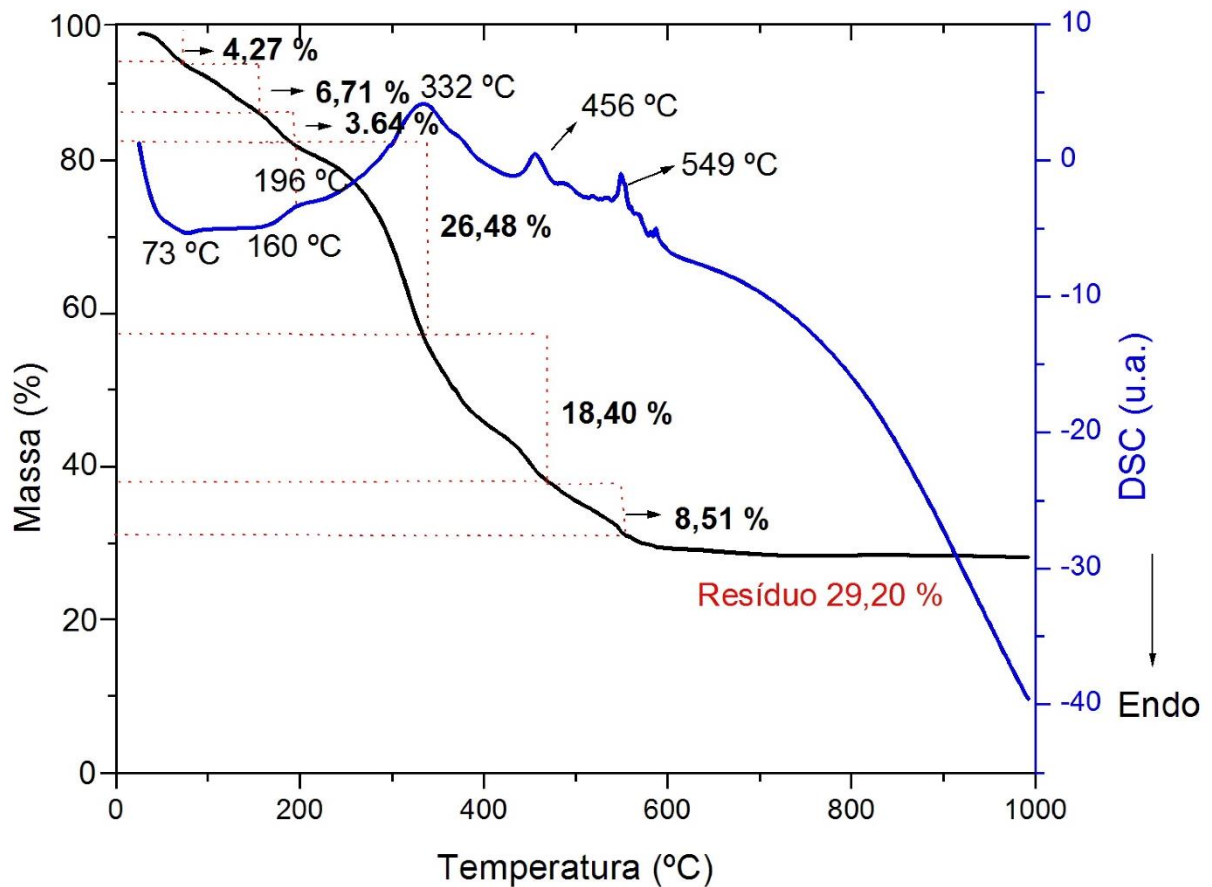
**Figura 36:** Curva de análise térmica (TGA e DSC) do HDL Zn/Al-IBU 2:1.



Para o HDL Zn/Al-IBU 3:1, pode-se observar pela curva de TGA/DSC (Figura 37) ocorre seis principais perdas de massa. O primeiro evento ocorre da temperatura ambiente até 73 °C e está relacionado com a eliminação de moléculas de água adsorvidas na superfície das lamelas, apresentando perda de massa de 4,27 %. O segundo evento ocorre à 160 °C e é decorrente da eliminação de moléculas de água que se encontram no espaço interlamelar e ligadas às lamelas através de ligações de hidrogênio, apresentando perda de massa de 6,71 %.

O terceiro evento que ocorre é a 196 °C e está relacionado com o processo de desidroxilação da estrutura do HDL e eliminação do ânion nitrato, com perda de massa de 3,64 %. E o último evento ocorre em três etapas, em 332, 456 e 549 °C, que está relacionado com a combustão da matéria orgânica e consequente formação dos óxidos, apresentando perdas de massa de 26,48 %, 18,40 % e 8,51 % respectivamente. E ao final do processo, apresentando 29,20 % em massa de resíduo.

**Figura 37:** Curva de análise térmica (TGA e DSC) do HDL Zn/Al-IBU 3:1.



O processo de intercalação do Ibuprofeno no espaço interlamelar dos HDLs promoveu maior estabilidade térmica frente a decomposição térmica, o que é observado pela curva de TGA/DSC somente do Ibuprofeno, onde a decomposição ocorreu numa temperatura inferior (199 °C – Figura 23) quando comparado com o Ibuprofeno intercalado nos HDLs.

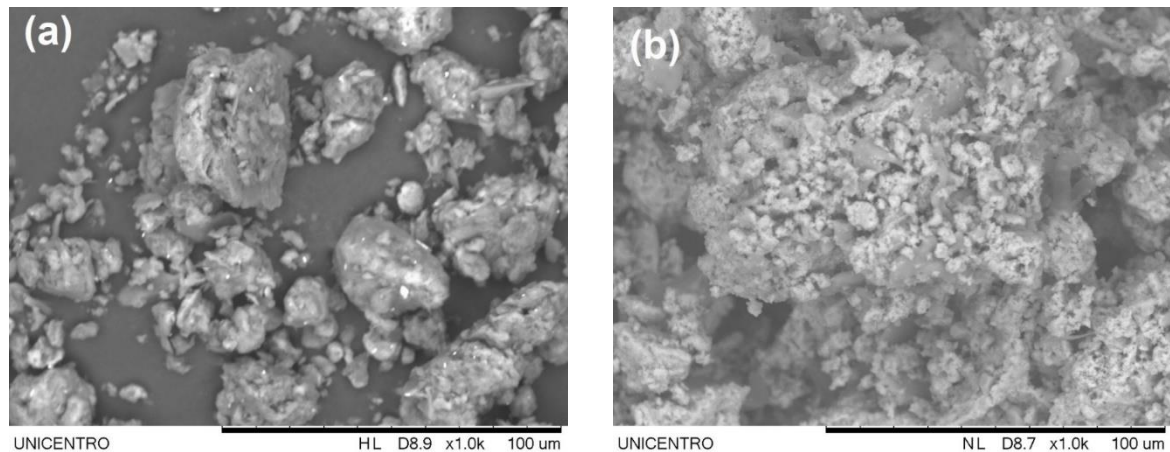
Como não foi possível realizar uma quantificação dos metais através da técnica de Fluorescência de Raios X, utilizou-se as curvas de análise térmica para estimar a quantidade do fármaco e de moléculas de água presentes em cada HDL, onde fixou-se a razão dos metais di e trivalentes e desconsiderou-se as quantidades de  $\text{CO}_3^-$  e  $\text{NO}_3^-$  na fórmula teórica, obtendo então as seguintes fórmulas gerais:  $[\text{Zn}_{0,67}\text{Al}_{0,33}(\text{OH})_2](\text{IBU}^-)_{0,485} \cdot 0,626\text{H}_2\text{O}$  para o HDL com razão molar de 2:1 e  $[\text{Zn}_{0,75}\text{Al}_{0,25}(\text{OH})_2](\text{IBU}^-)_{0,658} \cdot 1,590\text{H}_2\text{O}$  para o HDL com razão molar de 3:1. As quantidades de Ibuprofeno apresentado nas fórmulas gerais corroboram com os difratogramas de raios X dos mesmos (Figura 33-b e 33-c), indicando picos de difração do Ibuprofeno livre, onde o fármaco também se apresentava recristalizado livremente,



aumentando assim a quantidade de matéria orgânica devido ao excesso do fármaco nesses materiais.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura desses materiais são apresentadas na Figura 38. A morfologia para ambos os HDLs se apresentam na forma de aglomerados floculados, mas não possuem um crescimento preferencial. O tamanho médio dos aglomerados para o HDL Zn/Al-IBU 2:1(Figura 38-a) são relativamente maiores quando comparados com os do Zn/Al-IBU 3:1 (Figura 38-b), este fato pode estar relacionado com a forma de preparo da amostra para realização das análises (pulverização).

**Figura 38:** Imagens de microscopia eletrônica de varredura para os HDLs (a) Zn/Al-IBU 2:1 e (b) Zn/Al-IBU 3:1, com ampliação de 1000x.



A técnica de EDS acoplada à técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) confirma a razão entre os metais divalentes e trivalentes, indicando valores percentuais atômicos para os metais Zn e Al apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3:** Módulo de Análise Química (EDS) para os HDLs Zn/Al-IBU.

Razão HDL Zn/Al-IBU	Zn (% atômica)	Al (% atômica)
2:1	67,2	32,8
3:1	75,1	24,9

A % atômica é em relação à média de 5 medidas realizadas em pontos diferentes.

Apresentando porcentagem atômica de 67,2 e 75,1% de zinco e 32,8 e 24,9% de alumínio para os HDLs Zn/Al-IBU 2:1 e Zn/Al-IBU 3:1 respectivamente, corroborando com o foi encontrado através das curvas TGA/DSC para esses HDLs.



### 5.3 PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS HÍBRIDAS

Em relação às membranas obtidas pela metodologia proposta no Projeto de Pesquisa que se encontra descrita no Anexo 10.1, apresentaram pouca dispersão da quitosana no meio Ácido Acético/Acetona e a coagulação promovida pela adição de NaOH fazia com que houvesse a formação de duas fases quitosana/alginato e não a reticulação entre as cadeias de quitosana e alginato, mesmo com a adição do agente reticulante. A membrana obtida por esse método é apresentada na Figura 39.

**Figura 39:** Membrana de quitosana/alginato solubilizada em ácido acético/acetona.



**Figura 40:** Membrana de quitosana solubilizada em HCl (0,1 molL<sup>-1</sup>).



A dificuldade na solubilização da quitosana em um ácido mais fraco é devido ao Grau de Desacetilação (%GD) menor do qual usualmente é utilizado (%GD  $\geq$  85%), onde o valor obtido experimentalmente foi de 69%. A metodologia experimental para o cálculo do Grau de Desacetilação da quitosana é descrito no Anexo 10.2.

Houve então a necessidade de utilizar um ácido mais forte na solubilização da quitosana (HCl 0,1 molL<sup>-1</sup>) e posterior centrifugação da solução para a retirada de possíveis contaminantes e quitosana não solubilizada (4,7% de resíduo). A membrana obtida somente com a solução de quitosana solubilizada em HCl é apresentada na Figura 40.

Apesar de boa homogeneização da membrana quitosana solubilizada em HCl, ela é hidróscópica e frágil, o que não favorece a sua utilização para a aplicação desejada.

