

Encapsulação e libertação controlada de fármacos

Catarina Alexandra Rodrigues João

Dissertação apresentada à
Escola Superior de Tecnologia e Gestão
Instituto Politécnico de Bragança

Para obtenção do grau de Mestre em
Tecnologia Biomédica

Este trabalho foi efetuado sob orientação de:

Professor Doutor José Silva

Novembro de 2013

Ao meu falecido avô,

Agradecimentos

Esta secção é dedicada àqueles que contribuíram para a realização desta dissertação.

Ao Professor Doutor José Silva, pela oportunidade que me concebeu. Pela sua brilhante orientação, pelo estímulo e incentivo, pela disponibilidade e por todos os conhecimentos científicos que me transmitiu ao longo deste ano de trabalho. O meu muito obrigado por tudo isto, e pela liberdade de ação que permitiu o meu desenvolvimento pessoal.

À Engenheira Patrícia Mendes, pela paciência, dedicação e amizade com que sempre me recebeu.

Ao LSRE à Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Bragança, pelas condições e oportunidade de realização desta investigação.

À minha família, pelo apoio e incentivo nos momentos mais difíceis e pela confiança que sempre depositaram em mim.

O meu agradecimento sincero a todos aqueles que fizeram parte, direta ou indiretamente, desta importante etapa da minha vida.

“Tenho em mim todos os sonhos do mundo”

(Fernando Pessoa)

Resumo

O interesse nos sistemas de libertação controlada e dos materiais nanoporosos que constituem estes sistemas fez estender as investigações sobre novos materiais, com propriedades físicas específicas.

Neste trabalho desenvolveu-se uma metodologia experimental que utiliza uma técnica de cromatografia frontal num sistema HPLC, com o intuito de medir isotérmicas de adsorção da cafeína e do diclofenac (este conhecido como Voltaren), permitindo medir o grau de encapsulação e a eficiência da libertação controlada. Para tal, foram testados dois tipos materiais porosos: os MOFs, ZIF-8 e MIL-100 e também o carvão ativado *Norit SX PLUS*, como potenciais sistemas de encapsulação e libertação controlada.

No presente trabalho foi possível verificar que a capacidade de adsorção de diclofenac sobre o carvão ativado *NORIT Sx Plus* é bastante elevada com valores que podem atingir 385 mg/g para concentrações de diclofenac Na ordem dos 30 mg/L.

Por outro lado, observou-se que a quantidade adsorvida pelos MOFs aumenta com o aumento da concentração do fármaco, mas a sua capacidade de encapsulação é pequena nas condições utilizadas ocorrendo a rutura do diclofenac e da cafeína logo após 1 min. Por esse facto, a quantidade adsorvida da cafeína e diclofenac nos MOFs não ultrapassa 0.6 mg/L.

Foi também avaliada a libertação dos fármacos adsorvidos através de experiências de dessorção, verificou-se que apenas 12% da massa adsorvida de diclofnac no carvão ativado é libertada. No caso dos MOFs, a massa libertada de diclofenac pode chegar até aos 87% num intervalo de tempo comparável ao da etapa de adsorção, demonstrando que nestes materiais a resistência à transferência de massa é baixa.

Abstract

The interest in controlled release systems using nanoporous materials has increased significantly during recent years in part doing to the discovery of new porous material such as the MOFs and PCPs.

In this paper a methodology was developed using frontal chromatography in a HPLC system, with the aim of measuring adsorption isotherms of caffeine and diclofenac (Voltaren known as such), the degree of encapsulation and efficiency and release. To this end, we tested two types porous materials: the MOFs, ZIF-8 and MIL-100 and also the classic activated carbon Norit SX PLUS, as potential systems for controlled release and encapsulation.

The study has shown that the adsorption capacity on diclofenac in activated carbon NORIT Sx Plus is quite high with values that can reach 350 mg/g for concentrations of diclofenac in liquid phase until 30 mg/L.

In the case of MOFs, it was observed that the amount adsorbed increases with increasing concentration of drug, but its capacity is small when compared to activated carbon with breakthroughs of diclofenac and caffeine occurring after 1 min. Therefore, the amount adsorbed caffeine and diclofenac in MOFs not exceed 0.6 mg / L.

It was also evaluated the release of adsorbed drugs by desorption experiments, where it was found that only 12% of the mass of diclofenac adsorbed on activated charcoal is released. In the case of MOFs diclofenac is easily released with amounts reaching up to 87% in a time interval comparable to the adsorption stage, demonstrating that these materials offer no resistance to mass transfer.

Conteúdo

Nomenclatura.....	xv
Lista de tabelas	xvii
Lista de figuras	xix
CAPITULO 1.....	25
INTRODUÇÃO	25
1.1. Libertação controlada.....	27
1.2. MOFs (Metal-Organic Frameworks)	30
1.3. Carvão ativado	36
CAPÍTULO 2.....	41
PARTE EXPERIMENTAL	41
2.1. Reagentes utilizados.....	41
2.2. Equipamento	43
2.3. Procedimento experimental.....	49
2.4. Dificuldades e desvantagens	56
CAPÍTULO 3.....	59
ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	59
3.1. Capacidade de adsorção	59
3.2. Carvão ativado	61
3.3. MOFs	66
3.4. Dessorção	87
CAPÍTULO 5.....	93
CONCLUSÃO	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95

Nomenclatura

Variáveis

c_0 Concentração em equilíbrio (mg/L),

c_e Concentração do fármaco inicial (mg/L),

m Massa de adsorvente (g)

Q Caudal (g/ml)

q_e Quantidade adsorvida de fármaco (mg/g)

T Temperatura (°C)

t tempo (min)

V Volume da solução (L)

Abreviaturas

CA Carvão ativado

HPLC---Cromatografia Líquida de Alta Performance (*High performance Liquid Chromatography*)

MIL--- Material Instituto Lavoisier

MOFs *Metal Organic Frameworks*

SBU *Secondary Building Units*

ZIF ---*Zeolitic Imidazolate Frameworks*

Símbolos gregos

λ Comprimento de onda (nm)

Lista de tabelas

Tabela 2.1: Propriedades físicas dos adsorvatos utilizados: a cafeína e o diclofenac.....	42
Tabela 2.2: Propriedades físicas do carvão ativado.....	43
Tabela 2.3: Propriedades físicas e químicas do ZIF-8.....	43
Tabela 3.1: Condições experimentais dos diferentes ensaios realizados com diclofenac no carvão ativado.....	61
Tabela 3.2: Condições experimentais dos ensaios realizados com ZIF-8 como adsorvente, água desionizada como eluente, e adsorvatos a cafeína e o diclofenac.....	67
Tabela 3.3: Condições experimentais dos ensaios realizados com o ZIF-8 como adsorvente, o metanol como eluente e os adsorvatos, a cafeína e o diclofenac.....	73
Tabela 3.4 Condições experimentais dos ensaios realizados onde o MIL-100 era o adsorvente, a água desionizada o eluente, e os adsorvatos a cafeína e o diclofenac.....	78
Tabela 3.5 Condições experimentais dos ensaios realizados com MIL-100 como adsorvente, o metanol como eluente e os adsorvatos, a cafeína e o diclofenac.....	81
Tabela 3.6: Resultados obtidos nas experiências de dessorção do diclofenac em carvão ativado.....	88
Tabela 3.7: Resultados obtidos nas experiências de dessorção do diclofenac em ZIF-8.....	91

Lista de figuras

Figura 1.1: Representação dos sistemas de libertação controlada de fármacos.....	28
Figura 1.2: Representação de SBUs inorgânicas que ocorrem normalmente em metais carboxilatos incluindo (a) a “ <i>paddlewheel</i> ” quadrada, com dois sites terminais ligantes, (b) o aglomerado octaédrico de acetato de zinco básico e (c) trímero trigonal prismático, com três sites terminais ligantes. Os exemplos de SBUs orgânicas incluem as bases conjugadas do (d) quadrado “ <i>tetrakis (4-carboxyphenyl) porphyrin</i> ”, (e) “ <i>tetrahedral adamantane-1,3,5,7-tetracarboxylic acid</i> ”, e (f) “ <i>trigonal 1,3,5-tris (4-carboxyphenyl) benzene</i> ”. Na imagem os metais estão representados pelas esferas azuis, os carbonos pelas esferas pretas, o oxigénio pelas esferas vermelhas e o azoto pelas esferas verdes.....	32
Figura 1.3: Representação esquemática, da estrutura e função do MOF combinado com as suas propriedades toxicológicas e de biodegradação adequadas, as quais, favorecem a sua bioaplicação	33
Figura 1.4: Representação de uma vasta variedade de moléculas de drogas com diferente estrutura e tamanhos que podem ser acomodados dentro do MOF, e em seguida libertadas lentamente ao longo de vários dias. A figura mostra o perfil de libertação controlada para o cidofovir (em cima), o trifosfato de azidotimidina (no centro), e a doxorrubicina (na parte inferior)	34
Figura 1.5: Esquema representativo da estrutura dos poros do carvão ativado.....	37
Figura 2.1: Esquema do equipamento experimental de HPLC	44
Figura 2.2: Equipamento de HPLC, <i>Jasco, PU-2080 plus, UV-2075 plus</i>	45
Figura 2.3: Coluna de aço inoxidável	47
Figura 2.4 Kit de sucção. A) Bomba de vácuo. B) Placa de agitação. C) Íman magnético.....	49
Figura 2.5: Representação do equipamento de desionização: A) Recipiente de água destilada; B) <i>Barnstead EASYpure UV Compact Ultra Pure Water System</i> ; C) Recipiente de armazenamento de água desionizada.....	50

Figura 2.6: Equipamento utilizado para o banho por Ultra-Sons	51
Figura 2.7: Representação visual do carvão ativado utilizado no presente estudo.....	53
Figura 2.8: Representação visual do MOFs do tipo MIL-100, disponibilizado pelo laboratório de Lavoisier.....	54
Figura 2.9: Representação visual do MOFs do tipo ZIF-8, obtido na sua forma comercial na Sigma-Aldrich	54
Figura 2.10: Representação do processo de empacotamento da coluna com carvão ativado.	56
Figura 3.1: Representação esquemática de uma curva de ruptura experimental e da quantidade adsorvida (q_e).....	60
Figura 3.2: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C, caudal de 5 mL/min e concentração de diclofenac de 0.1 mg/L para o Run 1.....	62
Figura 3.3: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C, caudal de 5 mL/min e concentração de diclofenac de 1 mg/L para o Run 2.....	63
Figura 3.4: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C, caudal de 1 mL/min e concentração de diclofenac de 5 mg/L para o Run 3.....	63
Figura 3.5: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C, caudal de 1 mL/min e concentração de diclofenac de 15 mg/L para o Run 4.....	64
Figura 3.6: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado <i>NORIT Sx Plus</i> à temperatura de 20°C, caudal de 1 mL/min e concentração de diclofenac de 30 mg/L para o Run 5.....	65
Figura 3.7: Isotérmica de equilíbrio de adsorvente do diclofenac a 20°C no carvão ativado NORIT Sx.....	65
Figura 3.8: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 1 mg/L.	68

Figura 3.9: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 5 mg/L.....	68
Figura 3.10: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 10 mg/L	69
Figura 3.11: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 30 mg/L.....	69
Figura 3.12: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de diclofenac de 1 mg/L.....	70
Figura 3.13: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de diclofenac de 5 mg/L.....	70
Figura 3.14: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de diclofenac de 10 mg/L	71
Figura 3.15: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de diclofenac de 30 mg/L.....	71
Figura 3.16: Isotérmicas de equilíbrio de adsorvente diclofenac e cafeína a 20°C no MOF ZIF-8 utilizando a água desionizada como eluente.....	72
Figura 3.17: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1mg/L.....	73
Figura 3.18: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 5mg/L.....	74
Figura 3.19: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 15mg/L.....	74
Figura 3.20: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 30mg/L.....	74
Figura 3.21: Curva de ruptura da diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1mg/L	75
Figura 3.22: Curva de ruptura da diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 5mg/L.....	75

Figura 3.23: Curva de ruptura da diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 15mg/L.....	76
Figura 3.24: Curva de ruptura da diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 30mg/L	76
Figura 3.25: Isotérmicas de equilíbrio de adsorvente diclofenac e cafeína a 20°C no MOF ZIF-8 utilizando a metanol como eluente.....	77
Figura 3.26: Curva de ruptura da diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1mg/L.....	79
Figura 3.27: Curva de ruptura da diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 5mg/L.....	79
Figura 3.28: Curva de ruptura da diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 10mg/L.....	80
Figura 3.29: Curva de ruptura da diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 30mg/L	80
Figura 3.30: Isotérmicas de equilíbrio de adsorvente diclofenac a 20°C no MOF ZIF-8 utilizando água desionizada como eluente.....	81
Figura 3.31: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1mg/L.....	82
Figura 3.32: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 5 mg/L.....	82
Figura 3.33: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 10 mg/L	83
Figura 3.34: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 30 mg/L.....	83
Figura 3.35: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 1 mg/L.....	84
Figura 3.36: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 5 mg/L	84

Figura 3.37: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 15 mg/L	84
Figura 3.38: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 30 mg/L	85
Figura 3.39: Isotérmicas de equilíbrio de adsorvente diclofenac e cafeína a 20°C no MOF MIL-100 utilizando a metanol como eluente.....	86
Figura 3.40: Curva de ruptura da dessorção de diclofenac para a concentração inicial de 15 mg/L de carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C e caudal de 1 mL/min.....	87
Figura 3.41: Curva de ruptura da dessorção de diclofenac para a concentração inicial de 30 mg/L de carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C e caudal de 1 mL/min.....	88
Figura 3.42: Curva de ruptura da dessorção do diclofenac para a concentração inicial de 1 mg/L de ZIF-8 à temperatura de 20°C e caudal de 3 mL/min em eluente metanol.....	89
Figura 3.43: Curva de ruptura da dessorção do diclofenac para a concentração inicial de 5 mg/L de ZIF-8 à temperatura de 20°C e caudal de 3 mL/min em eluente metanol.....	90
Figura 3.44: Curva de ruptura da dessorção do diclofenac para a concentração inicial de 15 mg/L de ZIF-8 à temperatura de 20°C e caudal de 3 mL/min em eluente metanol...	90
Figura 3.45: Curva de ruptura da dessorção do diclofenac para a concentração inicial de 30 mg/L de ZIF-8 à temperatura de 20°C e caudal de 3 mL/min em eluente metanol...	90

Capítulo 1

Introdução

O desenvolvimento de novos medicamentos não se concentra meramente na descoberta de novos fármacos. Desta forma, o desenvolvimento de uma forma farmacêutica adequada, pode ser a chave para transportar o fármaco para um local apropriado onde deve ser libertado para exercer o respetivo efeito terapêutico. Assim, relativamente ao desenvolvimento de uma forma farmacêutica apropriada, surgiu o termo “libertação controlada”, este sistema tem sido associado aos sistemas a partir dos quais, os fármacos são libertados a velocidades pré-definidas por um período de tempo prolongado após a sua administração.

O interesse nos sistemas de libertação controlada e dos materiais nanoporosos, que os constituem, fez estender as investigações sobre novos materiais com propriedades físicas específicas.

No mercado farmacêutico, já estão disponíveis alguns materiais nanoporosos utilizados com este objetivo, estes possuem estruturas bastante distintas, que variam desde as moléculas mais simples até aos complexos poliméricos de elevado peso molecular.

Os Metal-Organic Frameworks (MOFs) são uma coordenação de polímeros compostos com estrutura porosa que podem adsorver: gases, drogas, substratos, entre outros. Funcionando como transportadores ou armazenadores destas substâncias, e, recentemente foram considerados potenciais agentes de libertação controlada de fármacos [1]. Os MOFs têm um grande valor e interesse tecnológico na área da medicina e/ou farmacêutica podendo atuar como agentes de libertação controlada de fármacos.

Por outro lado, e conhecido desde algum tempo, existe o carvão ativado que é uma substância bastante porosa, este possui grande capacidade de captar e reter no seu interior, substâncias químicas de forma rápida e eficaz. O carvão ativado será estudado neste trabalho como um possível sistema de libertação controlada de fármacos.

