



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO

JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis

Rodrigo Franco dos Santos

Uso de técnicas eletroquímicas para monitorar a liberação controlada de fármacos em membranas de acetato de celulose produzidas a partir de resíduos agroindustriais.

Uberlândia – MG

2015

Rodrigo Franco dos Santos

Uso de técnicas eletroquímicas para monitorar a liberação controlada de fármacos em membranas de acetato de celulose produzidas a partir de resíduos agroindustriais.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biocombustíveis.

Orientador: Profº. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Co-orientador: Profº. Dr. Guimes Rodrigues Filho

Uberlândia – MG

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- S237u Santos, Rodrigo Franco dos, 1987-
2015 Uso de técnicas eletroquímicas para monitorar a liberação controlada
de fármacos em membranas de acetato de celulose produzidas a partir de
resíduos agroindustriais / Rodrigo Franco dos Santos. - 2015.
69 f. : il.
- Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Munoz.
Coorientador: Guimes Rodrigues Filho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós Graduação em Biocombustíveis.
Inclui bibliografia.
1. Biocombustíveis - Teses. 2. Milho - Teses. 3. Microscopia
eletrônica de varredura - Teses. I. Abarza Munoz, Rodrigo Alejandro. II.
Rodrigues Filho, Guimes. III. Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós Graduação em Biocombustíveis. IV. Título.

CDU: 662.756



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em
Biocombustíveis, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 2/PPBIC.

DATA: 19/02/2015

DISCENTE: Rodrigo Franco Santos

MATRÍCULA: 11312PGB004

TÍTULO DO TRABALHO: "Uso de técnicas eletroquímicas para monitorar a liberação controlada de fármacos em membranas de acetato de celulose produzidas a partir de resíduos agro industriais"

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Biocombustíveis

LINHA DE PESQUISA: Produtos de Bioprodutos

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de sensores eletroquímicos e métodos analíticos nas áreas de energia e meio-ambiente.

Às quatorze horas do dia dezenove de fevereiro do ano dois mil e quinze, no Anfiteatro A do Bloco 50, do Campus Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Wallans Torres Pio dos Santos do Departamento de Farmácia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), e Douglas Queiroz Santos da Escola Técnica de Saúde da Universidade Federal de Uberlândia (ESTES/UFU) e membro do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFU e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, do Instituto de Química da UFU e do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFU, professor orientador e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o presidente da mesa apresentou o candidato e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas no Regulamento do Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis UFVJM e UFU. Em seguida, o presidente da mesa concedeu a palavra ao candidato para a exposição do seu trabalho e, em seqüência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o apresentador. A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o candidato. Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será mantido.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 30 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Dr. Wallans Torres Pio dos Santos
UFVJM

Prof. Dr. Douglas Queiroz Santos
ESTES/UFU

Orientador(a): Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Agradeço a todos pelo apoio que recebi, em especial dos meus pais, Celia e José da minha namorada Fabiane e do meu filho Kauã, sem o suporte deles não teria conseguido chegar até aqui, também aos queridos colegas Helieder, Rodrigo Montes, Sabrina, Rafael Melo, Poliana Freire, Rafael Cunha, meus sinceros agradecimentos também a todos que contribuiram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Agradecimentos

A Deus primeiramente, por me abençoar sempre, e por tudo que tem me proporcionado.

A minha família em especial aos meus pais, Celia e José a minha namorada Fabiane e ao meu filho Kauã que veio para alegrar os nossos dias.

A todos os meus familiares por sempre ter acreditado em mim e me deram total apoio na realização dos meus ideais.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz pela orientação e oportunidade de trabalho.

Ao Prof. Dr. Guimes Rodrigues Filho, pelo apoio e pelas ricas discussões que contribuirão para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos do Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica e aos do Grupo de Reciclagem de Polímeros e dos demais Laboratórios, por todo o companheirismo, pela convivência diária e pela contribuição na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter, pelo apoio e pelas ricas discussões que contribuirão para a realização deste trabalho.

A todos os técnicos do Instituto de Química por todo o apoio e companheirismo.

A todos os professores do Instituto de Química por todo o apoio e companheirismo.

A CAPES pela verba do PROAP e disponibilização do Portal de Periódicos.

A CNPq pela plataforma online e pela parceria com a UFU.

Ao Departamento de Ciências Biomédica da Universidade Federal de Uberlândia pelas análises no Laboratório de Microscopia Avançada, pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.

A FAPEMIG pela bolsa de mestrado.

Ao instituo de Química da UFU pelo uso de sua estrutura.

Ao programa de Biocombustíveis pela oportunidade de realização do mestrado.

Muito Obrigado!

Sumário

| | |
|--|------------|
| Índice de Figuras..... | i |
| Índice de tabelas..... | iii |
| Resumo | iv |
| Abstract | iv |
| Lista de abreviaturas e siglas..... | vii |
| CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1. Considerações Gerais | 2 |
| 1.2. Resíduo Agroindustrial (Palha de Milho) | 2 |
| 1.3. Componentes da palha do milho..... | 3 |
| 1.3.1. Celulose..... | 3 |
| 1.3.2. Hemicelulose | 4 |
| 1.3.3. Lignina | 5 |
| 1.4. Acetato de celulose | 7 |
| 1.5. Sistemas de liberação de fármacos | 9 |
| 1.6. Utilização de Membranas em Sistemas de Liberação Controlada (SLC) de Fármacos | 10 |
| 1.7. Acetominofeno (Paracetamol)..... | 12 |
| 1.8. Ciprofloxacina | 133 |
| 1.9. Técnicas eletroanalíticas utilizadas para monitoramento de liberação controlada de fármaco | 144 |
| 1.10. BIA..... | 186 |
| 1.11. Voltametria Cíclica (VC) e Voltametria de onda-quadrada (VOQ), Amperometria | 156 |
| 1.12. Eletrodos Impressos | 18 |
| Capítulo 2 – Objetivos..... | 20 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL | 221 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 221 |
| Capítulo 3 – Procedimento Experimental | 22 |
| 3.1. Instrumentação..... | 233 |
| 3.2. Purificação do resíduo agroindustrial proveniente da palha de milho | 244 |
| 3.3. Acetilação da celulose da palha de milho purificada | 244 |

| | |
|--|-----------|
| 3.4. Produção das membranas de triacetato de celulose com a incorporação de paracetamol e ciprofloxacina..... | 25 |
| 3.5. Avaliação da liberação de fármacos pelas membranas de triacetato de celulose | 27 |
| Capítulo 4 – Resultados e Discussão | 30 |
| 4.1. Caracterização da celulose e do triacetato de celulose (TAC). | 31 |
| 4.2. Caracterização das membranas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... | 31 |
| 4.3. Análise térmica utilizando Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)..... | 34 |
| 4.4. Monitoramento da liberação de Paracetamol e Ciprofloxacina por voltametria e espectrofotometria..... | 36 |
| Capítulo 5 – Sugestões para trabalhos futuros..... | 48 |
| Capítulo 6 – Conclusões | 48 |
| Capítulo 7 – Referências Bibliográficas | 50 |

Índice de Figuras

| | |
|---|--------------------------------------|
| Figura 1- Unidade base de celulose | 4 |
| Figura 2- Açúcares que compõem as unidades de hemiceluloses | 5 |
| Figura 3- Unidades estruturais da lignina: G- guaiacilpropano, S- siringilpropano, H- p-hidroxifenilpropano | 6 |
| Figura 4- Modelo proposto para a lignina de eucalipto | 6 |
| Figura 5- Estrutura do acetato de celulose | 7 |
| Figura 6- Mecanismo de acetilação com desprendimento das cadeias de cristais | 8 |
| Figura 7- Mecanismo da reação de produção do acetato de celulose, por reação heterogênea .. | 8 |
| Figura 8- Comparaçao ilustrativa das variações de concentração de fármacos administrados por métodos convencionais de multidosagem (a) e sistema de liberação controlada (b), sendo A, a administração do fármaco | 9 |
| Figura 9- Estrutura química do Paracetamol | 12 |
| Figura 10- Estrutura química da Ciprofloxacina | 13 |
| Figura 11- Sinal de excitação em Potencial pelo tempo no experimento de voltametria cíclica | 17 |
| Figura 12- Eletrodos impressos com dimensões de 3,4 x 1,0 x 0,5 cm | 19 |
| Figura 13- Sistema de analise BIA, em (A) temos a visão interna da célula com o eletrodo encaixado no orifício, em (B) temos a visão externa da célula com o eletrodo, em (C) temos a visão do sistema de analise BIA com a pipeta eletrônica, em (D) temos a visão interna da profundidade da ponteira em relação ao eletrodo | 27 |
| Figura 14- Metodologia para purificação da palha de milho | 27 |
| Figura 15- Metodologia de acetilação da celulose da palha de milho purificada | 27 |
| Figura 16- Procedimento para produção de membrana simétrica | 27 |
| Figura 17- Procedimento para produção de membrana assimétrica | 27 |
| Figura 18- Imagem das membranas após se destacarem da placa de espalhamento | 27 |
| Figura 19- Sistema de analise BIA, em (A) tem-se a visão interna da célula com o eletrodo encaixado no orifício, em (B) tem-se a visão externa da célula com o eletrodo, em (C) tem-se a visão do sistema de analise BIA com a pipeta eletrônica, em (D) tem-se a visão interna da profundidade da ponteira em relação ao eletrodo..... | Erro! Indicador não definido. |
| Figura 20- MEV das fraturas e superfícies das membranas, simétricas MB-SIM, membrana simétrica incorporada com paracetamol MB-SIMpa e membrana simétrica incorporada com ciprofloxacina MB-SIMci, 1000x | 32 |
| Figura 21- MEV das fraturas e superfícies das membranas, assimétricas MB-ASS, membrana assimétrica incorporada com paracetamol MB-ASSpa e membrana assimétrica incorporada com ciprofloxacina MB-ASSci, 1000x | 33 |
| Figura 22- Curva de segunda varredura de DSC das matrizes. Membranas Simétricas (A), Membranas Assimétricas I (B) | 344 |
| Figura 23- Reação de oxidação do paracetamol | 36 |
| Figura 24- Curva de calibração construída a partir da altura dos picos em função da concentração (VOQ) | 37 |

| | |
|---|-----|
| Figura 25- Voltamogramas da curva de calibração para os seguintes concentrações: A) Branco; B) 10; C) 50; D) 75; E) 100; F) 200; G) 300; H) 400; I) 500; J) 750; L) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ | 387 |
| Figura 26- Espectro na região UV para o fármaco paracetamol | 388 |
| Figura 27- Curva de calibração construída a partir da absorbância em 244 nm em função da concentração, utilizando UV-Vis | 388 |
| Figura 28- Voltamogramas obtidos a partir da liberação de paracetamol das membranas simétrica (A) e assimétrica (B), ao longo de 8 horas de análise | 399 |
| Figura 29- Curvas de liberação do paracetamol das membranas simétricas (A) e assimétricas (B) | 40 |
| Figura 30- Voltamogramas cíclicos ($v = 80\text{mVs}^{-1}$ em SPE na presença de (a) solução tampão BR pH 4,0 e b) após a adição de ciprofloxacina $1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} | 41 |
| Figura 31- Espectro na região UV para o fármaco ciprofloxacina..... | 42 |
| Figura 32- Curva de calibração construída a partir da altura dos picos em função da concentração (VOQ) | 43 |
| Figura 33- Curva de calibração da construída a partir do método espectrofotometrico em 277 nm | 43 |
| Figura 34- Curvas de calibração e amperogramas obtidos para o cálculo da concentração de ciprofloxacina proveniente da liberação de membranas simétricas | 44 |
| Figura 35- Curvas de calibração e amperogramas obtidos para o cálculo da concentração de ciprofloxacina proveniente da liberação de membranas assimétricas | 44 |
| Figura 36- Curvas de liberação de ciprofloxacina das membranas simétricas empreganndo as técnicas VOQ, espectrofotometricas no UV e amperometria (APC) | 45 |
| Figura 37- Curvas de liberação de ciprofloxacina das membranas assimétricas empreganndo as técnicas VOQ, espectrofotometricas no UV e amperometria (APC) | 45 |

Índice de tabelas

| | |
|--|-----|
| Tabela 1- Características do fármaco paracetamol | 12 |
| Tabela 2- Características do fármaco ciprofloxacina | 13 |
| Tabela 3- Trabalhos utilizando técnicas voltamétricas | 14 |
| Tabela 4- Parâmetros obtidos a partir da segunda varredura de DSC. | 355 |
| Tabela 5- Valores médios do percentual de liberação de paracetamol e ciprofloxacina de cada membrana após 8 horas de experimentos..... | 466 |

Resumo

No presente trabalho avaliou-se o emprego de técnicas voltamétricas para monitorar em tempo real a liberação dos fármacos paracetamol e ciprofloxacina incorporados separadamente em membranas de triacetato de celulose. O método voltamétrico baseou-se na oxidação eletroquímica dos fármacos em eletrodos impressos descartáveis (“Screen-printed electrodes”, SPEs) e foi comparado com o método espectrofotométrico na região do UV (243 e 272 nm para paracetamol e ciprofloxacina, respectivamente) e com o método amperométrico (no caso da liberação de ciprofloxacina). O triacetato de celulose "TAC" foi produzido a partir da acetilação da celulose da palha de milho, para a obtenção de membranas utilizadas como matrizes de liberação controlada dos fármacos. As seguintes formulações foram usadas para a produção de membranas simétricas e assimétricas para posterior avaliação da liberação dos fármacos: TAC/diclorometano/fármaco e TAC/diclorometano/água/fármaco, respectivamente. Os SPEs usados na medidas voltamétricas tinham como eletrodo de trabalho tinta de carbono modificada com nanotubos de carbono de paredes múltiplas, o auxiliar composto por tinta de carbono, e o de referência por tinta de prata. A liberação dos fármacos das membranas de TAC foi realizada em solução tampão fosfato pH 7,4 na temperatura de 36 °C. Os resultados mostraram uma liberação de 40% e 46% de paracetamol das membranas simétricas e assimétricas, respectivamente, com grande concordância entre as técnicas voltamétrica e espectrofotométrica no UV. Para a liberação de ciprofloxacina, os valores percentuais variaram de 30% a 44% e 40% a 67% para membranas simétricas e assimétricas, respectivamente. No entanto, não houve a mesma concordância entre as técnicas tal como verificada na liberação do paracetamol, mesmo com a inclusão de um segundo método comparativo (amperometria). Provavelmente, a diferença entre os valores de liberação de ciprofloxacina monitorados pelas diferentes técnicas ocorreu por falta de homogeneidade na incorporação do fármaco nestas membranas. Em ambos os estudos verificou-se maior percentual de liberação de fármaco nas membranas assimétricas, uma vez que estas apresentaram estrutura mais porosa, sendo tal estrutura comprovada pelas análises por microscopia eletrônica de varredura, o que permitiu maior acesso dos fármacos à solução de liberação. A técnica voltamétrica utilizada apresentou vantagens em relação à espectrofotometria, como monitoramento *in situ*, alto grau de automação, análise em curto espaço de tempo, a dispensabilidade de diluições, sistema de fácil manuseio, baixo custo de operação e alta sensibilidade, tendo, portanto, potencial na avaliação da liberação de fármacos de membranas usadas como matrizes de liberação controlada de drogas.

Palavras-chave: Palha de Milho, Triacetato de Celulose, Voltametria de Onda Quadrada.

Abstract

In the present study we evaluated the use of voltammetric techniques to monitor in real time the release of the drugs paracetamol and ciprofloxacin incorporated on cellulose triacetate membranes. The voltammetric method was based on the electrochemical oxidation of the drugs on disposable screen-printed electrodes (SPEs) and was compared with the spectrophotometric method in the UV region (243 and 272 nm for paracetamol and ciprofloxacin, respectively) and with the amperometric method (only in the case of ciprofloxacin release). Cellulose triacetate "TAC" was produced by the acetylation of cellulose corn straw, to obtain membranes used as matrices for controlled release of drugs. The following formulations were used for the production of symmetric and asymmetric membranes for subsequent evaluation of the release of drugs: TAC / dichloromethane / TAC drug and / dichloromethane / water / drug, respectively. The SPEs used in voltammetric measurements presented as working electrode a carbon ink modified with multiwalled carbon nanotubes, the auxiliary ink composed of carbon, and a reference silver ink. The release of drug from the TAC membranes was performed in phosphate buffer pH 7.4 at a temperature of 36 °C. The results showed release of paracetamol of 40% and 46% for symmetric and asymmetric membranes, respectively, with good agreement between voltammetric and UV spectrophotometric techniques. For the release of ciprofloxacin, the percentage values ranged from 30% to 44% and 40% to 67% for symmetric and asymmetric membranes, respectively. However, there was no correlation between the same techniques as seen in the release of paracetamol, even with the inclusion of a second comparative method (amperometry). Probably, the difference between the values of ciprofloxacin release monitored by different techniques was due to the lack of homogeneity in the drug incorporation in these membranes. In both studies there was a higher percentage of drug release in asymmetric membranes, as these presented a more porous structure, as confirmed by scanning electron microscopy, which allowed greater access of drugs to the release solution. The voltammetric technique presented advantages in relation to spectrophotometry such as in situ monitoring, high degree of automation, analysis in a short time, no dilutions required, easy to use, low cost of operation and high sensitivity, and therefore, presents potential in the evaluation of drug release from membranes used as matrices for controlled release of drugs.