Já a membrana quitosana/alginato (Figura 41) apresentou homogeneidade razoável que foi melhorada com inserção da etapa de imersão no agente reticulante 8%, a fim de reticular as cadeias de quitosana e alginato que ainda se encontravam livres. Apresentando maior resistência, quando comparada com a membrana contendo somente quitosana.

**Figura 41:** Membrana quitosana/alginato solubilizada em HCl ( $0,1 \text{ molL}^{-1}$ ).



**Figura 42:** Membrana quitosana/alginato obtida após os processos de imersões.



O pH na membrana era em torno de 3 ~ 4, necessitando então de uma imersão em uma solução de base fraca ( $\text{NaHCO}_3$   $0,1 \text{ molL}^{-1}$ ) para a neutralização do ácido e possível utilização da membrana no organismo humano. Passando a ter um pH em torno de 6 ~ 7, apresentando boa maleabilidade, espessura média de 0,03 cm e podendo ser remoldado após reidratação da mesma. A membrana obtida após todas as imersões é apresentada na Figura 42.

Quando adicionado o fármaco na solução polimérica observou-se pouca interação entre o fármaco e a rede polimérica, ocorrendo recristalização do Ibuprofeno na superfície da membrana na etapa de secagem da membrana. Devido a isso, a membrana obtida não poderia passar pelos processos imersão, o que ocorreria a perda em grande quantidade do fármaco nas soluções de imersões, não sendo possível a neutralização do pH da membrana. Essa membrana é apresentada na Figura 43.

**Figura 43:** Membrana quitosana/alginateo contendo Ibuprofeno.



**Figura 44:** Membrana quitosana/alginateo contendo Ibuprofeno solubilizado em etanol (50 %v/v).



Para resolver o problema da solubilização do Ibuprofeno na solução polimérica, foi proposto solubilizar previamente o Ibuprofeno em 10 mL de uma solução aquosa de etanol (50% v/v) e posteriormente adicionada à solução polimérica. Na etapa de secagem da solução polimérica para a formação da membrana pôde-se observar que a membrana ficou quebradiça (Figura 44), demonstrando fragilidade devida a presença do fármaco.

O mesmo não foi observado quando o Ibuprofeno se encontra intercalado nos HDLs, onde a estrutura lamelar além de melhorar a insolubilidade do fármaco, interagindo com a rede polimérica, o que mantém a estrutura polimérica após a etapa de secagem. As membranas contendo os HDLs são apresentadas nas Figuras 45 e 46, onde os discos obtidos apresentaram um diâmetro médio de 6 cm.

**Figura 45:** Membrana quitosana/alginateo contendo HDL Zn/Al-IBU 2:1.



**Figura 46:** Membrana quitosana/alginateo contendo HDL Zn/Al-IBU 3:1.

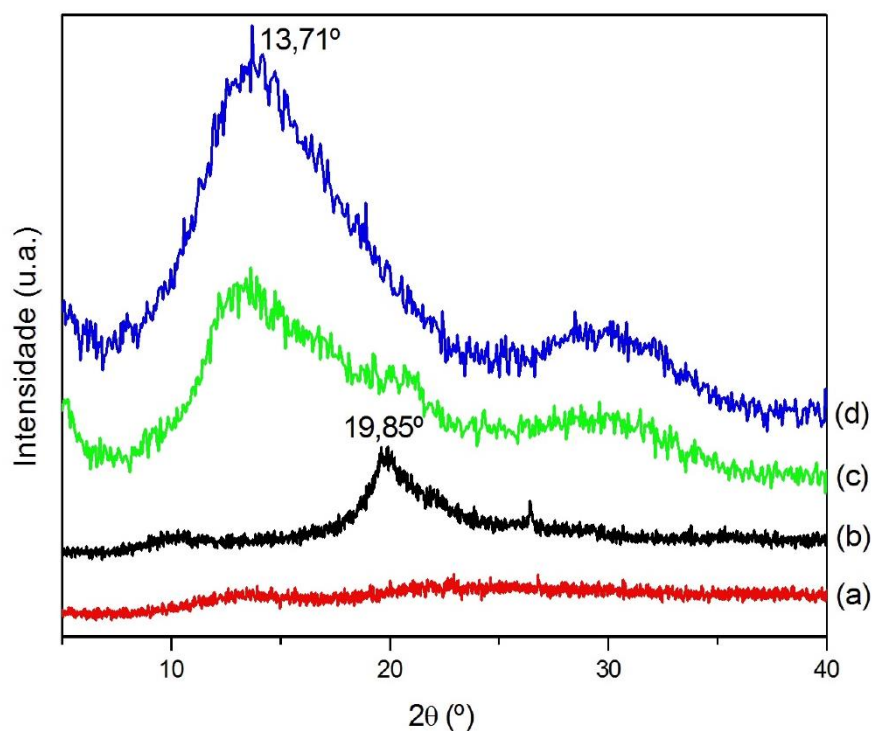


Foram testadas a estabilidade das membranas em água destilada e em solução SBF. Amostras aproximadamente  $1\text{cm}^2$  de cada membrana foram colocadas em frascos herméticos contendo 30 mL de água destilada e outro frasco contendo 30 mL de solução SBF. Os frascos foram devidamente selados e mantidos em estufa à  $36\text{--}37,5\text{ }^\circ\text{C}$  por 20 dias. As membranas que estavam nos frascos que continham água destilada mantiveram-se intactas após o período de 20 dias, já as membranas que estavam nos frascos que continham solução SBF ficaram fragilizadas, mas não ocorreu solubilização das mesmas.

#### 5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS HÍBRIDAS

Os difratogramas de raios X dos polímeros constituintes e das membranas são apresentados na Figura 47. Pôde-se observar que houve deslocamento do pico de difração da quitosana (Figura 47-b) para menores ângulos em  $2\theta$  devido a reticulação das cadeias poliméricas da quitosana e do alginato, indicando que os agregados poliméricos formados apresentam uma orientação preferencial.

**Figura 47:** Difratogramas de raios X dos polímeros (a) alginato, (b) quitosana, (c) membrana quitosana/alginato sem reticulante e (d) membrana de quitosana/alginato com reticulante.

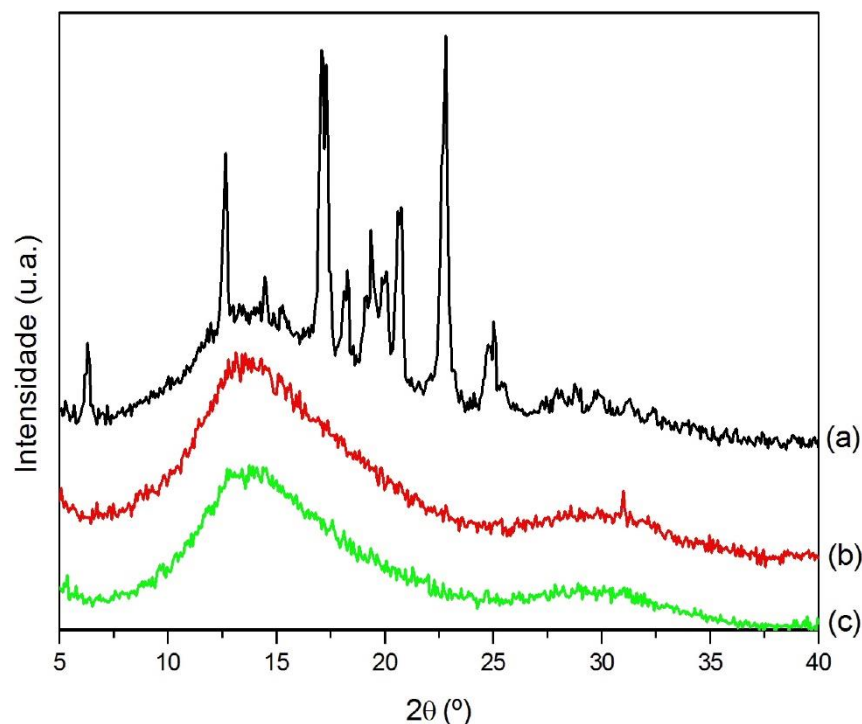




Quando comparadas os difratogramas das membranas quitosana/alginato com e sem adição do reticulante (Figura 47-c e 47-d), foi possível observar que com a presença do agente reticulante a união das cadeias poliméricas da quitosana com o alginato se apresentam de forma mais ordenada, o que é indicado pelo aumento da intensidade do pico de difração das membranas sintetizadas, apresentando um valor aproximado de  $d=0,716$  nm. A ordenação para polímeros e membranas poliméricas é geralmente na forma semicristalina à amorfa, pois grande parte dos agregados poliméricos são orientados aleatoriamente, e essa orientação pode ser melhorada pela adição da temperatura na etapa de reticulação das cadeias poliméricas e quando os polímeros precursores são de baixa densidade (baixo peso molecular) .

Quando foram adicionados o Ibuprofeno e os HDLs-IBU, os difratogramas de raios X das membranas obtidas são apresentados na Figura 48. É observado para a membrana quitosana/alginato contendo Ibuprofeno (Figura 48-a) picos característicos do fármaco, indicando pouca dispersão e pouca interação do fármaco com a rede polimérica formada.

**Figura 48:** Difratogramas de raios X das membranas quitosana/alginato contendo (a) Ibuprofeno, (b) HDL Zn/Al-IBU 2:1 e (c) HDL Zn/Al-IBU 3:1.

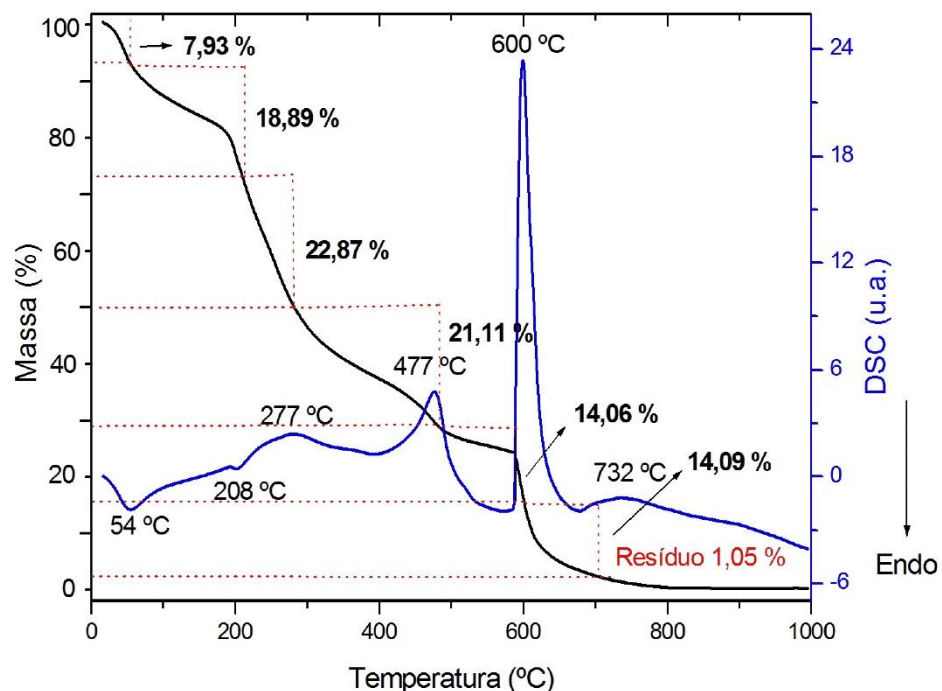


Já para as membranas híbridas contendo os HDLs-IBU (Figura 48-b e 48-c) é observado que houve interação entre a rede polimérica com os HDLs e que não há a presença dos picos característicos para HDLs, indicando que houve boa dispersão da carga (0,0075 g/L de Ibuprofeno e HDLs) e/ou esfoliação dos cristais dos HDLs.