A presente dissertação tem como objetivo, desenvolver uma metodologia experimental, a qual utiliza uma técnica de cromatografia frontal num sistema HPLC com o intuito de medir isotérmicas de adsorção e avaliar a cinética de dessorção da cafeína e do *diclofenac* (este conhecido como *Voltaren*), permitindo medir o grau de encapsulação e a eficiência da libertação controlada. Serão testados dois tipos de MOFs, o MIL-100 e o ZIF-8, bem como o carvão ativado *Norit SX PLUS*, como potenciais sistemas de libertação controlada.

A estrutura deste trabalho é composta por 4 capítulos. O primeiro capítulo apresenta a introdução, onde é focada a relevância do tema na atualidade e os objetivos a serem alcançados, serão também apresentados e enquadrados, os conceitos da literatura necessários à compreensão do trabalho desenvolvido.

Apresentar-se-á uma descrição sobre o que é e onde é empregada a libertação controlada (*drug delivery*). Abordar-se-á a os materiais que permitiram a realização deste estudo e dar-se-á alguns exemplos da sua aplicação, sendo que neste subtópico será dado uma ênfase especial aos MOFs, que são um ponto fulcral no trabalho desenvolvido. Ainda neste capítulo serão apresentados alguns dos trabalhos mais relevantes relacionados com o presente trabalho, focalizando os principais resultados obtidos para posterior comparação.

No capítulo 2 é apresentada a metodologia utilizada neste estudo sobre o qual, foi aplicada a técnica de cromatografia frontal num sistema de HPLC para medição da capacidade de encapsulação e de libertação controlada de fármacos, utilizando os MOFs e o carvão ativado como adsorventes. Foram medidas as isotérmicas de adsorção e a cinética de dessorção dos fármacos em questão.

No capítulo 3 são apresentados e discutidos os resultados do trabalho experimental e alguns destes são comparados com os trabalhos mencionados na literatura.

Finalmente no capítulo 4 são apresentadas as conclusões adquiridas com a realização deste estudo bem como algumas sugestões para a realização de trabalhos futuros.

1.1. Liberação controlada

O homem sempre teve necessidade de incrementar estratégias terapêuticas, ao longo dos séculos e com o avanço da tecnologia, estas estratégias têm vindo a ser aperfeiçoadas através da produção de fármacos. Neste contexto, o termo “fármaco” engloba todos compostos bioativos administrados com intuito terapêutico, desde moléculas de baixo peso molecular a proteínas e a material genético.

No entanto, quando um fármaco é administrado, apenas uma pequena fração da dose atinge o tecido alvo, onde a maior parte é desperdiçada, devido à sua distribuição por outros tecidos, e à sua metabolização ou excreção antes de atingir o local de ação [2].

Alguns fármacos também apresentam, uma ação de curta duração e após a sua administração, por via oral ou intravenosa, atingem um pico após o qual a sua ação diminui.

Devido a estes fatores, surgiu a necessidade de desenvolver soluções terapêuticas que permitam controlar a capacidade e o tempo de liberação do fármaco em áreas específicas do organismo para que, o benefício clínico da administração destes, seja maximizado e os efeitos adversos minimizados [3]. Estas novas soluções terapêuticas denominam-se sistemas de liberação controlada de fármacos.

A terminologia de liberação controlada de fármacos representa uma das principais inovações da ciência, a qual, tem contribuído para o avanço da tecnologia direcionada à saúde humana.

Os fármacos possuem uma banda de ação terapêutica acima do da qual, se torna tóxico e abaixo ineficaz, assim sendo, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas [5]. Os sistemas de liberação controlada de fármacos têm assim, como principal objetivo, manter a concentração do fármaco libertado na banda terapêutica evitando que ultrapasse a banda tóxica, e, diminuindo para a banda sub-terapêutica [4].

Esta descrição pode ser visualizada na Figura 1.1. Esta compara os dois métodos de liberação, o método convencional e o método de liberação controlada, demonstrando que o último mantém o medicamento no sangue na banda segura, tornando-o menos invasivo que o tratamento convencional.

Ao contrário do que ocorre na utilização de formas farmacêuticas de liberação convencional, como cápsulas e comprimidos, os sistemas de liberação controlada envolvem a associação química ou física dos fármacos com materiais biocompatíveis. Estes, quando administrados *in vivo*, devem possuir a capacidade de conduzir o fármaco até ao alvo específico onde, devem atuar e controlar de forma pré-determinada a taxa de liberação do fármaco a partir desse mesmo sistema, bem como, aumentar a eficácia terapêutica dos fármacos pela manutenção da sua concentração no organismo, dentro do intervalo terapêutico e abaixo do limiar tóxico. Ou seja, deve ocorrer uma diminuição significativa da toxicidade do fármaco nos órgãos saudáveis do organismo de modo a possibilitar um maior tempo de permanência do fármaco na circulação [6-8].

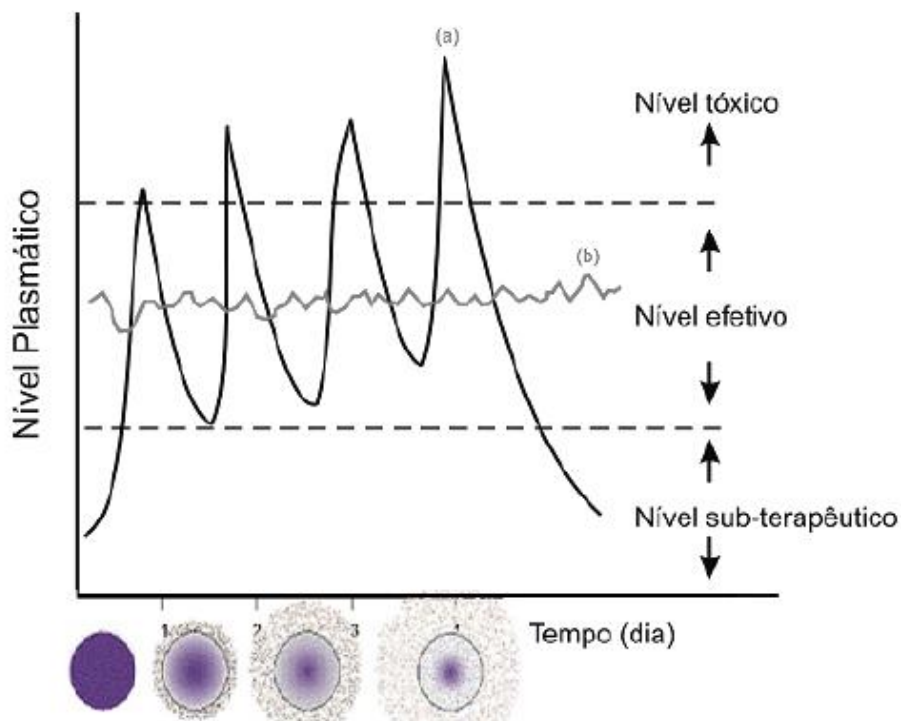


Figura 1.1: Representação dos sistemas de liberação controlada de fármacos [5].a) Tratamento convencional; b) Liberação controlada.

Atualmente a libertação controlada está diretamente associada à área da nanotecnologia, devido à utilização de nanopartículas para a criação de sistemas de libertação controlada. Estas têm como propósito, acumular o fármaco e otimizar o tempo de libertação deste, isto ocorre, porque as nanopartículas apresentam maior estabilidade na presença de certos fluidos biológicos e maior potencialidade terapêutica [5].

Portanto, é nas nanopartículas que o fármaco é dissolvido, aprisionado e encapsulado, uma vez contido nas nanopartículas, este é libertado por erosão difusão ou degradação.

Os sistemas de libertação controlada baseados em nanopartículas podem ser facilmente manipulados para que consigam reter o fármaco no seu interior durante o transporte, libertando-o apenas no local desejado, e também, para que consigam atravessar os capilares sanguíneos, podendo ser administrados por diversas vias, nomeadamente via oral, nasal, intraocular, parental entre outras [8,9].

Algumas das principais propriedades das nanopartículas são o seu tamanho reduzido, a alta capacidade de armazenamento de fármacos, as propriedades da superfície, a cinética da libertação, a biocompatibilidade e a melhoria da área da farmacocinética. Adicionalmente, as nanopartículas, podem ser especificamente dirigidas para tecidos doentes (por exemplo, tumores) os quais, são muito mais difíceis de alcançar com a terapia convencional [10].

A grande maioria dos estudos relacionados com nanopartículas, referem-se a sistemas de libertação controlada baseados em polímeros biodegradáveis, devido ao facto de estes serem materiais biocompatíveis, degradáveis, não tóxicos, sem resposta inflamatória e facilmente excretados pelo corpo [11].

Para além dos polímeros também outros materiais porosos, de entre os quais se destacam os MOFs (Metal-Organic Frameworks), têm sido alvo de investigação em aplicações de sistemas de libertação controlada, devido às suas características desejáveis como libertadores de fármacos, e ao facto de possuírem áreas de superfície elevadas. Os tamanhos de poros destes materiais são excepcionalmente grandes, para o encapsulamento dos fármacos. Estes, são também biodegradáveis e biocompatíveis [1]. Estas e outras características dos MOFs serão descritas de forma mais pormenorizada na secção seguinte.

1.2. MOFs (Metal-Organic Frameworks)

Como já foi mencionado na secção anterior os materiais nanoporosos têm atraído um enorme interesse por parte de variadas áreas em diversas aplicações, sendo o armazenamento e a libertação controlada de fármaco, a aplicação mais recente deste tipo de materiais e que tem suscitado bastante interesse por parte dos investigadores.

Os *Metal-Organic Frameworks* (MOFs) são avaliados como um desenvolvimento interessante e essencial da área da nanotecnologia nos últimos dez anos, estes são considerados como uma importante (r) evolução dos materiais nanoporosos e são detentores de uma grande versatilidade estrutural [12].

Os MOFs são estruturas formadas por iões metálicos ligados a moléculas orgânicas geralmente rígidas que geram uma rede porosa estendida [12,13]. Estes materiais possuem fortes ligações, uma área superficial grande, unidades ligantes disponíveis para modificação por síntese orgânica, baixa densidade e uma estrutura geometricamente bem definida. Estas propriedades implicam posteriormente que, estes sólidos sejam robustos e altamente cristalinos, as quais são um critério importante para estabelecer com precisão a relação estrutura-propriedade [13].

A elevada porosidade, as grandes áreas de superfície, a grande variedade de tamanhos, a topologia dos poros e o número infinito de estruturas destes biomateriais são características que tornam os MOFs como uma crescente alternativa perante os materiais nanoporosos tradicionais.

Os MOFs têm a capacidade de incorporar praticamente todo o tipo de catiões sejam eles di, tri, ou tetravalentes, bem como uma grande variedade de metais no seu estado estacionário de oxidação como: alcalinos, alcalino/terrosos, metais de transição, e elementos raros. Como componentes orgânicos, dá-se preferência às moléculas rígidas como por exemplo, sistemas aromáticos conjugados ao invés de moléculas flexíveis. Estas favorecem a preparação de MOFs cristalinos, porosos e estáveis. A escolha dos ligandos é sobretudo baseada no núcleo e inclui elementos como moléculas aromáticas policarboxílicas, bipyridinas, e poliazaheterociclos (imidazóis, triazóis, tetrazóis, pirimidinas, pirazinas) e os seus derivados. [13,14]

Do mesmo modo que ocorre na síntese dos copolímeros orgânicos, os blocos de um MOF são minuciosamente escolhidos, de modo a que as suas propriedades sejam retidas e exibidas pelo material produzido. Sabendo que é a natureza e a concentração dos monómeros num polímero orgânico que determinam as suas características físicas e óticas, nos MOFs, é a conectividade da rede de unidades de construção que determina as suas propriedades [14].

Consequentemente, a síntese de MOFs não requer somente a seleção e/ou preparação dos desejados módulos, mas também, alguma previsão de como estes se juntam no sólido final. O esqueleto tridimensional é constituído pela associação de SBU (*Secondary building Units-SBUs*). Estas são figuras geométricas simples que representam os aglomerados inorgânicos, que estão ligados conjuntamente pelo componente orgânico tipicamente linear) para formar o esqueleto [14, 15].

O sucesso de uma SBU baseia-se no direcionamento e rigidez das ligações, as quais, se devem manter viáveis durante o processo de “armação”. Na Figura 1.2 está demonstrado alguns dos exemplos de SBU’s que são normalmente encontradas nos MOFs.

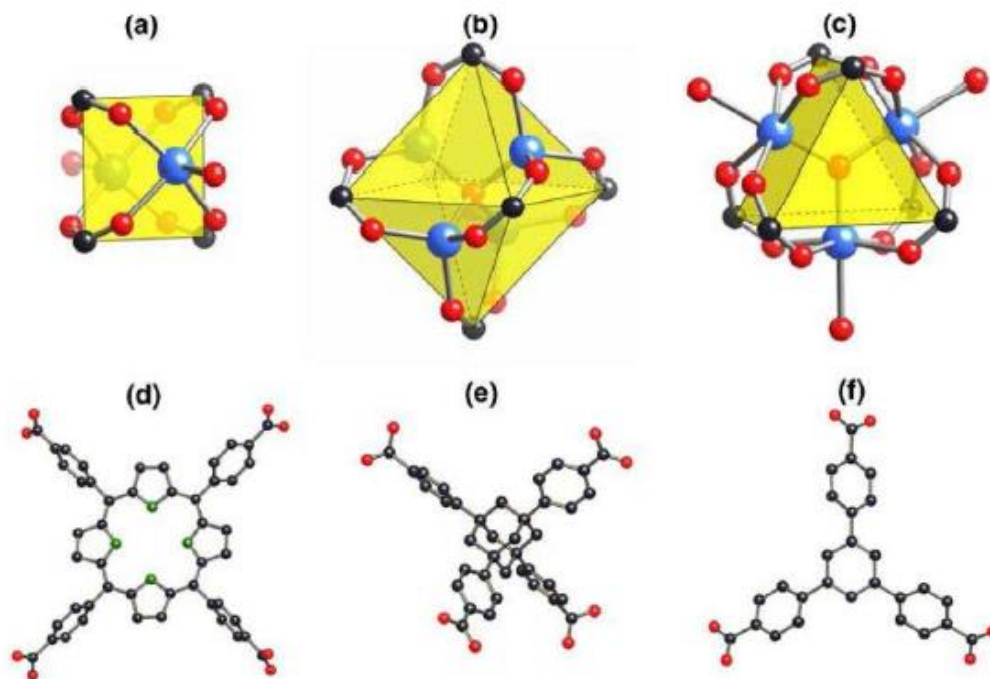


Figura 1.2: Representação de SBUs inorgânicas que ocorrem normalmente em metais carboxilatos incluindo (a) a “*paddlewheel*” quadrada, com dois sites terminais ligantes, (b) o aglomerado octaédrico de acetato de zinco básico e (c) trímero trigonal prismático, com três sites terminais ligantes. Os exemplos de SBUs orgânicas incluem as bases conjugadas do (d) quadrado “*tetrakis (4-carboxyphenyl) porphyrin*”, (e) “*tetrahedral adamantane-1,3,5,7-tetracarboxylic acid*”, e (f) “*trigonal 1,3,5-tris (4-carboxyphenyl) benzene*”. Na imagem os metais estão representados pelas esferas azuis, os carbonos pelas esferas pretas, o oxigênio pelas esferas vermelhas e o azoto pelas esferas verdes [15].

A maioria dos estudos experimentais que têm vindo a ser desenvolvidos utilizando MOFs, são dirigidos à síntese de novas estruturas e à caracterização experimental destes, existe também um grande número de estudos realizados na área de armazenamento de gás e separações de gases, como uma das áreas específicas de aplicação dos MOFs [1,16].

Como já foi mencionado, as propriedades físicas e químicas dos MOFs torna-los também candidatos promissores para aplicações como a libertação controlada de fármacos. Todavia, na literatura, esta área não tem sido tão amplamente explorada, quanto às aplicações na área do armazenamento de gás e de separação de gases [16].

