

UTILIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA MESOPOROSA PURA E MODIFICADA ORGANICAMENTE COM GRUPOS NITROGENADOS COMO CARREADORA DE FÁRMACOS

E. A. de Lima Júnior¹; O. G. da Silva²; M. M. Alves³

E-mail: edsonjr_0@hotmail.com¹; oberto.silva@ifrn.edu.br²; marcielalves1986@hotmail.com³

RESUMO

Sistemas de liberação controlada de drogas podem conseguir a liberação com precisão espacial e temporal dos agentes terapêuticos para o local de destino. Geralmente, os sistemas de liberação controlada de drogas podem manter a concentração das drogas nos sítios precisos do corpo dentro da faixa ótima e abaixo do limiar de toxicidade, que melhoram a eficácia terapêutica e reduzem a toxicidade. Nos últimos anos, a liberação controlada de drogas foi desenvolvida em sistemas a base de polímeros e também baseados em sistemas de novos materiais inorgânicos, dentre eles os sólidos mesoporosos. Nessa direção, este trabalho de pesquisa descreve a síntese de hidroxapatita mesoporosa utilizando surfactantes como caseína (neutro), dodecilsulfato de sódio - SDS (aniônico) e o brometo de hexadeciltrimetilamônio - CTAB (catiônico), todos em

suas concentrações micelar crítica (CMC), modificá-la organicamente, com agente sililante aminopropiltriétoxissilano grupos, visando melhorar à sua capacidade como carregadora da soroalbumina bovina (BSA). Os resultados mostraram ser perfeitamente possível a obtenção de materiais mesoporosos a base de hidroxapatita, utilizando caseína como biosurfactante, bem como manipular suas propriedades texturais através da variação de parâmetros, tais como temperatura de calcinação e tipo de surfactante. A modificação superficial da hidroxapatita mesoporosa com 3-aminopropiltrimetoxissilano diminuiu consideravelmente a cinética de liberação da BSA, o que o torna como excelentes candidatos para serem utilizados como dispositivos de liberação controlada de fármacos.

PALAVRAS-CHAVE: Hidroxapatita mesoporosa, liberação controlada e BSA

USE HYDROXYAPATITE ORGANICALLY MODIFIED MESOPOROUS PURE AND GROUPS WITH NITROGEN AS DRUG CARRIER

ABSTRACT

Systems for controlled drug release can obtain SDS (anionic) and hexadecyltrimethylammonium

KEYWORDS: Mesoporous hydroxyapatite, controlled release and BSA

release with spatial and temporal precision of therapeutic agents to the target location. Generally, systems of controlled release of drugs can maintain concentration of drugs us sites accurate Body within the optimum range and below the threshold toxicity, that improve the therapeutic efficacy and reduce the toxicity. In recent years, the controlled release of drugs have been developed based systems as well as polymers of new systems based on inorganic materials, including mesoporous solids. In this sense, this research describes the hidroxapatita synthesise mesoporous surfactants use d as casein (neutral), sodium dodecyl sulfate -

bromide - CTAB (cationic), all in their critical micelle concentration (CMC), modify it organically with silylating agent aminopropyltriethoxysilane groups, to improve the capacity of the loader as bovine serum albumin (BSA). The results proved quite possible to obtain the mesoporous materials based on hydroxyapatite using casein as a biosurfactant, as well as manipulate textural properties by varying parameters such as calcination temperature and the type of surfactant. The surface modification of mesoporous hydroxyapatite with 3-aminopropyltrimethoxysilane considerably decreased the release kinetics of BSA. what makes it as

excellent candidates to be used as devices for controlled drug release.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas três décadas, tem havido um crescimento rápido na área de administração de medicamentos, na busca de novos sistemas de liberação controlada de drogas, uma vez que sistema de liberação controlada oferece algumas vantagens sobre os métodos convencionais que liberam o agente ativo em curto período de tempo. Algumas delas são: manutenção de níveis constantes do fármaco no organismo; aplicação do agente diretamente no sítio de ação; menos frequência de administração do agente ativo (LINARES e BRIKGI, 2006).

Nos últimos anos, diversos materiais, naturais e sintéticos têm sido testados como sistemas carreadores de drogas. Cada um deles apresenta características próprias que os tornam adequados para o uso em determinadas regiões do corpo ou determinadas drogas. Em geral, um substrato potencial a ser usado como carreador de droga tem que ter a habilidade para incorporar uma droga, retê-la em um local designado e específico, e liberá-la progressivamente com o tempo dentro de tecidos circunvizinhos. São vantagens adicionais se estes materiais forem biodegradáveis (GINEBRA et al, 2006). Fosfatos de cálcio são excelentes candidatos para serem utilizados como dispositivos de liberação controlada, pois apresentam boa biocompatibilidade e propriedades osteocondutoras aliada a possibilidade de serem sintetizados em baixas temperaturas.

Sistemas de liberação de fármacos à base de fosfatos de cálcio estão sendo muito investigados com compostos tais como hormônios de crescimento, antibióticos, antiinflamatórios e quimioterápicos (HEYMANN e PASSUTI, 1999). Em sistemas de liberação controlada de drogas envolvendo fosfatos de cálcio, apesar de apresentarem boa biocompatibilidade à porosidade dessas matrizes é altamente heterogênea, devido à composição química complexa, o que torna um grande desvantagem, uma vez que não garante uma distribuição homogênea da droga através da matriz, afetando assim a taxa de liberação (GINEBRA et al, 2006). Portanto, a necessidade de suprir essa desvantagem tem conduzido a melhoras nesse campo através da utilização de materiais mesoporosos, quimicamente homogêneos, que possuem porosidade bem definida.