O perfil das curvas TGA/DSC da membrana quitosana/alginate com reticulante são apresentadas na Figura 49, observa-se cinco principais perdas de massa, sendo os dois primeiros eventos endotérmicos e os três últimos eventos exotérmicos.

Onde o primeiro evento ocorre à aproximadamente 54 °C e está relacionado com a eliminação de moléculas de água de hidratação, com perda de massa de 7,93 %. O segundo evento ocorre à aproximadamente 208 °C que está relacionado com o processo de desidroxilação da rede polimérica quitosana/alginate, com perda de massa de 18,89 %. E os três eventos seguintes, em 277, 477 e 600 °C está relacionado com a combustão da matéria orgânica, com perdas de massa de 22,87 %, 21,11 % e 14,06 % respectivamente. Acima de 700 °C ocorre o evento de formação de óxidos resultantes do alginate e da quitosana, apresentando resíduo percentual de 1,05 %

**Figura 49:** Curva de TGA/DSC da membrana quitosana/alginate com reticulante.



O perfil das curvas TGA/DSC para a membrana quitosana/alginate contendo reticulante e ibuprofeno é apresentada na Figura 50. São observados nove principais

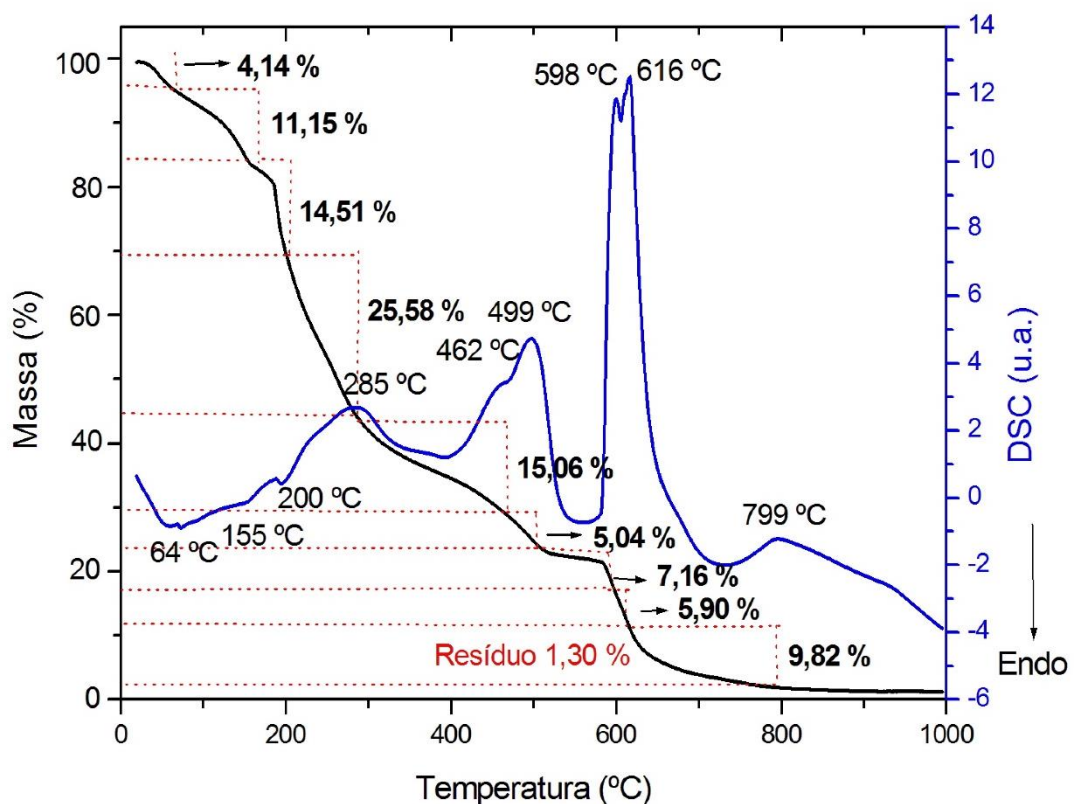
eventos, sendo o primeiro evento recorrente à eliminação de moléculas água de hidratação, que ocorre numa temperatura de 64 °C com perda de massa de 4,14 %.

O segundo evento ocorre à 155 °C e é decorrente do processo de desidroxilação da rede polimérica, com perda de massa de 11,15 %. O terceiro evento ocorre em 200 °C e ocorre devido ao processo de decomposição térmica do Ibuprofeno que se encontra recristalizado e disperso, com perda de massa de 14,51 %.

Os próximos eventos exotérmicos até 616 °C é devido à combustão da matéria orgânica referente a rede polimérica, com perdas de massa de 25,58 %, 15,06 %, 5,04 %, 7,16 % e 5,90 % respectivamente.

O último evento à 799 °C é devido á formação de óxidos recorrente de contaminação por parte do Ibuprofeno, com perda de massa de 9,82 %, restando um resíduo percentual de 1,30 %.

**Figura 50:** Curva de TGA/DSC da membrana quitosa/alginato contendo Ibuprofeno.



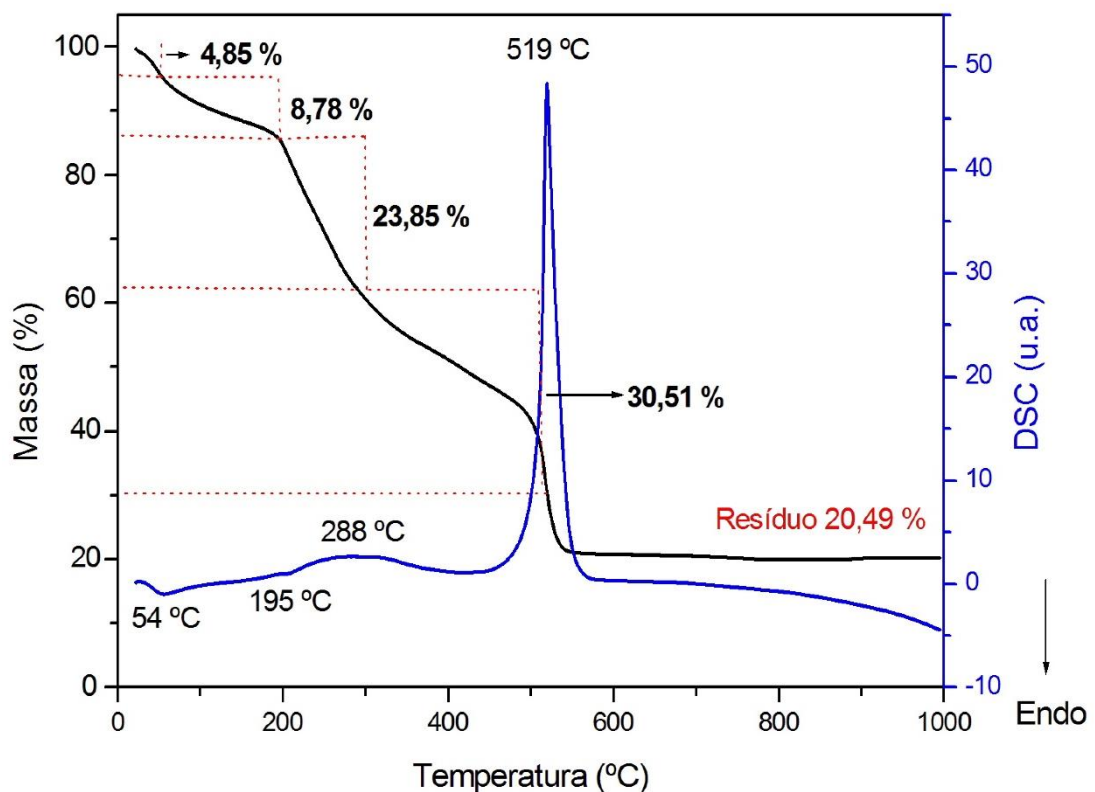
Os perfis das curvas TGA/DSC para as membranas contendo reticulante e os HDLs são apresentadas nas Figuras 51 e 52.

Para a membrana contendo reticulante e o HDL Zn/Al-IBU 2:1 (Figura 51) observa-se quatro principais eventos. O primeiro ocorre à 54 °C e está relacionado com a eliminação de moléculas de água de hidratação, com perda de massa de 4,85 %.

O segundo evento ocorre à 195 °C e está relacionado com o processo de desidroxilação da rede polimérica e da estrutura das lamelas, com perda de massa de 8,78 %.

Os dois próximos eventos exotérmicos (288 e 519 °C) estão relacionados com o processo de decomposição do Ibuprofeno que se encontra intercalado e da rede polimérica, apresentando perdas de massa de 23,85 % e 30,51% respectivamente. Ao final do processo apresentou uma porcentagem de resíduo de 20,49 %. Valor percentual de resíduo alto quando comparado com o percentual de resíduo somente das membranas (Figura 49), isso se deve á formação de óxidos formados advindos da estrutura do material lamelar (Figura 36).