O objetivo da utilização dos MOFs na área de libertação controlada de drogas consiste em criar transportadores que apresentem baixa toxicidade que sejam biocompatíveis.

Como qualquer nova classe de materiais, surgem preocupações que são inevitáveis em relação às propriedades toxicológicas. Os MOFs já estão disponíveis como uma ampla gama de compostos químicos, toxicologicamente aceitáveis para utilização em aplicações na área da saúde [17].

Como está representado na Figura 1.3 a função e a estrutura dos MOF combinada com as suas aceitáveis propriedades toxicológicas, de biodegradação, de biocompatibilidade e a sua estabilidade adequada e aceitável torna-os uma oferta promissora para posterior aplicação biológica [17, 18].

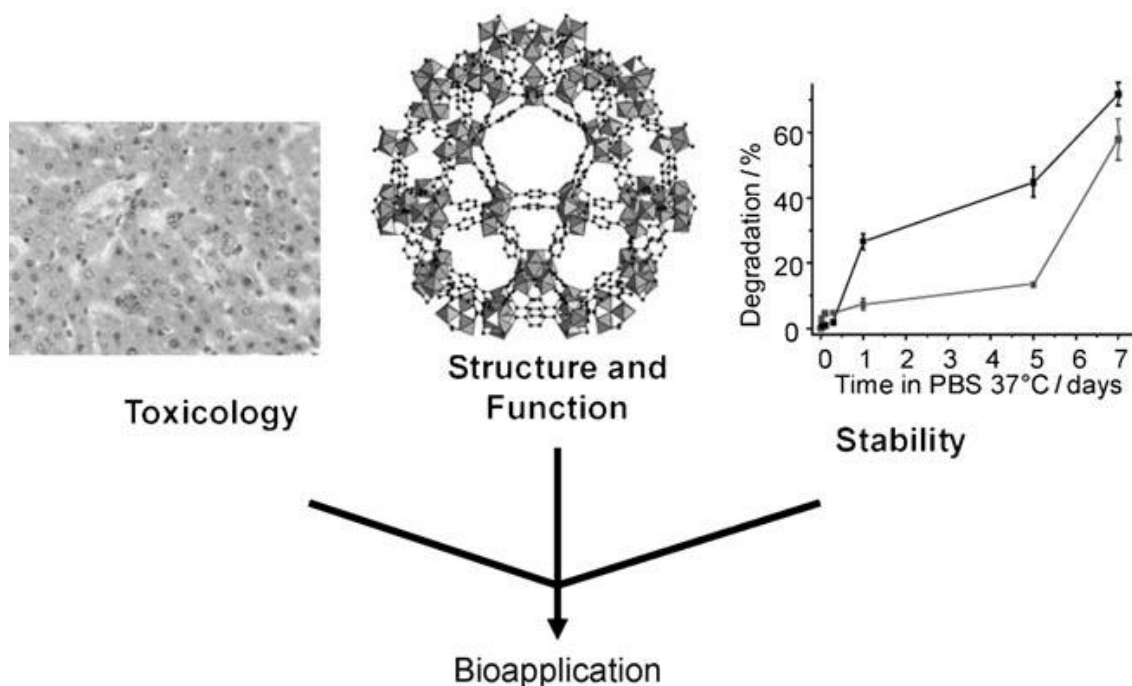


Figura 1.3: Representação esquemática, da estrutura e função do MOF combinado com as suas propriedades toxicológicas e de biodegradação adequadas, as quais, favorecem a sua bioaplicação [19].

Uma das aplicações biológicas mais importantes dos MOFs é o facto de estes serem potenciais nanoencapsuladores. Foram realizadas experiências utilizando o ibuprofeno como uma droga modelo. Ao longo destes testes, o MOF mostrou ter uma grande capa-

cidade de encapsulação (até 1,4 gramas de droga por grama de sólido poroso) e um tempo de libertação bastante longo (até três semanas em fluido corporal simulado) [19].

Esta abordagem tem sido ampliada com o uso de nanopartículas de MOF (nanoMOFs) compatíveis com a administração intravenosa representadas na Figura 1.4. Estes nanoMOFs, constituídos por carboxilatos de ferro porosos não tóxicos e biodegradáveis, são adequados para o encapsulamento e libertação controlada de um amplo número de moléculas terapêuticas, incluindo antitumores e medicamentos anti-retrovirais, bem como agentes cosméticos. As suas capacidades excepcionalmente elevadas de encapsulamento de drogas (até 42% do seu peso) bem como a libertação prolongada (de 3 a 14 dias), sem quaisquer efeitos de rutura, fazem dos nanoMOFs uma (r)evolução das nanopartículas [19].

Por exemplo, o MOF do tipo MIL-100 aprisiona entre 5 e 60 vezes mais do que o busulfano o melhor polímero existente e 20 vezes mais do que o mais conhecido transportador, o azidotimidina-trifosfato [14].

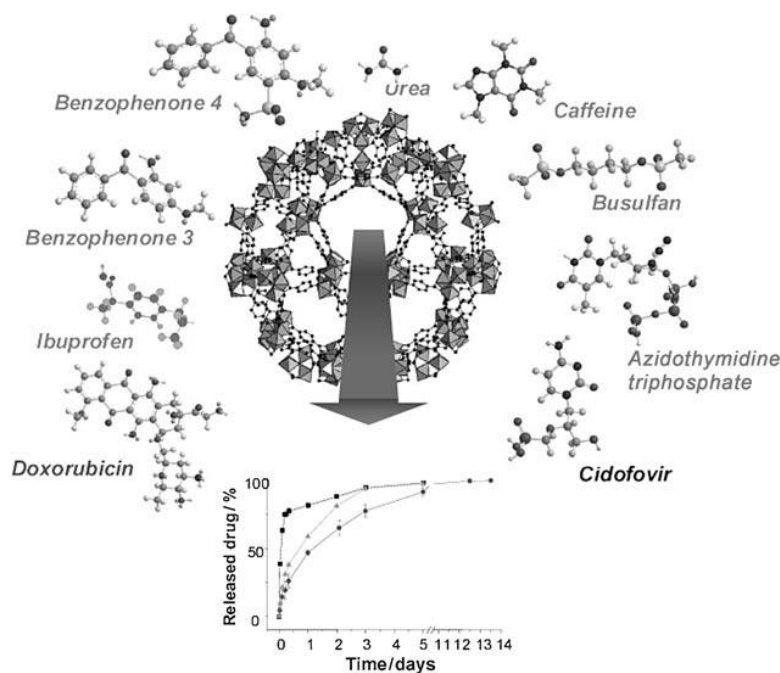


Figura 1.4: Representação de uma vasta variedade de moléculas de drogas com diferente estrutura e tamanhos que podem ser acomodados dentro do MOF, e em seguida libertadas lentamente ao longo de vários dias. A figura mostra o perfil de libertação controlada para o cidofovir (em cima), o trifosfato de azidotimidina (no centro), e a doxorubicina (na parte inferior) [19].

De acordo com os estudos já realizados e dos resultados obtidos, fica claro que um vasto número de fármacos com diferentes estruturas e tamanhos podem ser acomodados no interior dos MOFs, e, em seguida, libertados lentamente ao longo de vários dias.

Concluindo que estes são potenciais nanoencapsuladores para aplicações de libertação de fármacos devido às suas características apropriadas para este fim.

Ao longo do presente trabalho foram realizados testes com dois tipos de MOFs, o MIL-100 e o ZIF-8, com o objetivo de comprovar que estes são potenciais encapsuladores de fármacos e que podem ser utilizados como possíveis sistemas de libertação controlada de fármacos. As propriedades dos MOFs, MIL-100 e ZIF-8 serão apresentadas nos subtópicos seguintes.

1.2.1. ZIF-8

Os zeolitic *imidazolate frameworks* (ZIFs) são um grupo de MOFs isomorfos, constituídos a partir de composições tetraédricas de iões de metais de transição (por exemplo, Fe, Co, Cu, Zn) e por ligantes orgânicos de aniões de imidazol.

A estabilidade térmica dos ZIFs é superior à maioria dos MOFs, até 500 ° C, no entanto, os componentes orgânicos ainda estão presentes, limitando a sua estabilidade. Alguns dos mais importantes são o ZIF -8 (vendido pela Sigma Aldrich sob o nome Basolite™ Z1200).

Os ZIFs possuem uma estrutura altamente porosa, e elevada capacidade de absorção de CO₂. Os pequenos poros de ZIF-8 permitem a separação de hidrogénio a partir de moléculas de gás maiores.

1.2.2. MIL-100

A família de MOFs MIL (Material do Instituto Lavoisier) é constituída a partir de centros metálicos trivalentes e de ácidos carboxílicos em ponte como ligandos. Este tipo de MOFs são um potencial sistema de libertação controlada devido as suas características

atrativas porque possuem poros dilatados (25-34 Å), áreas de superfície (3100-5900 m² / g) e grande capacidade de incorporar grupos funcionais na *framework*.

1.3. Carvão ativado

O carvão ativado (CA) é definido como uma forma de carvão com uma estrutura altamente porosa, que proporciona uma grande área superficial. Este é um material quimicamente inerte e as suas propriedades dependem da matéria-prima, do processo e do tempo de ativação utilizados. Existem duas formas principais de carvão ativado: a forma granulada e a forma pulverizada (em pó) sendo, a última, a forma escolhida para a realização deste trabalho. Ambas as formas possuem distintas aplicações [20].

O carvão ativado pode ser fabricado a partir de uma vasta variedade de materiais, apenas é necessário que a matéria-prima contenha uma elevada percentagem de carbono.

A matéria-prima utilizada na fabricação do carvão ativado pode ser de origem vegetal como é o caso da madeira, da turfa, das sementes e das cascas de coco e nozes, de origem animal como por exemplo os ossos dos animais, e, de origem mineral como o petróleo, os carvões minerais, os plásticos, os pneus e o material betuminoso. O tipo de matéria-prima e o método de ativação são fatores de grande importância na preparação do carvão ativado, bem como a formação de sua estrutura porosa e a capacidade de adsorção deste.

O CA contém compostos inorgânicos devido à matéria-prima e aos aditivos utilizados durante a sua fabricação. Tem ainda um teor em hidrogénio entre 0,6 e 2,2%, de compostos de enxofre entre 0,04 e 0,62% e entre 0,38 e 0,62% do seu peso de azoto. No entanto, o tamanho dos microcristais é cem vezes mais pequeno que na grafite e as lâminas de carbono estão estruturadas de forma irregular. O facto de possuir uma microestrutura desordenada deixa, entre as lâminas, espaços vazios em forma de renda de dimensões moleculares, denominados de microporos. Por outro lado, o carvão ativado caracteriza-se por ter uma estrutura ramificada, onde os microporos (com tamanho inferior a 2 nm), os mesoporos (com tamanho compreendido entre 2 a 50 nm) e os macroporos estão ligados [21,22].

Outra propriedade importante do carvão ativado é a sua resistência à abrasão (dureza), que para a maioria dos carvões está compreendida entre 70 e 80%. Relativamente à sua porosidade, o tamanho médio dos poros está compreendido entre 10 Å e 0,01 cm [22].

Quanto à sua estrutura, os poros possuem uma forma cilíndrica ou uma forma cônica, sendo estes, os mais eficientes pois têm capacidade de adsorver moléculas de vários tamanhos, simultaneamente. O que não ocorre nos poros cilíndricos, devido à possibilidade de serem obstruídos por moléculas grandes na sua entrada [23]. Na Figura 1.5 é apresentado o esquema da estrutura dos poros do carvão ativado.

Relativamente às propriedades químicas do CA, estas dependem da presença ou ausência de grupos ácidos ou básicos sobre a superfície deste. Os grupos com oxigênio existentes na superfície do carvão são os que mais influenciam as características da superfície e o comportamento de adsorção do carvão ativado [24].



Figura 1.5: Esquema representativo da estrutura dos poros do carvão ativado [25].

A ativação do carbono envolve essencialmente dois processos: ativação térmica ou física e a ativação química [21,25]. A ativação térmica ou física é o mais utilizado dentre os processos conhecidos de preparação do carvão ativado. Neste caso é promovida uma decomposição da matéria carbônica, através do aquecimento lento do material sob condições anaeróbias controladas. A ausência de oxigênio assegura que o carvão não queime e seja transformado num material orgânico poroso. Após aquecimento, o produto é ativado quando exposto a uma mistura de vapor à temperatura de 900 a 1100°C. A es-

trutura resultante dos poros é uma consequência da quantidade de vapor e da temperatura empregada. Este processo de ativação gera microporos bem adaptados para adsorção de compostos orgânicos e/ou minerais em fases líquida e gasosa [23,24].

Por outro lado, e, menos frequente existe o processo de ativação química. Este consiste na desidratação inicial do material carbônico por meio de produtos como cloreto de zinco ($ZnCl_2$) ou ácido fosfórico (H_3PO_4) a uma temperatura entre 400 e 500°C. Posteriormente ocorre a ativação do carvão devido à ausência de ar. Este processo de ativação gera poros mais abertos e adequados à adsorção de moléculas grandes [24].

1.3.1. Aplicações do Carvão ativado na medicina

O carvão ativado é um material antigo utilizado, inicialmente, como um adsorvente e, posteriormente, como um catalisador. É utilizado em sistemas de filtragem, no tratamento de águas residuais e gases tóxicos resultantes de processos industriais, consequentes das indústrias química, alimentícia, farmacêutica, e, recentemente do ramo da medicina [20].

Estudos recentes têm verificado a presença de produtos farmacêuticos e produtos de higiene pessoal, nas águas residuais provenientes de áreas de saúde e laboratórios químicos. Estes compostos, são de difícil eliminação de entre a gama dos contaminantes, logo, não são completamente removidos pelos métodos de purificação tradicionais, o que os torna um perigo para a saúde humana.

Como solução deste problema, foram desenvolvidas novas tecnologias para o tratamento de águas residuais de entre estas, a adsorção de contaminantes através do carvão ativado é a mais eficaz [26-28].

Outro tipo de aplicação, e também alvo de estudo por parte dos investigadores acerca do carvão ativado, é o facto de este ter sido atualmente considerado um dos mais eficientes tratamentos em casos de intoxicação humana, sobretudo quando a assistência é realizada até 5 horas após a intoxicação. O carvão ativado adsorve a substância tóxica e diminui a quantidade disponível para absorção pelo sistema digestivo. Os seus efeitos colaterais são mínimos. As substâncias tóxicas adsorvidas pelos poros são eliminadas com o carvão através das fezes [26].

O carvão ativado é também utilizado no tratamento de úlceras da pele e na eliminação de gases intestinais. A sua utilização é indicada para eliminação de toxinas existentes no sangue no caso de doenças renais e hepáticas presentes no indivíduo [26].

Ao longo da análise e investigação dos diversos tipos de aplicações medicinais do carvão ativado e do estudo das suas características, durante este trabalho, surgiu a possibilidade de eleger o carvão ativado como um provável sistema de libertação controlada de fármacos, e, devido a essa razão, foi acrescentado ao capítulo 1 a caracterização deste material. Posteriormente mostrar-se-á o estudo similar ao dos MOFs, que foi realizado envolvendo o carvão ativado como um potencial sistema de libertação controlada de fármacos.

Novamente, é importante referir que a utilização do carvão ativado como um sistema de libertação de fármacos no organismo é apenas uma suposição do autor deste projeto, estando este ciente que, embora obtenha resultados promissores durante o estudo da capacidade de encapsulamento e posterior libertação dos fármacos através do carvão ativado, este material teria ainda que sofrer por vários processos com o objetivo de o tornar completamente biocompatível, sem alterar as suas capacidades de adsorção e dessorção. De qualquer das formas, e conseqüentemente, ao facto de apenas ser uma possibilidade, os resultados poderiam não confirmar esta hipótese.

Capítulo 2

Parte experimental

O estudo experimental consistiu na aplicação de uma técnica de cromatografia frontal num sistema de HPLC, para medir as curvas de rutura e obter as isotérmicas de adsorção da cafeína e do diclofenac.