Nessa direção, este trabalho de pesquisa descreve a sintetizar hidroxipatita mesoporosa utilizando surfactantes com diferentes características (catiônico, aniônico e neutro), modificá-la organicamente, com grupos nitrogenados, visando melhorar à sua capacidade como carregadora da soroalbumina bovina (BSA). Os resultados mostraram ser perfeitamente possível a obtenção de materiais mesoporosos a base de hidroxapatita. Além, destes materiais se apresentam como excelentes candidatos para serem utilizados como dispositivos de liberação controlada de fármacos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Liberação controlada de fármacos

Por definição, o termo “sistema de liberação de fármacos” refere-se à tecnologia utilizada para otimizar a liberação de um fármaco, onde o princípio ativo deve ser liberado e/ou absorvido, melhorando a resposta terapêutica. Diferentemente dos tratamentos convencionais utilizados para combater processos infecciosos (soluções, suspensões, pílulas, entre outros), os quais requerem uma administração por um longo período de tempo, visando manter os níveis terapêuticos do fármaco no organismo. Muitas vezes, tais níveis não são alcançados, pois o tratamento não exibe resultados ou apresenta efeitos colaterais, devido à alta concentração do fármaco. Mecanismos de liberação controlada mantêm a concentração do medicamento na corrente sanguínea dentro da faixa terapêutica do medicamento, leva à redução no número de doses requeridas e ao aumento na eficácia do tratamento, pois desta forma diminui a possibilidade de alcançar níveis tóxicos ou subterapêuticos (faixa ineficaz) (DASH, et al, 1998).

Assim, os sistemas de liberação, frequentemente descritos como “drug delivery systems”, oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outros de dosagem convencional. De fato, os trabalhos da literatura aqui escolhidos forneceram numerosas evidências do seguinte: a) Maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco; b) Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação; c) Natureza e composição dos veículos variados e, ao contrário do que se poderia esperar, não há predomínio de mecanismos de instabilidade e decomposição do fármaco (bio-inativação prematura); d) Administração segura (sem reações inflamatórias locais) e conveniente (menor número de doses); e) Direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas; f) Tanto substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas podem ser incorporadas.

Ao longo das últimas três décadas, tem havido um crescimento rápido na área de administração de medicamentos, na busca de novos sistemas de liberação controlada de drogas. Ambos os materiais naturais e sintéticos têm sido testados e se propõem como componentes de NDDS e muitos esforços têm sido feitos para sintetizar materiais com propriedades biológicas, tecnológicas e mecânicas com aplicação na liberação controlada de drogas. Nos últimos anos, vários tipos de materiais, incluindo polímeros naturais (colágeno, albumina, gelatina, agarose, alginato, carragenina, ácido hialurônico, dextran, quitosana, ciclodextrinas); plástico (poliéster, poliamidas, polianidrido, polímeros acrílicos) (OLIVEIRA e LIMA, 2006); sílica (MANZANO et al, 2008); nanos tubos de carbono (HILDER e HIL, 2008); zeólitas (HORCAJADA et al, 2006) e cimentos de fosfatos de cálcio (YU et al, 2009), têm sido utilizados como substrato para a liberação controlada de drogas.

2.2 Materiais mesoporosos como sistemas de liberação de fármacos

Desde a descoberta de materiais como sílica mesoporosa ordenada em 1992, síntese e aplicações de sólidos mesoporosos tem recebido atenção intensiva, devido à sua estrutura altamente ordenada, variados tamanhos de poros e alta área superficial. Na última década, os

materiais mesoporosos têm encontrado muitas aplicações na separação, catálise, sensores e dispositivos (TAGUCHI et al, 2005). Devido à estrutura mesoporosa estável e propriedades superficiais bem definidas, materiais mesoporosos parecem ideais para encapsulamento de drogas farmacêuticas, proteínas e outras moléculas biogênicas. Nos últimos anos, o emprego de materiais mesoporosos para encapsulação e ainda liberação de uma variedade de moléculas de interesse farmacêutico vem sendo estudado (HARTMANN, 2005). Tem sido demonstrado que drogas de massa molecular pequena ou grande podem ser aprisionado dentro dos mesoporos por um processo de impregnação e liberados através de um mecanismo de difusão controlada.

Vários fatores podem influenciar o carregamento de drogas ao longo de uma matriz inorgânica mesoporosa, dentre eles pode-se citar: a estrutura dos poros, funcionalidade de superfície, morfologia, tamanho da molécula da droga e solvente para o carregamento da droga. Maiores áreas superficiais e tamanhos dos poros favorecem o carregamento de drogas. Ancoramento de grupos funcionais amino sobre matrizes mesoporosas causam mudanças no tamanho dos poros e a interação entre drogas e substrato, resultando em menor carregamento de drogas e taxa de liberação lenta (WANG, 2009).