**Figura 51:** Curva de TGA/DSC da membrana quitosa/alginato contendo HDL Zn/Al-IBU 2:1.



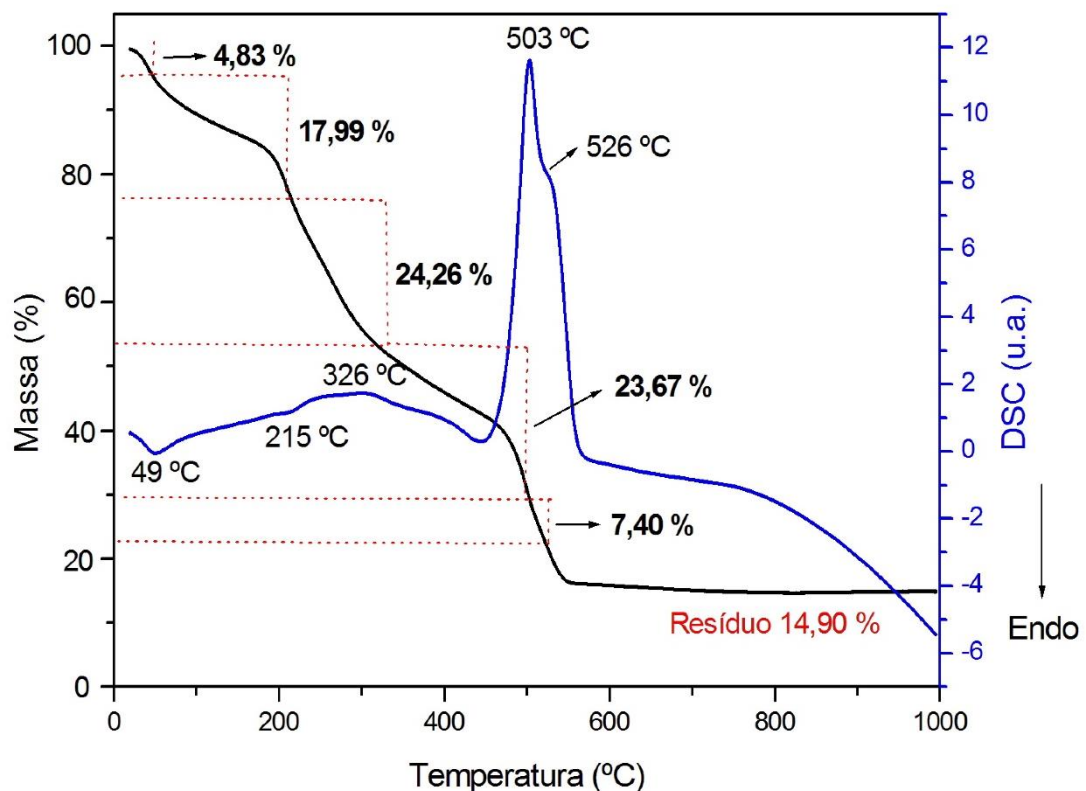
Para a membrana contendo reticulante e o HDL Zn/Al-IBU 3:1 (Figura 52) observa-se cinco principais eventos. O primeiro ocorre à 49 °C e está relacionado com a eliminação de moléculas de água de hidratação, com perda de massa de 4,83 %.



O segundo evento ocorre à 215 °C e está relacionado com o processo de desidroxilação da rede polimérica e da estrutura das lamelas, com perda de massa de 17,99 %.

Os três próximos eventos exotérmicos (326, 503 e 526 °C) estão relacionados com o processo de decomposição do Ibuprofeno que se encontra intercalado e da rede polimérica, apresentando perdas de massa de 24,26 %, 23,67 % e 7,40 % respectivamente. Ao final do processo apresentou uma porcentagem de resíduo de 14,90 %. Valor percentual de resíduo alto quando comparado com o percentual de resíduo somente das membranas (Figura 49), isso se deve á formação de óxidos formados advindos da estrutura do material lamelar (Figura 37).

**Figura 52:** Curva de TGA/DSC da membrana quitosa/alginato contendo HDL Zn/Al-IBU 3:1.

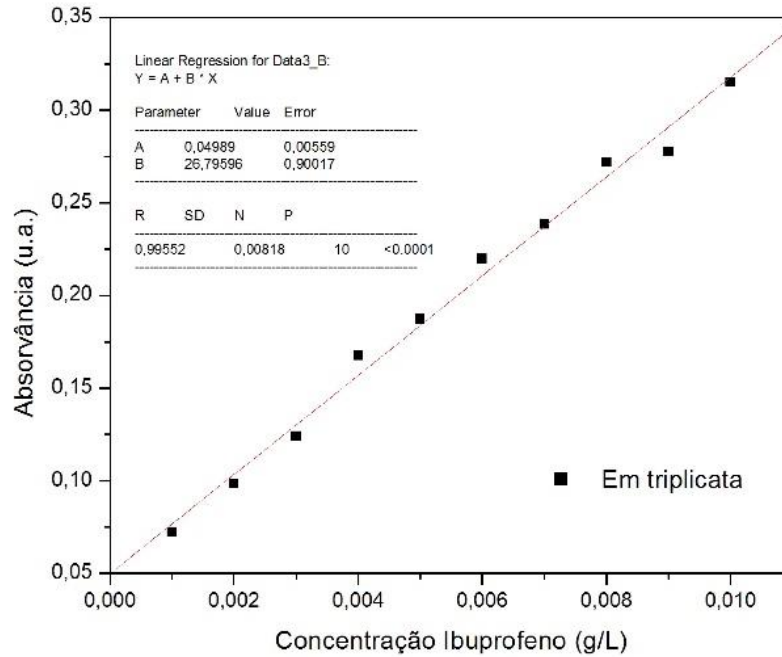


Observa-se diminuição na temperatura de decomposição das membranas contendo os HDLs, tornando-as menos estáveis às temperaturas superiores a 300 °C, o que não implica numa desvantagem para a aplicação desejada, pois as temperaturas em que se pretende utilizar as membranas serão de aproximadamente 36~37,5 °C (temperatura corporal).

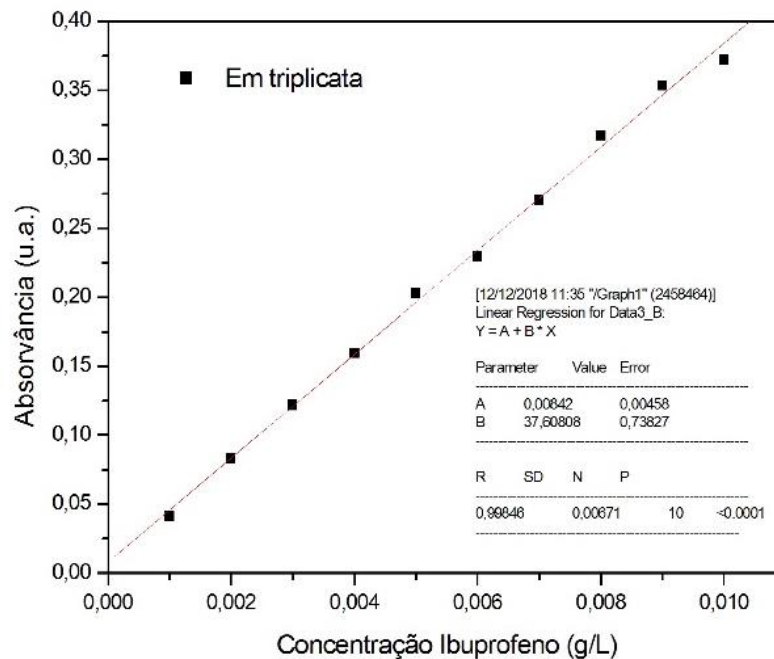
## 5.5 TESTES DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Através das curvas de analíticas obteve-se os coeficientes de correlação linear de 0,99552 e 0,99846 para as curvas de calibração do Ibuprofeno solubilizado em água e do Ibuprofeno solubilizado em solução PBS respectivamente.

**Figura 53:** Curva de calibração para o Ibuprofeno solubilizado em água,  $\lambda_{\text{máx}} = 222 \text{ nm}$ .



**Figura 54:** Curva de calibração para o Ibuprofeno solubilizado em solução PBS,  $\lambda_{\text{máx}} = 222 \text{ nm}$ .



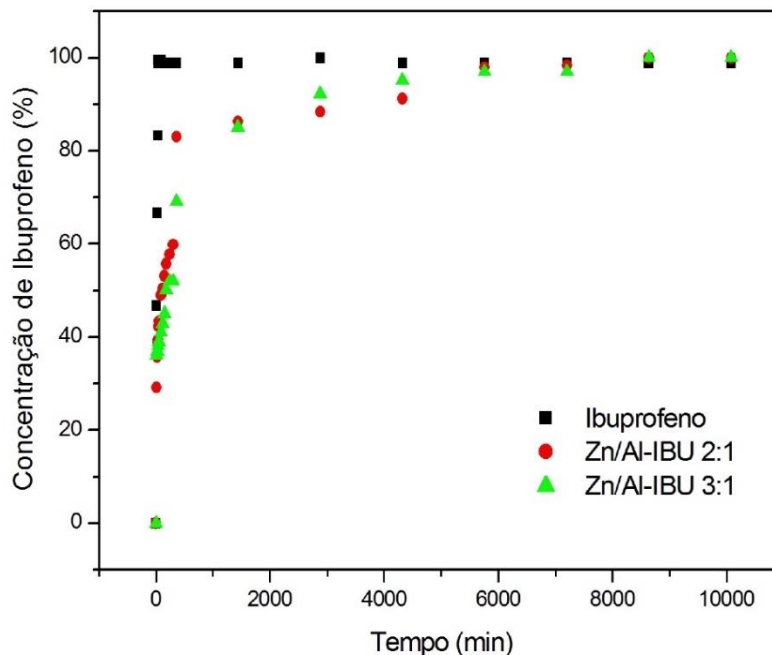
Os perfis de liberação para as amostras (somente do Ibuprofeno e HDLs Zn/Al-IBU 2:1 e Zn/Al-IBU 3:1) em água destilada são apresentados na Figura 55.

Para a amostra que continha somente Ibuprofeno no frasco (■), observa-se que em apenas 10 minutos 46,67 % de Ibuprofeno foi solubilizado, atingindo sua totalidade no meio em 40 minutos.

Para o HDL Zn/Al-IBU 2:1 (●), observa-se que em 10 minutos foi liberado 29,18% de Ibuprofeno para o meio, atingindo 50% de liberação em 120 minutos (2 horas) e atingindo 100% de liberação em 7200 minutos (5 dias)

E para o HDL Zn/Al-IBU 3:1 (▲), observa-se que em 10 minutos foi liberado 36,04% de Ibuprofeno para o meio, atingindo 50% de liberação em 180 minutos (3 horas) e atingindo 100% de liberação em 5760 minutos (4 dias).

**Figura 55:** Perfis de liberação *in vitro* das amostras em água destilada.



Normalmente se esperaria que o HDL Zn/Al-IBU 2:1 tivesse um perfil de liberação mais rápida quando comparado com o HDL Zn/Al-IBU 3:1, por conseguir alocar em seu espaço interlamelar mais ânions de Ibuprofeno devida a razão  $M^{2+}/M^{3+}$  (Fórmulas teóricas gerais:  $[Zn_{0,67}Al_{0,33}(OH)_2](IBU^-)_{0,33} \cdot yH_2O$  para o HDL com razão molar de 2:1 e  $[Zn_{0,75}Al_{0,25}(OH)_2](IBU^-)_{0,25} \cdot yH_2O$  para o HDL com razão molar de 3:1), porém observa-se que em apenas 10 minutos 6,86% a mais de Ibuprofeno é

liberado para o meio e atingindo sua totalidade de liberação 1 dias a menos do HDL Zn/Al-IBU 3:1, indicando que há mais Ibuprofeno no HDL Zn/Al-IBU 3:1, que é corroborado com a sua fórmula geral encontrada através da análise térmica (Figura 37).