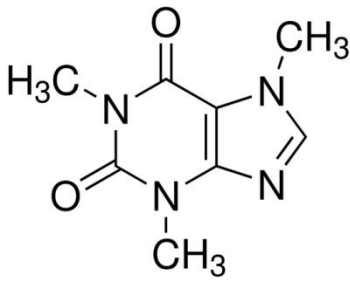
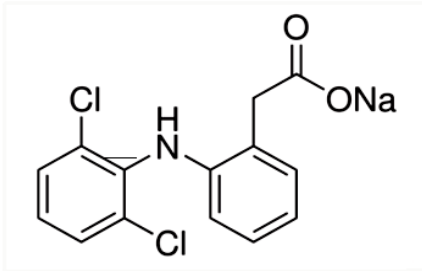
Nesta secção serão apresentados os reagentes e equipamentos utilizados, bem como o procedimento experimental realizado.

2.1. Reagentes utilizados

2.1.1. Adsorvatos

Os adsorvatos escolhidos para a realização do presente estudo foram, a cafeina e o diclofenac, adquiridos na Sigma-Aldrich (Pureza > 99%), os quais não foram submetidos a nenhum processo de purificação. A Tabela 2.1 ilustra a estrutura molecular, bem como as propriedades físico-químicas dos adsorvatos utilizados.

Tabela 2.1: Propriedades físicas dos adsorvatos utilizados: a cafeína e o diclofenac.

 <p>Cafeína</p>	Massa molecular: 194,19 [g/mol] Ponto de Ebulição: dados não disponíveis Ponto de Fusão: 234 - 236,5 [°C] Densidade relativa: 1,230 a 18 [°C] Solubilidade em água: 18,7 [g/l] a 16 [°C] Pressão de vapor: 20 [hPa] a 89 [°C]
 <p>Diclofenac sódico</p>	Massa molecular: 318.13 [g/mol] Ponto de Ebulição: dados não disponíveis Ponto de Fusão: 275 - 277 °C [°C] Densidade relativa: dados não disponíveis Solubilidade em água: 50 [mg/ml] Pressão de vapor: dados não disponíveis

2.1.2. Adsorventes utilizados

Foram avaliados 3 tipos de adsorventes, de entre os quais, o carvão ativado *Norit SX PLUS* e o MOF ZIF-8 foram adquiridos na sua forma comercial pela *Sigma-Aldrich* e não foram submetidos a nenhum pré-tratamento antes dos testes. No caso do MOF MIL-100, este, foi fornecido pelo laboratório Lavoisier.

A Tabela 2.2 apresenta as propriedades físicas do carvão ativado utilizado neste trabalho.

Tabela 2.2: Propriedades físicas do carvão ativado

Carvão ativado	
Aparência	Pó preto
Tamanho das partículas	6 [µm]
Densidade aparente	350 [Kg/m ³]
Área de superfície total	1100 [m ² /g]
Solubilidade	Insolúvel (H ₂ O e solventes orgânicos)

As propriedades físicas das MOF ZIF-8 estão representadas na Tabela 2.3. Por outro lado, e, devido ao facto do MOF MIL-100 ter sido fornecido pelo laboratório Lavoisier, as suas propriedades não foram disponibilizadas e portanto não foram acrescentadas no presente estudo.

Tabela 2.3: Propriedades físicas e químicas do ZIF-8

ZIF-8 (C₈H₁₂N₄Zn)	
Aparência	Pó Branco
Tamanho da partícula	4.9 µm
Peso molecular	229,60 [g/mol]
Área de superfície total	1300-1800 [m ² /g]
Solubilidade	Insolúvel (H ₂ O e solventes orgânicos)

2.2. Equipamento

2.2.1. Cromatografia líquida de alta performance (HPLC)

O sistema de HPLC ajustado para medir as curvas de rutura, é um equipamento da *Jasco*, que está esquematizado na Figura 2.1 e ilustrado na Figura 2.2.

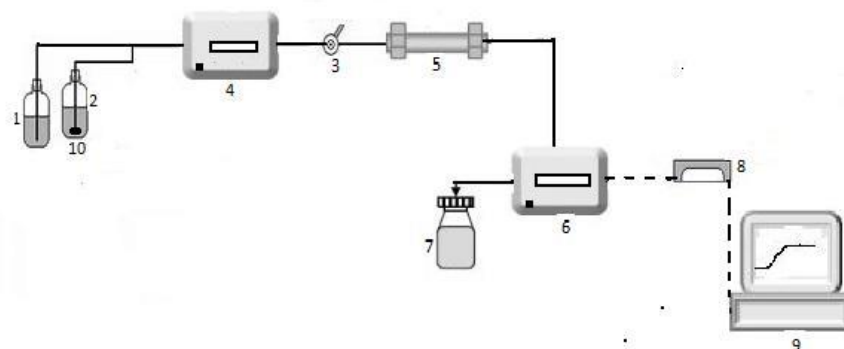


Figura 2.1:Esquema do equipamento experimental de HPLC.1) Frasco 1, 2) Frasco 2, 3) Switch, 4) Bomba, 5) Coluna, 6) Detetor, 7) Resíduos, 8) Processador de dados, 9) Computador e 10) Filtro.

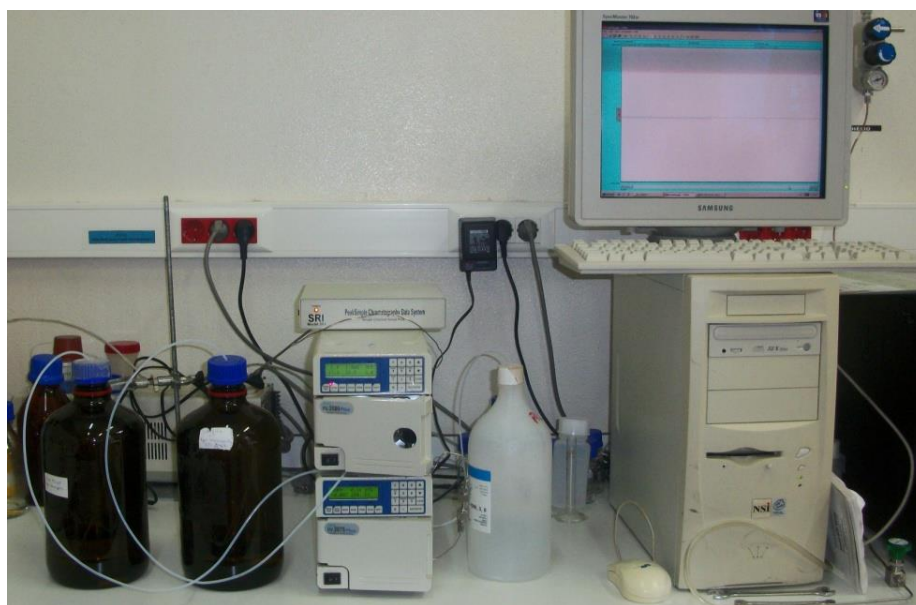


Figura 2.2:Equipamento de HPLC, *Jasco*, *PU-2080 plus*, *UV-2075 plus*.

Como está esquematizado na Figura 2.1. o equipamento de HPLC é constituído por uma bomba, *PU-2080 plus intelligent pump* (4) que bombeia o solvente presente no reservatório (2), denominado, fase móvel, até a coluna (5). É na coluna que ocorre a separação dos componentes da fase estacionária.

A captação da fase móvel é feita através de um filtro (10), que remove as partículas suspensas (impurezas) que podem obstruir a linha de passagem do líquido ou contaminar a bomba e a coluna.

A fase móvel tem tendência para dissolver gases como oxigénio e nitrogénio, portanto, deve ser previamente desgaseificada, de forma a não prejudicar a performance da coluna e do detetor, *UV-2075 plus intelligent detetor* (6). É também necessário ter atenção à quantidade de fase móvel existente no frasco, esta, nunca pode estar abaixo do filtro para não haver entrada de ar para que não ocorra formação de bolhas na linha de passagem até a bomba. Caso ocorra formação de bolhas recorre-se à purga, abrindo uma válvula existente na bomba e com ajuda de uma seringa é removido o ar pelo tubo de purga de maneira a que apenas transite fase móvel nos tubos. Este procedimento deve ser repetido sempre que se inicie um teste.

A fase móvel sai da coluna e circula até ao detetor (6) onde são identificadas as propriedades físicas específicas dos compostos. Esta identificação é transformada num sinal elétrico enviada para um processador de dados e descodificada pelo *software, SRI Peak Simple chromatography data system* (8), que converte a informação para o computador (9). Posteriormente os dados são analisados em *Excel*.

Após o reconhecimento da fase móvel, procede-se à alimentação da amostra na coluna. A alimentação da coluna foi realizada através da diluição das amostras estudadas, a cafeína e o diclofenac, na fase móvel, em todas as experiências. Quer na mistura da amostra, quer na fase móvel, deve proceder-se a uma desgaseificação prévia para dissolver melhor as partículas, assim como, evitar a formação de bolhas.

Deve ser aqui realçado que a mistura é preparada num recipiente diferente (1) do da fase móvel para garantir que a fase móvel existente no recipiente (2) tenha exclusivamente percorrido o sistema cromatográfico.

De seguida, é feito um *switch* (3). Ou seja, após o bombeamento completo da fase móvel, desde o recipiente até ao detetor, através do tubo correspondente à fase móvel, é, através do *switch* que é realizada uma troca. Assim, a bomba passa a bombear apenas a solução existente no frasco (1). De acordo com um caudal predeterminado, faz-se a alimentação, enchendo o tubo na totalidade. Este tem início no recipiente que contém esta solução (1) até a coluna que contém a fase estacionária (estrutura sólida e porosa) existente dentro da coluna.

A separação é efetuada na fase estacionária e baseia-se na diferença de tempo com que os solutos se distribuem entre a fase móvel e a estacionária. Devido a uma maior ou menor afinidade entre os solutos e ao adsorvente correspondente à fase estacionária, estes, têm conseqüentemente um maior ou menor tempo de retenção na coluna.

Por fim, o detetor mede de forma contínua as propriedades físico-químicas da amostra ou da solução que a contém, enviando um sinal através do *software Peak Simple* para ser registado no computador tal como foi mencionado anteriormente. A curva de rutura é visualizada continuamente no monitor do computador (9).

Após a leitura da absorvância pelo detetor (6) a solução é transportada por um tubo que faz a ligação do detetor até ao recipiente que armazena os restos (7).

Coluna

A coluna é um dos elementos principais do HPLC, pois é onde ocorre a separação dos componentes da amostra.

Inicialmente foram experimentadas colunas já existentes de estudos anteriores, visto que as dimensões da coluna são dependentes do processo escolhido e como os resultados iniciais obtidos, não estavam de acordo com os previstos, foi construída uma nova coluna de dimensões mais reduzidas.

Portanto, procedeu-se à construção de uma coluna de aço inoxidável, com um diâmetro interno uniforme de 4.6 mm e um comprimento de 4 cm.

Esta coluna foi utilizada para a realização de todos os testes do presente estudo, sendo empacotada com carvão ativado para as experiências iniciais e com dois tipos de MOF's, o ZIF8 e o MIL100 nas experiências seguintes.

O aspeto final da coluna construída está representado na Figura 2.3.



Figura 2.3: Coluna de aço inoxidável após a sua construção.

2.2.2. Bomba de vácuo e placa de agitação

Como já foi mencionado a degaseificação das soluções é o único meio mais eficaz para evitar problemas com um sistema HPLC.

A entrada de bolhas de ar no sistema faz reduzir a taxa de fluxo, e, conseqüentemente ocorre uma queda na pressão do sistema. Se a bolha é grande o suficiente, a bomba não empurra o solvente, e, se a pressão cai abaixo de um limite predefinido, a bomba pode parar. Esta dificuldade foi encontrada em algumas das experiências realizadas. O problema foi solucionado e os testes repetidos.

Pode ainda ocorrer a bolha passar através da solução até à bomba, mas ao chegar ao detetor, a pressão do sistema volta à pressão atmosférica e a bolha pode reaparecer dentro da célula de fluxo do detetor, causando picos no cromatograma.

Foram experimentadas duas técnicas de desgaseificação para minimizar o problema como: a purga com Hélio, realizada através de um difusor colocado nos reservatórios utilizados e a desgaseificação por meio de vácuo mais agitação.

No entanto, como o objetivo principal era remover o ar dissolvido para que não ocorresse formação de bolhas, foi utilizada a desgaseificação por vácuo através de uma bomba de vácuo, com agitação recorrendo a um íman magnético e a uma placa de agitação, como se pode visualizar na Figura 2.4. Este último foi o processo mais eficaz e que melhor se adaptou às condições de trabalho, portanto foi esta a técnica escolhida e utilizada ao longo deste estudo.



Figura 2.4: Kit de sucção. A) Bomba de vácuo. B) Placa de agitação. C) Íman magnético.

2.2.3. Sistema de desionização

Neste trabalho foi utilizada a água depois de desionizada como eluente. A desionização é um processo que consiste na remoção total dos iões presentes na água destilada, através de resinas catiónicas e aniónicas. Este processo remove da água nitratos, cálcio e magnésio, bário, chumbo e algumas formas de rádio.

A desionização da água foi possível através do equipamento de desionização *Barnstead EASYpure UV Compact Ultra Pure Water System*, representado pela Figura 2.5, disponibilizado pelo laboratório de química analítica.

É necessário referir que, ao longo de toda a prática experimental, foi utilizada grande quantidade de água destilada para posterior desionização, dispensado pelo laboratório de práticas químicas, e, também, que o processo de desionização é um processo muito moroso, demorando aproximadamente 40 minutos por litro de água desionizada.



Figura 2.5: Representação do equipamento de desionização: A) Recipiente de água destilada; B) *Barnstead EASYpure UV Compact Ultra Pure Water System*; C) Recipiente de armazenamento de água desionizada.

2.3. Procedimento experimental

2.3.1. Manutenção do sistema de HPLC

Antes da realização de qualquer experiência era necessário proceder-se à manutenção do equipamento de HPLC.

O procedimento de limpeza do sistema foi seguido pelo manual de instruções do mesmo e consistia na remoção dos tubos e filtros. Os filtros eram colocados num gobelé com acetona pura e este era colocado em banho por ultra-sons como representado na Figura 2.6, durante 15 minutos.



Figura 2.6: Equipamento utilizado para o banho por ultra-sons.

Após o banho por ultra-sons, os filtros eram novamente colocados no sistema e depois do equipamento estar novamente equipado, a sua limpeza era completada pela passagem de uma solução ácida (solução diluída de ácido nítrico 1%) pelos tubos do equipamento de modo a alcançar todos os orifícios e cavidades inacessíveis do sistema de HPLC.

Uma maneira de verificar se o equipamento de HPLC estava funcional, era verificar fatores como a pressão e o caudal.

Esta etapa era realizada recorrendo à passagem de água desionizada, a uma proveta de 10 ml e a um cronómetro. Era medido durante um minuto a quantidade de água que saía do equipamento para a proveta, assim, era possível verificar se o caudal real era igual ao caudal da bomba predefinido para cada teste.

É importante referir que o caudal era também verificado várias vezes no decorrer de cada teste.

2.3.2. Testes de calibração

Após a manutenção do sistema e antes do início de cada experiência, eram realizados testes de calibração. Durante estes testes, a coluna era empacotada com esferas de vidro com um diâmetro de 1 mm.

Estes testes tinham como objetivo, medir a absorvância obtida em cada experiência para definir o comprimento de onda, que seria posteriormente utilizado na experiência de adsorção em questão.

2.3.3. Estimativa do tempo experimental de uma curva de ruptura

Nas primeiras experiências deste trabalho, utilizou-se como adsorvente o carvão ativado e o diclofenac como adsorvato. A água utilizada em todos os ensaios era água desionizada, como já foi mencionado na secção 2.2.3.

É sabido pela literatura que o carvão ativado tem grande capacidade de adsorção [28], por isso, numa primeira fase, era necessário estimar o tempo (t) que iria decorrer em cada experiência, e, do mesmo modo o volume (V) de reagentes necessários para tal de maneira a não ocorrer falhas na obtenção dos resultados.