O aumento da área superficial resultado da nanoporosidade pode contribuir na capacidade de uma matriz mesoporosa no carregamento de drogas (FAN et al, 2007). Áreas superficiais elevadas e grandes volumes de poros geralmente têm sido exigidos para a utilização em adsorventes, e, além disso, o controle do tamanho dos poros aumenta a possibilidade de utilizar os compostos mesoestruturados para a adsorção seletiva de biomoléculas de tamanho nanométrico (IKAWA et al, 2008). Aliadas as propriedades estruturais e texturais encontradas nos materiais mesoporosos, ainda é possível funcionalizar sua superfície, tornando-o mais eficiente e seletivo como matriz carreadora de drogas, uma vez que ancoramento de grupos funcionais amina sobre matrizes mesoporosas causam mudanças no tamanho dos poros e a interação entre drogas e substrato, resultando em menor carregamento de drogas e taxa de liberação lenta, o que é desejável (WANG, 2009).

Fosfatos de cálcio mesoporosos com um arranjo de poros ordenados e uma distribuição de poros muito estreita, propriedades que não ocorrem com os fosfatos de cálcio convencionais, unem a versatilidade dos materiais mesoporosos, que são objetos de um número crescente de estudo em aplicações distintas, a interessantes propriedades biológicas dos fosfatos de cálcio convencionais.

3 METODOLOGIA

3.1 Preparação da hidroxiapatita mesoporosa

A síntese da hidroxiapatita mesoporosa foi realizada partindo de soluções de iguais volumes contendo 0,033 mol de fosfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) e 0,056 mol de cloreto de cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) numa razão molar Ca/P = 1,67 e e como direcionadores estruturais foram utilizados caseína (neutro), dodecilsulfato de sódio - SDS (aniônico) e o brometo de hexadeciltrimetilamônio - CTAB (catiônico), todos em suas concentração micelar crítica (CMC). Em um procedimento

típico, inicialmente 250 cm³ de uma solução aquosa de caseína (1 mg/mL), SDS (9.10⁻³ mol/L) ou CTAB (10.10⁻⁴ mol/L) preparadas com solução tampão pH 7,0 (C₃H₄N₂/HCl), 10,0 (NH₄OH/NH₄Cl) e 10,0 (NH₄OH/NH₄Cl), respectivamente, foi adicionada a um balão de fundo redondo de três bocas com capacidade de 1000 cm³, conectado a dois balões de adição e na terceira boca a conexão com o agitador mecânico. A solução do surfactante foi agitada vigorosamente a uma velocidade de 1400 rpm por 1(uma) hora, a temperatura ambiente. Em seguida, a agitação foi diminuída a 200 rpm e adicionou-se simultaneamente, gota-a-gota, 250 cm³ das soluções aquosas de CaCl₂.2H₂O e de (NH₄)₂HPO₄. Após a completa adição dessas soluções, o precipitado formado foi envelhecido sob agitação e temperatura ambiente por 15 horas. Finalmente, o sólido foi secos a 373 K em estufa, por 24 horas, para eliminação da água. Após secos os híbridos mesoestruturados Hap-CAS, Hap-SDS e Hap-CTAB foram calcinados a temperaturas de 300, 400 e 500^oC por 6 (seis) horas sob atmosferas oxigênio com taxa de aquecimento de 5 ^oC.min⁻¹ para a retirada do surfactante e obtenção da estrutura mesoporosa. Os sólidos obtidos a partir deste processo foram denominados *Hap-CAS_x*, *Hap-SDS_x* e *Hap-CTAB_x*, onde x representa temperatura de calcinação.

3.2 Reação de silanização.

Na etapa de funcionalização, 2,0 g das hidroxiapatitas mesoporosas *Hap-CAS₃₀₀*, e não porosa (Hap), foram previamente secas a 393 K sob vácuo e suspensas em 150 cm³ de xileno, em um balão de vidro de fundo redondo de três bocas com capacidade de 250 cm³, conectado com condensador de refluxo, com um topper para entrada de N₂ e com agitador mecânico. Sob agitação a temperatura de 373 K em atmosfera de N₂, foram adicionado 5,0 cm³ do agente sililante aminopropiltriétoxissilano (SiLN). A suspensão foi mantida sob refluxo em 373 K durante 72 h, sendo, após resfriamento, filtrada e o sólido obtido lavado com xileno, etanol, acetona e éter etílico, respectivamente e seco sob vácuo por 48 h a 393 K. A matriz obtida foi denominada como Hap-CAS-SiLN e Hap-SiLN, respectivamente.

As matrizes mesoporosas puras e modificadas organicamente foram enviadas para as devidas caracterizações pelas técnicas de adsorção de N₂, espectroscopia na região do infravermelho, termogravimetria, difração de Raios-X e RMN do estado sólido de ³¹P.

3.3 Ensaios de adsorção e liberação de BSA

3.3.1 Efeito do Tempo

A obtenção das isotermas de adsorção foram feitas pelo método da em que amostras de aproximadamente 50 mg da hidroxiapatita Hap-CAS₃₀₀ e Hap-CAS-SiLN foram suspensas em 20,0 cm³ de uma solução aquosa de BSA de concentração de 1000 ppm preparada em tampão de pH 7,2 (KH₂PO₄/NaHPO₄.2H₂O). A suspensão foi, então, mecanicamente agitada em um banho termostaticado a 298 K por tempos variados de 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 90 e 120 min. Passado os tempos pré-estabelecidos, as suspensões foram filtradas e alíquotas dos sobrenadantes foram removidas, diluídas e quantificadas.