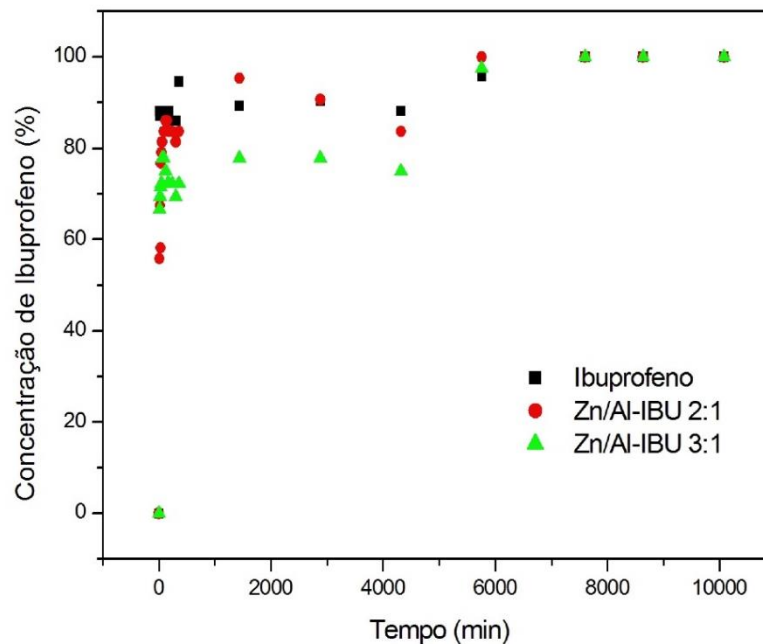
Os perfis de liberação para as amostras (Ibuprofeno e HDLs Zn/Al-IBU 2:1 e Zn/Al-IBU 3:1) em solução PBS são apresentados na Figura 56.

Para a amostra que continha somente Ibuprofeno no frasco (■), observou-se que em apenas 10 minutos 88,17 % de Ibuprofeno foi solubilizado, atingindo sua totalidade no meio em 360 minutos (6 horas).

Para o HDL Zn/Al-IBU 2:1 (●), observou-se que em 10 minutos foi liberado 55,81% de Ibuprofeno para o meio, atingindo 100% de liberação em 5760 minutos (4 dias)

E para o HDL Zn/Al-IBU 3:1 (▲), observou-se que em 10 minutos foi liberado 66,67% de Ibuprofeno para o meio, atingindo 100% de liberação em 5760 minutos (4 dias).

**Figura 56:** Perfis de liberação *in vitro* das amostras em solução PBS.

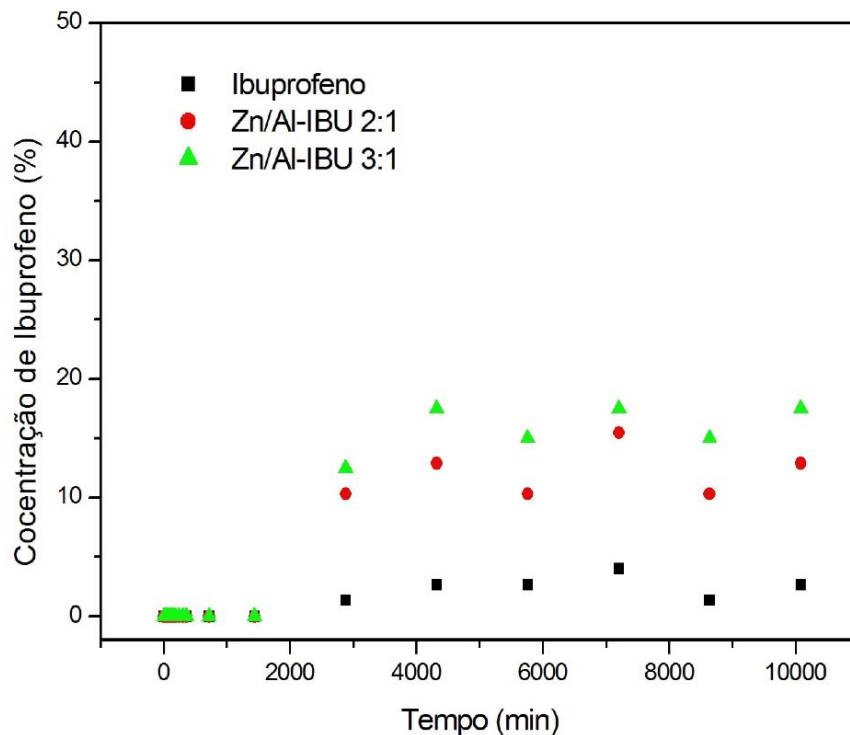


O efeito que ocorre para este perfil é diferente, pois ocorre troca iônica entre os ânions que se encontram intercalados (Ibuprofeno) com os ânions que se encontram no meio (fosfato), o que faz com que inicialmente a liberação ocorra mais rapidamente quando comparada com o perfil de liberação em água (Figura 55) e mantendo-se em equilíbrio de 1500 a 4000 minutos, onde, provavelmente, a quantidade que libera de Ibuprofeno é a mesma da quantidade de fosfato que intercala, e atingindo sua totalidade em 5760 minutos.

Os perfis de liberação das membranas quitosana/alginato contendo Ibuprofeno e os HDLs Zn/Al-IBU 2:1 e Zn/Al-IBU 3:1 em água destilada são apresentados na Figura 57.

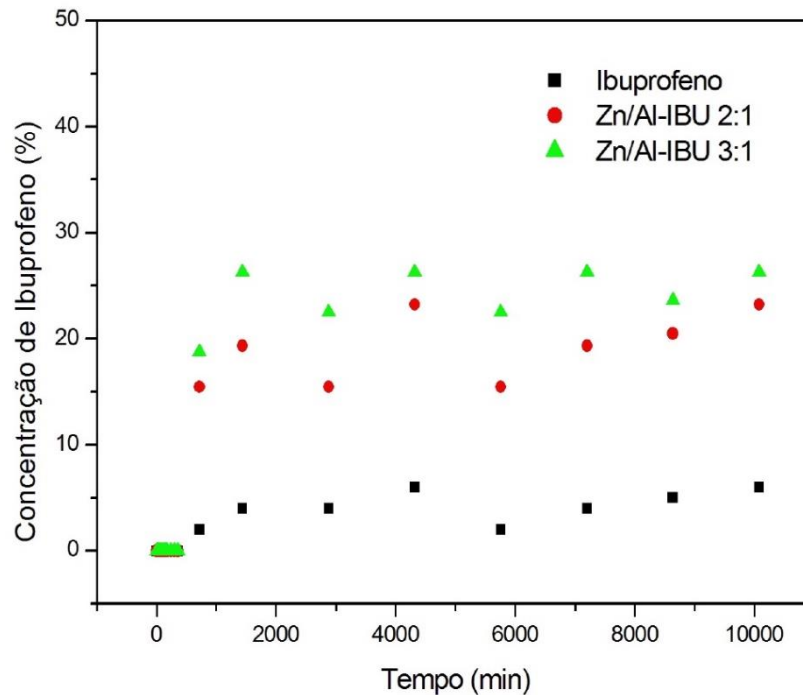
Observa-se, para ambas as amostras que a liberação do fármaco para o meio começa em apenas 2880 minutos (48 horas) e se mantém praticamente constante até 1080 minutos (7 dias). Apresentando porcentagem máxima de liberação do Ibuprofeno de 4% em 7200 minutos (5 dias) para a membrana contendo somente Ibuprofeno (■), 15,48 % para a membrana contendo o HDL Zn/Al-IBU 2:1 (●) e 17,5 % em 4320 minutos (3 dias) para a membrana contendo o HDL HDL Zn/Al-IBU 3:1 (▲).

**Figura 57:** Perfis de liberação *in vitro* das membranas em água destilada.



Já os perfis de liberação das membranas quitosana/alginato contendo Ibuprofeno e os HDLs Zn/Al-IBU 2:1 e Zn/Al-IBU 3:1 em solução tampão PBS são apresentados na Figura 58.

**Figura 58:** Perfis de liberação *in vitro* das membranas em solução PBS.



Observa-se, para ambas as amostras que a liberação do fármaco para o meio começa em apenas 760 minutos (12 horas) e se mantém praticamente constante até 1080 minutos (7 dias). Apresentando porcentagem máxima de liberação do Ibuprofeno de 6% para a membrana contendo somente Ibuprofeno (▪), 23,22 % para a membrana contendo o HDL Zn/Al-IBU 2:1 (●) em 4320 minutos (3 dias) e 26,25 % em 1440 minutos (24 horas) para a membranas contendo o HDL HDL Zn/Al-IBU 3:1 (▲).

Para ambos os testes de liberação *in vitro* (das amostras livres e das amostras contidas nos filmes), todos os testes foram realizados contendo a mesma concentração ( $0,0075 \text{ gL}^{-1}$ ) de amostras (Ibuprofeno e HDLs-Ibuprofeno).

A porcentagem de liberação menor do fármaco contido nas membranas quando comparadas com as amostras livres nas soluções (Figuras 55 e 56), se deve ao fato da forte interação dos HDLs-Ibuprofeno com as cadeias poliméricas.

A porcentagem de liberação menor para a membrana contendo somente o Ibuprofeno é devido perda de grande quantidade de Ibuprofeno nas etapas de

imersões para as membranas contendo somente o fármaco. Ou seja, pouca quantidade do fármaco livre solubiliza na rede polimérica, isso implica numa concentração de Ibuprofeno que se encontra abaixo do nível efetivo, impossibilitando sua utilização para a aplicação futura.

Todos os perfis de liberação, tanto das amostras livres (Ibuprofeno e HDLs) quanto das membranas (membrana contendo Ibuprofeno e membranas contendo os HDLs) foram normalizadas para 100 %. Ou seja, 100 % representa a quantidade de Ibuprofeno liberada que se encontra em equilíbrio no meio de liberação (solução aquosa e tampão PBS).

O tamanho das membranas (área aproximada de 28,3 cm<sup>2</sup> – desprezando a espessura dos discos).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os HDLs intercalados com o fármaco Ibuprofeno foram sintetizados com sucesso observados pelos picos referentes aos planos característicos para esses materiais através da análise de Difratomia de Raios X. Mesmo não sendo possível a visualização do pico referente ao plano (003) para o HDL Zn/Al-IBU 2:1, mesmo assim, corroborou com o HDL Zn/Al-IBU 3:1 através dos resultados pelas outras técnicas de caracterização.

As caracterizações dos reagentes precursores mostraram que é possível a síntese dos HDLs e das membranas híbridas com reagentes de baixo custo, visando ainda mais a possível utilização das membranas sintetizadas para o mercado odontológico.

Apesar da menor estabilidade térmica para as membranas contendo os HDLs comparada com a membrana contendo somente agente reticulante e plastificante, esse resultado não interfere para a aplicação desejada.

Sobre os testes de liberação *in vitro*, observou-se através dos perfis de liberação das amostras livres que a liberação do fármaco para o meio ocorreu mais lentamente para as amostras HDLs-Ibuprofeno indicando a possível utilização das amostras como agentes de liberação lenta, com o objetivo de manter a concentração do fármaco constante pela administração em menores doses.

Já para as membranas contendo as amostras, observou-se grande interação das amostras dos HDLs-Ibuprofeno com a rede polimérica observada visualmente pelo aumento da insolubilidade do Ibuprofeno quando este se encontra intercalado no espaço interlamelar de HDLs e também pelos testes de liberação *in vitro* através das baixas porcentagens de liberação do fármaco.



## **7 ETAPAS FUTURAS**

Para a aplicação desejada das membranas híbridas, serão realizados em trabalhos futuros ajustes como tamanho da membrana e concentração das amostras, para que a quantidade de fármaco liberado esteja no nível terapêutico efetivo do Ibuprofeno. Também serão necessários testes de bioatividade e citotoxicidade celular, estudo cinético de liberação e testes de regeneração óssea.