O tempo de cada ensaio era estimado através da seguinte equação:

$$t = \frac{m_{adsorvente}}{Q} * \frac{q_0}{C_0} \quad (2.1)$$

admitindo que :

$$q_0 = 250 \text{ mg/g}_{adsorvente} \text{ [28]}.$$

Ao estimar o tempo (t) que iria demorar o ensaio poder-se-ia também estimar o volume de água desionizada que iria ser necessário através da seguinte equação:

$$V_{\text{água}} = Q * t \quad (2.2)$$

Apenas foi necessário recorrer às equações anteriores quando realizados os teste com carvão ativado. A dedução do tempo que iria decorrer cada experiência, e, consequentemente o volume de solução necessários, foi um auxílio importante, visto que o tempo dos testes era extenso e alguns decorriam durante vários dias.

2.3.4. *Preparação das soluções*

Este subtópico explica o procedimento adotado na preparação das soluções. Foram realizados vários ensaios no decorrer desta investigação, para melhor compreensão do leitor, os testes efetuados estão itemizados de seguida:

- Ensaio utilizando o carvão ativado em questão como adsorvente. O carvão ativado pode ser visualizado na Figura 2.7;
- Foram preparadas soluções com concentrações de 0.1, 1, 5 e 30 mg de diclofenac por litro de água desionizada,



Figura 2.7: Representação visual do carvão ativado utilizado no presente estudo.

- Ensaio utilizando MOFs como adsorvente;

Como já foi mencionado, utilizaram-se dois tipos de MOFs, o MIL-100, representado pela Figura 2.8, e o ZIF-8 também representado na Figura 2.9. Em ambos foram testa-

das as mesmas concentrações das soluções, com as mesmas condições para posterior comparação;

- Foram preparadas soluções com concentrações de 1, 5, 10 e 30 mg de diclofenac por litro de água desionizada,
- Foram preparadas soluções com concentrações de 1, 5, 10 e 30 mg de cafeína por litro de água desionizada,
- Foram preparadas soluções com concentrações de 1, 5, 10 e 30 mg de diclofenac por litro de metanol,
- Foram preparadas soluções com concentrações de 1, 5, 10 e 30 mg de cafeína por litro de metanol.



Figura 2.8: Representação visual do MOFs do tipo MIL-100, disponibilizado pelo laboratório de Lavoisier.



Figura 2.9: Representação visual do MOFs do tipo ZIF-8, obtido na sua forma comercial na Sigma-Aldrich.

Inicialmente é retirado o fármaco em estudo com o auxílio de uma colher e colocado num vidro de relógio para ser pesado na balança, e acertada a quantidade pretendida. Após a obtenção da quantidade exata do fármaco, esta é vertida cuidadosamente para um balão volumétrico de 1000 ml.

Adiciona-se ao balão volumétrico um pouco do eluente em questão e agita-se para ajudar a dissolver o fármaco existente no interior deste. Por fim, perfaz-se o limite do balão volumétrico com o eluente.

Depois da solução terminada, esta é vertida para um frasco de vidro e colocada a desgaseificar (ver secção 2.2.2) durante o tempo necessário, com o objetivo de auxiliar a diluição do fármaco e retirar as bolhas de ar.

Este procedimento é repetido de igual forma para todas as concentrações, no caso dos ensaios com o carvão ativado é necessário preparar várias soluções para cada ensaio.

Durante a desgaseificação da solução inicial procede-se a preparação da fase móvel. Este procedimento é mais simplificado, apenas é necessário encher o recipiente da fase móvel (recipiente 2 da Figura 2.1) com água desionizada e este é também colocado a desgaseificar.

A segunda fase deste procedimento experimental corresponde ao enchimento da coluna com o adsorvente. Uma certa quantidade de carvão ativado é colocada num vidro de

relógio para ser pesada e o valor obtido da massa do adsorvente é apontado. Com o auxílio de uma colher, a coluna é empacotada com o adsorvente. No caso de esta quantidade não perfazer a totalidade da coluna é necessário adicionar mais quantidade de adsorvente. Este procedimento pode ser visualizado na Figura 2.10.



Figura 2.10: Representação do processo de empacotamento da coluna com carvão ativado.

É importante mencionar que o valor da massa total do adsorvente existente na coluna, é necessário para a análise dos resultados obtidos posteriormente, por isso, tem de existir rigor na obtenção deste valor.

Por fim, a coluna é selada colocando nas suas extremidades os *fritz* com 0.1 μm , esta, é adicionada ao equipamento de HPLC com o auxílio de chaves inglesas próprias é ajustada ao equipamento,

Os frascos que contêm as soluções, depois de devidamente desgaseificadas, são colocados nas suas posições (ver Figura 2.1) e levam-se a cabo as experiências de adsorção a 20°C, utilizando um caudal predefinido para cada uma delas.

Finalmente determinam-se as curvas de rutura com o auxílio do *software Peak Simple* (ver secção 2.2.1), e são construídas as isotérmicas de adsorção pelo *software Excel*. Este processo é idêntico e por isso, repetido para todos os ensaios.

No capítulo seguinte poder-se-á visualizar as curvas de rutura e as isotérmicas obtidas para cada caso.

2.4. Dificuldades e desvantagens

Ao longo da parte experimental deste trabalho foram encontradas algumas dificuldades ao nível de vários aspetos, como por exemplo:

- Como já foi mencionado, durante toda a prática experimental foram utilizadas enormes quantidades de água destilada para posterior desionização, esta água era dispensada pelo LPQ, mas, para além de apenas ser dispensada fora de horário de aulas, o processo de destilação de grandes quantidades de água é também bastante demorado.
- A mesma dificuldade surgiu no processo de desionização. O equipamento só poderia ser utilizado quando não estivesse a ser utilizado pelos responsáveis do LQA. O processo de desionização é também um processo bastante lento.
- O LQA apenas disponibilizava de um kit de sucção, portanto, só era possível desgaseificar um frasco de cada vez e apenas quando este não fosse necessário no laboratório.

O equipamento de desionização deixou de funcionar no mês de junho, este facto impossibilitou a realização de alguns testes inicialmente previstos. Esta foi a razão pela qual, apenas foi testado a encapsulação e libertação controlada do diclofenac no adsorvente carvão ativado.

Foi desperdiçado bastante tempo. Tempo, este, que não pôde ser aplicado na realização de mais experiências submetidas a condições diferentes das estudadas.

Todos os problemas mencionados anteriormente não facilitaram a realização desta dissertação, visto que todos os itens tinham de obrigatoriamente realizados.

Capítulo 3

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados experimentais foram tratados usando as ferramentas *Microsoft Excel* e o *PeakSimple* (software inerente ao equipamento utilizado durante o processo).

Esta secção inicia-se com uma breve explicação acerca da capacidade adsorção dos materiais e apresentar-se-á uma equação utilizada para este cálculo.

Os resultados experimentais, bem como a sua análise, estão divididos em duas partes: i) inicialmente serão apresentados os resultados obtidos dos testes com carvão ativado e ii) por fim os resultados obtidos utilizando MOFs como adsorvente.

Também serão apresentadas as dificuldades ocorridas na realização das atividades.

3.1. Capacidade de adsorção

Como já foi mencionado, no presente trabalho, foi utilizada uma técnica de cromatografia frontal num sistema HPLC, esta é, um tipo de cromatografia na qual a amostra é introduzida continuamente na coluna. Os componentes da amostra migram através da coluna a diferentes velocidades e eventualmente surgem em várias frentes. Somente o composto menos retido, sai da coluna puro, podendo ser por isso isolado, todos os outros componentes saem da coluna como regiões mistas. O cromatograma resultante de uma experiência de cromatografia frontal denomina-se como curva de rutura (em inglês *breakthrough curve*).

Ao longo de cada experiência, dá-se a adsorção do fármaco nos poros do adsorvente até ao instante em que o leito começa a saturar. A partir desse momento, o detetor acoplado à saída da coluna começa a registar um sinal relativo à concentração de soluto na corrente de saída. O sinal aumenta de forma relativamente brusca até ser atingido um novo estado de equilíbrio que se caracteriza por uma concentração de adsorvido em equilíbrio, c_e , e por uma quantidade de adsorvato em equilíbrio, q_e . Deste registo, obtém-se um cromatograma semelhante ao da Figura 3.1

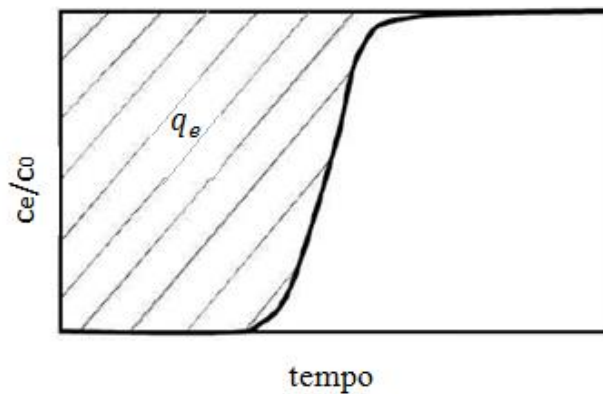


Figura 3.1: Representação esquemática de uma curva de rutura experimental e da quantidade adsorvida (q_e).

Neste tipo de experiências é necessário estabelecer uma relação entre o sinal recolhido pelo detetor e a concentração efetiva, realizando para isso uma calibração. Devido à imensa quantidade de pontos experimentais recolhidos ao longo de uma breakthrough, a quantidade adsorvida pode ser determinada com grande rigor recorrendo a um método simples de integração numérica dada pela equação 3.1. Na Figura 3.2, a quantidade adsorvida corresponde à área a sombreado.

$$q_e = \frac{(c_0 - c_e)}{m} V \quad (3.1)$$

Em que, q_e , é a quantidade adsorvida de fármaco (mg/g), c_0 e c_e , as concentrações do fármaco inicial e em equilíbrio, respetivamente (mg/L), V é o volume da solução injetada no tempo t e m é a massa de adsorvente (g).

3.2. Carvão ativado

Para conseguir obter as isotérmicas de adsorção, é necessário efetuar experiências de *breakthrough*, de forma a conseguir determinar a quantidade adsorvida do diclofenac sobre o adsorvente carvão ativado.

É de salientar que apenas foi possível realizar experiência utilizando o diclofenac como adsorvato.

Todas as experiências foram realizadas a 20°C, utilizando água desionizada como eluente, existindo apenas variação da concentração do diclofenac.

Na tabela 3.1, pode observar-se a informação completa acerca das experiências de carvão ativado, nomeadamente, o fármaco em estudo, a concentração inicial do adsorvente, a massa de adsorvente, o caudal, a temperatura, o comprimento da coluna e o comprimento de onda utilizado para cada experiência.

Tabela 3.1: Condições experimentais dos diferentes ensaios realizados com diclofenac no carvão ativado.

Experiência	adsorvato	C ₀ [mg/L]	Q [ml/min]	Massa do adsorvente [g]	Cumprimento da coluna [cm]	T [°C]	Comprimento de onda (λ) [nm]
Run 1	diclofenac	0.1	5	0.1255	4.0	20	200
Run 2	diclofenac	1	5	0.1386	4.0	20	280
Run 3	diclofenac	5	1	0.1146	4.0	20	280
Run 4	diclofenac	15	1	0.1118	4.0	20	280
Run 5	diclofenac	30	1	0.1167	4.0	20	280

Curvas de rutura (Breakthrough curves)

De seguida serão apresentadas as curvas de rutura típicas obtidas do composto diclofenac sobre o carvão ativado NORIT Sx Plus.

A Figura 3.2 representa a curva de ruptura obtida para o Run 1, onde foi utilizado um caudal de 5 mL/min, uma concentração de diclofenac de 0.1 mg/L e uma massa aproximada de 0.13 g de carvão ativado empacotada na coluna. É possível verificar que o tempo de saturação do carvão neste caso ronda as 200 horas, embora o caudal seja elevado a experiencia foi bastante demorada e a capacidade de adsorção do carvão neste caso rondou cerca de 32 mg/g.

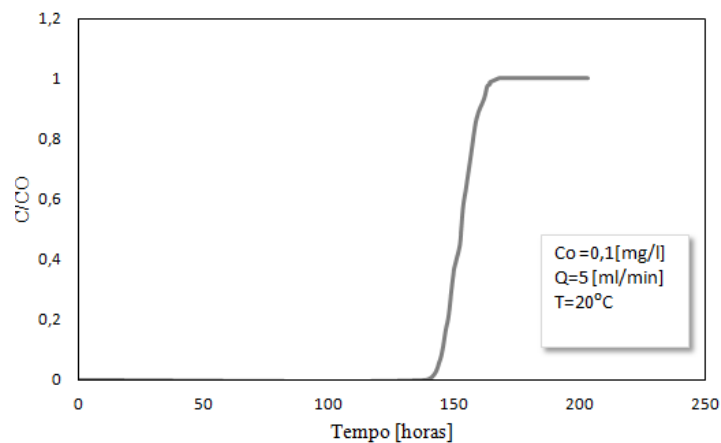


Figura 3.2: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C, caudal de 5 mL/min e concentração de diclofenac de 0.1 mg/L para o Run 1.

A Figura 3.3 representa a curva de ruptura obtida para o Run 2, neste caso foi, também utilizado um caudal de 5 mL/min, aumentando-se a uma concentração de diclofenac para 1 mg/L, a massa de carvão ativado empacotada na coluna foi 0.14 g. É possível verificar que o tempo de saturação do carvão neste caso foi de aproximadamente 250 horas e a capacidade de adsorção do carvão neste caso rondou cerca de 46 mg/g.

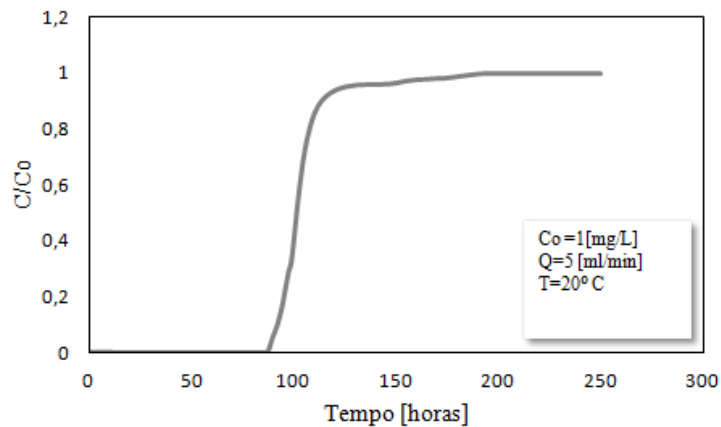


Figura 3.3: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C, caudal de 5 mL/min e concentração de diclofenac de 1 mg/L para o Run 2.

No Run 3, houve necessidade de diminuir o caudal para 1 mL/min, devido a um aumento de pressão brusco que não era suportado pelo equipamento. Neste ensaio, utilizou-se uma concentração de diclofenac de 5 mg/L e uma massa de 0.12 g de carvão ativado. A Figura 3.4 demonstra que o tempo de saturação do carvão neste caso foi de aproximadamente 80 horas e a capacidade de adsorção do carvão neste caso rondou cerca de 110 mg/g.

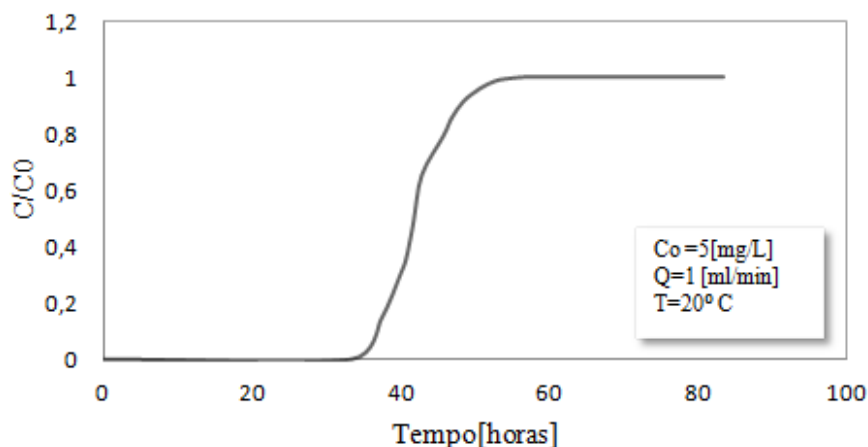


Figura 3.4: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C, caudal de 1 mL/min e concentração de diclofenac de 5 mg/L para o Run 3.