Keywords: Corn Husk, triacetate cellulose, Square wave voltammetry.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- APC: Amperometria de potencial constante
BIA: Sistema de analise em batelada
CI: Ciprofloxacina
DSC: calorimetria exploratória diferencial
 E_{pa} : Potencial de pico anódico
 E_{pc} : Potencial de pico catódico
HPLC: Cromatografia liquida de alta eficiência
 I_{pa} : Corrente de pico anódica
 I_{pc} : Corrente de pico catódica
MB-ASS: Membrana assimétrica sem fármaco
MB-ASSci: Membrana assimétrica com Ciprofloxacina
MB-ASSpa: Membrana assimétrica com Paracetamol
MB-SIM: Membrana simétrica sem fármaco
MB-SIMci: Membrana simétrica com Ciprofloxacina
MB-SIMpa: Membrana simétrica com Paracetamol
MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura
PCT: Paracetamol
PM: Palha do milho
SC: Sistema convencional
SC(s): Sistema(s) convencional(is)
SLC(s): Sistema(s) de liberação controlada
SPEs: Screen-printed electrode(s)
TAC: Triacetato de celulose
Tg: Transição Vítrea
UV-Vis: ultravioleta-visível
VOQ: Voltametria de onda quadrada
VPD: Voltametria de Pulso Diferencial
VC: Voltametria cíclica

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

1.1. Considerações Gerais

Neste trabalho utilizou-se a palha de milho como fonte de celulose para a produção de membranas de triacetato de celulose, para posterior incorporação de fármacos. A liberação dos fármacos paracetamol e ciprofloxacina destas membranas foi realizada empregando as técnicas eletroquímicas, voltametria de onda quadrada e amperometria, e comparação com a técnica espectrofotométrica na região do UV.

1.2. Resíduo Agroindustrial (Palha de Milho)

O Brasil é um grande produtor agroindustrial. O país produziu na safra 2014/2015 cerca de 198,54 milhões de toneladas em uma área plantada de 57,03 milhões de hectares. E dessa produção total, cerca de 24,42 % que resulta em 48,484 milhões de toneladas provem da produção do milho [1].

O milho representa um produto estratégico para a segurança alimentar da população mundial sendo utilizado para a nutrição humana e alimentação animal, principalmente na avicultura, suinocultura e bovinocultura (de corte e de leite). Além dessas finalidades, o milho é cultivado para a produção do bioetanol, principalmente nos Estados Unidos. Além disso, também é utilizado na indústria química e alimentícia, de onde se obtém mais de quinhentos derivados, a produção de milho, no Brasil tem-se caracterizado pela divisão da produção em duas épocas de plantio.

Os plantios de verão, ou primeira safra, são realizados na época tradicional, durante o período chuvoso, que varia entre fins de agosto, na região Sul, até os meses de outubro/novembro, no Sudeste e Centro-Oeste, sendo que no Nordeste, esse período ocorre no início do ano.

Após a colheita do milho no campo, os principais resíduos gerados são o caule, a palha e o sabugo. A palha de milho (PM) é considerada um resíduo agrícola, geralmente incinerada ou utilizada como cama nos criadouros de aves nas propriedades rurais brasileiras, sendo um material abundante, porém pouco aproveitado de forma a gerar renda, exceto quando destinado à produção do artesanato.

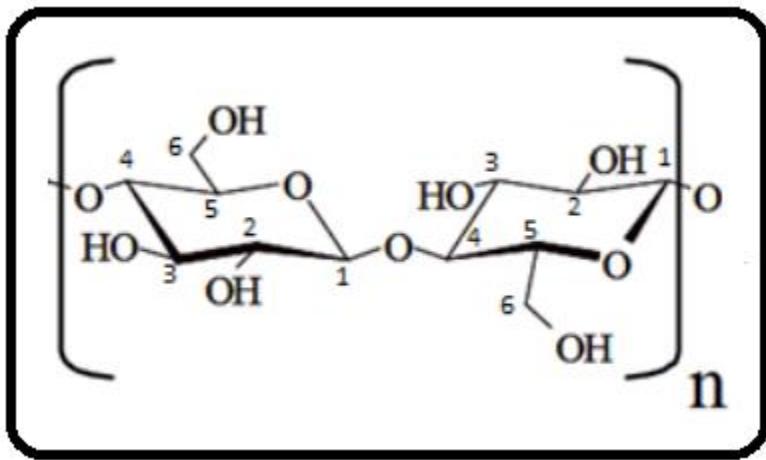
A PM representa cerca de 10% do peso da espiga seca, o que permite a estimativa de produção global, se na safra de 2012/2013 produziu cerca de 28,75 milhões de toneladas, aproximadamente 2,8 milhões de toneladas são resíduos, entre os resíduos estão a PM que é um importante resíduo agrícola que está disponível em grande quantidade e em baixo custo. Este resíduo lignocelulósico é constituído de celulose aproximadamente 38,86% e outros carboidratos complexos como hemicelulose e lignina [2], que estarão descritos em componentes da palha do milho.

1.3. Componentes da palha do milho

1.3.1. Celulose

Dentre varias cadeias carbônicas, a mais abundante que esta presente na PM, e a da celulose, que também corresponde isoladamente por aproximadamente 40% de toda reserva de carbono disponível na biosfera, é a fonte mais abundante deste elemento base dos componentes orgânicos. Está presente em todas as plantas e a celulose encontrada varia de aproximadamente, 20 a 99% [3,4].

A celulose constitui a fonte polimérica renovável mais abundante do planeta sendo ainda a maior constituinte das plantas e árvores. É um homopolímero linear composto de unidades de anidro-glicose, as quais são ligadas entre si através de ligações β – (1–4) - glicosídicas. Onde a ligação β é resultante da rotação de 180° do plano das unidades alternadas da glicose, onde devido a rotação ela faz a ligação do tipo 1,4 [4]. Como demonstrado na Figura 1, cada unidade de glicose contém três grupos hidroxilos livres, ligados aos carbonos 2, 3 e 6, respectivamente [5,6].

Figura 1- Unidade base de celulose [6].

Devido à disponibilidade destes grupos hidroxilas, as macromoléculas de celulose tendem a formar ligações de hidrogênio intermoleculares (entre unidades de glicoses de moléculas adjacentes) e intramoleculares (entre unidades de glicose da mesma molécula), as quais são extremamente importantes para suas características químicas e físicas [7].

As ligações intramoleculares conferem à celulose uma significativa rigidez, enquanto as intermoleculares são responsáveis pela formação da fibra vegetal, ou seja, as moléculas de celulose se alinham, formando as microfibrilas, as quais formam as fibrilas, que, por sua vez, se ordenam para formar as sucessivas paredes celulares da fibra. Dentro das microfibrilas da celulose existem duas fases distintas: uma fase com grande ordenamento das moléculas, denominada fase cristalina e outra, com baixo ordenamento, denominada fase amorfã. Na região cristalina, a fibra tem maior resistência à tração, ao alongamento e à solvatação (absorção de solvente) [8].

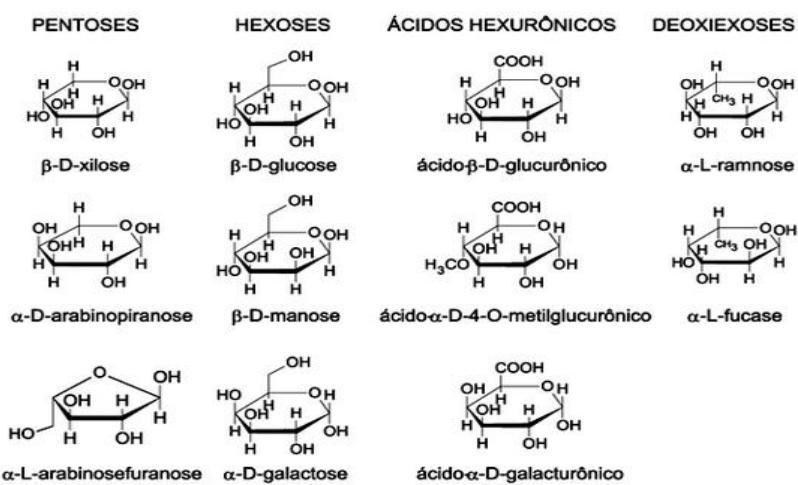
1.3.2. Hemicelulose

As hemiceluloses são uma mistura de polissacarídeos de baixa massa molecular, os quais estão associados intimamente à celulose nos tecidos das plantas. Enquanto a celulose, como substância química, contém somente a D-glucose como unidade fundamental, as hemiceluloses podem aparecer em proporções variadas compostas por vários monossacarídeos polimerizados, incluindo carboidratos que possuem cinco átomos de carbono, chamadas

pentoses (xilose e arabinose), seis átomos de carbono, chamadas hexoses (galactose, glucose e manose), ácido 4-Orto-metil-glucurônico e resíduos de ácido galactorônico.

A massa molecular das hemiceluloses é cerca de 10 a 100 vezes menor do que a da celulose e apresenta ramificação em sua estrutura. As hemiceluloses são diferenciadas da celulose pela facilidade de hidrólise por ácidos diluídos e solubilidade em soluções alcalinas. A Figura 2 mostra as unidades de açúcares mais comuns que constituem as hemiceluloses [9,10].

Figura 2- Açúcares que compõem as unidades de hemiceluloses [9].



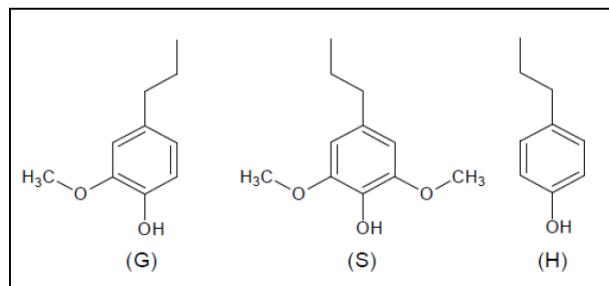
1.3.3. Lignina

As ligninas são macromoléculas que contém os vegetais, cuja a função é de enrijecer as fibras e se tornando uma barreira de degradação da parede celular [6,10].

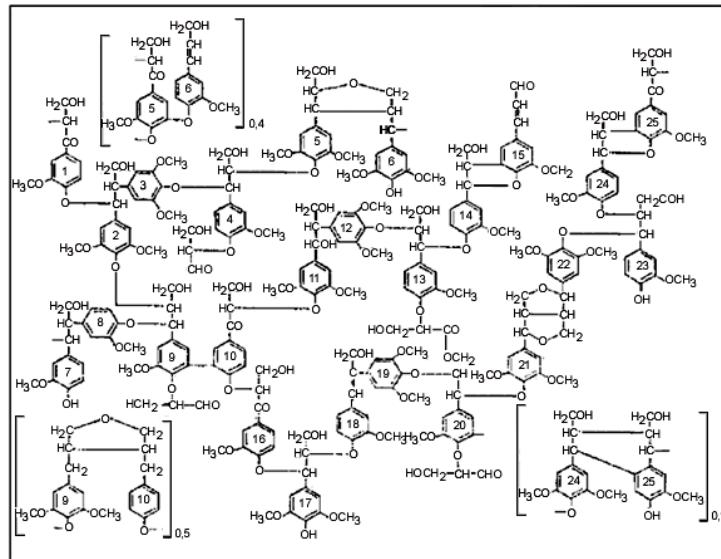
As ligninas são hidrocarbonetos macromoleculares complexos, como mostra na figura 3, as ligninas são formados por grupos alifáticos e aromáticos. É um material hidrofóbico, altamente ramificado e pode ser classificado como um polifenol constituído por um arranjo irregular de várias unidades de fenilpropano, que pode conter grupos hidroxila e metoxila como substituintes do grupo fenil. Sua estrutura principal provém da polimerização desidrogenativa (iniciada por enzimas) de precursores fenilpropanóides como p-hidroxifenilpropano (H), guaiacilpropano (G) e siringilpropano (S) [6].

Figura 3- Unidades estruturais da lignina: (G) guaiacilpropano, (S) siringilpropano, (H) p-hidroxifenilpropano [6].

(H)



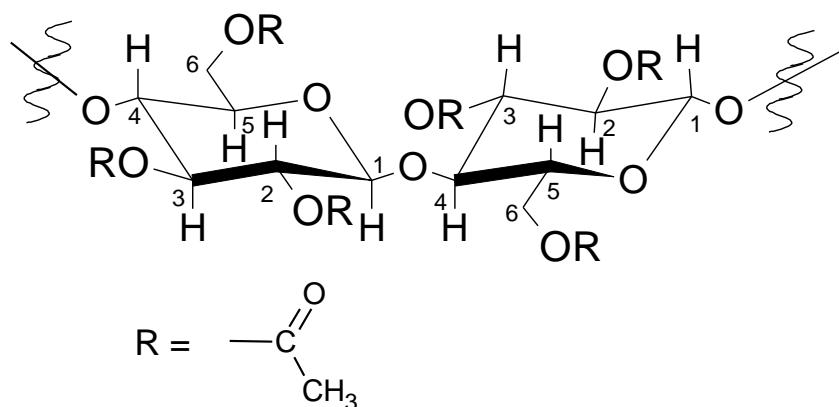
A lignina é uma substância química que confere rigidez à parede celular e age como um agente permanente de ligação entre as células, gerando uma estrutura resistente ao impacto, compressão e dobra [8,9]. Apesar de todos os estudos realizados até hoje sobre a lignina, muitos pontos, relativos principalmente à sua estrutura, permanecem em dúvida. Isto decorre da grande diversidade da estrutura das ligninas quando se passa de uma espécie vegetal para outra ou, até mesmo, dentro da mesma espécie [11]. Um esquema estrutural foi proposto para a lignina da madeira moída de *Eucalyptus grandis*, apresentado na Figura 4, a partir dos estudos de seus grupos funcionais e análise elementar [12,13].

Figura 4- Modelo proposto para a lignina de eucalipto [13].

1.4. Acetato de celulose

O acetato de celulose, figura 5, é um dos derivados de celulose de grande importância comercial, devido a sua larga aplicação na produção de fibras, plásticos, dentre outros [12-14].

Figura 5- Estrutura do acetato de celulose [14].



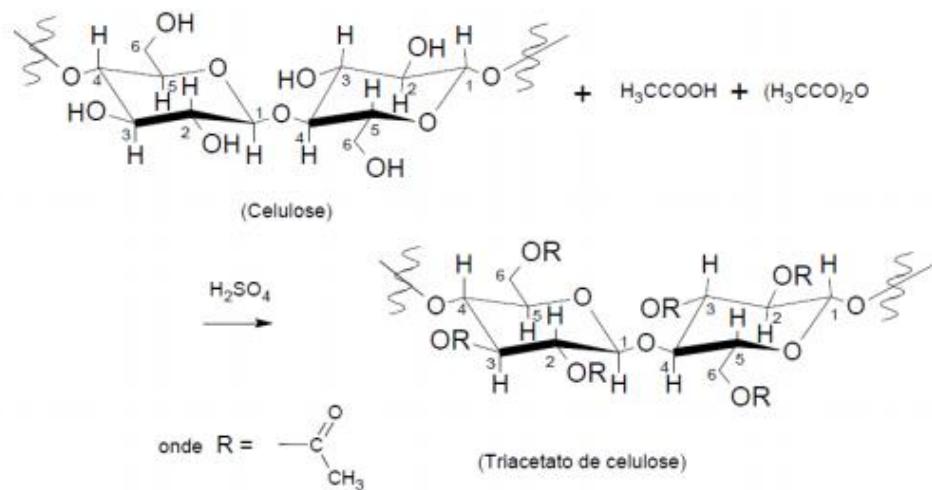
O acetato é produzido pela esterificação dos grupos hidroxila das unidades de anidroglicose, com a exceção de grupos acetila. Cada unidade de anidroglicose contém três grupos hidroxilas livres, ligados aos carbonos 2, 3 e 6, portanto, materiais com diferentes grau de substituição podem ser obtidos. O grau de substituição é definido como sendo o número médio de grupos hidroxilas, esterificadas com grupos acetilas, por unidade de anidro glicose da celulose; pode variar de zero, para a celulose, até três, no caso de um triacetato [15,16].

O acetato de celulose pode ser obtido a partir de uma reação de acetilação da celulose, pelo método homogêneo ou heterogêneo. Ambos os métodos caracterizam-se pela reação da celulose com uma mistura de ácido acético e anidrido acético, na presença de ácido sulfúrico ou perclórico como catalisador. A principal diferença entre os dois métodos é que na acetilação heterogênea, utiliza-se um agente não-inchante, como o tolueno, que mantém a estrutura fibrosa da celulose. Na acetilação homogênea não se utiliza este agente e, então a celulose é solubilizada no meio reacional, o que causa mudanças na morfologia das fibras de celulose [17]. A Figura 5 mostra o esquema do mecanismo da reação de acetilação da celulose.

Sassi e Chanzy [17] propuseram que quando as cadeias de celulose tornam-se suficientemente acetiladas, desprendem-se do cristal tornando-se solúveis no meio reacional,

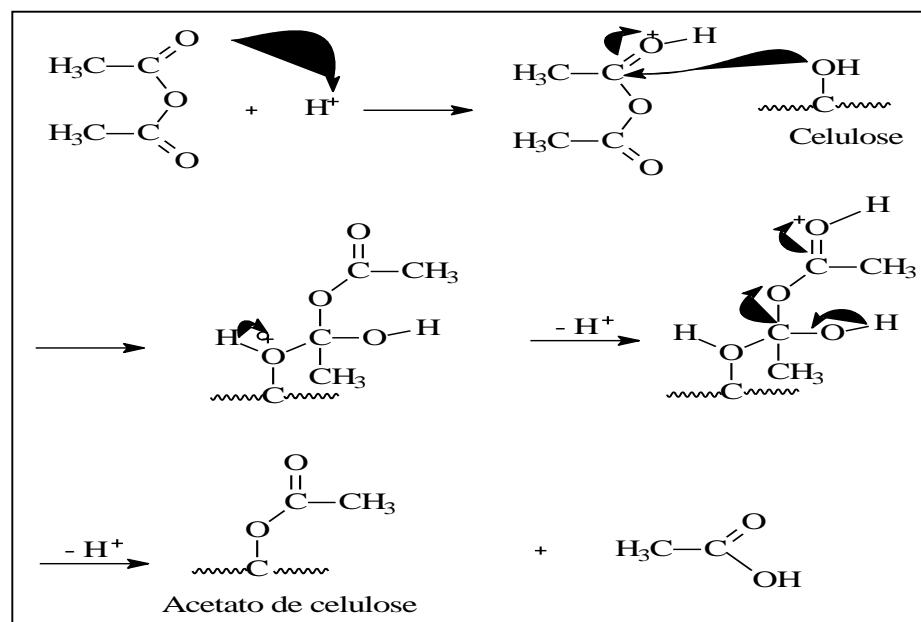
Figura 6. Em consequência o cristal torna-se quebradiço e isso pode ser identificado por uma série de fendas de onde foram retiradas as cadeias acetiladas.