## 8 REFERÊNCIAS

- 1 ENNEKING, W. F.; EADY, J. L.; BURCHARDT, H. Autogenous cortical bone grafts in the reconstruction of segmental skeletal defects. **The Journal of Bone & Joint Surgery. American volume**, v, 62, n. 7, p. 1039-1058, 1980.
- 2 BROWN, K. L. B.; CRUESS, R. L. Bone and cartilage transplantsations surgery. **The Journal of Bone & Joint Surgery. American volume**, v. 64-A, p. 270-279, 1982.
- 3 SINHORETI, M. A. C.; VITTI, R. P.; SOBRINHO, L. C. Biomateriais na Odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo. v. 67, n. 3, p. 178- 186, 2013.
- 4 YOUNGER, E. M.; CHAPMAN, M. W. Morbidity at bone graft donor site. **Journal of Orthopaedic Trauma**, v. 3, n. 3, p. 192-195, 1989.
- 5 TIEDEMAN, J. J.; GARVIN, K. L.; KILE, T. A.; CONNOLLY, J. F. The role a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. **Orthopedics**, v. 18, n. 12, p. 1153-1158, 1995.
- 6 BOSTROM, R. D.; MIKOS, A. G. TISSUE ENGINEERING OF BONE. IN: ATALA, A.; MOONEY, D.; VACANTI, J. P.; LANGER, R. **Synthetic biodegradable polymers scaffolds**. Birkhauser: Boston, p. 215-234, 1997.
- 7 DEKKER, R. J.; BRUIJN, J. D.; VAN DE BRINK, Y. P.; LAYROLLE, P.; VAN BLITTERSWIJK, C. A. Bone tissue engineering on calcium phosphate-coated titanium plates utilizing cultured rat bone marrow cells. **Journal of Materials Science. Materials in Medicine**, v. 9, n. 12, p. 859-863, 1998.
- 8 KIM, S. S.; SUN PARK, M.; JEON, O.; YONG, C. C.; KIM, B. S. Poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, Surrey, v. 27, n. 8, p. 1399-1409, 2006.
- 9 CROTEAU, S.; RAUCH, F.; SILVESTRI, A.; HAMDY, R. C. Bone morphogenic proteins in orthopaedics: from basic Science to clinical practice. **Orthopedics**, v. 22, n. 7, p. 689-695, 1999.
- 10 PINTO, J. G. S.; CIPRANDI, M. T. O.; AGUIAR, R. C.; LIMA, P. V. P.; HERMANDEZ, P. A. G.; JÚNIOR, A. N. S. Enxerto autólogo *versus* biomateriais no tratamento de fratura e deformidades faciais – uma revisão de conceitos atuais. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo**. v. 12, n. 3, p. 79-84, 2007.
- 11 FATTAH, C. M. R. S.; ARANEGA, A. M.; LEAL, C. R.; MARTINHO, J.; COSTA, A. R. Controle da dor pós-operatória em cirurgia bucal: revisão de literatura. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v. 26, n. 2, p. 56-62, 2005.
- 12 ROCHA, R. G.; TORTAMANO, N.; ADDE, C. A.; SIMONE, J. L.; PEREZ, F. E. G. O controle da dor em odontologia através da terapêutica medicamentosa. In: 15º Conclave Odontológico Internacional de Campinas, n. 104, 2003. Campinas – São Paulo, Brasil. Anais ... 1678-1899.
- 13 ALAFEEFY, A. Synthesis, analgesic and anti inflammatory activities of some new fenamate analogues. **Arzneimittelforschung**, v. 58, p. 457-463, 2008.
- 14 AY, A.; ZUMREOGLU-KARAN, B.; TEMEL, A.; RIVES, V. Bioinorganic magnetic core-shell nanocomposites carrying antiarthritic agents: intercalation of ibuprofen and glucuronic acid into Mg-Al-layered double hydroxides supported on magnesium ferrite. **Inorg Chem**, v. 48, p. 8871-8877, 2009.
- 15 GAUTAM, R.; JACHAK, S. M.; Recent developments in anti-inflammatory natural products. **Med Res Rev**, v. 29, p. 767-820, 2009.
- 16 GARCÍA, J. **Nuevos sistemas orales de liberación modificada**. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad Complutense de Madrid, 2002.

- 17 AZEVEDO, V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA FOOK, M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 23, p. 27-34, 2007.
- 18 DEL HOYO, D. Layered double hydroxides and human health: An overview. **Applied Clay Science**. v. 36, p. 103-121, 2007.
- 19 XUE, B.; ZHANG, H.; DOU, L. Layered Double Hydroxide-Based Nanocarriers for Drug Delivery. **Pharmaceutics**, v. 6, p. 298-332, 2014.
- 20 CUNHA, V. R. R.; FERREIRA, A. M. C.; CONSTANTINO, V. R. L.; TRONTO, J.; VALIM, J. B. Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 159-171, 2010.
- 21 TULASNE, J. F.; ANDREÁNI, J. F. **Enxertos Ósseos em Implantodontia**. Sucesso Clínico. São Paulo: Quintessence Editora Ltda., 2010.
- 22 LINDLE, J.; KARRING, T.; LONG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantodontia oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- 23 PINTO, J. G. S.; CIPRANDI, M. T. O.; AGUIAR, R. C.; LIMA, P. V. P.; HERNANDEZ, P. A. G.; SILVA JÚNIOR, A. N. Enxerto autógeno x biomateriais no tratamento de fraturas e deformidades faciais – uma revisão de conceitos atuais. **Revista da Faculdade de Odontologia Universidade de Passo Fundo**, v. 12, n. 3, p. 79-84, 2007.
- 24 FARDIN, A. C.; JARDIM, E. C. G.; PEREIRA, F. C.; GUSKUMA, M; H.; ARANEGA, A. M.; GARCIA JUNIOR, I. R. Enxerto ósseo em odontologia: revisão da literatura. **Innov Implant Journal, Biomater Esthet**, v. 5, n. 3, p. 48-52, 2010.
- 25 DANTAS, T. S.; LELIS, E. R.; NAVES, L. Z.; FERNANDES-NETO, A. J.; MAGALHÃES, D. Maateriais de Enxerto Ósseo e suas Aplicações da Odontologia. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 13, n. 2, p. 131-135, 2011.
- 26 TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 6, n. 3, p. 311-324, 2009.
- 27 NAVARRO, M.; MICHIARDI, A.; CASTANÕ, O.; PLANELL, J. A. Biomaterials in orthopaedics. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 5, p. 1137-1158, 2008.
- 28 KUMAR, R. M. N. V. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, p. 1-27, 2000.
- 29 KUMAR, A. B. V.; VARADARAJ, M. C.; GOWDA, L. R.; THARANATHAN, R. N. Characterization of chitooligosaccharides prepared by chitosanolytic action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. **Biochemistry Journal**, v. 391, p. 167, 175, 2005.
- 30 DUMITRIU, S. **Polysaccharides as biomaterials**. In: DUMITRIU, S. Polymeric Biomaterials. 2ª Edição, University of Sherbrooke, Quebec, Canada. Marcel Dekker, New York, p.1-61, 2002.
- 31 CANELLA, K. M. C.; GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, v. 24, p. 13-7, 2007.
- 32 TAVARIA, F. K.; COSTA, E. M.; PINA-VAZ, I.; CARVALHO, M. F.; PINTADO, M. M. A quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 29, n. 1, p. 110-120, 2013.
- 33 ARGUELLES C. P. W.; GALLARDO, A.; ELVIRA, C.; SAN ROMÁN, J. Quitosana: um polissacárido natural biodegradável compatible com aplicaciones em biotecnologia y biomedicine. **Rev Plast Mod**. v. 585, p. 81-91, 2001.
- 34 KHOR, E.; LIM, L.Y. Impantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**. v. 24, p. 2339-2349, 2003.

- 35 ALONSO, D.; GIMENO, M.; SÁNCHEZ, S. J. D.; SHIRAI, K. Chitosan-based microcapsules containing grapefruit seed extract grafted onto cellulose fibers by a non-toxic procedure. **Carbohydr Res.** v. 345, p. 854-859, 2010.
- 36 LI, Z.; RAMAY, H. R.; HAUCH, K. D.; XIAO, D.; ZHANG, M. Chitosan-alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials.** v. 26, n. 18, p. 3919-3928, 2005.
- 37 YAMAMOTO, H.; KUNO, Y.; SUGIMOTO, S.; TAKEUCHI, H.; KAWASHIMA, Y. Surface-modified PLGA nanosphere with chitosan improved pulmonary delivery of calcitonin by mucoadhesion and opening of the intercellular tight junctions. **J Control Release.** v. 102, n. 2, p. 373-381, 2005.
- 38 PANCHENCO, J. M.; KOHN, J. Biodegradable Polymer. In: LANZA, R. P.; LANGER, R.; VACANTI, J. Principle of tissue engineering. San Diego: Academic Press, p. 263-277, 2000.
- 39 KUBOTA, N.; TATSUMOTO, N.; SANO, T.; TOYA, K. A simple preparation of the half N-acetylated chitosan highly soluble in water and aqueous organic solvents. **Carbohydr Res.** v. 234, p. 268-274, 2000.
- 40 LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova.** v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.
- 41 ZHOU, G.; LI, Y.; ZHANG, L.; ZUO, Y.; JANSEN, J. A. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan/konjac glucomannan composite. **Journal Biomedical Materials Research.** v. 83A, p. 931-939, 2007.
- 42 ABREU, F. O. M. S. **Síntese e caracterização de hidrogéis biodegradáveis à base de quitosana com morfologia controlada com potencial aplicação como carregadores de fármacos.** 51 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- 43 LIU, Y-L.; SU, Y-H.; LAI, J-Y. In situ crosslinking of chitosan and formation of chitosan-silica hybrid membranes with using  $\gamma$ -glycidocypropyltrimethoxysilane as a crosslinking agente. **Polymer,** v. 45, p. 6831-6837, 2004.
- 44 KHOR, E. Chitin: Fulfilling a Biomaterials Promise. First edition, **Elsevier Applied Science,** capítulo 1, p. 1-8, 2001.
- 45 GERENTES, P.; VACHOUD, L.; DOURY, J.; DOMARD, A. Study of a chitin-based gel as injectable material in periodontal surgery. **Biomaterials.** v. 23, p. 1295-302, 2002.
- 46 NELSON, DL.; COX, M. M. **Lehninger. Princípios de bioquímica.** 3.ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- 47 GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E. pH sensitive alginate-guar gum hydrogel for the controlled delivery of protein drugs. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 335, p. 123-129, 2007.
- 48 DOS SANTOS, M. K. **Encapsulação de proteínas em cápsulas de alginate, alginate-quitosana e estudos de estabilidade e liberação controlada em função do pH.** Monografia (Bacharelado em Química, Centro de Ciências Naturais Humanas) – Universidade Federal do ABC, Santo André, 2014.
- 49 PITHON, M. M.; DOS SANTOS, R. L.; FERNANDES, A. B. N.; OBEROSLER, E. L. C.; VAITSMAN, D. S. Avaliação da liberação de flúor de alginatos odontológicos. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo,** v. 21, n. 3, p. 219-223, 2009.
- 50 TURBIANI, F. R. B.; KIECKBUSCH, T. G. Liberação de Benzoato de Cálcio de Filmes de Alginato de Sódio reticulados com íons Cálcio. **Polímeros,** v. 21, n. 3, p. 175-181, 2011.