A Figura 3.5 representa a curva de ruptura obtida para o Run 4. Foi mantido um caudal de 1 mL/min, aumentou-se de novo a concentração de diclofenac para 15 mg/L e utilizou-se uma massa de 0.11 g de carvão ativado. É possível verificar que o tempo de saturação do carvão nestas condições foi de aproximadamente 160 horas e a capacidade de adsorção do carvão foi de cerca de 279 mg/g.

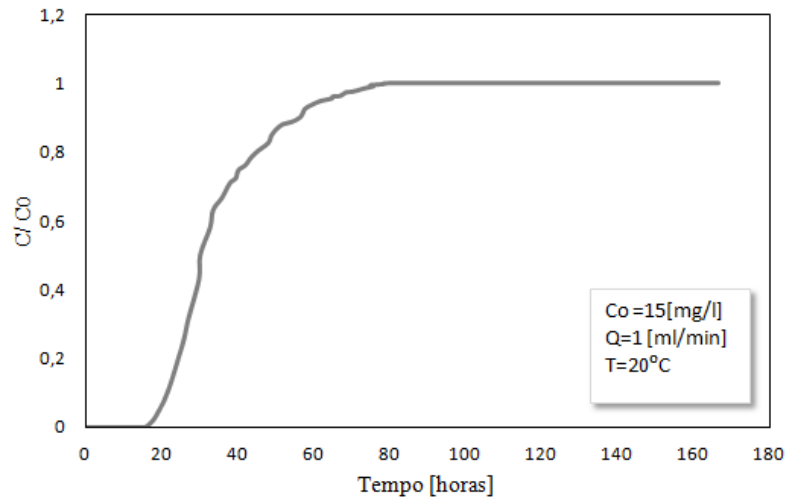


Figura 3.5: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C, caudal de 1 mL/min e concentração de diclofenac de 15 mg/L para o Run 4.

Por último, a curva de ruptura obtida para o Run 5 está representada na Figura 3.6. Foram mantidas as mesmas condições anteriores, alterando apenas a concentração de diclofenac para 30 mg/L. É possível verificar que o tempo de saturação do carvão nesta experiência aproximou-se das 135 horas, obtendo-se uma capacidade de adsorção do carvão de cerca de 385 mg/g.

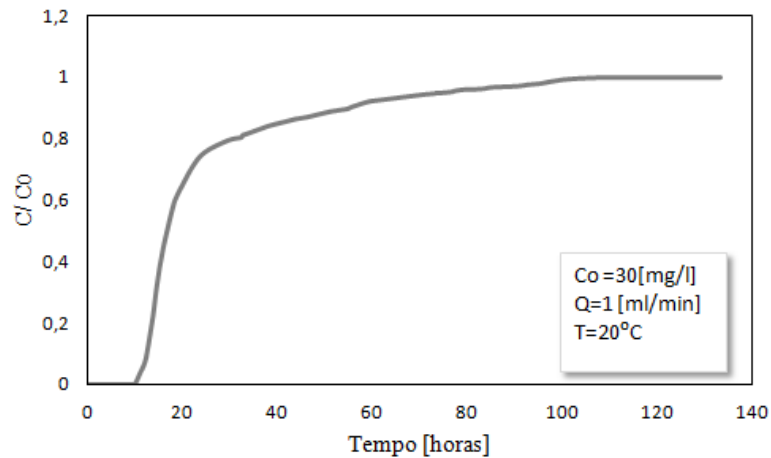


Figura 3.6: Curva de ruptura do diclofenac em carvão ativado *NORIT Sx Plus* à temperatura de 20°C, caudal de 1 mL/min e concentração de diclofenac de 30 mg/L para o Run 5.

Isotérmicas de adsorção

Representando num referencial os valores da capacidade de adsorção do diclofenac no carvão em equilíbrio em função da concentração do diclofenac, obtém-se a isotérmica de adsorção.

A Figura 3.7 mostra a isotérmica de adsorção do diclofenac sobre o carvão ativado à temperatura de 20°C.

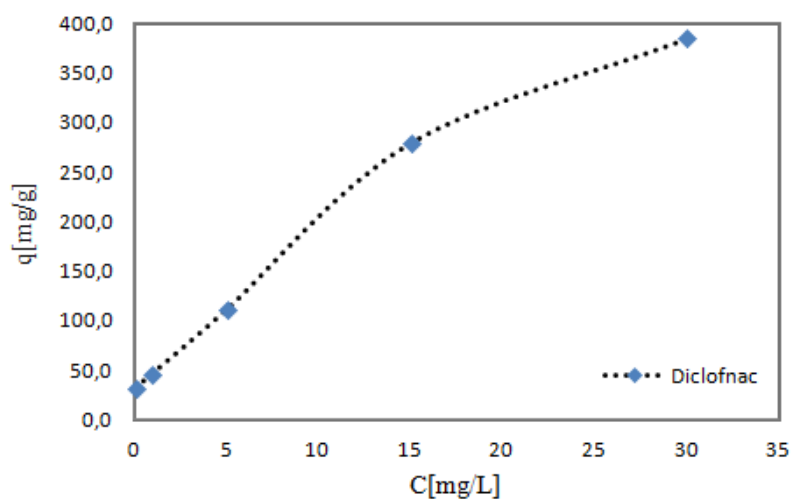


Figura 3.7: Isotérmica de equilíbrio de adsorção do diclofenac a 20°C no carvão ativado NO-RIT Sx PLUS.

Convém notar que num estudo recente da adsorção de diclofenac em carvão ativado da Calgon Filtrasorb 400 observou-se que, a adsorção deste composto não atingia valores muito elevados [28].

Pelo contrário, no presente estudo de adsorção do carvão ativado, foi possível verificar que a capacidade de adsorção de diclofenac sobre o carvão ativado *NORIT Sx Plus* é bastante elevada com valores que podem atingir 385 mg/g para concentrações de diclofenac da ordem dos 30 mg/L.

3.3. MOFs

Após a realização do estudo do equilíbrio de adsorção do diclofenac em carvão ativado realizou-se este mesmo estudo utilizando MOFs que geralmente apresentam um elevado volume poroso com elevada capacidade de adsorção de compostos como o ibuprofeno [19].

De seguida serão apresentados os resultados experimentais obtidos para dois tipos de MOFs: o MIL-100 e o ZIF- 8. Como já foi mencionado em cada um deste tipo de MOFs utilizou-se dois tipos de eluente: água desionizada e metanol.

3.3.1. ZIF-8

Com o objetivo de avaliar a capacidade de adsorção do ZIF-8 foram realizadas experiências utilizando a cafeína e o diclofenac como adsorvato com concentrações de 1, 5, 10 e 30 mg/L e um caudal volumétrico de 4ml/min. É importante referir que, ao contrário das experiências efetuadas com carvão ativado, nas experiências realizadas com os MOFs a coluna era empacotada apenas uma vez, ou seja foi utilizado sempre a mesma massa de adsorvente para as diferentes concentrações de cada um dos fármacos utilizados (cafeína e diclofenac). Neste caso a coluna foi empacotada com uma massa de 0, 15 g de ZIF-8.

Os ensaios foram realizados à temperatura de 20°C, utilizando água desionizada como eluente. A Tabela 3.2 resume as condições de funcionamento de cada experiência.

Tabela 3.2: Condições experimentais dos ensaios realizados com ZIF-8 como adsorvente, água desionizada como eluente, e adsorvatos a cafeína e o diclofenac.

Experiência	adsorvato	C ₀ [mg/L]	Q [ml/min]	Massa do adsorvente [g]	Comprimento da coluna [cm]	T [°C]	Comprimento de onda [nm]
Run 1	cafeína	1	4	0,1509	4.0	20	280
Run 2	cafeína	5	4	0,1509	4.0	20	280
Run 3	cafeína	10	4	0,1509	4.0	20	280
Run 4	cafeína	30	4	0,1509	4.0	20	280
Run 5	diclofenac	1	4	0,1509	4.0	20	260
Run 6	diclofenac	5	4	0,1509	4.0	20	280
Run 7	diclofenac	10	4	0,1509	4.0	20	280
Run 8	diclofenac	30	4	0,1509	4.0	20	290

Curvas de rutura (Breakthrough curves)

Tal como para as experiências de adsorção sobre o carvão ativado, para obter as isotérmicas de adsorção do ZIF-8, é necessário primeiro realizar experiências de breakthrough e determinar a quantidade adsorvida de cada composto.

As Figuras 3.8, 3.9, 3.10 e 3.11, apresentam as curvas de rutura da adsorção de cafeína no MOF ZIF-8 para um caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 1, 5, 10 e 30 mg/L, utilizando água desionizada como eluente. Em todos os casos observa-se a rutura da cafeína logo após 1 min o que revela que a capacidade de encapsulação é pequena nestas condições.

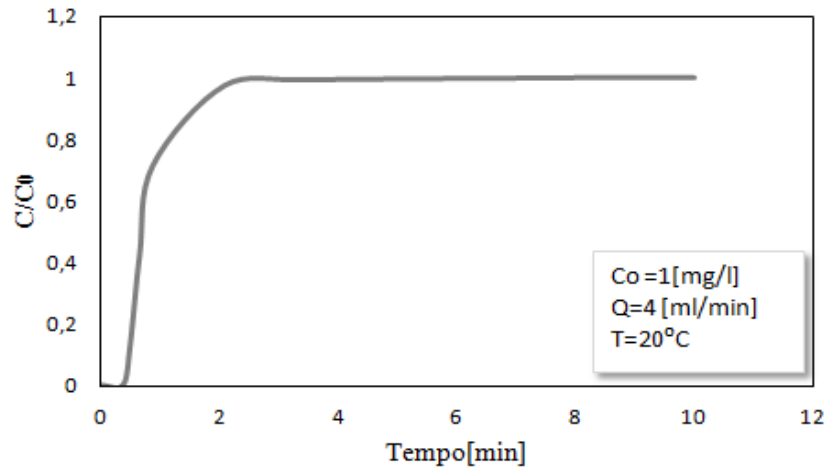


Figura 3.8: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 1 mg/L.

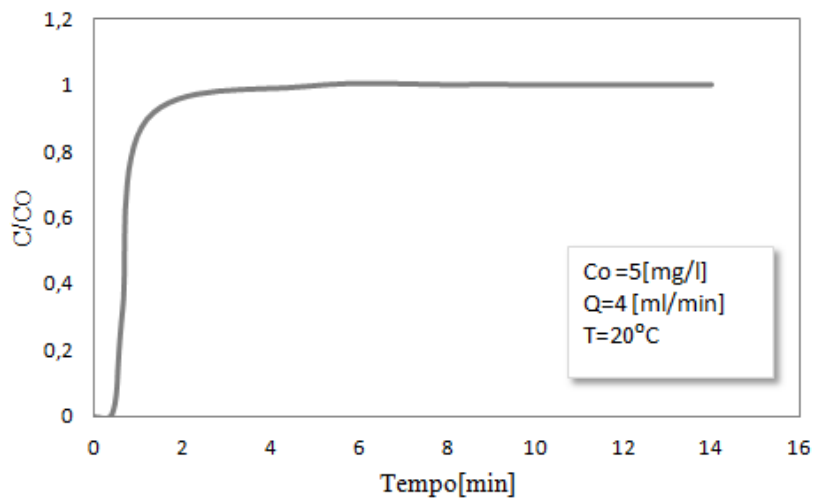


Figura 3.9: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 5 mg/L.

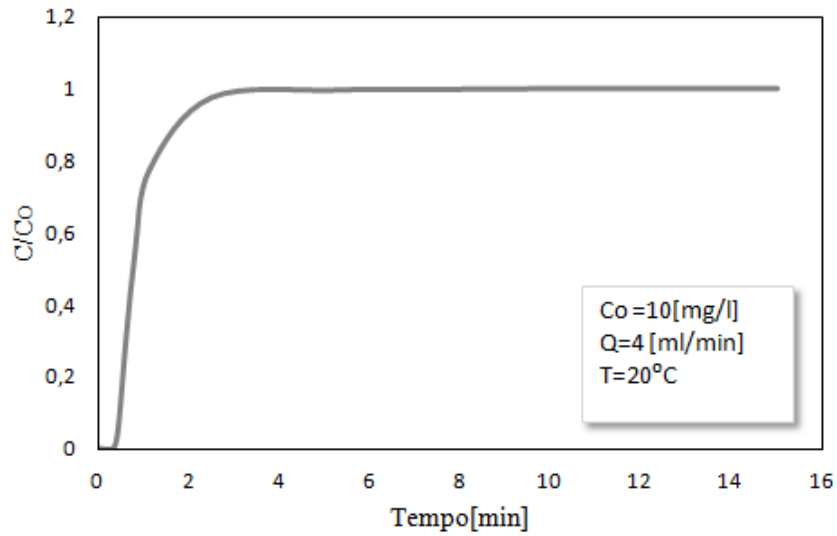


Figura 3.10: Curva de rutura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 10 mg/L.

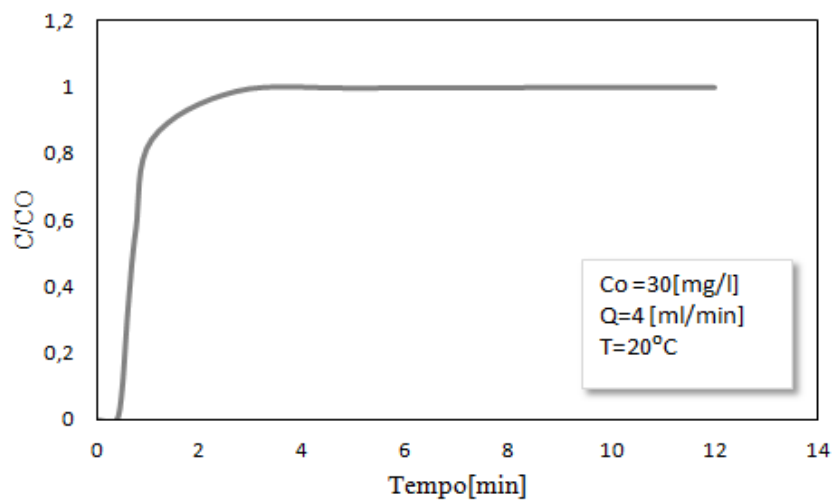


Figura 3.11: Curva de rutura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de cafeína de 30 mg/L.

De seguida, as Figuras 3.12, 3.13, 3.14 e 3.15, apresentam as curvas de rutura de adsorção do diclofenac sobre o ZIF-8 nas mesmas condições da adsorção da cafeína.

De igual modo, em todos os casos observa-se a rutura da diclofenac logo após 1 min o que revela que uma baixa capacidade de encapsulação.

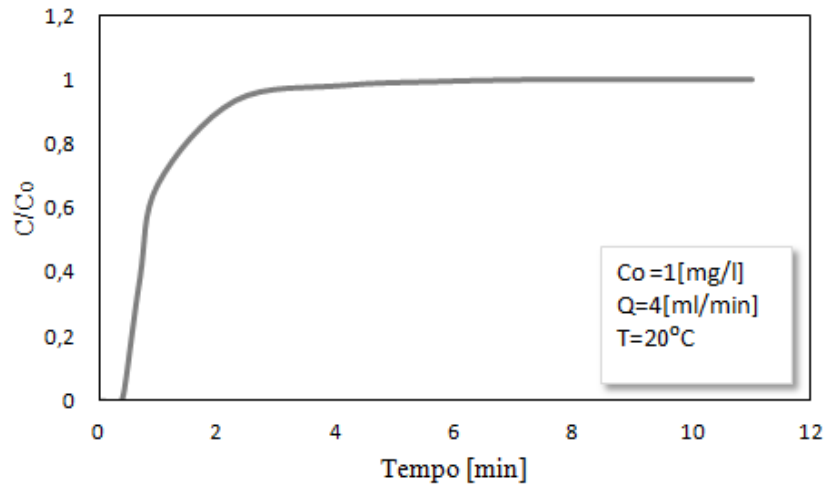


Figura 3.12: Curva de ruptura do diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de diclofenac de 1 mg/L.