Figura 6- Mecanismo de acetilação com desprendimento das cadeias de cristais [17].



No caso da reação heterogênea, o agente não-inchante evitaria que as cadeias se desprendessem dos microcristais, mesmo depois de acetiladas, ou seja, a acetilação ocorre apenas nas cadeias localizadas na superfície das fibras de celulose figura 7.

Figura 7- Mecanismo da reação de produção do acetato de celulose, por reação heterogênea [17].



1.5. Sistemas de liberação de fármacos

O sistema convencional (SC) de administração de medicamentos é caracterizado por apresentar liberação imediata do fármaco [18,19].

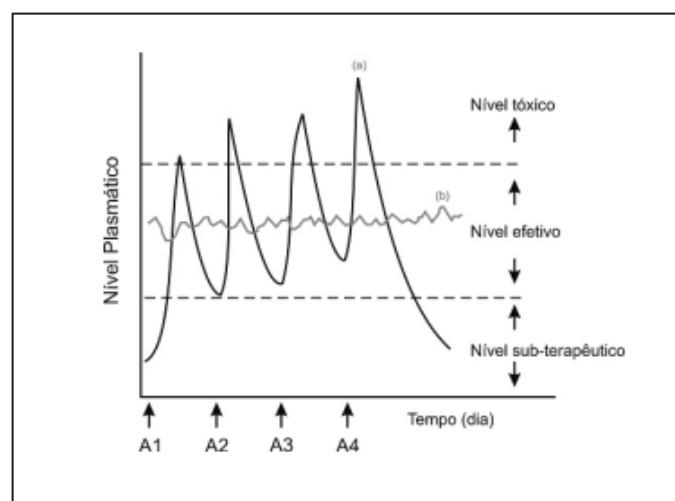
Apesar do amplo uso no setor farmacêutico, os sistemas convencionais (SCs) apresentam algumas limitações, tais como, necessidade de dosagens sucessivas, possibilidade do fármaco não alcançar o nível terapêutico ou atingir o nível tóxico e dificuldade de atuar no órgão alvo.

Já os sistemas de liberação controlada (SLC) são, idealmente, dispositivos que disseminam um agente ativo quando e onde ele é necessário e num nível de concentração suficiente para gerar o efeito esperado [20].

Os SLCs, cuja liberação do fármaco é prolongada, requerem administrações menos frequentes do medicamento em relação às formas convencionais, nas quais a concentração do fármaco apresenta um aumento na corrente sanguínea, atinge um pico máximo e então declina (figura 8).

Uma característica dos SLCs é a manutenção da concentração terapeuticamente efetiva de fármacos no sistema circulatório por um extenso período de tempo [21].

Figura 8- Comparação ilustrativa das variações de concentração de fármacos administrados por métodos convencionais de multidosagem (a) e sistema de liberação controlada (b), sendo A, a administração do fármaco [21].



A melhoria no desenvolvimento dos SLCs depende da seleção de um agente apropriado capaz de controlar a liberação do fármaco, sustentar a ação terapêutica ao longo do tempo e/ou

de liberar o fármaco ao nível de um determinado tecido ou órgão alvo. Diante das várias opções, os polímeros são agentes versáteis e promissores para exercer tais funções [22].

Polímeros atuam na liberação de agentes ativos controlando a difusão destes através da matriz polimérica. Portanto, para atingir índices de liberação adequados é importante conhecer as propriedades físico-químicas tanto do agente ativo quanto do polímero [20-22].

Os fenômenos físicos de dissolução e de difusão, bem como, a degradação química dessas matrizes são de grande importância para a liberação dos agentes bioativos. Além disso, a forma de incorporação do fármaco tem grande relevância, uma vez que este pode estar disperso molecularmente na fase volumétrica ou adsorvido superficialmente no material utilizado [23]. Neste caso, o tipo de interação observada é fundamental na previsão do perfil de liberação do fármaco, além de ser um parâmetro na discussão do tipo de sistema terapêutico desenvolvido (vias de administração tópica, enteral e parenteral) [24].

1.6. Utilização de Membranas em Sistemas de Liberação Controlada (SLC) de Fármacos

As membranas podem ser classificadas de acordo com a sua natureza como sendo natural ou sintética. As sintéticas comerciais são produzidas a partir de materiais orgânicos, em sua grande maioria polímeros como polisulfona, poliamida, policarbonato, poliacrilonitrila, acetato de celulose; e materiais inorgânicos como metais e cerâmicas, carbono e óxidos metálicos [22 - 23].

De acordo com suas aplicações as membranas apresentam diferentes morfologias e se classificam em densas e porosas. Podem ser simétricas ou assimétricas, ou seja, podem ou não apresentar as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura [23].

As membranas simétricas (MB-SIM) podem ser totalmente densas, possuir poros de tamanho uniforme ao longo da seção transversal ou poros cilíndricos que atravessam toda a espessura da membrana [24].

As MB-SIM podem apresentar um gradiente de porosidade ao longo da estrutura ou ainda possuir uma camada superior fina (denominada “pele”), densa ou com poros muito pequenos, responsável pela seletividade, suportada sobre uma subestrutura porosa, que na

maioria dos casos proporciona resistência mecânica à “pele” e oferece pouca resistência ao transporte [24,25].

As MB-SIM podem ser formadas a partir do espalhamento de uma solução polimérica, seguido da evaporação da mesma. Já as membranas assimétricas (MB-ASS) são produzidas a partir da inversão de fases. Nesse processo, um polímero é dissolvido em um solvente adequado e a solução é espalhada formando um filme de espessura uniforme. A inversão se inicia pela desestabilização da solução por indução de supersaturação tornando-se termodinamicamente instável dando origem a duas fases líquidas, uma rica e uma pobre em polímero. Na formação da membrana, a fase rica em polímero dá origem à estrutura da membrana enquanto a fase pobre dá origem aos poros.

Alguns pesquisadores [26,27] realizaram estudos referentes a membranas de diacetato de celulose e a liberação e permeação de fármacos de morfologias diferentes. Assim, avaliaram a influência da concentração de polímero e do agente formador de poros, e ainda a citotoxicidade e as propriedades térmicas de membranas, e observaram que as membranas apresentam potencialidade como sistemas de liberação controlada de drogas.

O acetato de celulose utilizado no trabalho, foi obtido a partir de resíduos agroindustriais provenientes da fonte celulósica (Palha de milho), e foi empregado na produção de membranas como matrizes para a incorporação de paracetamol (PCT) e ciprofloxacina (CI), utilizado como espécie bioativa para avaliação da capacidade de incorporação da matriz produzida. O estudo da liberação do fármaco da matriz polimérica foi feito através da técnica eletroanalítica de voltametria de onda quadrada (VOQ), uma nova proposta em substituição à técnica de espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-Vis), que é uma das técnicas analíticas mais empregadas, em função de robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações desenvolvidas [28].

Apesar de grande aplicabilidade, a espectrofotometria no UV-Vis apresenta algumas desvantagens, como baixa seletividade, pois o método é baseado na quantidade de energia absorvida por uma substância em comprimento de onda específico para cada composto analisado, e às vezes torna-se difícil a distinção entre a quantidade do analito, impurezas, produtos de degradação, caso o meio contenha grande quantidade de analito.

E dependendo da concentração se tem a necessidade de diluições da amostra. Nos itens 1.6 e 1.7, falaremos melhor a respeito dos fármacos utilizados na pesquisa.

1.7. Acetominofeno (Paracetamol)

O paracetamol (Figura 9), apresenta propriedades analgésicas e antipiréticas, ou seja, no combate à dor e febre. Porém, seu mecanismo de ação analgésica não está totalmente determinado.

Podendo atuar predominantemente inibindo a síntese de prostaglandinas ao nível do sistema nervoso central e em menor grau bloqueando a geração do impulso doloroso ao nível periférico. Ainda produz a antipirese atuando ao nível central sobre o centro hipotalâmico regulador da temperatura para produzir uma vasodilatação periférica que dá lugar a um aumento do fluxo de sangue na pele, de sudorese e da perda de calor [29].

Esta substância faz parte da composição de uma série de fármacos usados contra a constipação comum e gripe e na tabela 1 apresenta as características do fármaco.

Figura 9- Estrutura química do Paracetamol [29].

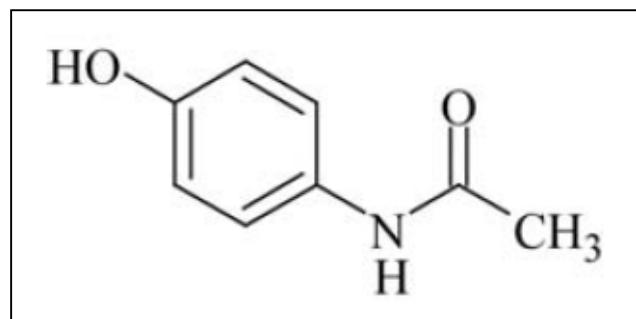


Tabela 1- Características do fármaco.

| Paracetamol | | | |
|-----------------------|--------------------|--------------|-----------------|
| Características | Solúvel | Insolúvel | Ponto de fusão |
| Pó cristalino branco | Água | Clorofórmio | 168 °C > 172 °C |
| Com leve sabor amargo | Hidróxido de sódio | Éter etílico | |
| Inodoro | Etanol | | |

1.8. Ciprofloxacina

A ciprofloxacina, Figura 10, é um antibiótico do grupo das quinolonas, e recomendado o seu uso somente em alguns casos de pneumonias causadas por bactérias.

O fármaco ciprofloxacina não deve ser usado como medicamento de primeira escolha no tratamento de pacientes, devido a sua toxicidade, com largo histórico de efeitos adversos debilitantes, é apropriado somente quando antibióticos melhores tolerados tiverem sido inefetivos para curar a infecção. A ciprofloxacina ainda é indicada em casos em que os benefícios superem os riscos, visto em condições como fibrose cística e carbúnculo (infecções pulmonares de alto risco) [31], na tabela 2 apresenta as características do fármaco.

Figura 10- Estrutura química da Ciprofloxacina [31].

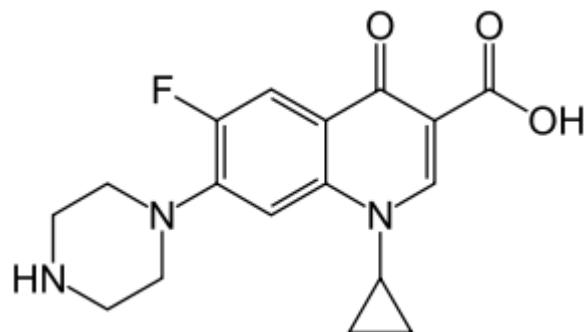


Tabela 2- Características do fármaco.

| Ciprofloxacina | | | |
|--|-----------------------------|------------------|-----------------|
| Características | Solúvel | Insolúvel | Ponto de fusão |
| Pó cristalino branco Com leve sabor amargo Inodoro | Água fervente meio ácido | soluções básicas | 318 °C > 320 °C |

1.9. Técnicas eletroanalíticas utilizadas para monitoramento de liberação controlada de fármaco

A química eletroanalítica compreende um conjunto de métodos analíticos qualitativos baseados nas propriedades elétricas de uma solução que faz parte de uma célula eletroquímica. As técnicas eletroanalíticas fazem uso das propriedades elétricas mensuráveis (corrente, potencial e carga) de um analito quando este é submetido a uma diferença de potencial entre eletrodos em uma célula química. Essas medidas podem então ser relacionadas com algum parâmetro químico do analito [32].

Uma de suas mais importantes características relaciona-se com o fato destas técnicas possibilitarem o estabelecimento de relações diretas entre a concentração do analito e alguma dessas propriedades elétricas.

Dentre as técnicas voltamétricas mais aplicadas em estudos eletroquímicos e desenvolvimento de métodos eletroanalíticos, destacam-se a Voltametria Cíclica (VC) a voltametria de onda quadrada (VOQ) e a Amperometria de potencial constante, onde as técnicas Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) e Voltametria de Onda Quadrada (VOQ), são as técnicas eletroquímicas mais utilizadas para fins de análise, uma vez que claramente apresentam alta sensibilidade, tornando-as muito adequadas para quantificações.

Estas técnicas são especialmente úteis para a análise de fármacos, uma vez que a maioria dos compostos farmacologicamente ativos possuem grupos eletroativos, que podem ser detectados voltametricamente.

A voltametria pode ser facilmente utilizada para a quantificação de fármacos em formulações farmacêuticas, uma vez que os excipientes geralmente presentes nestas amostras são espécies não eletroativas tais como os surfactantes, os polímeros à base de celulose, ácidos orgânicos de cadeia longa, etc. Portanto, estes excipientes não interferem na detecção voltamétrica. Assim, na literatura há vários trabalhos descrevendo métodos voltamétricos para a determinação de fármacos por métodos eletroquímicos em formulações farmacêuticas [33-38].

As técnicas voltamétricas apresentam várias características atrativas para análise de fármacos, tais como: alta sensibilidade e precisão adequada, alta frequência analítica, baixo consumo de amostra e reagentes, e tudo isso combinado com uma instrumentação relativamente barata [35-36]. Por outro lado, a principal desvantagem das técnicas voltamétricas é seletividade moderada, o que limita a sua utilização em amostras mais complexas que contenham mais do

que uma espécie eletroativa, porque neste caso a possibilidade de interferência por meio de sobreposição de picos voltamétricos é alta. Uma aplicação interessante para técnicas voltamétricas é a monitorização em tempo real de fármacos a partir de sistemas de liberação de fármacos. Este tipo de estudo é geralmente realizado numa solução tampão capaz de simular um fluido biológico e, geralmente, um fármaco é liberado a partir do sistema de liberação controlada.

Por consequência, estes estudos requerem um método analítico com elevada sensibilidade, o que significa que uma condição ideal para empregar voltametria. As técnicas analíticas normalmente utilizadas para quantificação de fármacos liberados a partir de sistemas de liberação controlada são por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), espectrofotometria de UV-vis e fluorimetria. Uma limitação grave destas técnicas é que estas não podem monitorar diretamente a liberação do medicamento em tempo real, que é altamente desejável, a fim de se obter uma cinética de liberação de fármacos com perfis completos e precisos [36].

A voltametria, por outro lado, pode ser utilizada para medir diretamente a concentração de fármacos, sem a necessidade de separá-la do sistema de liberação de fármacos.

Além disso, a técnica voltamétrica de VOQ combina alta sensibilidade com alta velocidade e repetibilidade, permitindo a aquisição confiável de varreduras repetitivas em intervalos de tempo muito curtos. Portanto, a VOQ permite obter a cinética de liberação do perfil do fármaco com alta resolução em tempo real, com tratamento de amostra mínima, baixo consumo de reagentes e de baixo custo.

A Amperometria não tem uma alta sensibilidade dependendo do método de análise que está sendo usado, os mais comum e análise direta feita em bêquer, mas se usar um sistema de análise em batelada (BIA), esta sensibilidade pode aumentar e muito podendo até ser comparada com a VOQ, por ter a injeção da amostra diretamente na superfície do eletrodo [37,38].

1.10. BIA

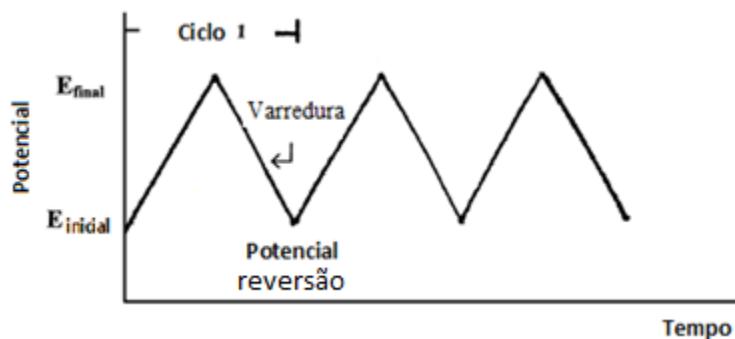
BIA, do inglês “*Batch Injection Analysis*” que significa análise por injeção em batelada, surgiu em 1991, Wang e Taha [39] que introduziram um procedimento analítico, o qual é considerado uma forma alternativa de realização de testes rápidos. A técnica BIA envolve a

injeção de uma alíquota (normalmente 100 μL) de amostra, através da ponteira de uma micropipeta, diretamente na superfície do eletrodo de trabalho (considerado como configuração wall-jet) que está imerso em um grande volume de solução. São observadas respostas transientes (picos, semelhante a um sistema de análise por injeção em fluxo “FIA”, do inglês “*Flow Injection Analysis*”), refletindo a passagem da zona de amostra sobre a superfície do eletrodo de trabalho.