3.3.2 Efeito da concentração

Para a adsorção, 50,0 mg da Hap-CAS₃₀₀ e Hap-CAS-SilN foram suspensos em 20,0 cm³ de solução aquosa de BSA, cujas concentrações variaram de concentração de 100 a 4000 ppm preparada em tampão de pH 7,2 (KH₂PO₄/NaHPO₄.2H₂O). As suspensões foram mecanicamente agitadas durante um tempo previamente estabelecido de 20 minutos, em uma mesa agitadora a temperatura de 298 K. Em períodos previamente estabelecidos alíquotas do sobrenadante foram retiradas da suspensão e quantificadas.

3.3.3 Ensaios de liberação de BSA nas matrizes mesoporosas.

Nesses ensaios, aproximadamente 500,0 mg das Hap-CAS300 e Hap-CAS-silN foram imersos em 250,0 cm³ de uma solução aquosa que contém aproximadamente 2000 ppm da BSA preparada em tampão de pH 7,2 (KH₂PO₄/NaHPO₄.2H₂O). A suspensão foi, então, mecanicamente agitada em um banho termostatizado a 298 K por 20 minutos. Estabelecido este tempo os sólidos foram filtrados e secos a 333K em estufa, por 24 horas. Em um procedimento típico, aproximadamente 500,0 mg dos sólidos contendo BSA foram imersos em 250,0 cm³ de uma solução tampão de pH 7,2 (KH₂PO₄/NaHPO₄.2H₂O). A suspensão foi, então, mecanicamente agitada em um banho termostatizado a 298 K por 72 horas. Em períodos previamente estabelecidos alíquotas do sobrenadante foram retiradas da suspensão e quantificadas. Todas as alíquotas retiradas da suspensão foram automaticamente substituídas por volumes iguais de tampão fosfato (KH₂PO₄/NaHPO₄.2H₂O).

Todas as alíquotas dos sobrenadantes foram quantificadas por espectroscopia de UV/Vis através do “método de Bradford” (BRADFORD, 1976) utilizando comprimento de onda de 595 nm.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Característica Estrutural

Com base nos dados de raios-X, Espectroscopia de IV e RMN do estado sólido de ³¹P observa-se que, todos os sólidos sintetizados, com ou sem agente direcionador, formaram sólidos monofásicos, nos quais a única fase observada foi a da hidroxiapatita. Pode-se observar também que após a retirada do agente direcionador das matrizes de hidroxiapatita, empregando diferentes temperaturas, não houve nenhuma mudança estrutural significativa das mesmas, uma vez que não foi observado nenhum deslocamento em seus picos característicos para estes materiais.

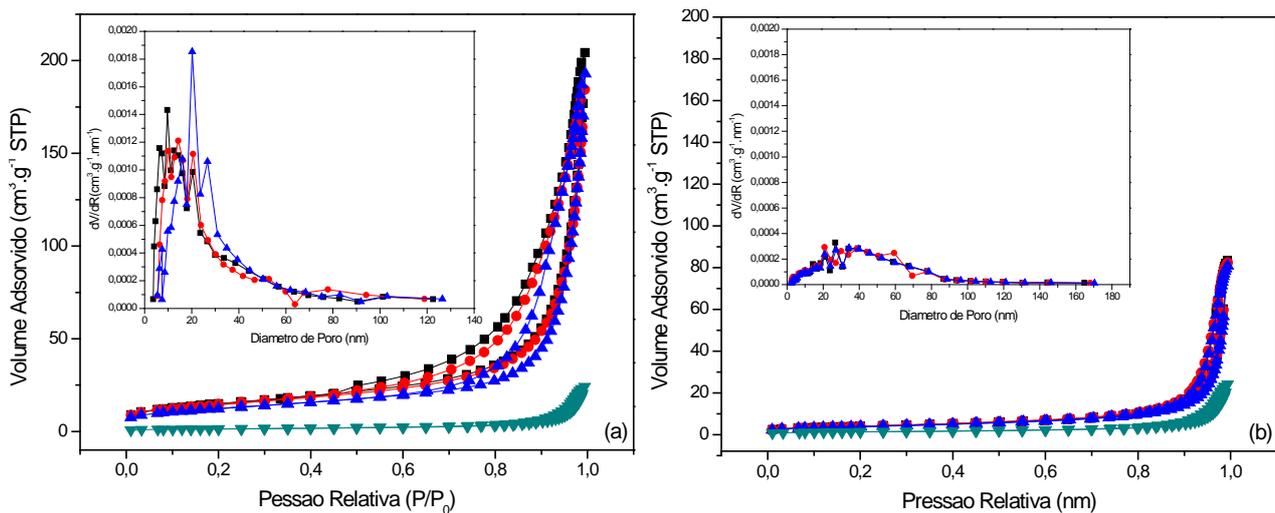
A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos das medidas de adsorção de N₂, que mostram as diferenças nos valores da área superficial específica (S_{BET}), volume de poros (V_p) e diâmetro de poros (D_p) das amostras da hidroxiapatita mesoporosa calcinada em temperaturas diferentes.