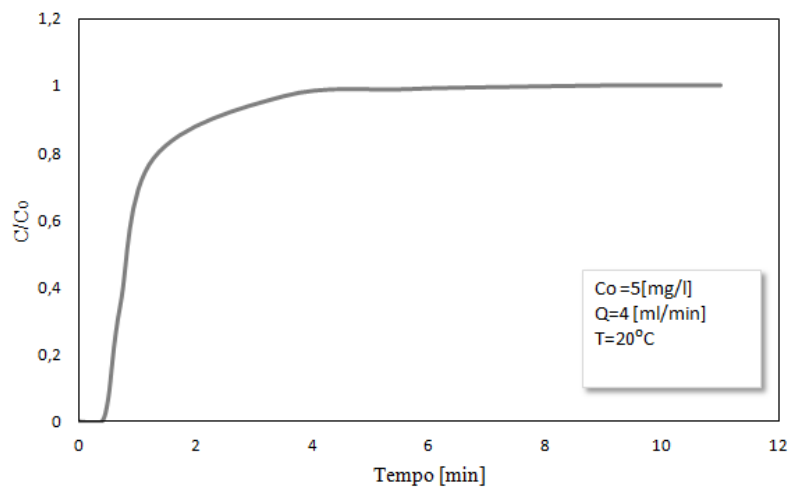


Figura 3.13: Curva de ruptura do diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de diclofenac de 5 mg/L.

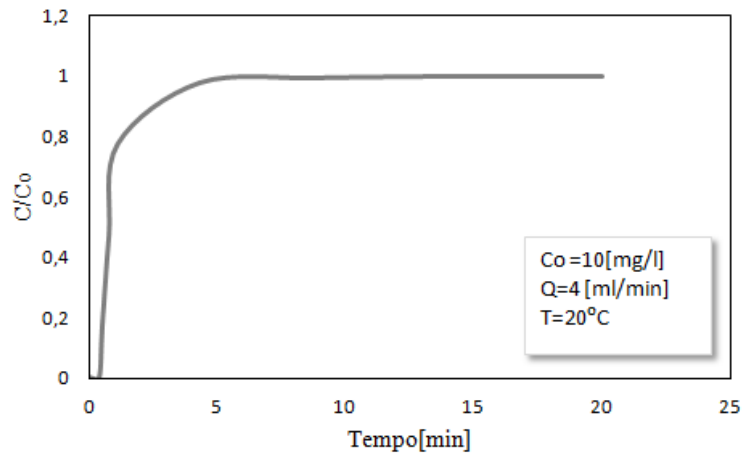


Figura 3.14: Curva de ruptura do diclofnac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de diclofenac de 10 mg/L.

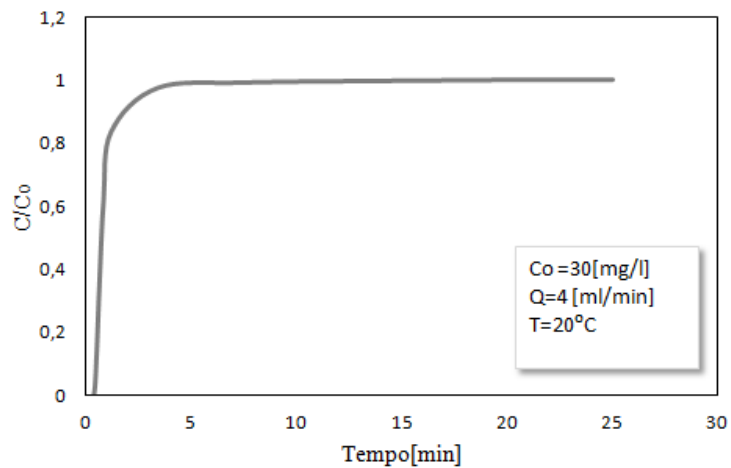


Figura 3.15: Curva de ruptura do diclofnac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 4 mL/min e concentração de diclofenac de 30 mg/L.

Constata-se que todas as curvas de ruptura têm um comportamento bastante abrupto, desde, o momento em que os compostos começam a sair indicando que a saturação do adsorvente é muito rápida

Isotérmicas de adsorção

As isotérmicas de adsorção do diclofenac e da cafeína no ZIF-8 estão ilustradas na Figura 3.16, onde se observa que a capacidade de encapsulação não ultrapassa, para os dois fármacos, valores superiores a 0.20 mg/g para uma concentração de 30 mg/L em eluente de água desionizada. Embora ligeiro, verifica-se que existe aumento da quantidade adsorvida do diclofenac em relação à cafeína, nas mesmas concentrações especialmente a altas concentrações.

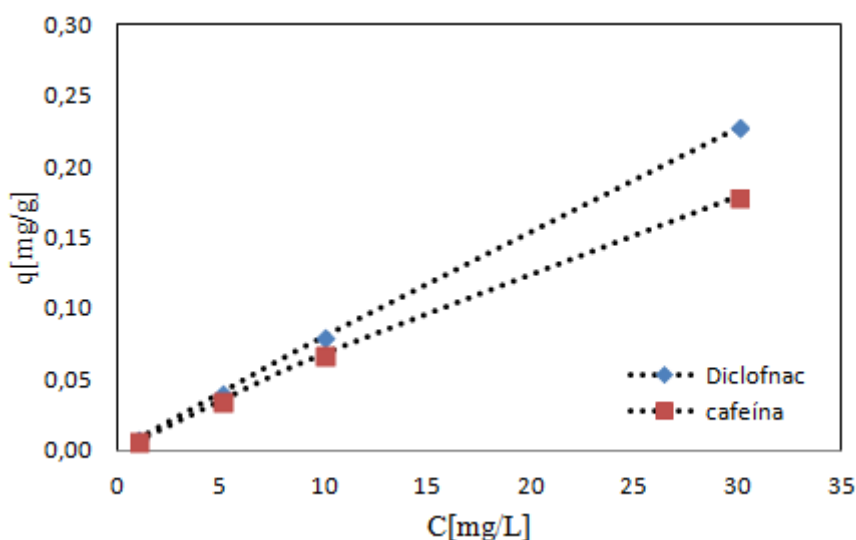


Figura 3.16: Isotérmicas de equilíbrio de adsorção do diclofenac e da cafeína a 20°C no MOF ZIF-8 utilizando a água desionizada como eluente.

Eluente metanol

De forma a contornar os resultados insatisfatórios obtidos anteriormente, utilizando a água desionizada como eluente, foram realizadas experiências com metanol. A Tabela 3.3 resume as novas condições experimentais utilizadas para as experiências com o metanol.

Tabela 3.3: Condições experimentais dos ensaios realizados com o ZIF-8 como adsorvente, o metanol como eluente e os adsorvatos, a cafeína e o diclofenac.

Experiência	adsorvato	C_0 [mg/L]	Q [ml/min]	Massa do adsorvente [g]	Comprimento da coluna [cm]	T [°C]	Comprimento de onda [nm]
Run 9	cafeína	1	3	0.0839	4.0	20	260
Run 10	cafeína	5	3	0.0839	4.0	20	280
Run 11	cafeína	15	3	0.0839	4.0	20	280
Run 12	cafeína	30	3	0.0839	4.0	20	290
Run 13	diclofenac	1	3	0.0839	4.0	20	280
Run 14	diclofenac	5	3	0.0839	4.0	20	280
Run 15	diclofenac	15	3	0.0839	4.0	20	280
Run 16	diclofenac	30	3	0.0839	4.0	20	280

Curvas de ruptura (Breakthroughs Curves)

As Figuras 3.17, 3.18, 3.19 e 3.20, apresentam as curvas de ruptura típica da adsorção de cafeína no MOF ZIF-8 para um caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1, 5, 15 e 30 mg/L utilizando o metanol como eluente.

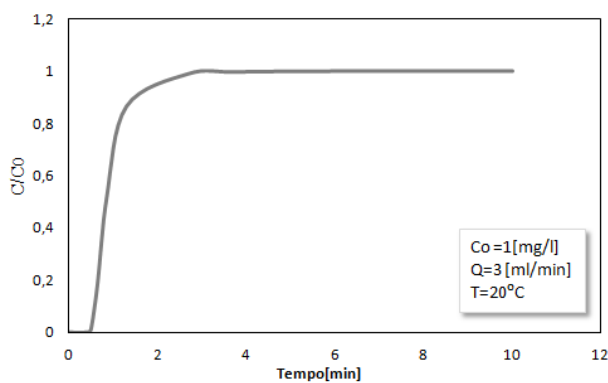


Figura 3.17: Curva de ruptura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1mg/L.

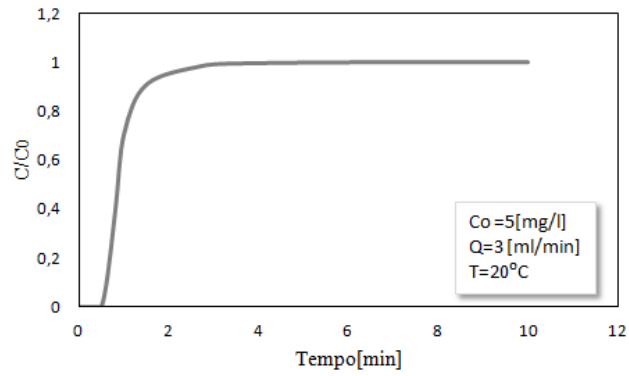


Figura 3.18: Curva de rutura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 5mg/L.

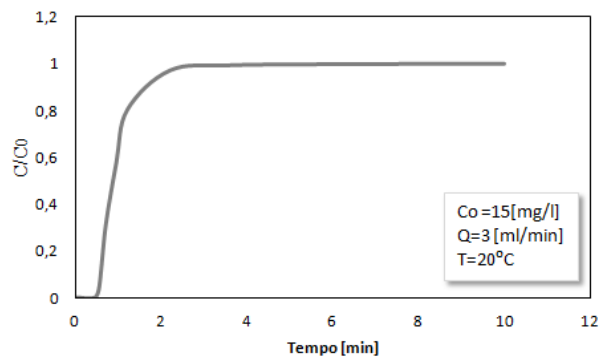


Figura 3.19: Curva de rutura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 15mg/L.

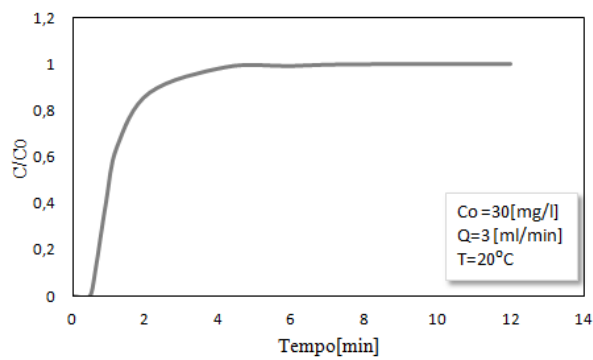


Figura 3.20: Curva de rutura da cafeína em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 30mg/L.

De seguida, as Figuras 3.21, 3.22, 3.23 e 3.24, apresentam as curvas de rutura da adsorção do diclofenac sobre o ZIF-8 nas mesmas condições da adsorção da cafeína em eluente metanol.

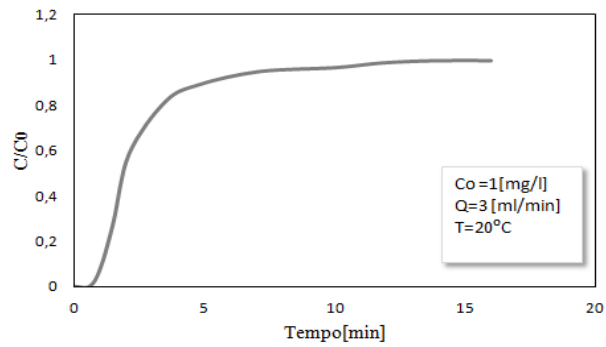


Figura 3.21: Curva de rutura do diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C , caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 1mg/L.

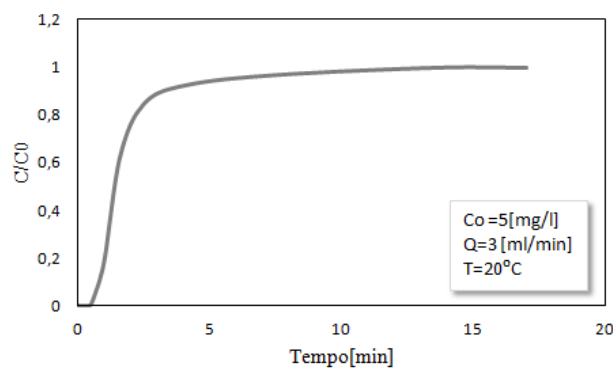


Figura 3.22: Curva de rutura do diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C , caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 5mg/L.

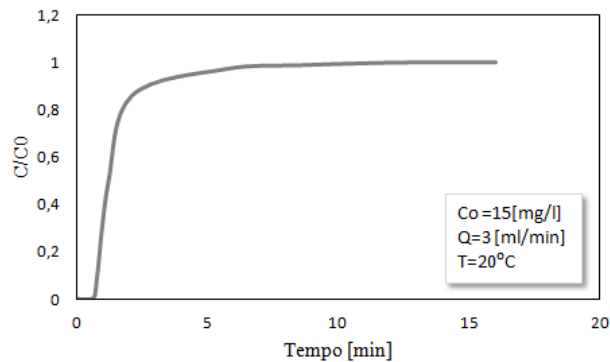


Figura 3.23: Curva de ruptura do diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 15mg/L.

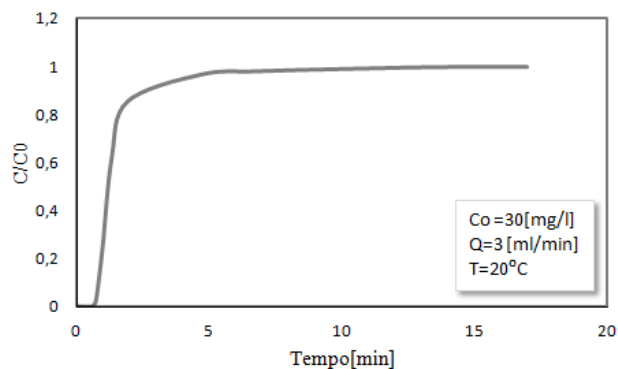


Figura 3.24: Curva de ruptura da diclofenac em ZIF-8 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 30mg/L.

Constatou-se novamente em todos os casos a ruptura do diclofenac e da cafeína logo após 1 min o que mostra também uma baixa capacidade de encapsulação perante um eluente diferente (metanol).

Isotérmicas de adsorção

A Figura 3.25 apresenta as isotérmicas de adsorção do diclofenac e da cafeína no ZIF-8, onde a capacidade de encapsulação não ultrapassa para os dois fármacos valores superiores a 0.60 mg/g para uma concentração de 30 mg/L no eluente metanol.

Observa-se que na presença do metanol que a quantidade de diclofenac adsorvida é maior do que a quantidade adsorvida de cafeína nas mesmas condições.

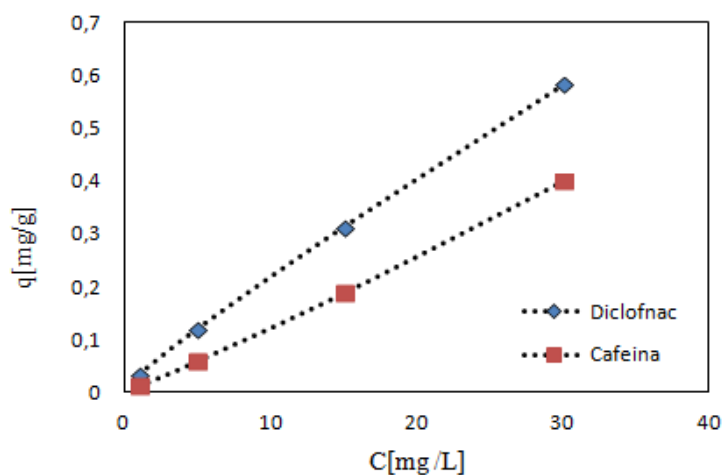


Figura 3.25: Isotérmicas de equilíbrio de adsorção do diclofenac e da cafeína a 20°C no MOF ZIF-8 utilizando a metanol como eluente.