- 51 BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELT, O.; PEPPAS, N. A.; GURNY, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 57, n. 1, p. 19-34, 2004.
- 52 NETO, C. G. T.; DANTAS, T. N. C.; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. **Carbohydr. Res.**, v. 340, n. 17, p. 2630-2636, 2005.
- 53 GAL, A.; NUSSINOVITH, A. Plasticizers in the manufacture of novel skin-bioadhesive patches. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 370, p. 103-109, 2009.
- 54 VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. A.; SANTOS, L. O.; BEPPU, M.; M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: a review. **European Polymer Journal**, v. 47, p. 254-263, 2011.
- 55 ABDORREZA, M. N.; CHENG, L. H.; KARIM, A. A. Effects of plasticizers on thermal properties and heat sealability of sago starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 56-60, 2011.
- 56 RIVERO, S.; GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A. Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 270-276, 2010.
- 57 ZULLO, R.; IANNACE, S. The effects of different starch sources and plasticized on film blowing of thermoplastic starch: correlation among process, elongational properties and macromolecular structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 376-383, 2009.
- 58 ZHU, J.; UHL, F. M.; MORGAN, A. B.; WILKIE, C. A. Studies on the Mechanism by Which the Formation of Nanocomposites Enhances Thermal Stability. **Chemistry of Materials**, v. 13, n. 12, p. 4649-4654, 2001.
- 59 QI, L.; COLFEN, H.; ANTONIETTI, M. Synthesis and Characterizations of CdS Nanoparticles Stabilized by Double-Hydrophilic Block Copolymers. **Nano Letters**, v. 1, n. 2, p. 61-65, 2001.
- 60 MORAIS, P. C.; AZEVEDO, R. B.; RABELO, D.; LIMA, E. C. D. Synthesis of Magnetite Nanoparticles in Mesoporous Copolymer Template: A Model System of Mass-Loading Control. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 13, p. 2485-2487, 2003.
- 61 DU, H.; CAO, Y.; BAI, Y.; ZHANG, P.; QIAN, X.; WANG, D.; LI, T.; TANG, X. Photovoltaic Properties of Polymer/Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/Polymer Heterostructured Microspheres. **Journal of Physical Chemistry**, v. 102, n. 13, p. 2329-2332, 1998.
- 62 ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science and Engineering R-Reports**, v. 28, p. 1-63, 2000.
- 63 BARLETT, N.; MCQUILLAN, B. W.; WHITTIGHAM, S.; JACOBSON, A. Intercalation Chemistry. **Academic Press**, 1982.
- 64 SHLOGL, R.; MULLER, M.; WARMUTH, W.; SCHOLLHORN, R. Progress in intercalation research. **Kluwer Academic Publisher**, 1994.
- 65 WHITTINGHAM, M.S.; WHITTINGHAM, S.; JACOBSON, A. Intercalation chemistry. **Academic Press**, 1982.
- 66 ALBERTAZZI, S.; BASILE, F.; VACCARI, A. Clay Surfaces – Fundamentals and Applications, ed. by F. Wypych and K.G. Satyanarayana, **Academic Press**, Amsterdam, cap. 17, 2004.
- 67 RIFIRÒ, F.; VACCARI, A. Hydrotalcite-like Anionic Clays (Layered Double Hydroxides). In: G. Alberti e T. Bein (eds). **Solid State Supramolecular Chemistry: Two and Three –Dimensional Inorganic Networks**, New York, Pergamon, p. 251-291, 1996.
- 68 CREPALDI, E. L.; VALIM, J. B. Layered double hydroxides: Structure, synthesis, properties and applications. **Química Nova**, v.21, n. 3, p. 300-311, 1998.

- 69 ALLMANN, R. Acta Crystallographica Section B-Structural Crystallography and Crystal Chemistry. v. 24, p. 972-977, 1968.
- 70 NAKAGAKI, S.; MANTOVANI, K. M.; MACHADO, G. S.; CASTRO, K. A. D. de F.; WYPYCH, F. Recent Advances in Solid Catalysts Obtained by Metalloporphyrins Immobilization on Layered Anionic Exchangers: A Short Review and Some New Catalytic Results. **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 291-315, 2016.
- 71 MARANGONI, R. **Materiais multifuncionais obtidos a partir da intercalação de corantes aniônicos em hidróxidos duplos e hidroxissais duplos lamelares e dispersos em polímeros**. 214 f. Tese, (Doutorado em Química), Universidade Federal do Paraná, 2009.
- 72 ANDRADE E. D. **Terapêutica Medicamentosa em Odontologia**. 3ª edição. São Paulo: Artes Médicas, 2014.
- 73 FERREIRA, S. **Classification of peripheral analgesics based upon their mode of action. IN: Migraine: spectrum of ideas**. Sandler M, Collins GM. London: Oxford University Press, p. 59-72, 1990.
- 74 RANIERI, A. L. P.; BASSI, A. P. F.; CARVALHO, P. S. P. Avaliação da dor pós-operatória em Implantodontia: estudo clínico. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v. 26, n. 2., p. 67-70, 2005.
- 75 YAN, X.; KHOR, E.; LIM, L. Y. PEC films prepared from chitosan-alginate coacervates, **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v. 48, p. 941-946, 2000.
- 76 WANG, L.; KHOR, E.; WEE, A.; LIM, L.Y. Chitosan-alginate PEC membrane as wound dressing: Assessment of incisional wound healing. **Journal of Biomedical Materials Research**. v. 63, p. 610-618, 2002.
- 77 RODRIGUES, A.P.; SANCHEZ, E.M.S.; COSTA, A.C.; MORAES, A.M. The influence of preparation conditions on the characteristics of chitosan-alginate dressings for skin lesions. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 109, p. 2703-2710, 2008.
- 78 KHAN, T. A.; PEH, K. K.; CHING, H. S. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 3, p. 3003-3011, 2000.
- 79 LI, J.; ZHONG, Y.; GONG, Y.; ZHAO, X. Chitosan conduit for peripheral nerve regeneration. **Tsinhua Science and Technology – Digital Periodical**, v. 4, n. 4, p. 1515-1518, 1999.
- 80 SÁEZ, V.; HERNÁEZ, E.; ÂNGULO, L. S. Liberación controlada de fármacos: hidrogeles. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 4, p. 111-122, 2003.
- 81 WEI, P. R.; CHENG, S. H.; LIAO, W. N.; KAO, K. C. WENG, F. C.; LEE, C. H. Synthesis of chitosan-coated near-infrared layered double hydroxide nanoparticles for *in vivo* optical imaging. **Journal Materials Chemistry**, v. 22, p. 5503-5513, 2012.
- 82 RIBEIRO, L. N. M.; ALCÂNTARA, A. C. S.; DARDER, M.; ARANDA, P.; ARAÚJO, F. M. M.; RUIZ, E. H. Pectin-coated chitosan-LDH bionanocomposite beads as potencial systems for colon-targeted drug delivery. **Int. J. Pharm.**, v. 463, p. 1-9, 2014.
- 83 PAN, D. K.; ZHANG, H.; ZHANG, T.; DURAN, X. A novel organic-inorganic microhybrids containing anticâncer agente doxifluridine and layered double hydroxides: Structure and controlled release properties. **Chem. Eng. Sci.**, v. 65, p. 3762-3771, 2010.
- 84 WESKA, R. F.; MOURA, J. M.; BATISTA, L. M.; RIZZI, J.; PINTO, L. A. A. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of responde surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 749-753, 2007.
- 85 WAHAB, A.; KHAN, A.; KHAN, G. M. Preparation and evaluation of solid dispersions of Ibuprofen using glucosamine. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 4, p. 722-733, 2013.

- 86 JAERGER, S. **Compósitos de Polietileno de baixa densidade contendo Hidróxidos Duplos Lamelares coloridos, intercalados com surfactantes aniônicos**. Tese, (Doutorado em Química), Universidade Federal do Paraná, 2017.
- 87 WANG, L.; KHOR, E.; WEE, A.; LIM, L.Y. Chitosan-alginate PEC membrane as wound dressing: Assessment of incisional wound healing. **Journal of Biomedical Materials Research**. v. 63, p. 610-618, 2002.
- 88 RODRIGUES, A.P.; SANCHEZ, E.M.S.; COSTA, A.C.; MORAES, A.M. The influence of preparation conditions on the characteristics of chitosan-alginate dressings for skin lesions. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 109, p. 2703-2710, 2008.
- 89 RIBEIRO, L. N. M. **Síntese e caracterização de bionanocompósitos magnéticos para liberação controlada de fármacos**. Tese, (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal de São Carlos, 2013.

## 9 APÊNDICE

## 9.1 LAUDO TÉCNICO DO IBUPROFENO

Ensaio	Especificação	Resultado	Referencia
* DESCRIÇÃO	PÓ CRISTALINO OU CRISTAIS INCOLORES, BRANCO OU QUASE BRANCO	PÓ CRISTALINO BRANCO	BP - 2013
* IDENTIFICAÇÃO	IV - O ESPECTRO DA AMOSTRA ESTÁ DE ACORDO COM O DO PADRÃO	CONFORME	BP - 2013
* IDENTIFICAÇÃO	UV	CONFORME	BP - 2013
* IDENTIFICAÇÃO	CCD	CONFORME	BP - 2013
* IDENTIFICAÇÃO	PONTO DE FUSÃO: 75°C - 78°C	77,2°C	BP - 2013
* SOLUBILIDADE	PRATICAMENTE INSOLÚVEL EM ÁGUA	CONFORME	BP - 2013
* SOLUBILIDADE	FACILMENTE SOLÚVEL EM ACETONA	CONFORME	BP - 2013
* SOLUBILIDADE	FACILMENTE SOLÚVEL EM METANOL	CONFORME	BP - 2013
* SOLUBILIDADE	FACILMENTE SOLUVEL EM CLORETO DE METILENO	CONFORME	BP - 2013
* SOLUBILIDADE	DISSOLVE-SE EM SOLUÇÕES DILUIDAS DE HIDRÓXIDOS ALCALINOS E CARBONATOS	CONFORME	BP - 2013
* PERDA P/SECAGEM	MÁXIMO: 0,5% (TEMPERATURA AMBIENTE À VÁCUO/PESO CONSTANTE)	0,01%	BP - 2013
* CINZAS SULFATADAS	MÁXIMO: 0,1%	0,05%	BP - 2013
* METAIS PESADOS	MÁXIMO: 10 ppm	< 10 ppm	BP - 2013
* SUBS. RELATADAS	IMPUREZA A: MÁXIMO 0,15%	NÃO DETECTADO	BP - 2013
* SUBS. RELATADAS	IMPUREZA J: MÁXIMO 0,15%	0,097%	BP - 2013
* SUBS. RELATADAS	IMPUREZA N: MÁXIMO 0,15%	NÃO DETECTADO	BP - 2013
* SUBS. RELATADAS	IMPUREZAS DESCONHECIDAS: MÁXIMO 0,05%	NÃO DETECTADO	BP - 2013
* SUBS. RELATADAS	TOTAL DE IMPUREZAS: MÁXIMO 0,2%	0,097%	BP - 2013
* ROTAÇÃO OPTICA	-0,05° - +0,05°	0,00°	BP - 2013
* APARENCIA DA SOLUÇÃO	A SOLUÇÃO S É LIMPIDA E INCOLOR	CONFORME	BP - 2013
* IMPUREZA F (CG)	MAXIMO: 0,1%	NÃO DETECTADO	BP - 2013
* DOSEAMENTO	98,5% - 101,0% (BASE ANIDRA)	100,56%	BP - 2013
* DENSIDADE APARENTE	0,30 - 0,55 g/mL (SEM COMPACTAÇÃO)	0,53 g/mL	FABRICANTE
* DENSIDADE COMPACTADA	0,45 - 0,70 g/mL (COM COMPACTAÇÃO)	0,66 g/mL	FABRICANTE
* SOLVENTE RESIDUAL	ACETONA: MÁXIMO 100 ppm	0,16 ppm	BP - 2013
* SOLVENTE RESIDUAL	HEXANO: MÁXIMO 100 ppm	0,16 ppm	BP - 2013
* SOLVENTE RESIDUAL	ÁLCOOL ISOPROPILICO: MÁXIMO 100 ppm	0,02 ppm	BP - 2013