Tabela 1 - Resultados de adsorção de N₂

Amostra	Área Superficial (S) (m ² .g ⁻¹)			Volume de poro (Vp) (cm ³ .g ⁻¹)			Diâmetro de poro (Dp) (nm)		
	300 ^o C	400 ^o C	600 ^o C	300 ^o C	400 ^o C	600 ^o C	300 ^o C	400 ^o C	600 ^o C
Hap-CAS	54,07	51,60	44,80	0,309	0,280	0,290	16,52	17,97	23,23
Hap-SDS	14,22	14,62	13,69	0,127	0,125	0,123	34,23	32,18	34,41
Hap-CTAB	30,21	41,64	4,77	0,195	0,291	0,036	23,52	24,80	29,00

Analisando os dados da Tabela 1 podemos observar que o diâmetro de poros aumentou consideravelmente em todos os sólidos com o aumento da temperatura de calcinação. A variação mais marcante observada foi de 16,52 nm para 23,23 nm quando a temperatura de calcinação aumentou de 300^oC para 600^oC no sólido Hap-CAS. A maior área superficial de cerca de 54 m²/g foi medidas para o sólido Hap-CAS calcinado a uma temperatura de 300^oC. Um pequeno decréscimo para 51 e 45 m²/g foi observado para as temperaturas de calcinação de 400^oC e 600^oC, respectivamente. Pode-se observar através da Tabela 1 que as áreas superficiais dos sólidos Hap-SDS₃₀₀, Hap-SDS₄₀₀, Hap-SDS₆₀₀ e Hap-CTAB₆₀₀ apresentaram áreas superficiais próximas a da hidroxiapatita convencional, que é de 13,78 m².g⁻¹.

As isotermas de adsorção de nitrogênio das amostras calcinadas Hap-CASx, Hap-SDSx e Hap-CTABx, são mostradas na Figura 1. Os sólidos mesoporosos Hap-CAS₃₀₀, Hap-CAS₄₀₀, Hap-CAS₆₀₀, Hap-CTAB₃₀₀ e Hap-CTAB₄₀₀ apresentam isotermas do tipo III, características de materiais mesoporosos de acordo com a classificação BDDT e exibem histerese do tipo H3, conforme classificação da IUPAC (TEIXEIRA, 2001).



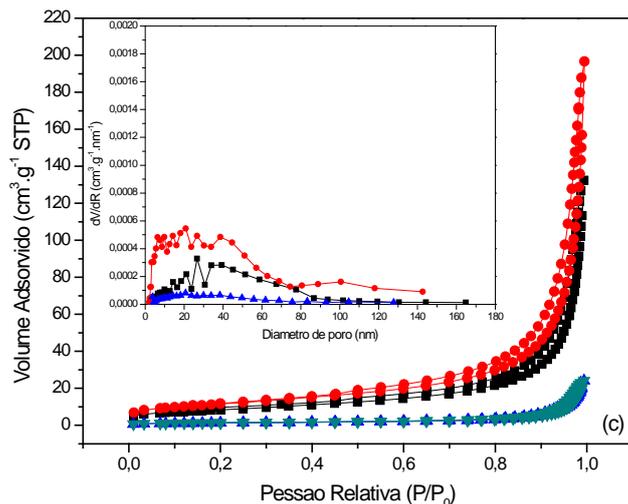


Figura 1 - Isothermas de adsorção dos sólidos Hap-CASx (a), Hap-SDSx (b) e Hap-CTABx (c), para as amostra calcinadas a 300°C (■), 400°C (●) e 600°C (▲) em comparação com a hidroxiapatita não porosa (▼) e suas respectivas distribuição de tamanho de poros (em destaque).

Todos estes materiais, aqui investigados, apresentam essas características gerais, mas diferem entre si quando suas isothermas são examinadas de forma quantitativa. Algumas diferenças podem ser observadas nas isothermas de adsorção, bem como os gráficos de distribuição de tamanho de poros de BJH, em destaque na Figura 1, em função da temperatura de calcinação utilizada, principalmente nos sólidos Hap-CASx. As posições dos ramos de adsorção deslocam-se em direção às pressões de preenchimento de poros mais altas, à medida que a temperatura de calcinação aumenta, indicando que em amostras calcinadas a temperaturas maiores que 300°C diminui a presença da microporodidade destes materiais, uma vez que com o aumento da temperatura ocorre a conversão de microporos para mesoporos, o comportamento observado confirma também que poros maiores são formados a temperaturas de calcinação mais altas, conforme Tabela 1. Esta característica torna estes materiais aqui sintetizados muito importantes para aplicação como dispositivo para liberação controlada de fármacos, comportamento que está relacionado com o controle cinético da liberação por meio dos poros das matrizes. É importante ressaltar que a possibilidade de controle da estrutura, como variação do tamanho de poros, é mais uma das características que tornam estes materiais atraentes como matrizes para dispositivos de liberação controlada de fármacos.

Os sólidos Hap-SDS₃₀₀, Hap-SDS₄₀₀, Hap-SDS₆₀₀ não foi observada a presença de histerese, nos ramos de adsorção e dessorção, indicando a não formação de sólidos mesoporosos, apresentando assim, comportamento similar a hidroxiapatita convencional, inclusive com área superficial muito próximo a 13,78 m².g⁻¹, característica da hidroxiapatita pura. As baixas áreas superficiais encontradas nestes materiais está relacionada ao tipo de surfactante utilizado. Segundo BUJAN, et al (2001) em baixas concentrações, próximas a concentração micelar crítica (mcm) e em presença de íons Ca²⁺ ou Na⁺, surfactantes aniônicos, como no caso SDS, apresentam efeito inibitório para a formação de micelas. Em baixas concentrações de surfactante iônico, o efeito inibitório de surfactantes pode ser atribuído à adsorção eletrostática de monômeros de surfactante para com os cristais recém formados do fosfato, inibindo a formação de micelas do

surfactante, assim, retardando o processo de transferência de massa entre a solução e o substrato, assim dificultando a interação fosfato de cálcio – surfactante, conseqüentemente dificultando a formação da estrutura mesoporosa.