1.11. Voltametria Cíclica (VC), Voltametria de onda-quadrada (VOQ), Amperometria

A VC é a técnica mais utilizada para a aquisição de informações qualitativas sobre as reações eletroquímicas. A vantagem da VC é de ter a capacidade de fornecer rapidamente as informações consideráveis sobre a termodinâmica de processos de oxidação e redução das espécies, na cinética de reações de transferência de elétrons e em reações de acoplamento ou processos de adsorção [40]. Frequentemente é o primeiro experimento realizado em estudo na eletroanalítica, pois proporciona uma localização rápida dos potenciais oxidação e redução das espécies eletroativas, e conveniente de avaliação do efeito dos meios experimentais sobre o processo de oxidação e redução. A VC consiste em verificar o potencial de linearidade de um eletrodo de trabalho em fase estacionária (solução sem agitação) utilizando uma forma de onda triangular potencial (Figura 11). Dependendo das informações pretendidas, ciclos únicos ou múltiplos podem ser usados. Durante a varredura de potencial, o potenciómetro mede a corrente resultante do potencial aplicado. A resposta resultante da medida, corrente versus potencial é denominado um voltamograma cíclico [40,41]. Parâmetros eletroquímicos como potenciais de pico catódico (E_{pc}) e potenciais de pico anódico (E_{pa}), as correntes de pico catódico (I_{pc}) e correntes de pico anódico (I_{pa}), e os potenciais de meia onda ($E_{1/2}$), essenciais para caracterizar o processo eletródico ocorrido, podem ser obtidos por meio de um voltamograma cíclico [42,43].

Figura 11- Sinal de excitação em Potencial pelo tempo no experimento de voltametria cíclica [41] (adaptação).



A voltametria de onda quadrada (VOQ), que provem do inglês “*Square Wave Voltammetry*”, é uma das técnicas de pulso mais rápidas e sensíveis. Com o eletrodo de trabalho, a varredura é feita durante os últimos milisegundos do período de tempo de cada degrau do sinal de excitação. A corrente é amostrada duas vezes, uma ao final do pulso direto, quando a direção do pulso é igual à direção da varredura, e outro ao final do pulso reverso, onde a direção do pulso é contrária à direção da varredura.

Assim como na voltametria de pulso diferencial, esta dupla amostragem da corrente minimiza a contribuição da corrente capacitiva sobre a corrente total lida. Além de ser mais sensível, a VOQ é mais rápida que a VC, e por isso a VC é mais usada para uma análise qualitativa enquanto que a VOQ para análise quantitativa, e portanto, a VOQ é bastante utilizada para a quantificação de espécies eletroativas [44].

A amperometria convencional é uma técnica em que se aplica um potencial constante, no qual ocorre a oxidação ou redução eletroquímica de compostos eletroativos de interesse, e mede-se a corrente correspondente aos processos redox ao longo do tempo, relacionando a corrente à concentração. Estas medições podem ser usadas para o acompanhamento da variação da concentração do analito durante a titulação assim como associados à métodos de análise em fluxo (FIA ou BIA).

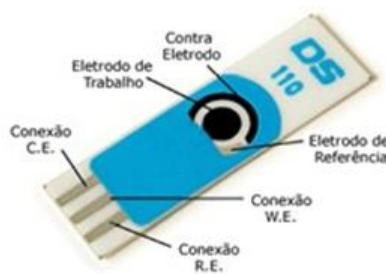
A corrente de difusão é proporcional à concentração do material eletroativo presente na solução. Amperometria juntamente com o sistema BIA, onde injetam-se as amostras com uma pipeta eletrônica, é rápida, precisa e possui outras vantagens em relação à amperometria associada à análise por injeção em fluxo (FIA) [44].

1.12. Eletrodos Impressos

Eletrodos impressos ou, do inglês, *screen-printed electrodes* (SPEs), vem sendo fortemente empregados em análises, devido à produção em massa, e ter seu custo extremamente baixo [44]. Estes eletrodos são construídos pelo simples depósito de tintas condutoras (de carbono ou prata) sobre um suporte inerte, geralmente de PVC ou cerâmica de alumina. As tintas condutoras de carbono funcionam bem como eletrodo de trabalho e auxiliar enquanto que a de prata vem sendo utilizada como eletrodo de referência.

Em geral, após definidos os três eletrodos sobre o substrato, um filme de um material isolante eletricamente (material azul na Figura 12) é inserido para definir a área de contato da solução com os três eletrodos [44], onde utilizamos neste trabalho os eletrodos de carbono modificado com nanotubos de carbono, onde se mostraram altamente resistentes em tampão fosfato pH 7,4 que foi o Tampão empregado para as análises de paracetamol onde obtivemos uma duração de 24 horas de análises continua, onde foi utilizado apenas um eletrodo, que foi o mesmo empregue para as curvas de calibração antes e depois de cada análise, e um novo eletrodo foi empregado para analisar o fármaco Ciprofloxacina, onde foi utilizado um por análise onde o tampão utilizado foi o Britton–Robinson pH 4,0, onde por causa do pH ácido ele tem uma diminuição da vida útil.

Figura 12- Eletrodos impressos com dimensões de 3,4 x 1,0 x 0,5 cm [43].



Capítulo 2 – Objetivos

2.1. OBJETIVO GERAL

Objetivo é o uso da técnica eletroanalítica voltametria de onde quadrada (VOQ) em comparação com a técnica espectrofotométrica no UV-Vis e amperometria para a determinação de paracetamol e ciprofloxacina, liberados de membranas, que são produzidas a partir do reaproveitamento do resíduo agroindustriais (palha de milho), em que é extraída a celulose para a síntese do triacetato de celulose (TAC), para a produção de membranas com a incorporação dos fármacos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Reaproveitamento do resíduo palha de milho para a produção de acetato de celulose.
- II. Produção de membranas de acetato de celulose simétrica e assimétrica.
- III. Incorporação dos fármacos paracetamol e ciprofloxacina.
- IV. Caracterização das membranas pelas as técnicas Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).
- V. Monitoramento da liberação de fármacos por voltametria de onda quadrada in situ.
- VI. Comparação dos resultados através do monitoramento da liberação dos fármacos por espectrofotometria e amperometria.

Capítulo 3 – Procedimento Experimental

3.1. Instrumentação

Neste trabalho realizou-se as análises por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das membranas simétrica e assimétrica, das superfícies e fraturas das membranas, onde a fratura foi obtida por quebra em nitrogênio líquido. As amostras foram metalizadas com ouro. O microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 109 com sistema de captura de imagem digital modelo Olympus MegaView V foi empregado para a realização das medidas.

As Análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC), foram feitas em um equipamento modelo Q-20 TA Insmnts. Cerca de 7 mg da amostra foi aquecida, em cadinhos de alumínio, até 600°C na velocidade de aquecimento de 10°C min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio a 50 cm³ min⁻¹.

As medidas eletroquímicas foram obtidas em potenciómetro Autolab PGSTAT – 128N conectado a um computador. Uma pipeta eletrônica Eppendorf foi empregada para as medidas por BIA com detecção amperométrica. As medidas espectrofotométricas foram feitas no espectrofotômetro SPECTRONIC GENESYS 5. A Figura 13 mostra uma foto do sistema completo montado.

Figura 13- Sistema montado para análise de liberação do paracetamol: Célula (béquer) imersa no banho termostatizado; Eletrodo (DRP-110CNT, DropSens), contendo o eletrodo de trabalho sendo de nanotubo de carbono, o contra eletrodo de carbono e o eletrodo de referência de cola de prata.

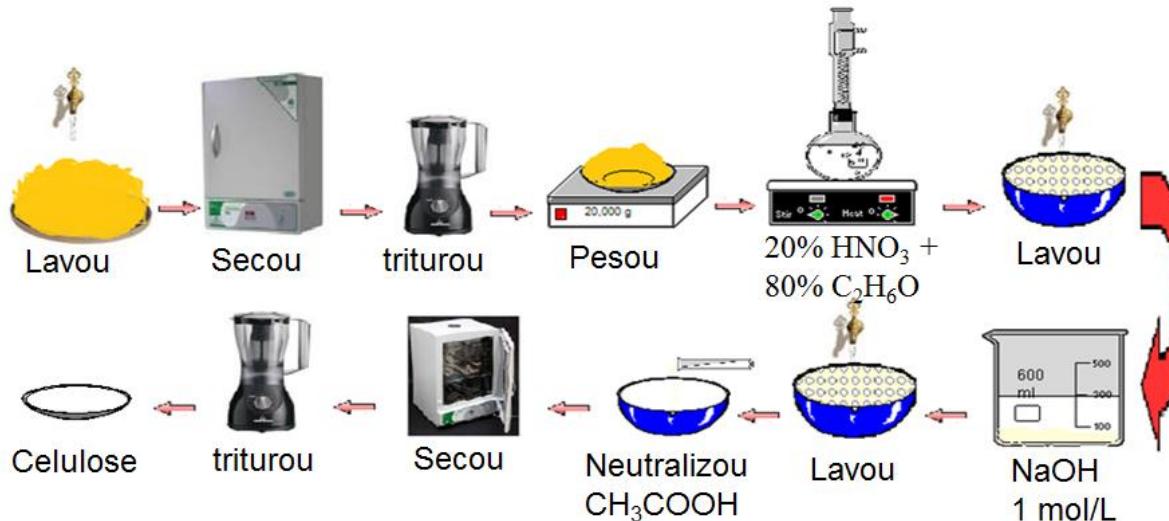


3.2. Purificação do resíduo agroindustrial proveniente da palha de milho

A metodologia utilizada para purificação da PM é o método etanol/ácido nítrico descrito por Rodrigues Filho et al [5,27], se baseia na oxidação da lignina pelo ácido nítrico, como mostra a Figura 14.

O procedimento é descrito a seguir: 40,0 g de PM lavada, seca e moída, foram colocados em refluxo com 3 porções sucessivas de uma mistura 20% v/v de ácido nítrico e etanol. A cada hora a mistura reacional foi trocada e o material lavado com água destilada. Após 3 horas de refluxo a mistura foi filtrada e lavada com água destilada até que a solução da lavagem estivesse incolor. Em seguida o material foi colocado em uma solução de NaOH 1 mol L⁻¹ por 24 horas. Após este período a mistura foi novamente lavada e neutralizada com uma solução de ácido acético 10%. Depois de seco, foi triturado em um liquidificador.

Figura 14- Metodologia para purificação da palha de milho.

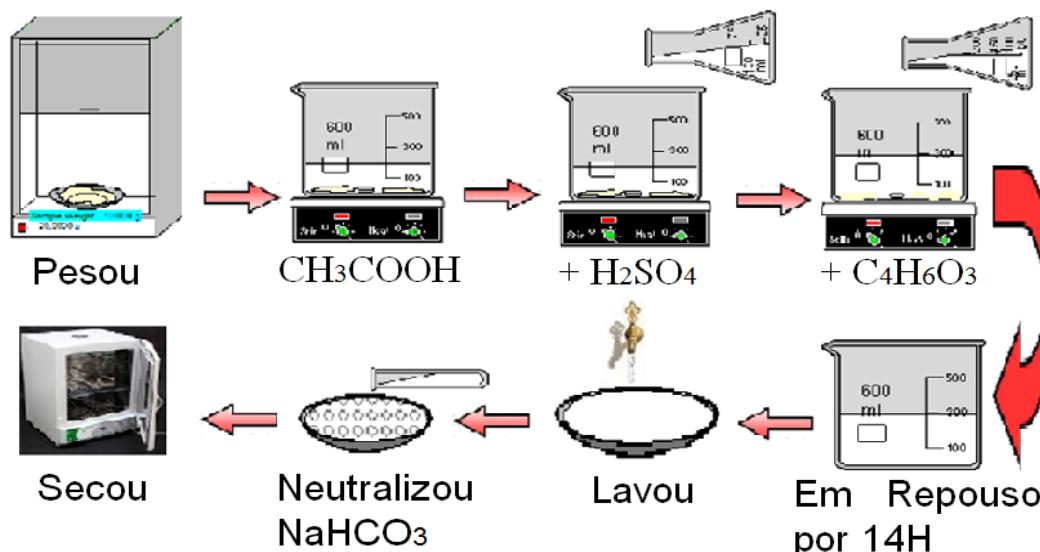


3.3. Acetilação da celulose da palha de milho purificada

A reação de acetilação foi realizada seguindo procedimento descrito em Cerqueira et al [46,47] adicionaram-se 50 mL de ácido acético glacial a 2,0 g da palha de milho purificada. Agitou-se por 30 minutos em temperatura ambiente. Em seguida adicionou-se uma solução contendo 0,32 mL de H₂SO₄ concentrado em 18,0 mL de ácido acético glacial e agitou-se por

25 minutos em temperatura ambiente. Filtrou-se a mistura. Ao filtrado adicionaram-se 64 mL de anidrido acético, agitou-se e retornou-se o filtrado ao frasco inicial com o material. A solução foi agitada por mais 30 minutos e deixada em repouso. Após 14 horas adicionou-se água destilada ao meio reacional até que não houvesse mais a formação de precipitado. Filtrou-se a mistura lavando com água destilada e o material foi neutralizado com uma solução 10% de carbonato de sódio. O material foi seco em estufa por 2,0 horas a 70° C, como mostra a Figura 15.

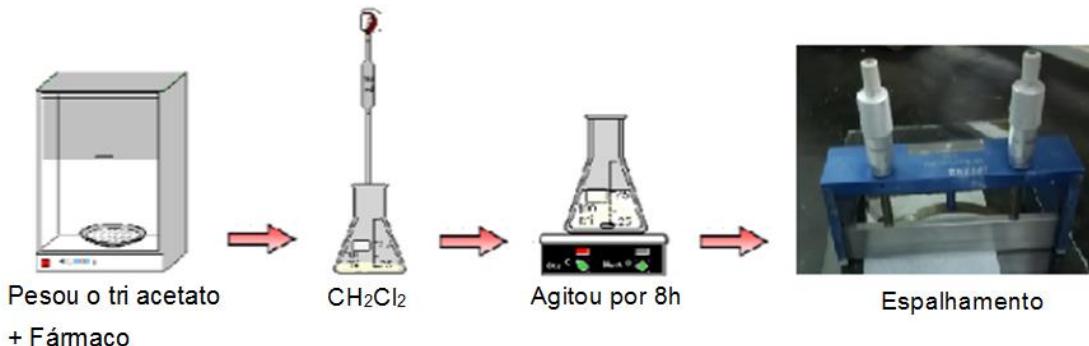
Figura 15- Metodologia da acetilação da celulose da palha de milho purificada.



3.4. Produção das membranas de triacetato de celulose com a incorporação de paracetamol e ciprofloxacina

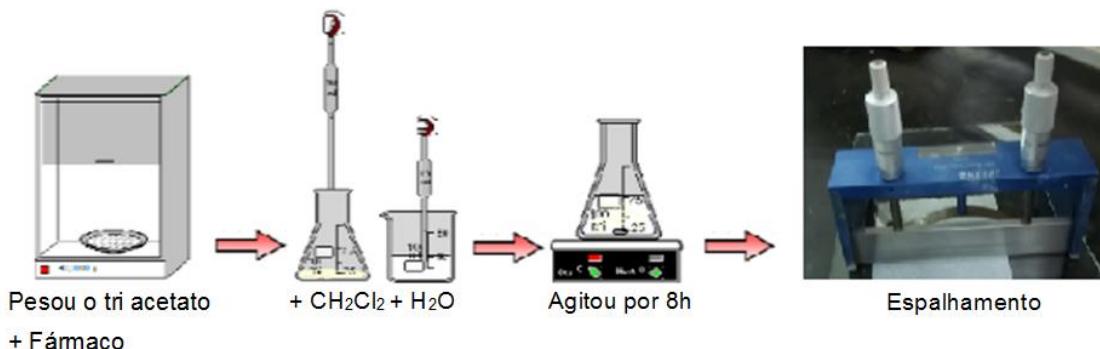
A produção da membrana simétrica foi realizada de acordo com o procedimento a seguir: 5,0 mL de diclorometano foram adicionados a uma mistura de 0,025 g de fármaco e 0,5 g de acetato de celulose adicionou 5 mL de diclorometano. Essa solução foi submetida à agitação a temperatura ambiente até que se tornasse homogênea, após este procedimento foi espalhado em placas de vidro, como mostra a Figura 16.

Figura 16- Procedimento de produção das membrana simétrica.



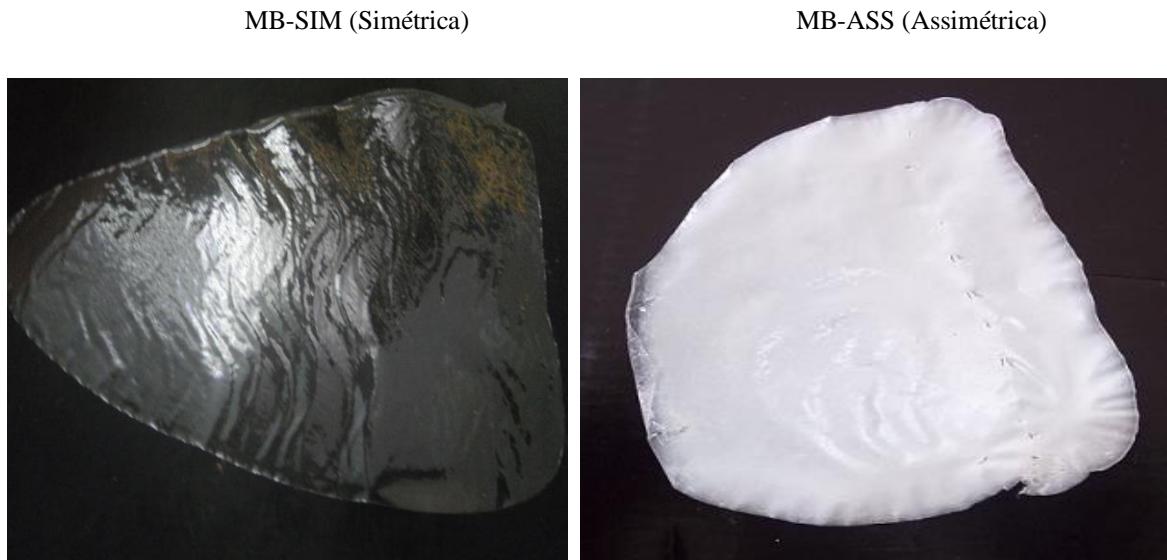
Para a produção da membrana assimétrica foram usados 0,025 g de fármaco e 0,5 g de acetato de celulose mais 4,5 mL de diclorometano e 0,5 mL de água, que serve como agente formador de poros, após este procedimento foi espalhado e placas de vidro. A Figura 17 mostra todas as etapas da produção.