Continua na Próxima Folha





## 9.2 LAUDO TÉCNICO DA QUITOSANA



### Certificado de Análise

Nr.Ctrl.: 0001006/201501G060654101

### CHITOSAN PO FINO (HIGH DENSITY) - 1,000 KG

C.A.S.: 9012-76-4

Página: 01

Data de Fabricação: 24/04/2015

Lote de Fabricação: JB-CH150424

Data de Validade: 23/04/2018

País de Origem: CHINA

Lote Galena (CIQ): 1603016702

Ordem Fracionamento (OF): 01006201001

#### Dados do Requisitante

Requisitante: Galena Química e Farmacêutica Ltda  
Endereço: Rua Pedro Stancato, 860

CNPJ: 57.442.774/0001-90  
Cidade: Campinas/SP

Fone: 0800 7714 270  
CEP: 13.082/050

Classe Terapêutica: Emagrecedor

Armazenamento: ARMAZ.TEMP.AMB.CONTROLADA, FECHADO, PROTEGIDO DA LUZ E UMIDADE

Análises/Componentes	Especificações	Resultados das Análises
<b>LABORATORIO FISICO-QUIMICO</b>		
- DESCRICAO (0)	Po amarelo claro a ambar, com odor e sabor característicos	Po amarelo claro com odor e sabor característicos
- PERDA POR DESSECACAO (0)	Não mais que 10,0 %	8.55 %
- RESIDUO DE IGNICAO (0)	Não mais que 1,0 %	0.65 %
- pH (0)	7,00 a 9,00	8.335
- METAIS PESADOS (0)	Nao mais que 15 ppm	Nao mais que 15 ppm
- ARSENIO * (0)	Nao mais que 1 ppm	Conforme
- DENSIDADE APARENTE (0)	Não menos que 0,60 g/mL	0.79 g/mL
- GRANULOMETRIA (0)	100 % passa por 80 mesh	100% passa por 80 mesh
- SAIS FERRICOS * (0)	Nao mais que 10 ppm	Conforme
- VISCOSIDADE * (0)	20 cPs a 500 cPs	45 cPs
- PROTEINA * (0)	Negativo	Negativo
- D.A.C. * (0)	Não menos que 85,0 %	90.2 %
<b>LABORATORIO MICROBIOLÓGICO</b>		
- CONTAGEM TOTAL DE BACTERIAS (0)	Nao mais que 1000 UFC/g	160 UFC/g
- BOLORES E LEVEDURAS (0)	Nao mais que 100 UFC/g	Menor que 10 UFC/g
- E. COLI (0)	Ausente	Ausente
- S. AUREUS (0)	Ausente	Ausente
- SALMONELLA SP (0)	Ausente	Ausente

#### Observações

- Os resultados presentes neste Certificado de Análise tem seus valores restritos a este lote.

\* - Análises de acordo com o certificado de análise do fabricante.

- As demais análises foram realizadas no Laboratório de Controle da Qualidade Galena.

Referências: (0)CONFORME METODOLOGIA PROPRIA DO FORNECEDOR

Resultado: ( X )Aprovado

Data Início: 18/03/2016

Data Término: 18/03/2016

#### UQG - Unidade da Qualidade Galena

Responsável pelo Laboratório de Controle de Qualidade

Responsável pela Garantia de Qualidade

Farmacêutica Responsável

Leandro Vargas

Regina Carla Santero

Lúcia Eli Sçarelli

## 10 ANEXOS

### 10.1 METODOLOGIA PARA A PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS QUITOSANA/ALGINATO PROPOSTA NO PROJETO DE PESQUISA

Para o preparo das membranas contendo quitosana e alginato será utilizado como base o método proposto por Yan et al., e Wang et al. [87,88], e sumarizado por Rodrigues et al.[42]. Nesta técnica, para a formação dos agregados poliméricos, a solução de quitosana misturada a um solvente orgânico como a acetona, para controlar a velocidade de formação dos complexos poliméricos deve ser lentamente adicionada, sob agitação a solução de alginato. Com o intuito de se determinar as características da melhor membrana obtida, serão realizados vários ensaios, avaliando parâmetros como a coagulação. Os diferentes ensaios serão mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Parâmetros experimentais para o preparo das membranas quitosana e alginato.

(continua)

Experimentos	Parâmetros Experimentais			
	Coagulação	Agente Reticulante	Agente Plastificante	Imersões
Experimento 1	NaOH (0,5M) pH 5	Glutaraldeído (2%)	Etilenoglicol (25%)	Agente reticulante 2%
Experimento 2	NaOH (0,5 M) pH 5,5		Os mesmos parâmetros se repetem para o experimento 2.	

**Tabela 4:** Parâmetros experimentais para o preparo das membranas quitosana e alginato.

(continuação)

Experimentos	Parâmetros Experimentais			
	Coagulação	Agente Reticulante	Agente Plastificante	Imersões
Experimento 3	NaOH (0,5M) pH 6	Glutaraldeído (2%)	Etilenoglicol (25%)	Agente reticulante 2%
Experimento 4	NaOH (0,5 M) pH 7,4		Os mesmos parâmetros se repetem para o experimento 4.	

Brevemente, uma alíquota de 90 mL de solução ácida de quitosana e acetona (45 mL de solução de quitosana a 1% m/v em solução aquosa de ácido acético a 2% v/v com adição de 45 mL de acetona) é adicionada gota-a-gota em 90 mL de solução aquosa de alginato de sódio a 0,5% (m/v). O sistema é mantido sob agitação constante através de agitador magnético.

Em seguida, será adicionado NaOH (0,5 molL<sup>-1</sup>) variando o pH de 5 até 7,4. Por fim, é adicionado o agente reticulante (glutaraldeído) 2% (m/v), o agente plastificante (etilenoglicol) 25% (g de agente plastificante/g massa seca de quitosana) e 500 mg de HDL sintetizado, mantendo o sistema sob agitação por 10 minutos, para formar um complexo termoestável resistente. As membranas serão secas a 40°C em estufa por 24 horas.

Posteriormente, serão imersos em 150 mL do agente reticulante a 2% (m/v) por 1 hora para reticular as cadeias de alginato que ainda se encontravam livres. Para retirada do reticulante em excesso serão realizadas mais duas imersões em 200 mL de água deionizada por 1 hora cada. A secagem final será realizada em temperatura ambiente por 24 horas e as amostras armazenadas em temperatura ambiente.

## 10.2 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA

A desacetilação da quitosana foi avaliada pelo método de titulação potenciométrica linear utilizando-se uma solução de NaOH 0,1 molL<sup>-1</sup> como titulante e 1,05 g de quitosana [84].

O grau de desacetilação da quitosana foi calculado utilizando-se equação abaixo:

$$\% GD = \frac{M(V_2 - V_1)161 \times 100}{W}$$

Onde:

*GD* é o grau médio de desacetilação;

*V*<sub>1</sub> é o volume de base usado na neutralização de HCl em excesso, expresso em litros;

*V*<sub>2</sub> é o volume de base correspondente à neutralização dos grupos amino presentes no polímero, expresso em litros;

*M* é a concentração da solução de NaOH e

*W* é a massa de quitosana em gramas.

O valor de 161 corresponde à massa (g) equivalente à um monômero do polímero [84].

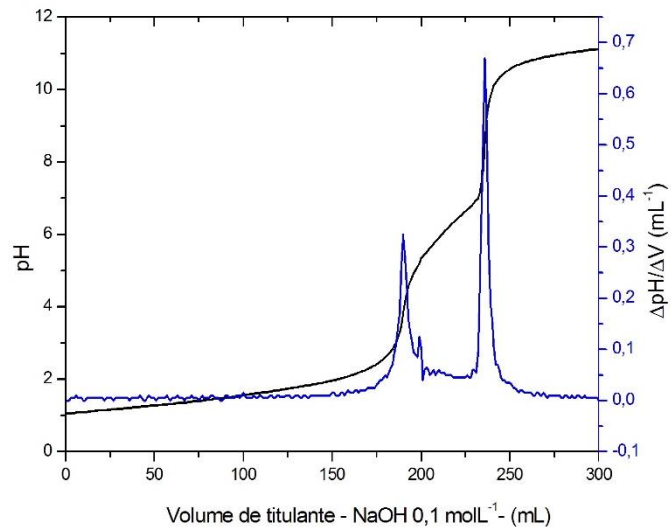
O experimento foi realizado em triplicata, onde o resultado é apresentado na Figura 59, determinado através de uma titulação potenciométrica linear que relaciona o volume de NaOH (mL) e o pH da solução.

A desacetilação consiste na retirada do grupo funcional acetil da molécula da quitina, que será substituído pelo grupo funcional amina, dando origem à molécula de quitosana.

Pode-se observar que a curva apresenta dois pontos de inflexão, o primeiro no volume de 191 ml, que está relacionado com a neutralização do excesso de HCl na solução e o segundo no volume de 236 ml, referente à neutralização dos grupos amino protonados.

O grau de desacetilação então calculado foi de 69,0%, encontrando-se dentro da faixa dos dados encontrados na literatura, os quais podem variar de 50,0 à 92,3%.

**Figura 59:** Curva da titulação potenciométrica da Quitosana e sua primeira derivada.



Existem vários métodos descritos na literatura para a determinação do grau de desacetilação da quitosana (espectroscopia do infravermelho e no visível, ressonância magnética nuclear de carbono 13 e titulação (condutimétrica e potenciométrica)), sendo a titulação potenciométrica a mais utilizada devido à sua simplicidade e precisão.