Os sólidos Hap-SDSx e Hap-CTABx apresentam pequena quantidade de poros distribuídos em uma ampla faixa de tamanhos, o que acarreta em uma diminuição de suas áreas superficiais, conforme dados da Tabela 1.

4.2 Matriz Modificada Organicamente

Dentre os sólidos sintetizados, foi escolhido apenas o sólido Hap-CAS₃₀₀ para ser organofuncionalizado e posteriormente aplica no sistema de liberação controlada de BSA, uma vez que o mesmo apresenta uma elevada área superficial ($54 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) e um distribuição de tamanho de poros muito estreita (16 nm).

A Figura 2 apresenta o espectro da hidroxiapatita mesoporosa Hap-CAS₃₀₀ modificadas com agente nitrogenado 3-aminopropiltrimetoxissilano (Hap-CAS₃₀₀-SiIN).

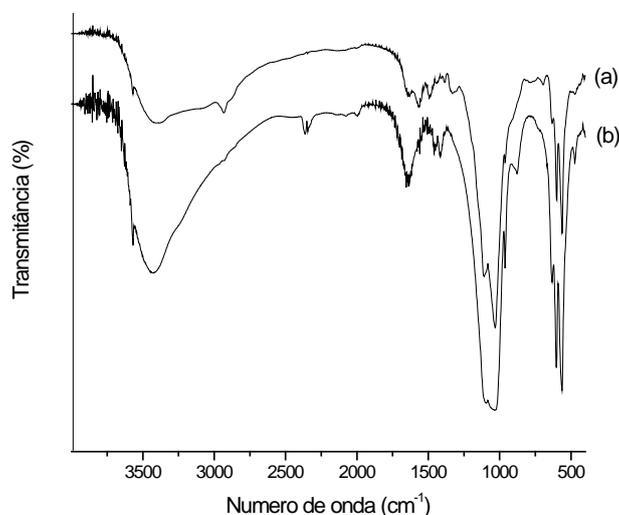


Figura 2 - Espectros na região do infravermelho do sólido Hap-CAS₃₀₀-SiIN (a) em comparação com o sólido Hap-CAS₃₀₀ (b) não silanizado.

Em uma primeira observação na Figura 2, percebe-se uma grande similaridade do conjunto de bandas em todos os espectros relacionadas à estrutura do esqueleto inorgânico da hidroxiapatita. Após a reação de funcionalização com o agente sililante, ocorreu o aparecimento de novas bandas de pequena intensidade, relativas à vibração de estiramento assimétrico e simétrico do grupo C-H, respectivamente, em 2938 e 2853 cm^{-1} (SILVERTEIN, 1990), sugerindo à presença da cadeia orgânica do agente sililante incorporada à estrutura inorgânica da hidroxiapatita. Outro aspecto a ser analisado na Figura 2 é diminuição gradativa da banda associada ao estiramento P-O(H) em HPO_4^{-2} após a reação de funcionalização com o agente sililante, o que sugere um efetivo processo de imobilização desta molécula na matriz fosfática.

A diferença espectroscópica entre as matrizes Hap-CAS₃₀₀ e Hap-CAS₃₀₀-SiIN demonstram que os híbridos resultantes têm os grupos orgânicos ancorados no esqueleto inorgânico. Todos esses dados corroboram são comprovados pela análise elementar de C, N e H e pela termogravimetria, os quais demonstram uma elevada quantidade de grupos orgânicos ancorados. A reação de silanização mostrara-se efetiva, possibilitando produzir novos materiais com propriedades adsorptivas diferentes à dos fosfatos originais. Neste sentido, a introdução dos novos centros básicos pode ser explorada para a liberação controlada de fármacos.

4.3 Estudo da liberação de BSA

4.3.1 4.3.1 Influência do Tempo e da Concentração de BSA

As influências do tempo e da concentração foram utilizadas para determinarmos o tempo e a concentração de equilíbrio onde ocorre a maior capacidade adsorção de BSA frente às matrizes de fosfato de cálcio. Os resultados obtidos estão dispostos na Figura 3.