Figura 17- Procedimento de produção das membrana assimétrica.



As maças utilizadas para a produção das membranas simétricas e assimétricas foram obtidas através de cálculos estequiométricos, onde extrapolando a porcentagem obtida a partir do cálculo obteve-se uma porcentagem de 5% de fármaco para cada formulação da membrana.

A solução após ser espalhada sobre uma placa de vidro, esperasse por dez minutos, tempo necessário para que a membrana se destacasse da placa de vidro. A Figura 18 mostra as membranas após elas se destacarem da placa de espalhamento.

Figura 138- Imagem das membranas após se destacarem da placa de espalhamento.

3.5. Avaliação da liberação de fármacos pelas membranas de triacetato de celulose

Na avaliação da liberação dos fármacos [26] utilizou-se um banho termostático Quimis, a fim de garantir que a temperatura do experimento fosse mantida aproximadamente a 36,0°C. Para a liberação do paracetamol foi preparada uma solução tampão fosfato pH 7,4 de concentração 0,1 mol L⁻¹ e para a liberação da Ciprofloxacina foi preparada uma solução tampão Britton–Robinson pH 4,0 de concentração 0,1 mol L⁻¹. A liberação do fármaco na solução foi acompanhada eletroanaliticamente, com a utilização de um potenciómetro Autolab PGSTAT – 128M interfaceado a um microcomputador (Figura 13). Para o controle do equipamento foi utilizado o software GPES, versão 4.9. As medidas da liberação do fármaco utilizado foram obtidas através da técnica VOQ, para o Paracetamol e Ciprofloxacina e Amperometria para a Ciprofloxacina.

Para a VOQ, a célula foi composta por um bêquer de 10 mL, os eletrodos utilizados são comerciais fabricados pela DropSens, *screen-printed electrode* (SPE), que é composto de três eletrodos impressos na mesma faixa (DRP-110CNT, DropSens), tendo as suas dimensões (3,4 × 1,0 × 0,5 cm), onde um círculo de 4,0 mm é o eletrodo de trabalho modificado com nanotubos

de carbono de parede múltiplas, o contra eletrodo de carbono corresponde ao semicírculo e o eletrodo de referência de prata.

Para o procedimento de análise, 10,0 mL de uma solução tampão fosfato previamente aquecida a 36,0 °C e uma parte da membrana contendo o fármaco incorporado foram introduzidos na micro-célula. Em seguida o sistema contendo o SPE, foi introduzido e realizou-se o primeiro voltamograma ($t=0$). A partir deste voltamograma os demais foram realizados durante 8,0 horas. Membranas com massa de 0,0345 g contendo uma massa de fármaco incorporado de 0,00173 g foram usadas no estudo de liberação dos fármacos. Todos os voltamogramas foram feitos sob as seguintes condições para o Paracetamol: $E_{inicial}$ 0,0 V; E_{final} = 1,00V; Degrau de potencial = 0,01995 V; Amplitude = 0,0495 V; Frequência = 30Hz e para o fármaco Ciprofloxacina: $E_{inicial}$ 0,250 V; E_{final} = 1,200 V; Degrau de potencial = 0,00420 V; Amplitude = 0,02505 V; Frequência = 15,000Hz.

Para comparação dos resultados, o estudo de liberação dos fármacos foi feito nas mesmas condições anteriores, mas sem a inserção do SPE. No caso das análises por espectrofotometria, alíquotas de 1,5 mL foram retiradas da célula eletroquímica e transferidas para cubeta de quartzo, que imediatamente foi levada para medida espectrofotométrica. Após esta medida, a solução era retornada à célula eletroquímica, para que não houvesse variação significativa do volume da solução onde ocorria a liberação dos fármacos.

Para as medidas amperométricas no sistema BIA apenas para a ciprofloxacina, alíquotas de 100 μ L da solução usada no estudo foram retiradas para posterior análise. A célula utilizada foi projetada no próprio laboratório sendo constituída de polipropileno com as seguintes características: comprimento externo de 80 mm, comprimento interno de 60 mm, diâmetro externo de 58 mm, diâmetro interno do furo de 40 mm, base com orifício de 8 mm de diâmetro para colocar o mesmo SPE usado nas análises voltamétricas. Com o auxílio de um anel de vedação para evitar vazamentos, o eletrodo foi fixado a célula com auxílio de parafusos (na sua parte superior). Na tampa, há um orifício de 30 mm para o posicionamento da pipeta eletrônica, que fica alinhada ao eletrodo que está na parte inferior da célula. A ponteira da pipeta fica a alguns milímetros da superfície do eletrodo fazendo com que ocorra uma injeção diretamente na superfície do eletrodo como mostra a Figura 19 [48]. As condições para a determinação de ciprofloxacina utilizando amperometria foram 1 V de potencial aplicado, volume injetado de 10 μ L e velocidade de injeção de 153 μ L s⁻¹.

Figura 19- Sistema de analise BIA, em (A) tem-se a visão interna da célula com o eletrodo encaixado no orifício, em (B) tem-se a visão externa da célula com o eletrodo, em (C) tem-se a visão do sistema de analise BIA com a pipeta eletrônica, em (D) tem-se a visão interna da profundidade da ponteira em relação ao eletrodo.



Capítulo 4 – Resultados e Discussão

4.1. Caracterização da celulose e do triacetato de celulose (TAC).

Além da PM ter alto teor de celulose, baixa quantidade de impurezas (resinas, ceras, sais entre outras) e massa molecular moderada são características desejáveis para a fonte celulósica empregada, pois a capacidade de formação do filme é extremamente dependente da massa molecular do polímero utilizado na produção de matrizes poliméricas [49]. Materiais que possuem massa molecular mais elevada são capazes de formar membranas mais resistentes.

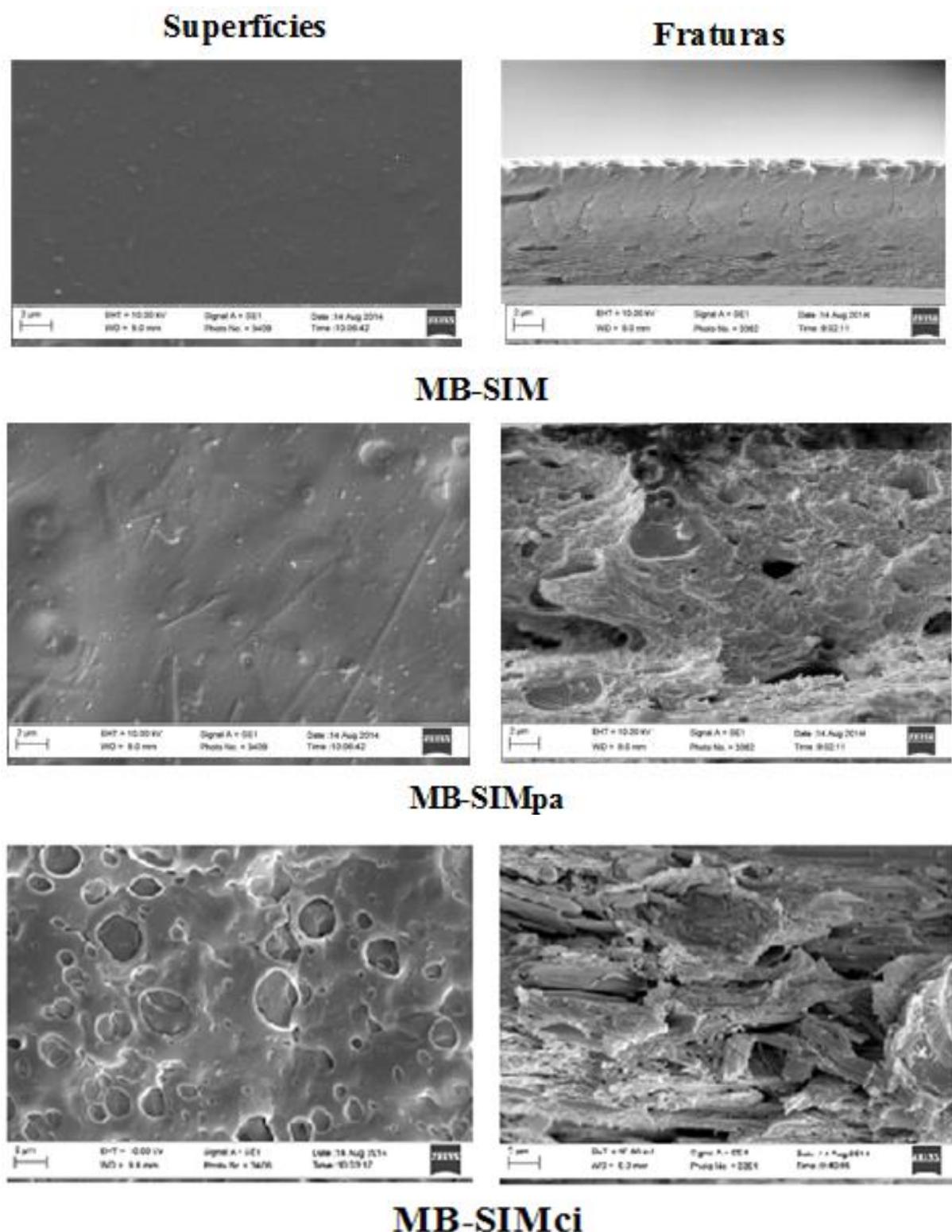
Os valores referentes ao teor de celulose na PM purificado, grau de substituição e massa molecular média viscosimétrica do acetato de celulose já foram determinados e descrito em trabalho anterior [2].

4.2. Caracterização das membranas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 20 apresenta as microscopias eletrônicas das duas superfícies das membranas, de superfície e da região de fratura (corte transversal), para membranas simétricas (MB-SIM), membrana simétrica incorporada com paracetamol (MB-SIMpa) e membrana simétrica incorporada com ciprofloxacina (MB-SIMci), onde a MB-SIM é composta por TAC e diclorometano, e a MB-SIMpa é composta por TAC, diclorometano, paracetamol e a MB-SIMci é composta por TAC, diclorometano e ciprofloxacina. Valores maiores que 5% (m/m) de fármacos na membrana são inviáveis, pois tornam as membranas quebradiças.

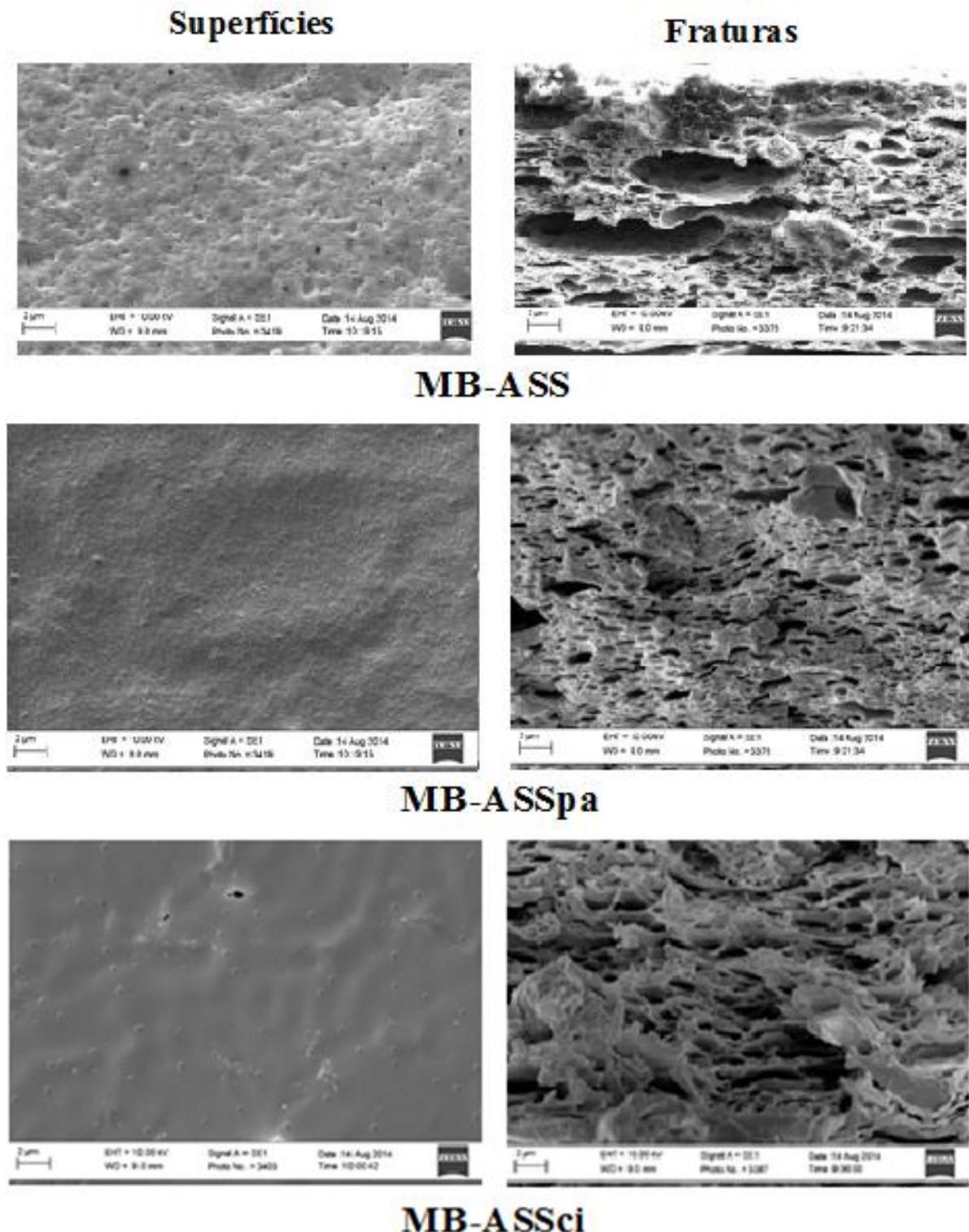
Com as micrografias das membranas, é possível observar que os métodos de produção das membranas influenciam na formação das mesmas, com aspecto denso para as MB-SIM. Isto é observado nas análises de superfície e fratura, que as membranas não apresentam tantos poros quanto se observam nas MB-ASS, que são porosas [50,51].

Figura 20- MEV das fraturas e superfícies das membranas, simétricas MB-SIM, membrana simétrica incorporada com paracetamol MB-SIMpa e membrana simétrica incorporada com ciprofloxacina MB-SIMci, 1000x.



Na Figura 21 observam-se as micrografias das membranas assimétricas.

Figura 21- MEV das fraturas e superfícies das membranas, assimétricas MB-ASS, membrana assimétrica incorporada com paracetamol MB-ASSpa e membrana assimétrica incorporada com ciprofloxacina MB-ASSci, 1000x.

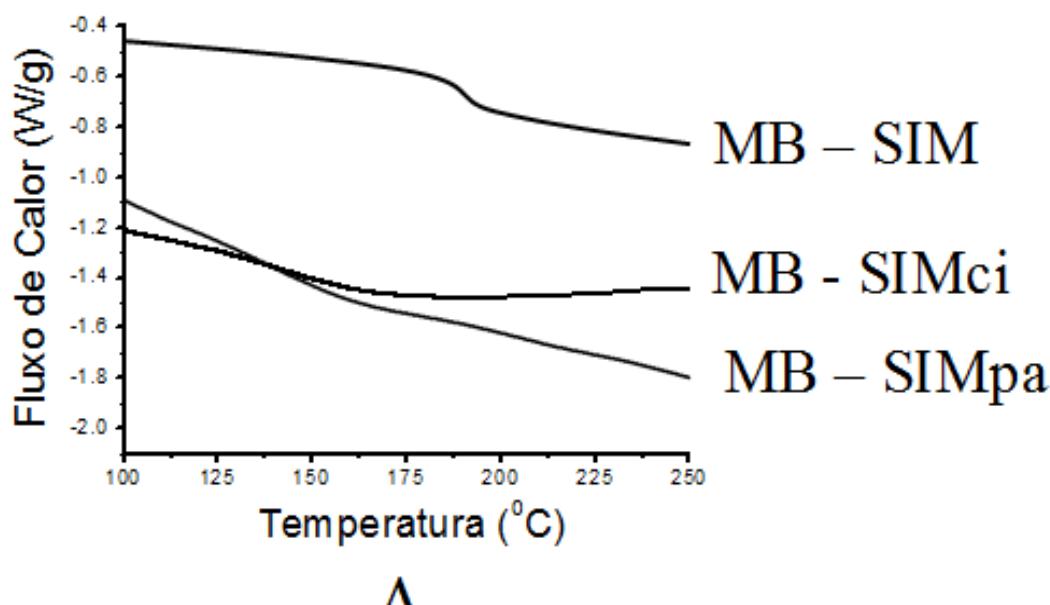


Pode-se observar que o perfil das diferenças das membranas assimétricas (MB-ASS), assimétrica incorporada com paracetamol (MB-ASSpa) e assimétrica incorporada com ciprofloxacina (MB-ASSci) são diferentes das micrografias da Figura 16, com grau elevado de porosidade devido a sua fabricação usando o não solvente água, que altera a taxa de evaporação em relação ao solvente diclorometano, ou seja, o não solvente faz com que a evaporação seja mais lenta, fazendo com que ocorra maior formação de poros. Nas membranas simétricas, a evaporação foi mais rápida, porém uniforme, alterando a morfologia destas membranas, o que altera a cinética de liberação dos fármacos [51,52].