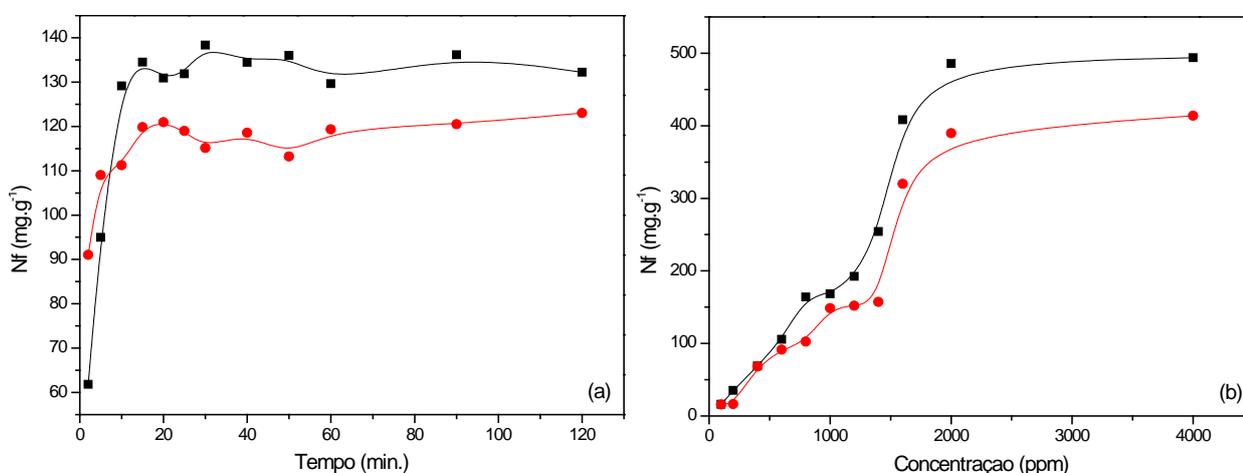


Figura 3 - Influência do tempo (a) e da concentração (b) na adsorção de BSA na hidroxiapatita mesoporosa pura (■) e funcionalizada com agente nitrogenado 3-aminopropiltrimetoxissilano (●).

Ao analisarmos os gráficos na Figura 3, podemos observar que a reação praticamente entra em equilíbrio cinético após um tempo de 20 minutos e um a concentração de 2000 ppm para ambas os sólidos. Também é possível observar que a capacidade adsorptiva do sólido Hap-CAS₃₀₀ frente à BSA é maior que a do sólido Hap-CAS₃₀₀-SiIN, tanto com relação ao tempo quanto ao efeito da concentração. Os valores máximos de adsorção no tempo de equilíbrio de 20 minutos foram de 134 mg.g⁻¹ para o sólido Hap-CAS₃₀₀ e 120 mg.g⁻¹ para o sólido Hap-CAS₃₀₀-SiIN. No Tocante ao efeito da concentração sobre a capacidade adsorptiva dos materiais frente à BSA os valores observados foram de 486 mg.g⁻¹ para o sólido Hap-CAS₃₀₀ e 390 mg.g⁻¹ para o sólido Hap-CAS₃₀₀-SiIN.

A menor quantidade de BSA ancorada na matriz silanizada Hap-CAS₃₀₀ em comparação com sua forma pura, Hap-CAS₃₀₀-SiIN, pode está relacionada ao ancoramento de grupos funcionais

amina sobre hidroxiapatita mesoporosa, o que segundo WANG, (2009), a funcionalização de materiais mesoporosos pode alterar o tamanho dos poros e as propriedades hidrofílicas/hidrofóbica da superfície, modificando a interação entre a droga e o substrato, resultando em menor carregamento de drogas e taxa de liberação mais lenta.

Essa modificação superficial da hidroxiapatita pode tanto conduzir a uma alteração nas suas propriedades químicas como físicas, como a diminuição do tamanho dos poros dificultando por sua vez o ancoramento da BSA, uma vez que o diâmetro da molécula de BSA é de aproximadamente 10nm.

4.3.2 Estudo da liberação de BSA

A cinética de liberação foi estudada em função do tempo para todas as amostras da hidroxiapatita silanizada, Hap-CAS₃₀₀-SiIN, em comparação com sua forma pura, Hap-CAS₃₀₀, os perfis de liberação de cada sistema são apresentados na Figura 4.

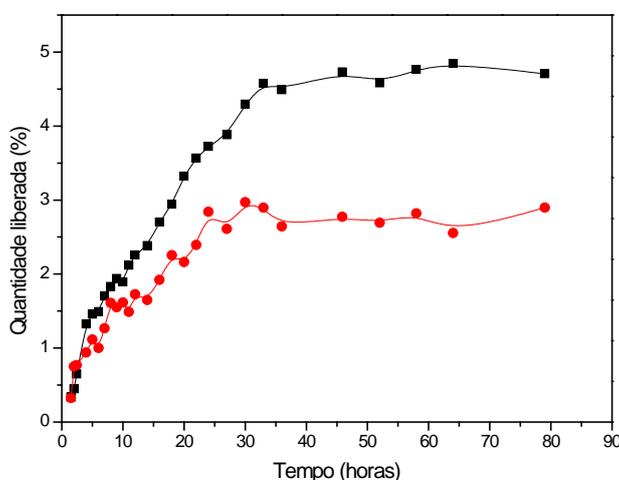


Figura 4 - Perfil de liberação de BSA das amostras de hidroxiapatita mesoporosa pura (■) e funcionalizada com agente nitrogenado 3-aminopropiltrimetoxissilano (●).

Pode-se observar que esses sistemas apresentam perfis similares, sem a presença de uma primeira liberação pronunciada. Essa liberação inicial é atribuída à dissolução e liberação imediata da porção da proteína fármaco localizada na superfície dos sólidos. Esses sistemas apresentam uma taxa de liberação até as primeiras 30 horas de experimento em torno de 2,5% e 4,5% da droga incorporada, para os sólidos Hap-CAS₃₀₀ e Hap-CAS₃₀₀-SiIN, respectivamente, seguida de uma taxa mais lenta, quase constante, para as horas subsequentes. Esse fato pode estar relacionado à interação entre a BSA e a hidroxiapatita mesoporosa por meio de ligações de hidrogênio, devido à afinidade dos grupos funcionais da molécula e grupos OH ou NH₂ presentes nas paredes dos poros da hidroxiapatita. Esse resultado pode ser indicativo da ocorrência de interações químicas entre a superfície da matriz fosfática e grupos funcionais da molécula de BSA. SONG et al, (2005), constataram o mesmo comportamento ao estudar SBA-15 funcionalizado com grupos amina na liberação de BSA, concluindo que as matrizes organofuncionalizadas

apresentam uma taxa de liberação mais favorável para a liberação da BSA devido ao grande número de interações eletrostáticas e hidrofílicas entre a BSA e a matriz de SBA-15 funcionalizada.

5 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram ser perfeitamente possível a obtenção de materiais mesoporosos com estrutura ordenada a base de hidroxiapatita. A grande vantagem deste procedimento é a possibilidade de manipular as propriedades texturais através da variação de parâmetros, tais como temperatura de calcinação, tipo de surfactante e condições de síntese. As isotermas obtidas através da adsorção de N₂ demonstraram a caseína é um promissor biosurfactante na síntese de fosfatos de cálcio mesoporosos. A modificação superficial da hidroxiapatita mesoporosa com 3-aminopropiltrimetoxissilano diminuiu consideravelmente a cinética de liberação da BSA. Isto mostra que o agente sililante age como uma barreira temporária e evita a rápida liberação da proteína durante o ensaio. Este fato confirma que um efetivo controle da taxa de liberação do fármaco pode ser alcançado modificando a superfície da hidroxiapatita mesoporosa.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUJAN, M.; SIKIRIC, M.; FILIPOVIC-VINCEKOVIC, A.; VDOVIC, N.; GARTI, N.; Effect of Anionic Surfactants on Crystal Growth of Calcium Hydrogen Phosphate Dihydrate, *Langmuir*, v.17, p. 6461 – 6470, 2001.
- DASH, A.K.; CUDWORTH, G.C.J.; Therapeutic applications of implantable drugs delivery systems, *Pharmacol. Toxicol. Met.*, v. 40, p. 1 – 12, 1998
- FAN, J.; LEI, J.; YU, C.; TU, B.; ZHAO, D.; Hard-templating synthesis of a novel rod-like nanoporous calcium phosphate bioceramics and their capacity as antibiotic carriers, *Materials Chemistry and Physics*, v. 103, p. 489 – 493, 2007.
- GINEBRA, M.P.; TRAYKOVA, T.; PLANELL, J.A.; Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: A review, *Journal of Controlled Release*, v. 113, p. 102 – 110, 2006.
- HARTMANN, M.; Ordered Mesoporous Materials for Bioadsorption and Biocatalysis, *Chem. Mater.*, v. 17, p. 4577 – 4593, 2005.
- HEYMANN, D.; PASSUTI, N.; Bone substitutes: New concepts, *Orthop. Surg. Traumatol.*, v. 9, p. 179 – 184, 1999.
- HILDER, T.A.; HIL, J.M.; Carbon nanotubes as drug delivery nanocapsules, *Current Applied Physics*, v. 8, p. 258 – 261, 2008.
- HORCAJADA, P.; MÁRQUEZ-ALVAREZ, C.; RÁMILA, A.; PÉREZ-PARIENTE, J.; VALLET-REGÍ, M.; Controlled release of Ibuprofen from dealuminated faujasites, *Solid State Sciences*, v. 8, p. 1459 – 1465, 2006.
- IKAWA, N.; HORI, H.; KIMURA, T.; OUMI, Y.; SANO, T.; Templating Route for Mesostructured Calcium Phosphates with Carboxylic Acid- and Amine-Type Surfactants; *Langmuir*, v. 42, p. 13113 – 13120, 2008.

LINARES, C.F.; BRIKGI, M.; Interaction between antimicrobial drugs and antacid based on cancrinite-type zeolite, *Microp. Mesop. Mater.*, v. 96, p. 141 – 147, 2006.

MANZANO, M.; AINA, V.; ARE'AN, C.O.; BALAS, F.; CAUDA, V.; COLILLA, M.; M.R. DELGADO, M.R.; VALLET-REG'IA, M.; Studies on MCM-41 mesoporous silica for drug delivery: Effect of particle morphology and amine functionalization, *Chemical Engineering Journal*, v. 137, p. 30 – 37, 2008.

OLIVEIRA, R.B.; LIMA, E.M.; Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos, *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 3, p. 29 – 35, 2006

SILVERTEIN, R.M.; BASSER, G.C.; MORRILL, T.C.; Spectrometric Identification of Organic Compounds. John Wiley & Sons Inc., 2^a ed., New York, 1990.

SONG, S.W.; HIDAJAT, K.; KAWI, S.; Functionalized SBA-15 Materials as Carriers for Controlled Drug Delivery: Influence of Surface Properties on Matrix-Drug Interactions, *Langmuir*, v. 21, p. 9568 – 9575, 2005.

TAGUCHI, A.; SCHUTH, F.; Ordered mesoporous materials in catalysis, *Micropor. Mesopor. Mat.*, v. 77, p. 1 – 45, 2005.

TEIXEIRA, G.V.; COUTINHO, F.M.B.; GOMES, A.S.; Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. *Química Nova*, v. 24, p. 808-181, 2001.

WANG, S. Ordered mesoporous materials for drug delivery: review, *Microporous and mesoporous materials*, v. 117, p. 1 – 9, 2009.

YU, C-Y.; YIN, B-C.; ZHANG, W.; CHENG, S-X.; ZHANG, X-Z; ZHUO, R-X. Composite microparticle drug delivery systems based on chitosan, alginate and pectin with improved pH-sensitive drug release property, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 68, p. 245 – 249, 2009.