4.3. Análise térmica utilizando Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na Figura 22 têm-se as curvas de DSC de segunda varredura, onde se observa que as membranas passam de um estado rígido para maleável a certa temperatura e posteriormente volta ao estado rígido. Este acontecimento é observado nas análises de transição vítreo (T_g) onde se observa melhor a interação entre polímero e fármaco. As inflexões da linha base são atribuídas às temperaturas de transição vítreo (T_g) das membranas. A Tabela 4 apresenta os valores das inflexões da Figura 22.

Figura 22- Curva de segunda varredura de DSC das matrizes. Membranas Simétricas (A), Membranas Assimétricas I (B).



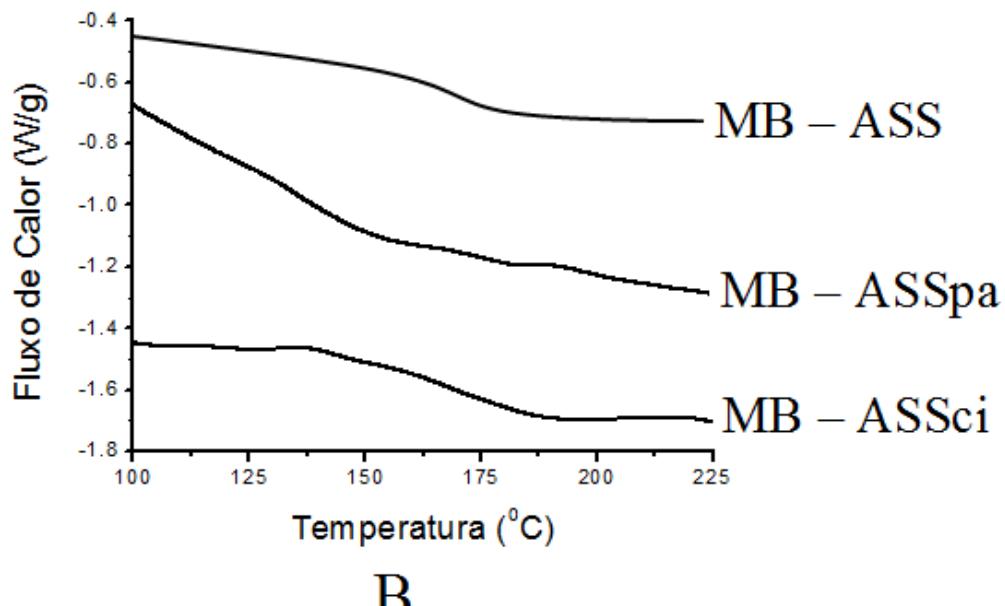


Tabela 4- Parâmetros obtidos a partir da segunda varredura de DSC.

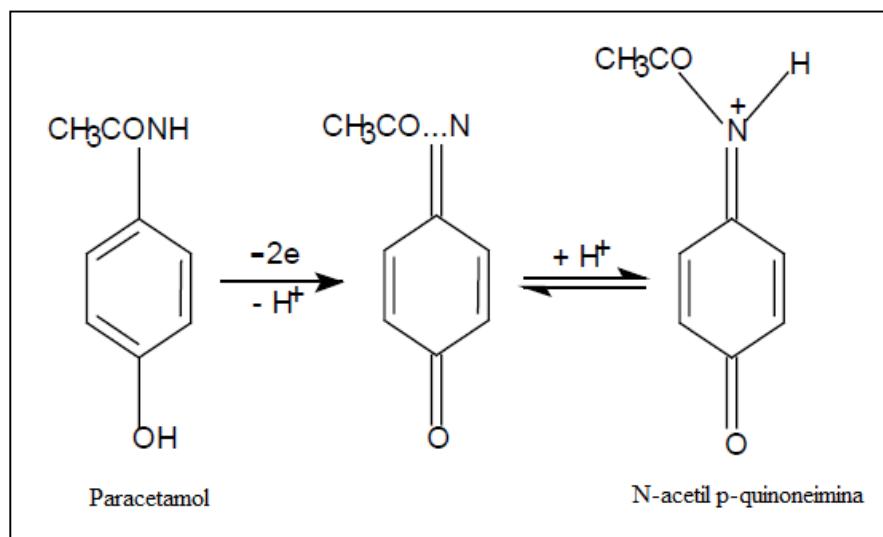
| Morfologia | Membrana | Tg (°C) |
|-------------|------------|---------|
| Simétrica | MB – SIM | 176,45 |
| | MB – SIMpa | 150,25 |
| | MB – SIMci | 150,63 |
| Assimétrica | MB – ASS | 174,89 |
| | MB – ASSpa | 150,35 |
| | MB – ASSci | 165,30 |

A presença do fármaco na membrana pode ser confirmada pela diminuição dos valores da transição vítreo (Tg) como mostra a tabela 1, que é uma característica de materiais amorfos, onde os fármacos presentes nas membranas, forma uma camada polímero – fármaco – polímero, fazendo com que o aumento da temperatura, a membrana que contem fármaco passe mais rapidamente do estado vítreo para o estado elastomérico [53].

4.4. Monitoramento da liberação de Paracetamol e Ciprofloxacina por voltametria e espectrofotometria

O paracetamol é um composto fenólico que sofre oxidação eletroquímica irreversível no anel aromático com remoção de dois elétrons e dois prótons, produzindo a N-acetil-p-quinoneimina, conforme mecanismo da Figura 23 [52].

Figura 23- Reação de oxidação do paracetamol [52].



O monitoramento in situ do teor de paracetamol liberado foi feito a partir da técnica de VOQ. Para isso, inicialmente foi construída uma curva de calibração, onde quantidades crescentes de uma solução estoque de paracetamol 10 mmol L^{-1} foram adicionadas a uma solução tampão na célula eletroquímica, nas mesmas condições em que a análise da liberação do fármaco nas membranas foi feita utilizando a técnica VOQ. Utilizou-se a medida da altura dos picos formados (corrente), fez-se a curva de calibração (Figura 24), e a partir da equação da reta calculou-se a concentração do analito liberado na solução. Na figura 25 temos os voltamogramas da curva de calibração. A faixa linear situou-se entre 10 e $750 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 24- Curva de calibração construída a partir da altura dos picos em função da concentração (VOQ).

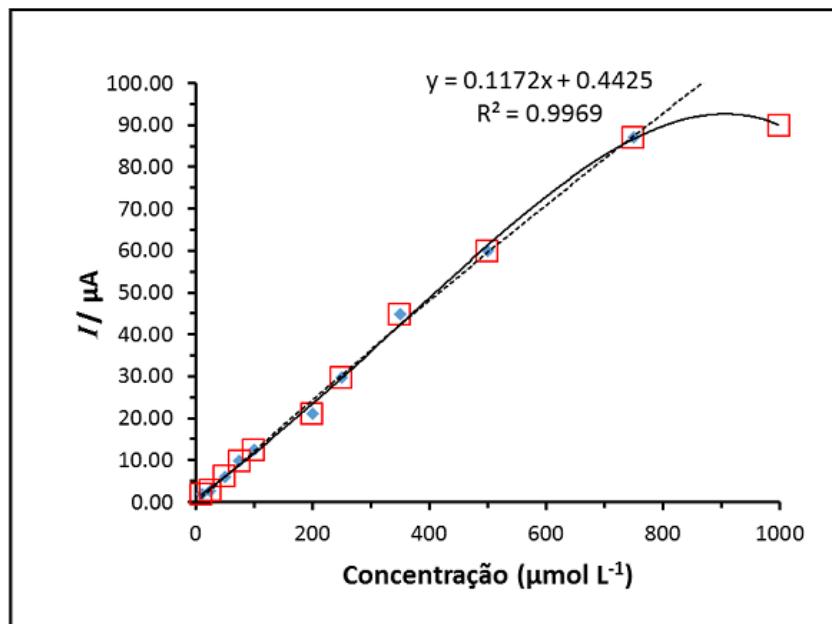
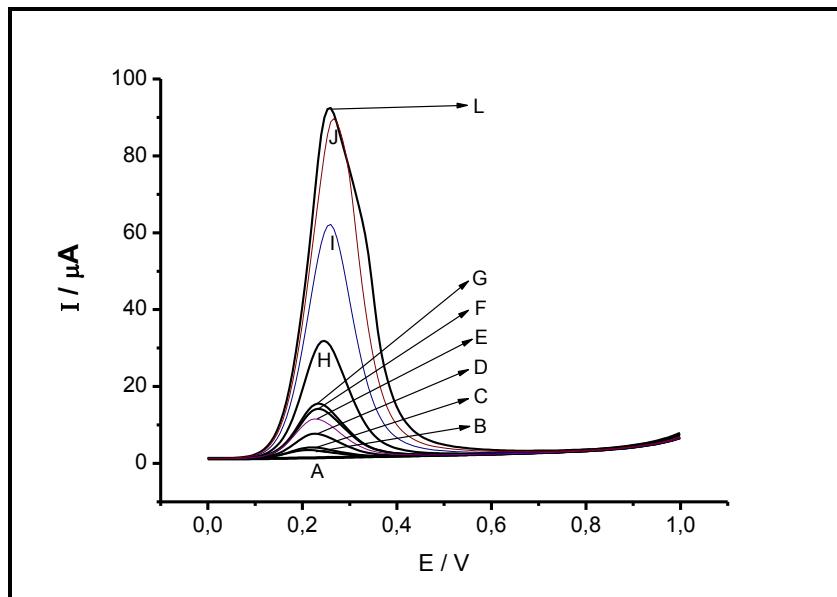


Figura 25- Voltamogramas da curva de calibração para os seguintes concentrações: A) Branco; B) 10; C) 50; D) 75; E) 100; F) 200; G) 300; H) 400; I) 500; J) 750; L) 1000 μmol L⁻¹.



Para comparação, usou-se a espectrofotometria no UV. O primeiro passo foi a obtenção de um espectro no equipamento como mostra a Figura 26, onde fez-se uma varredura entre 210 e 300 nm e observou-se que o comprimento de onda de máxima absorção do fármaco paracetamol foi de 243 nm. Este valor valor foi fixado para fazer a curva de calibração (Figura 27), e a partir da equação da reta calculou-se a concentração do analito liberado na solução.

Figura 26- Espectro na região UV para o fármaco paracetamol.

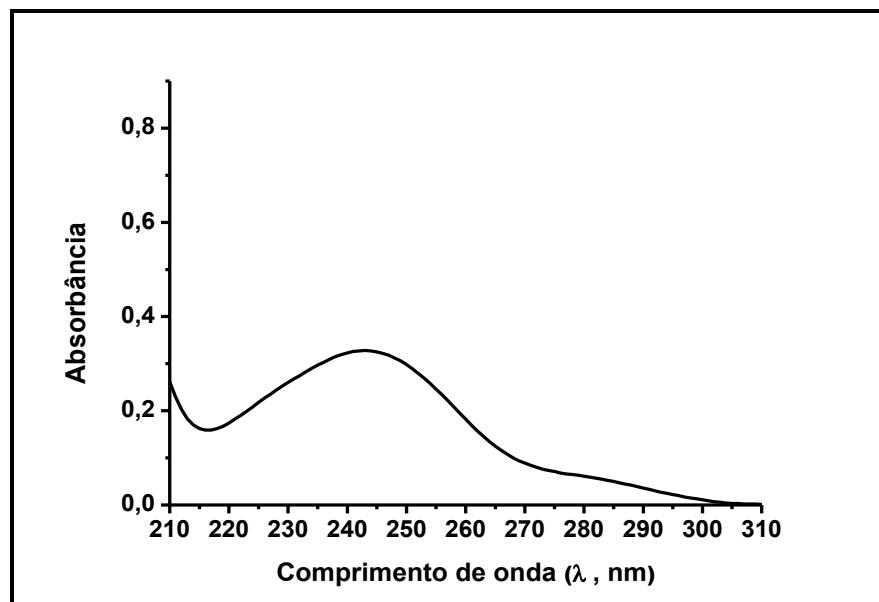
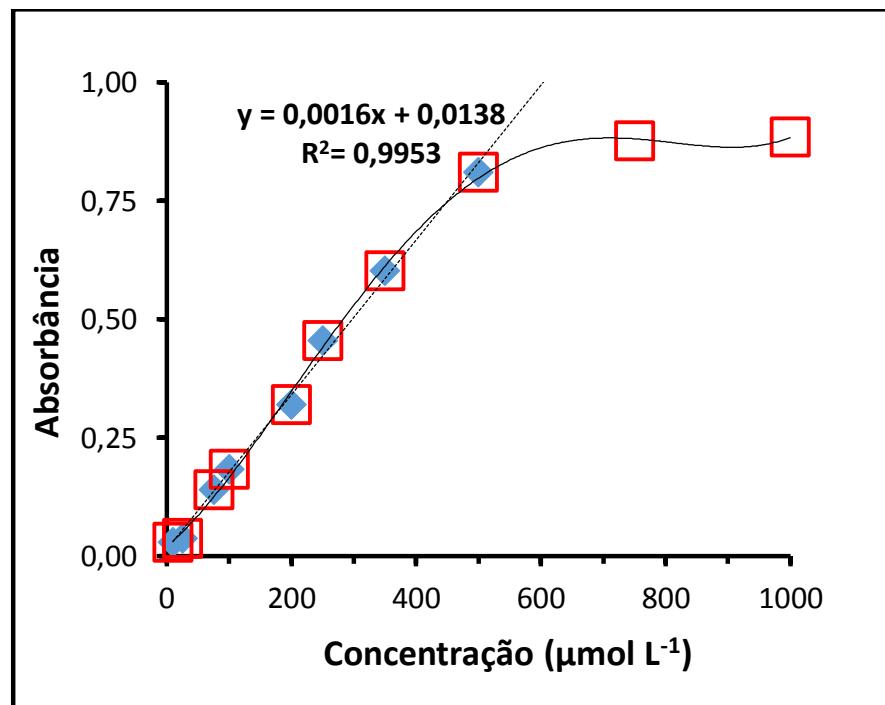


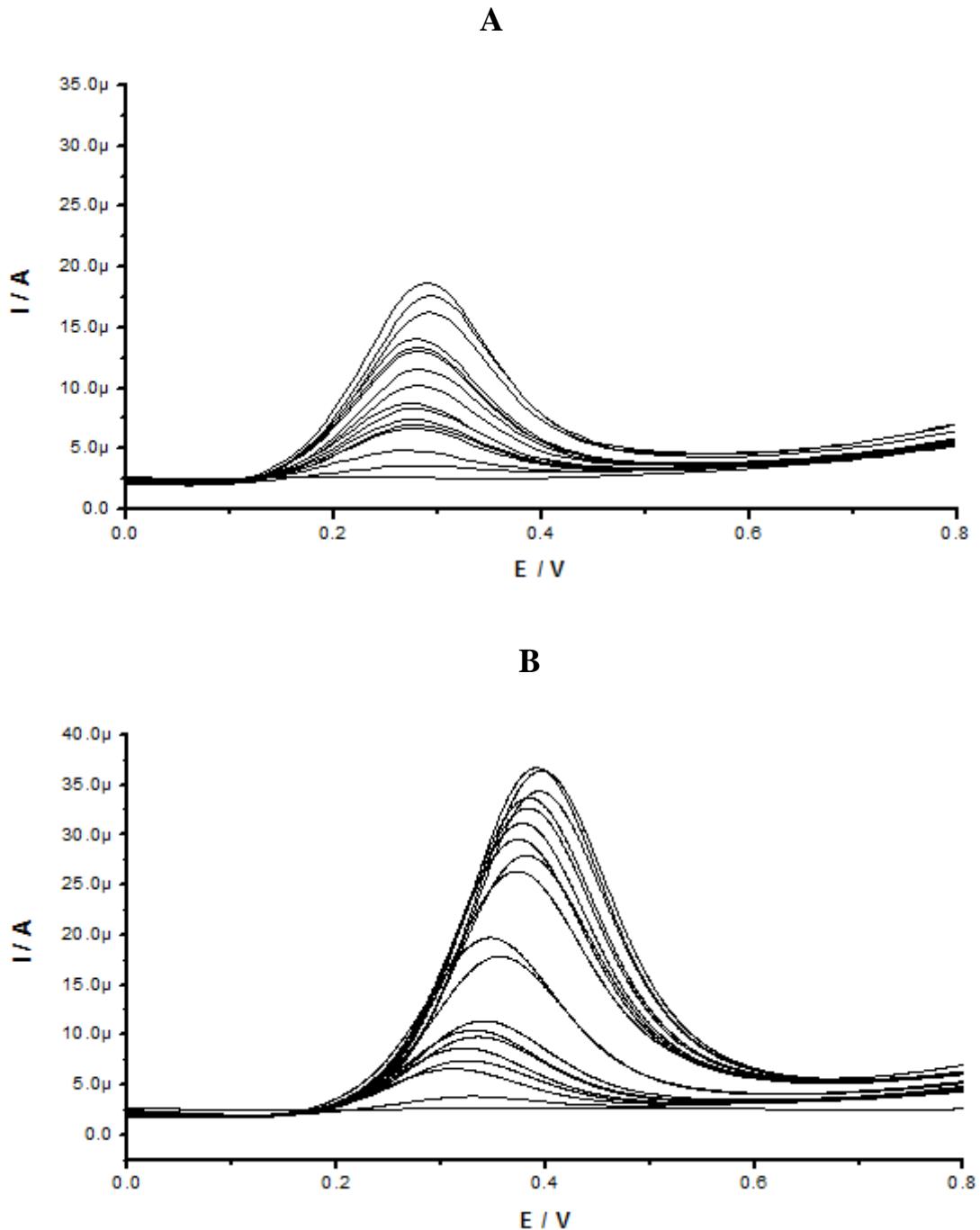
Figura 27- Curva de calibração construída por espectrofotometria em 243 nm.



Nas condições já descritas no item 3.5 procedeu-se o monitoramento da liberação de paracetamol das membranas por 8 horas, onde a primeira hora foi realizado de 10 em 10 minutos e a partir de 60 minutos foi realizado em intervalos de tempo de 30 minutos.

A Figura 28 apresenta os voltamogramas obtidos na análise das membranas simétrica e assimétrica. Em ambos os gráficos, observa-se constante liberação do fármaco ao longo do tempo, ou seja, voltamogramas com maior valor de corrente foram obtidos ao longo do tempo.

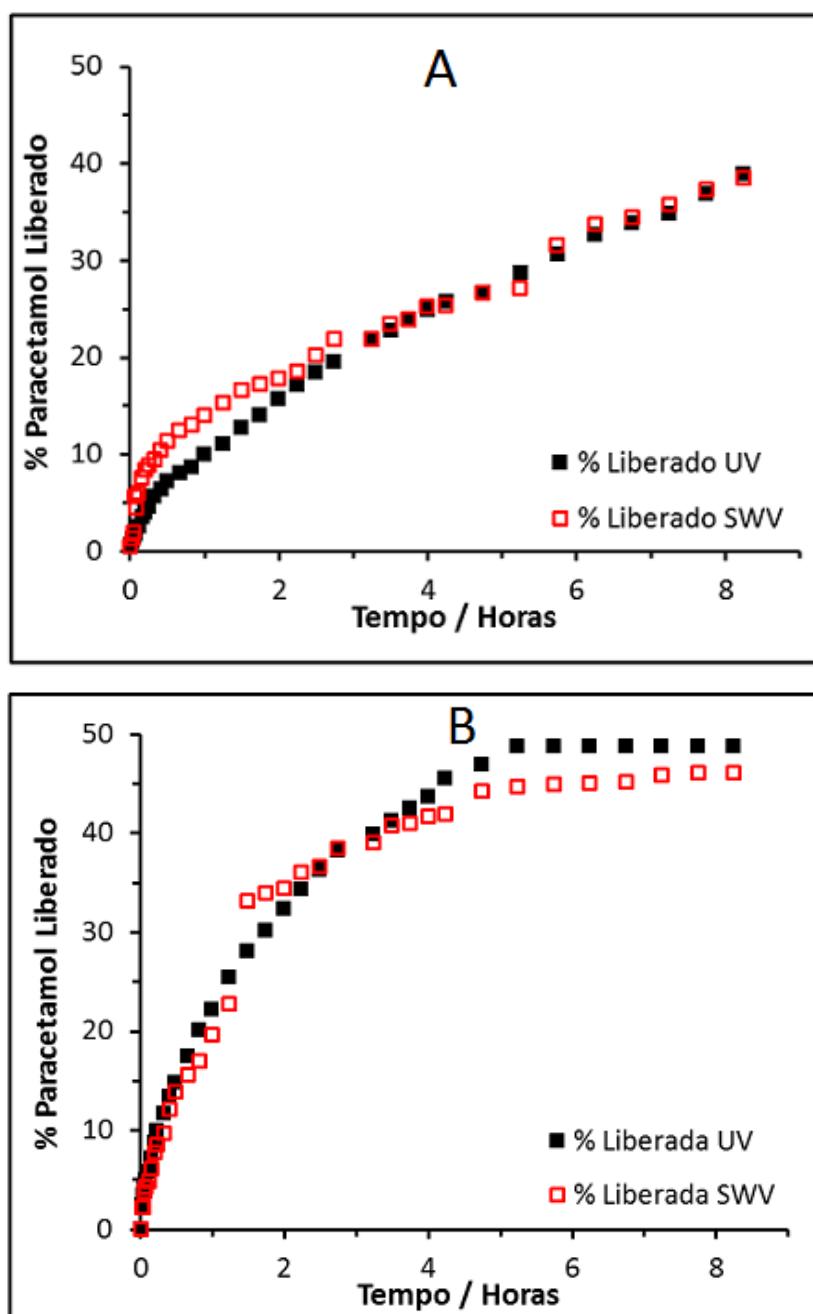
Figura 148- Voltamogramas obtidos a partir da liberação de paracetamol das membranas simétrica (A) e assimétrica (B), ao longo de 8 horas de análise.



Na observação dos voltamogramas, é possível perceber que a liberação do fármaco ocorreu de forma diferente em cada membrana, já que a altura do pico é diretamente

proporcional à concentração do analito na solução. Com a medida da altura dos picos formados e através da equação da reta da curva de calibração, foi possível a determinação do teor de paracetamol liberado. Na Figura 29 têm-se os valores médios (triplicatas) de percentual de paracetamol liberado de membranas simétricas e assimétricas, monitorados por VOQ e por espectrofotometria.

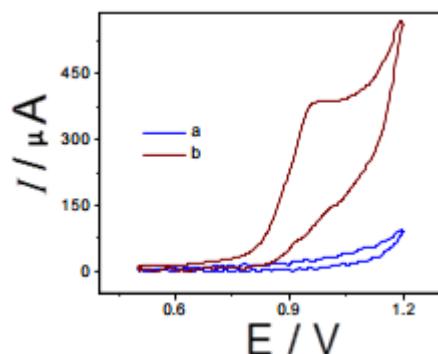
Figura 29- Curvas de liberação do paracetamol das membranas simétricas (A) e assimétricas (B).



O paracetamol é um fármaco solúvel em água fervente, por isso é esperado que o mesmo apresentasse uma afinidade notória com a solução aquosa, sendo liberado da matriz polimérica. Caso o fármaco usado nesse trabalho fosse hidrofóbico, seria esperado que este tivesse uma interação maior com o polímero, sendo liberado assim em menor quantidade na solução. A liberação ocorre à medida que a solução entra em contato com o sistema polimérico, resultando no relaxamento da cadeia polimérica com expansão volumétrica, o que facilita a difusão do fármaco pela matriz. Os valores de liberação do paracetamol em função do tempo indicam a influência da estrutura da membrana na liberação da droga.

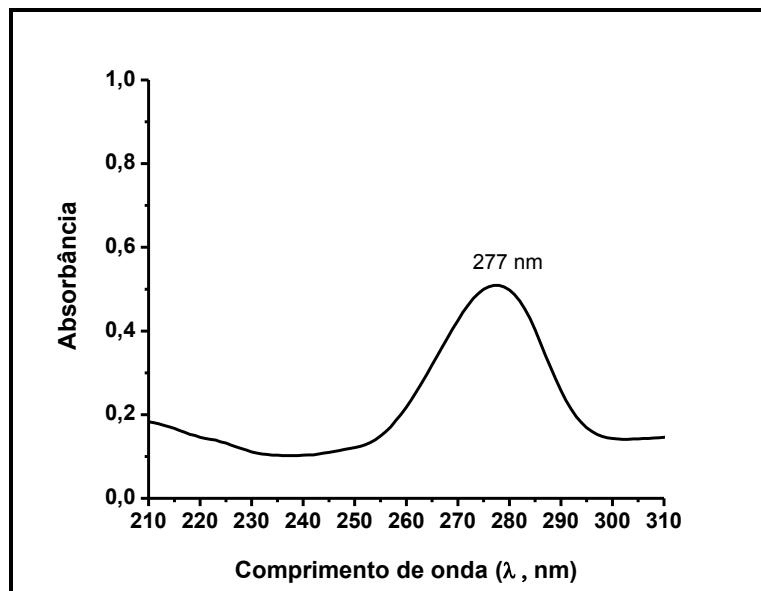
A ciprofloxacina é um fármaco classificado quimicamente como uma fluorquinolona, e sofre oxidação eletroquímica irreversível como mostra a Figura 30.

Figura 30- Voltamogramas cíclicos ($v = 80 \text{ mV s}^{-1}$) em SPE na presença de (a) solução tampão $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ BR pH 4,0 e (b) após a adição de ciprofloxacina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.



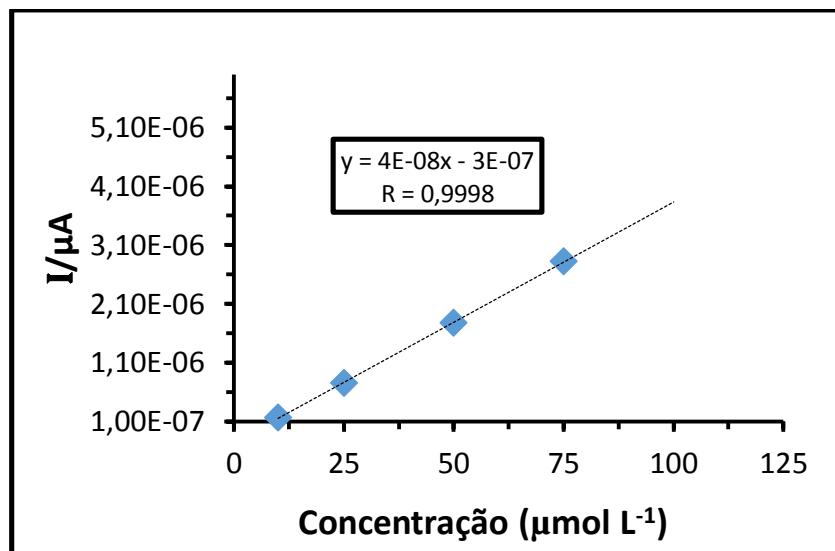
O monitoramento *in situ* do teor de ciprofloxacina liberado foi feito a partir da técnica de VOQ e para comparação foram feitas medidas por espectrofotometria no UV e por amperometria no sistema BIA.

Para a técnica espectrofotométrica primeiramente foi obtido o espectro de varredura do fármaco (Figura 31), onde verificou-se que o máximo de absorbância foi registrado em 277 nm. Este valor de comprimento de onda foi fixado para a construção da curva analítica por espectrofotometria.

Figura 31- Espectro na região UV para o fármaco ciprofloxacina.

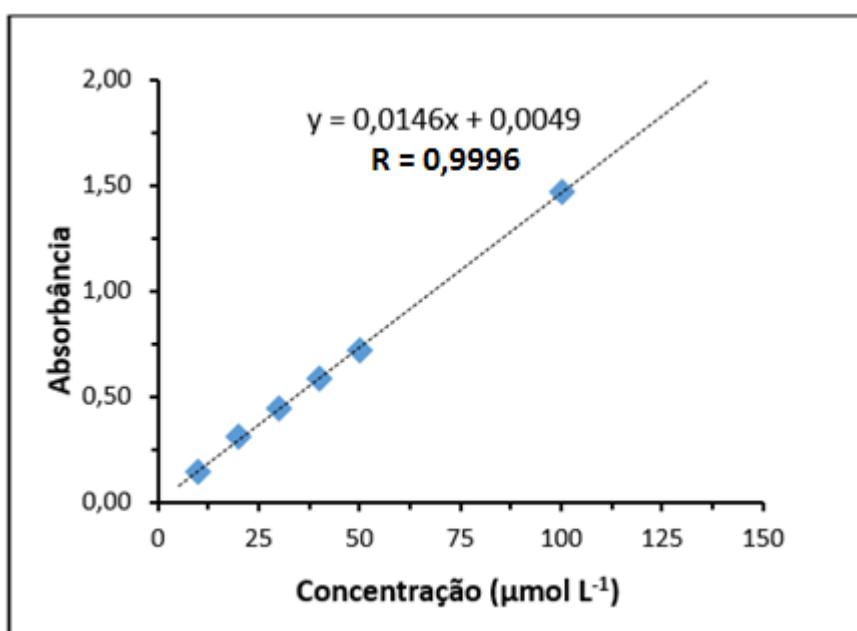
Para isso, inicialmente foi construída uma curva de calibração, onde quantidades iguais de uma solução estoque de ciprofloxacina 10 mmol L^{-1} foram adicionadas à uma solução tampão, nas mesmas condições em que a análise da liberação do fármaco nas membranas foram feitas utilizando a técnica VOQ e APC, utilizou a medida da altura dos picos dos voltamogramas, onde obteve-se VOQ registrados em $0,1 \text{ mol L}$ em tampão $\text{BR} = 4,0$ a 36°C na presença de diferentes concentrações de ciprofloxacina. Primeiramente, registrou-se a varredura do branco e após adição de $0,05$; $0,010$; $0,025$; $0,050$; $0,075$; $0,100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ciprofloxacina. As condições voltamétricas estão descritas no item 3.5. A partir da altura dos picos, obteve-se a curva de calibração e a respectiva equação da reta, Figura 32, para a determinação da concentração do analito liberado na solução.

Figura 32- Curva de calibração construída a partir da altura dos picos em função da concentração (VOQ).



Na técnica de espectrofotometria no UV-Vis, utilizou-se a absorbância em 280 nm, para fazer a curva analítica (Figura 33), para a partir da equação da reta ser possível a determinação da concentração do analito liberado na solução.

Figura 33- Curva de calibração construída a partir do método espectrofotométrico em 277 nm.



Nas Figuras 34 e 35 têm-se as curvas de calibração e os respectivos amperogramas obtidos no sistema BIA com detecção amperométrica usadas para os cálculos de concentração de ciprofloxacina liberada de membranas simétrica e assimétrica.

Figura 34- Curva de calibração e amperogramas obtidos para o cálculo da concentração de ciprofloxacina proveniente da liberação de membranas simétricas.

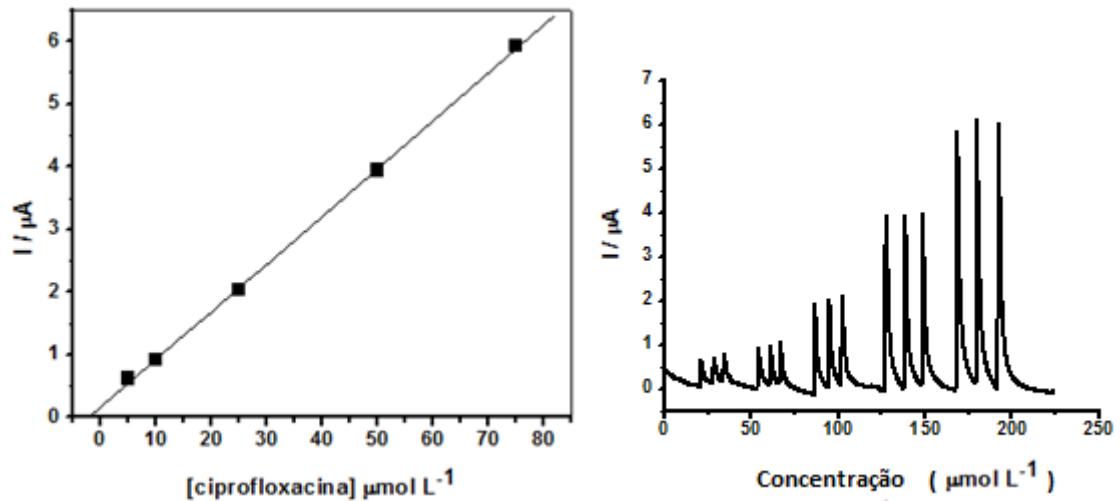
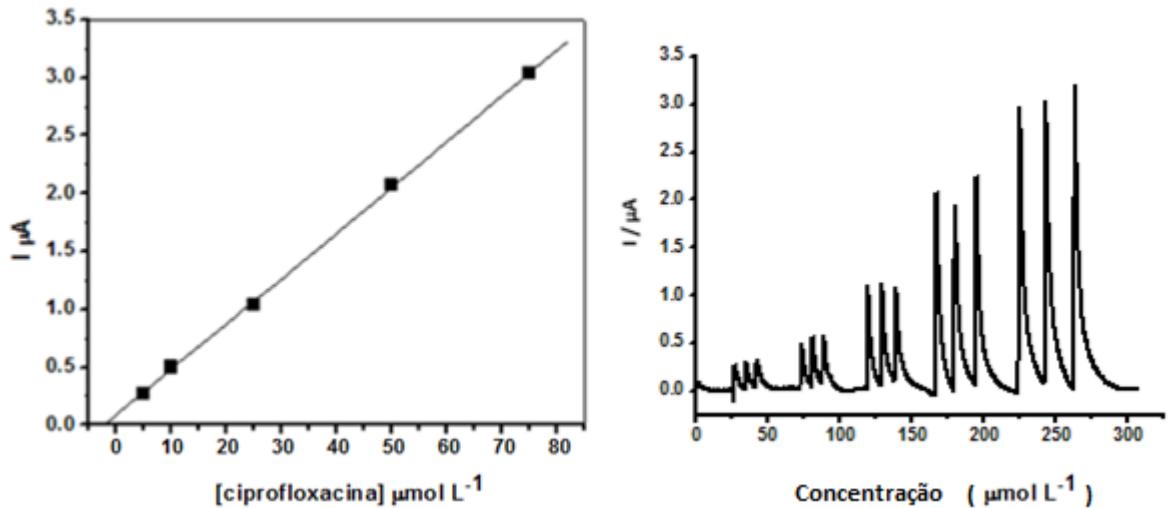


Figura 35- Curva de calibração e amperogramas obtidos para o cálculo da concentração de ciprofloxacina proveniente da liberação de membranas assimétricas.



Nas condições já descritas no item 3.5 procedeu-se o monitoramento da liberação de ciprofloxacina da membrana por 8 horas. Nas Figuras 36 e 37 têm-se os valores médios (triplicata) de percentual de liberação de ciprofloxacina de membranas simétricas e assimétricas empregando VOQ e para comparação espectrofotometria e amperometria.

Figura 36- Curvas de liberação do ciprofloxacina das membranas simétricas empregando as técnicas VOQ, espectrofotometria no UV e amperometria (APC).

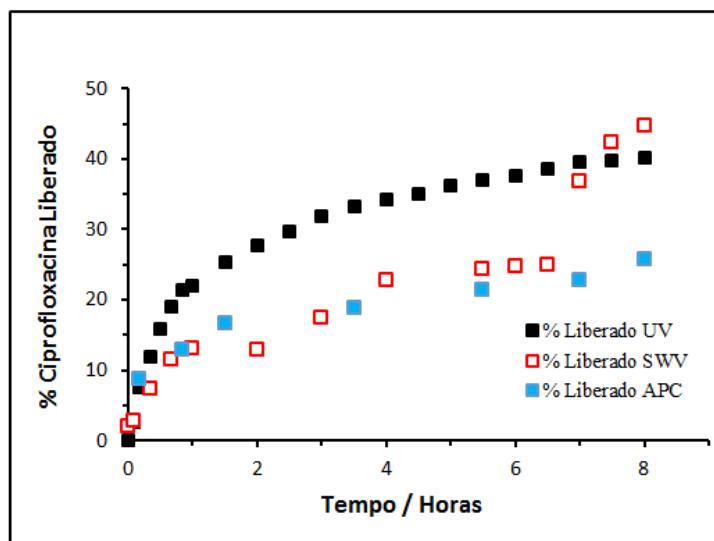
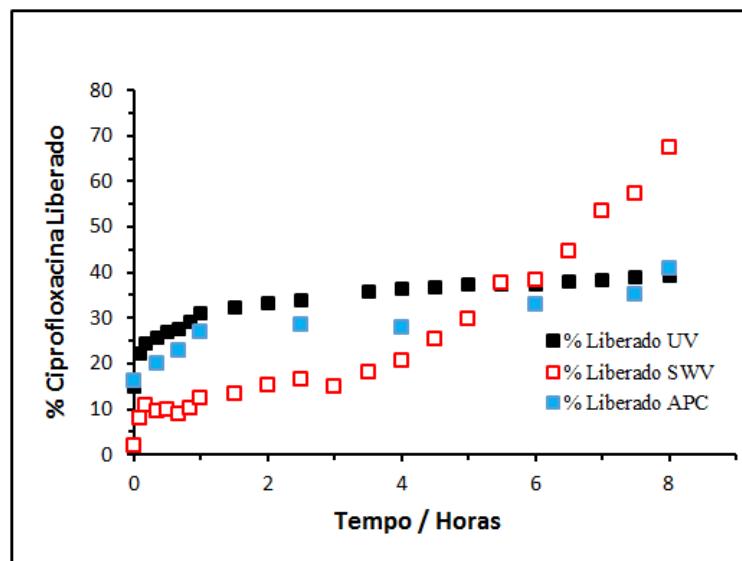


Figura 37- Curvas de liberação do ciprofloxacina das membranas assimétricas empregando as técnicas VOQ, espectrofotometria no UV e amperometria (APC).



Na Tabela 2 são apresentados os valores médios do percentual de liberação de ciprofloxacina de cada membrana após 8 horas de experimentos obtidos pelos três métodos.

Tabela 2- Valores médios do percentual de liberação de paracetamol e ciprofloxacina de cada membrana após 8 horas de experimentos.

| Membranas | Percentual da média de liberação | | |
|------------|----------------------------------|--------|-----|
| | VOQ | UV-Vis | APC |
| MB – SIMpa | 35% | 36% | |
| MB – ASSpa | 46% | 46% | |
| MB – SIMci | 44% | 40% | 35% |
| MB – ASSci | 67% | 40% | 40% |

Um dos aspectos que explica a diferença na porcentagem de fármaco liberada por cada uma das membranas é a existência de poros na membrana assimétrica, como discutido anteriormente para a liberação de paracetamol. Os poros são observados na superfície e na espessura da membrana, controlam a transferência de material e facilitam o movimento do fármaco através da membrana. Quando os poros são atingidos, eles não oferecem resistência ao fluxo do fármaco. A presença dos poros aumenta as regiões de baixa densidade polimérica, resultando num aumento da mobilidade da cadeia polimérica. Tal aumento na mobilidade favorece o transporte de fármaco pela membrana e sua consequente liberação.

Os testes mostraram que é possível a utilização da voltametria de onda quadrada no estudo de sistemas de liberação controlada de drogas, apresentando como principais vantagens em relação às demais técnicas apresentadas no trabalho: o monitoramento *in situ*, tornando desnecessário o manuseio da amostra para leitura, evitando assim a perda de temperatura e menor chance de contaminação por outros materiais usados; sistema de fácil manuseio e baixo custo de operação; rápida estabilização do aparelho; análise em curto espaço de tempo; a dispensabilidade de diluições para a leitura da amostra (ampla faixa linear); alta sensibilidade e gasto reduzido de reagente e amostra.

As diferenças observadas nos perfis de liberação de ciprofloxacina de ambas as membranas provavelmente devem-se às diferenças de incorporação do fármaco nas mesmas. Verificou-se ao longo dos experimentos variações de liberação de ciprofloxacina da ordem de 20%, o que pode indicar a falta de homogeneidade do fármaco ciprofloxacina nas membranas.

- Incorporação de dois fármacos com efeito sinérgico em uma mesma membrana e avaliar possibilidade monitoramento simultâneo.
- Análise simultânea *in vitro* utilizando a técnica voltametria de onda quadrada e amperometria.
- Produção e caracterização de uma nova matriz polimérica, para incorporação de fármaco para comparação com os resultados obtidos na etapa inicial do trabalho.
- Utilização de outros tipos de eletrodos com o ultramicroeletrodo e eletrodos convencionais.

Capítulo 6 – Conclusões

Este trabalho mostrou que a técnica de VOQ pode ser empregada para monitorar a liberação controlada de fármacos, desde que estes sejam eletroativos, ou seja, produzam uma resposta na superfície de um eletrodo de trabalho. Além disso, foi demonstrado o possível uso de SPEs para monitorar a liberação controlada de paracetamol e ciprofloxacina de membranas simétricas e assimétricas de acetato de celulose, produzidas a partir de palha de milho. TAC foi produzida a partir de celulose extraída deste material lignocelulósico, que foi obtido de resíduos agro industriais, proveniente de fabricação de rações animais que tem a palha de milho como dejeto.

A VOQ mostrou uma sensibilidade ligeiramente superior sobre as demais técnicas. A técnica mostrou-se bastante concordante com a espectrofotometria nos experimentos de liberação do paracetamol. Já nos experimentos de liberação da ciprofloxacina, houve diferença nos valores de percentual de liberação entre a técnica proposta, espectrofotometria e amperometria. As diferenças observadas provavelmente devem-se a variação de liberação de ciprofloxacina destas membranas que foi da ordem de 20% para a mesma membrana, mas de regiões diferentes. Este resultado indica falta de homogeneidade das membranas incorporadas com ciprofloxacina.

Os resultados de liberação controlada do paracetamol e ciprofloxacina mostram que as membranas produzidas a partir de um resíduo agroindustrial apresentam potencial para aplicação no setor farmacêutico, assim como a voltametria de onda quadrada tem na avaliação da liberação de fármacos de membranas utilizadas como matrizes de liberação controlada de fármacos.

Capítulo 7 – Referências Bibliográficas

- [1] Sarmiento, Acompanhamento da safra Brasileira-Grãos (2013). Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_05_08_10_11_00_boletim_graos_maio_2014.pdf>, consultado em 25/02/2015.
- [2] Ribeiro, E. A. M.; **Síntese, caracterização e aplicação de membranas de acetato de celulose a partir da reciclagem da palha de milho em processo de ultrafiltração**, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.
- [3] Gutiérrez, M.C., M.-A. De Paoli, and M.I. Felisberti,; **Cellulose acetate and short curauá fibers biocomposites prepared by large scale processing: Reinforcing and thermal insulating properties**, Industrial Crops and Products, 2014, 52, 363-372.
- [4] Almeida, E. V. R.; **Valorização da celulose de sisal: uso na preparação de acetatos e de filmes de acetatos de celulose/celulose e quitosana/celulose**, Tese (Doutor em Ciências-Físico-Química). Universidade de São Paulo. São Carlos, 2009.
- [5] Rodrigues Filho, G., Da Cruz, S. F., Pasquini, D., Cerqueira, D. A., Prado, V. S., Assunção, R. M. N.; **Water flux through cellulose triacetate films produced from heterogeneous acetylation of sugar cane bagasse**, Journal of Membrane Science, 2000, 177, 225–231.
- [6] Meireles, C. S.; **Síntese e caracterização de membranas assimétricas de acetato de celulose obtido a partir da celulose do caroço de manga e do jornal**, Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.
- [7] Vieira, R. G. P.; **Síntese e caracterização da metilcelulose a partir da metilação heterogênea do bagaço de cana-de-açúcar**, 2004. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- [8] D'Almeida, M. L. O.; **Celulose e papel- Tecnologia de fabricação da pasta celulósica**, São Paulo, 1988.
- [9] Moraes, S. A. L.; Nascimento, E. A.; Melo, D. C., **Análise da madeira de pinus oocarpa parte I: Estudo dos constituintes macromoleculares e extractivos voláteis**, Revista Árvore 2005, 29, (03), 461-470.

- [10] Gurgel, L. V. A.; **Mercerização e modificação química de celulose e bagaço de cana-de-acúcar com anidrido succínico e trietilenotetramina: Preparação de novos materiais quelantes para a adsorção de Pb(II), Cd(II), Cr(VI) e Cu(II)**, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2007.
- [11] Saliba, E. O. S., Rodriguez, N. M., Morais, S. A. L., Veloso, D. P.; **Ligninas-Métodos de obtenção e caracterização química**, Ciência Rural, 2001, 31, 917-928.
- [12] Cruz, A. C.; **Síntese e caracterização de partículas de acetato de celulose, a partir do caroço de manga, para produção de matrizes de liberação controlada de drogas**, Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.
- [13] Simões, E.O; Mário, R.N; Morais, Lemos, S.A: **Dorila.Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química**. Cienc. Rural [online]. 2001, vol.31, n.5, pp. 917-928. ISSN 0103-8478.
- [14] Chou, W. L.; Yu, D. G.; Yang, M. C.; Jou, C. H.; **Effect of molecular weight and concentration of PEG additives on morphology and permeation performance of cellulose acetate hollow fibers**, Separation and Purification Technology 2007, 57, (2), 209-219.
- [15] Sossna, M.; Hollas, M.; Schaper, J.; Scheper, T.; **Structural development of asymmetric cellulose acetate microfiltration membranes prepared by a single-layer dry-casting method**, Journal of Membrane Science 2007, 289, (1-2), 7-14.
- [16] Puleo, A. C.; Paul, D. R.; Kelley, S. S.; **The effect of degree of acetylation on gas sorption and transport behavior in cellulose-Acetate**, Journal of Membrane Science 1989, 47, (3), 301-332.
- [17] Sassi, J. F.; Chanzy, H.; **Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose**, Cellulose 1995, 2, (2), 111-127.
- [18] Aulton, M. E.; **Delineamento de formas farmacêuticas**, Artmed, Porto Alegre, 2005.

- [19] Swarbrick, J.; **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**, Informa Healthcare, England, 2007.
- [20] Meier, M. M.; **Filmes de acetato de celulose/poli (caprolactona triol): Diagrama de fases, propriedades térmicas, Mecânicas e controle da permeação de um Fármaco modelo**, Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- [21] Lyra, M. A. M, Sobrinho, J. L. S., Brasileir , M. T., La Roca, M. F., Barraza, J. A., Viana, O. S., Rolim-Neto, P. J.; **Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos**, Latin American Journal of Pharmacy, 2007, 26, 784-93.
- [22] Sabrina D.R; **Síntese e caracterização de membranas de triacetato de celulose a partir do aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar para a liberação controlada de drogas**. 2012. 115 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.
- [23] Schaffazick, S.R.; Guterres, S.S.; Freitas, L.L.; Pohlmann, A.R.; **Physicochemical characterization and stability of the polymeric nanoparticles systems for drug administration**, Química Nova 2003, 26, 726 – 737.
- [24] Edgar, K.J.; **Cellulose esters in drug delivery**, Cellulose, 2007, 14, 49 – 64.
- [25] Habert, A. C., Borges, C. P., Nobrega, R.; **Processos de separação por membranas**, 1^a edição, E-papers: Rio de Janeiro, 2006.
- [26] Meier, M. M., Kanis, L. A., Soldi, V.; **Characterization and drug permeation profile of microporous and dense cellulose acetate membranes: Influence of plasticizer and pore-forming agent**, International Journal of Pharmaceutics, 2004, 278, 99–110.
- [27] Rodrigues Filho, G., Toledo, L.C., Cerqueira, D.A., Assunção, R.M.N., Meireles, C.S., Lugão, A.B., Rogero, S.O., Otaguro, H.; **Water flux, DSC, and cytotoxicity characterization of membranes of cellulose acetate produced from sugar cane bagasse, using PEG 600**, Polymer Bulletin, 2007, 59, 73–81.

- [28] Rodrigues Filho, G., Ribeiro, S. D., Meireles, C. S., Silva, L. G., Ruggiero, R., Junior, M. F. F., Cerqueira, D. A., Assunção, R. M. N., Zeni, M., Polleto, P.; **Release of doxycycline through cellulose acetate symmetric and asymmetric membranes produced from recycled agroindustrial residue: Sugarcane bagasse**, *Industrial Crops and Products* 2011, 566-571.
- [29] Bula do medicamento, disponível em, <http://www.bulas.med.br/bula/6623/paracetamol.htm>.
- [30] Farmacopéia Brasileira, volume 2- 5^a edição / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 1189p.
- [31] Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, **Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de ciprofloxacino 250 mg comercializados como similares no Brasil**; vol. 40, n. 3, 09, 2004.
- [32] Brett, A. M. O.; Brett, C. M. A. **Electroquímica: princípios, métodos e aplicações**. Oxford University Press Inc., New York, 1993. p 241.
- [33] Santos, A. L.; Takeuchi, R. M.; Stradiotto, N. R.; Esteves, A. P.; Medeiros, M. J.; **Study of the Electrochemical Reduction of Amoebicide Teclozan and its Amperometric Determination in Pharmaceutical Formulations**, *J. Braz. Chem. Soc.* 2008, 19, 1144.
- [34] El-Desoky, H. S.; Ghoneim, M. M.; Habazy, A. D.; **Voltammetry of Irbesartan Drug in Pharmaceutical Formulations and Human Blood: Quantification and Pharmacokinetic Studies**, *J. Braz. Chem. Soc.* 2011, 22, 239.
- [35] El-Maali, N.A.; **Voltammetric analysis of drugs**, *Bioelectrochemistry*, 2004, 64, 99.
- [36] Gupta, V. K.; Jain R.; Radhapyari K.; Jadon N; Agarwal, S.; **Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals—A review**, *Anal. Biochem.* 2011, 408, 179.

- [37] Mora, L.; Chumbimuni-Torres K. Y.; Clawson, C.; Hernandez, L.; Zhang, L.; Wang, J.; **Real-time electrochemical monitoring of drug release from therapeutic nanoparticles**, *J Control Release*. 2009, 140, 69.
- [38] Aquiles, M.S; Costa, H.S; Igne, F.E; **Redução voltamétrica de artemisinina e sua interação com grupo heme (hemin)**. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* [online]. 2007, vol.43, n.3, pp. 371-383. ISSN 1516-9332.
- [39] Wang, J.; **Analytical electrochemistry**, 2^a Ed. New York: Wiley-VCH.
- [40] Noel. M, Vasu. L, k.; **Cyclic voltammetry and the frontiers of electrochemistry**, Aspect, 1990.
- [41] Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman T. A.; **Princípios de análise Instrumental**, 5^a Ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- [42] Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications**, 2^a ed. New York: John Wiley & Sons, INC, 2001.
- [43] Eletrodos impressos . Disponível em < <http://www.metrohm.com.br/Produtos/Laboratorio/Eletroquimica/EletrodoImpresso.html> >, consultado em 05/07/2014.
- [44] Nascimento, V. B.; Angnes, L.; **Eletrodos fabricados por “silk-screen”**, *Química Nova*, 1998, 21, n. 5, 614-629.
- [45] Carsol, M-A.; Volpe, G.; Mascini, M.; **Amperometric detection of uric acid and hypoxanthine with Xanthine oxidase immobilized and carbon based screen-printed electrode. Application for fish freshness determination**, *Talanta*, 1997, v. 44, 2151-2159.
- [46] Cerqueira, D. A.; Rodrigues Filho, G.; Meireles, C. D.; **Optimization of sugarcane bagasse cellulose acetylation**, *Carbohydrate Polymers*, 2007, v. 69, 579-582.

- [47] Cruz, A. C; Meireles, C. A.; Ribeiro, S. D.; Rodrigues Filho, G.; Assunção, R. M. N.; Cerqueira, D. A.; Zeni, M.; Poletto, P.; **Utilização do acetato de celulose produzido a partir da celulose extraída do caroço de manga como matriz para produção de sistemas microparticulados**, Química Nova, 2011, v. 34, 385-389.
- [48] Tormin, T. F; Cunha, R. R; Silva, R. A. B; Munoz, R. A. A; Richter, E. M; **Combination of screen-printed electrodes and batch injection analysis: A simple, robust, high-throughput, and portable electrochemical system**, Chem. 2014, **202**, 93–98.
- [49] Fischer, S.; Thümmler, K.; Volkert, B.; Hettmich, K.; Schmidt, I.; Fischer, K.; **Properties and application of cellulose acetate**. Macromolecular Symposia. 2008, 262, 89-96.
- [50] Mannheimer, A. W.; **Microscopia dos materiais**, Rio de Janeiro: E-papers, 2002.
- [51] Dedavid, A. B.; Gomes, I. C.; Machado, G.; **Microscopia eletrônica de varredura, aplicações e preparação de amostras**, Porto Alegre: Edipucrs, 2007.
- [52] Miner,D.J.; Rice, J.R; Riggin,R.M.; Kissinger.T.; **Voltammetry of acetaminophen and metabolites**, Analytical Chemistry, 1981, V.53, 2258-2263.
- [53] Lopes, C. M; Lobo, J. M. S; Costa, P; **Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidríflicos**. Rev. Bras. Cienc. Farm.[online]. 2005, v.41, n.2, pp. 143-154.