Em todas as experiências realizadas com ZIF-8, observa-se que a quantidade adsorvida aumenta com o aumento da concentração de fármaco, mas a capacidade de encapsulação é pequena nas condições utilizadas, mesmo testando eluentes diferentes.

O estudo “Encapsulação e libertação controlada da cafeína com recurso a *Metal Organic Frameworks*” realizado em 2012 [29] verificou que, a capacidade de encapsulação do ZIF-8, para a cafeína atinge valores superiores a 2.7 mg/g numa concentração inicial de cafeína de 0.5mg/ml em eluente metanol.

No presente trabalho a capacidade de encapsulação ZIF-8 não ultrapassa para a cafeína valores superiores a 0.40 mg/g para uma concentração de 30 mg/L também, em eluente metanol o que sugere que as experiências não foram realizadas nas melhores condições. No entanto não foi possível ultrapassar essas dificuldades devido ao tempo limitado em que o trabalho foi realizado. No entanto sugere-se que num trabalho futuro estas experiências possam ser repetidas noutras condições como por exemplo diferentes tipo de ativação do MOF.

Este tipo de comparação não foi possível realizar em relação ao diclofenac, visto não existirem estudos de encapsulação em MOF ZIF-8 deste fármaco.

Um facto que pode explicar os fracos resultados e tendências observadas nas isotérmicas de adsorção da Figura 3.16 e na figura 3.25, poderá a ser a grande resistência à

transferência de massa que o material ZIF-8 exerce para a entrada da cafeína e do diclofenac nos poros do ZIF-8. Uma outra justificação poderá ser o facto de a interação entre, o diclofenac/cafeína e as paredes dos ZIF-8 ser uma interação fraca.

Devido aos resultados insatisfatórios, conclui-se que a metodologia utilizada precisa ser aperfeiçoada.

3.3.2. MIL-100

Devido aos fracos resultados obtidos utilizando o ZIF-8 como adsorvente, foram também realizadas experiências recorrendo ao MOF MIL-100.

Inicialmente realizaram-se experiências utilizando o diclofenac como adsorvato, com concentrações de 1, 5, 10 e 30 mg/L e um caudal volumétrico de 3ml/min. A coluna foi empacotada com uma massa de 0,13g de MIL-100.

Estes ensaios foram realizados à temperatura de 20°C, utilizando água desionizada como eluente.

A Tabela 3.4 resume as condições experimentais utilizadas para as experiências realizadas com o MIL-100 como adsorvente.

Tabela 3.4: Condições experimentais dos ensaios realizados onde o MIL-100 era o adsorvente, a água desionizada o eluente, e os adsorvatos a cafeína e o diclofenac.

Experiência	adsorvato	C_0 [mg/L]	Q [ml/min]	Massa do adsorvente [g]	Comprimento da coluna [cm]	T [°C]	Comprimento de onda [nm]
Run 17	diclofenac	1	3	0, 1275	4.0	20	280
Run 18	diclofenac	5	3	0, 1275	4.0	20	280
Run 19	diclofenac	10	3	0, 1275	4.0	20	280
Run 20	diclofenac	30	3	0, 1275	4.0	20	270

Curvas de ruptura (Breakthrough curves)

Tal como para as experiências de adsorção sobre ZIF-8, para obter as isotérmicas de adsorção do MIL-100 em eluente água desionizada, é necessário primeiro realizar experiências de *breakthrough* para determinar a quantidade adsorvida de cada composto.

As Figuras 3.26, 3.27, 3.28 e 3.29, apresentam as curvas de ruptura da adsorção do diclofenac no MOF MIL-100 para um caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 1, 5, 10 e 30 mg/L, utilizando água desionizada como eluente.

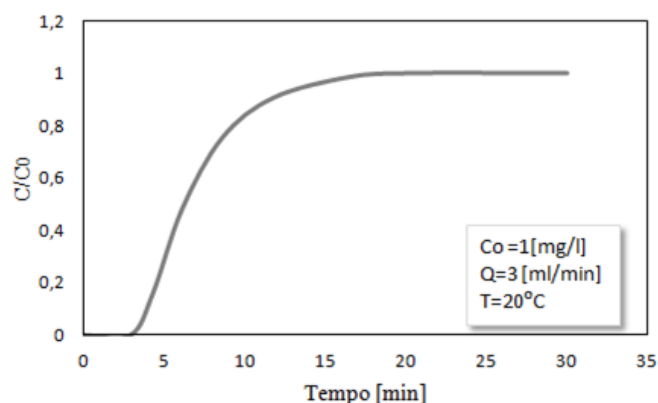


Figura 3.26: Curva de ruptura do diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C , caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 1mg/L.

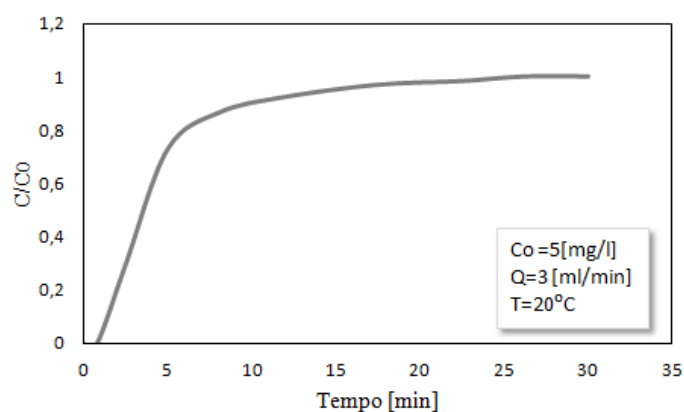


Figura 3.27: Curva de ruptura do diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C , caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 5mg/L.

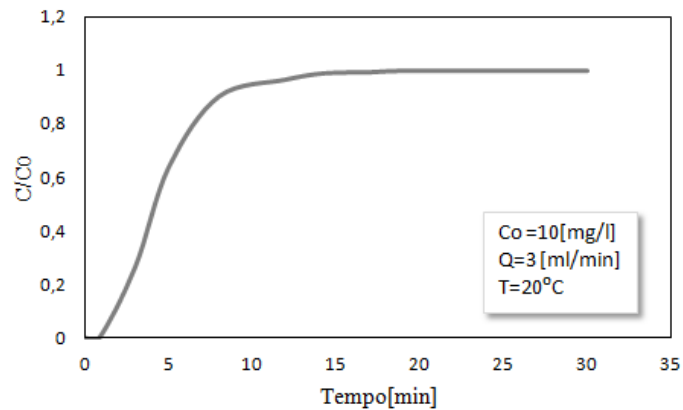


Figura 3.28: Curva de ruptura do diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 10mg/L.

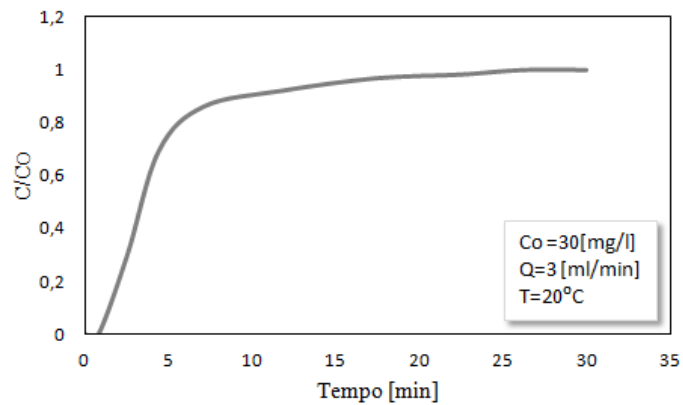


Figura 3.29: Curva de ruptura do diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 30 mg/L.

Em todos os casos observa-se a ruptura do diclofenac logo após 1 min o que revela que a capacidade de encapsulação do MIL-100 é pequena nestas condições.

Isotérmica de adsorção

A Figura 3.30 ilustra a isotérmica de adsorção do diclofenac no MIL-100, onde se verifica que, a capacidade de encapsulação ronda um valor de 1.1 mg/g para uma concentração de 30 mg/L o que demonstra que, embora sejam valores baixos o MIL-100 tem uma capacidade de encapsulação de diclofenac ligeiramente maior, em relação ao ZIF-8

na presença de água desionizada. O mesmo, não foi possível verificar para a cafeína devido as dificuldades laboratoriais encontradas ao longo deste trabalho como já foi anteriormente mencionado.

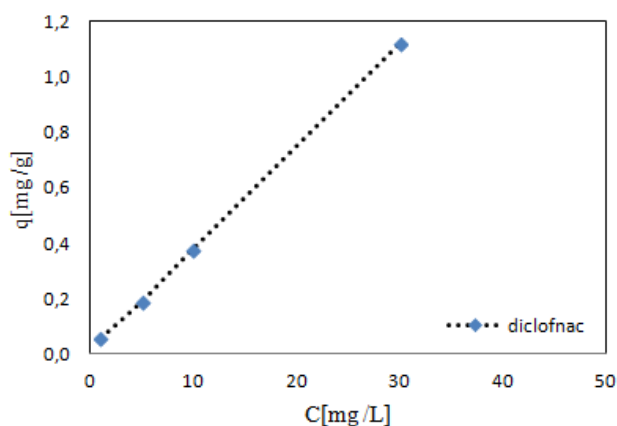


Figura 3.30: Isotérmicas de equilíbrio de adsorção do diclofenac a 20°C no MOF ZIF-8 utilizando água desionizada como eluente.

Eluente metanol

Para que fosse possível comparar os resultados obtidos com o ZIF-8 na presença do metanol, também foram realizadas experiências com metanol empacotando a coluna com uma massa de 0.12g de MIL-100.

A Tabela 3.5 resume as condições experimentais utilizadas para as experiências realizadas com o MIL-100 como adsorvente mas e o metanol como eluente.

Tabela 3.5: Condições experimentais dos ensaios realizados com MIL-100 como adsorvente, o metanol como eluente e os adsorvatos, a cafeína e o diclofenac.

Experiência	Adsorvato	C_0 [mg/L]	Q [ml/min]	Massa do adsorvente [g]	Comprimento da coluna [cm]	T [°C]	Comprimento de onda [nm]
Run 21	cafeína	1	3	0.1163	4.0	20	280
Run 22	cafeína	5	3	0.1163	4.0	20	280
Run 23	cafeína	15	3	0.1163	4.0	20	280
Run 24	cafeína	30	3	0.1163	4.0	20	255
Run 25	diclofenac	1	3	0.1163	4.0	20	280
Run 26	diclofenac	5	3	0.1163	4.0	20	280
Run 27	diclofenac	15	3	0.1163	4.0	20	280
Run 28	diclofenac	30	3	0.1163	4.0	20	270

Curvas de ruptura (Breakthrough Curves)

As curvas de ruptura referentes à adsorção da cafeína no MOF MIL-100 para um caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1,5,15 e 30 mg/L utilizando o metanol como eluente, estão representadas pelas Figuras 3.31, 3.32, 3.33 e 3.34.

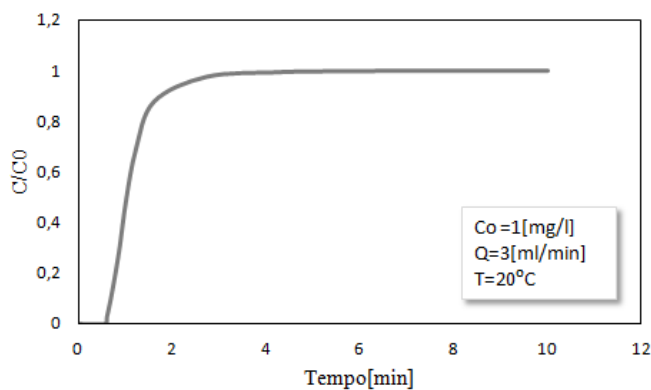


Figura 3.31: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1 mg/L.

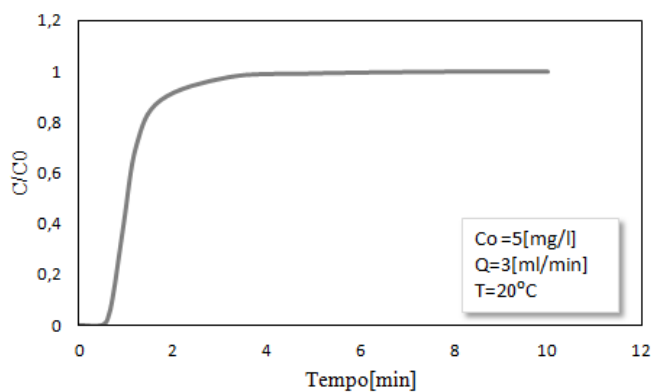


Figura 3.32: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 5 mg/L.

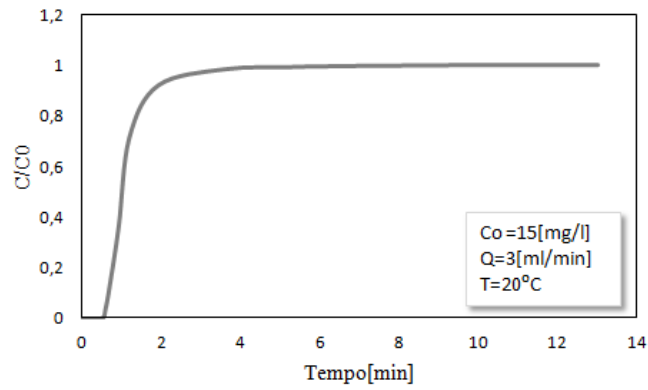


Figura 3.33: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 15mg/L.

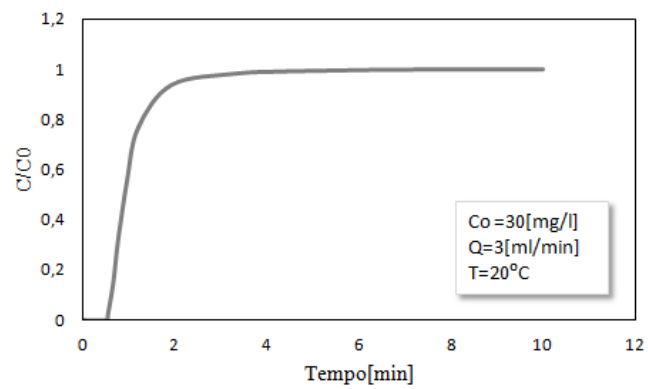


Figura 3.34: Curva de ruptura da cafeína em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 30mg/L.

Nas Figuras 3.35, 3.36, 3.37 e 3.38, estão representadas as curvas de ruptura da adsorção do diclofenac no MIL-100 para um caudal de 3 mL/min e concentração de cafeína de 1, 5, 10 e 30 mg/L utilizando o metanol como eluente.

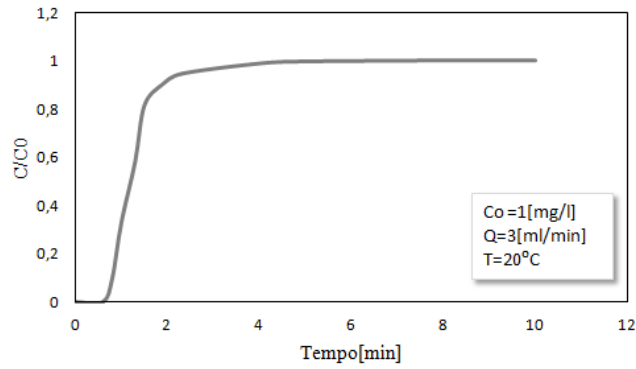


Figura 3.35: Curva de rutura do diclofnac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 1mg/L.

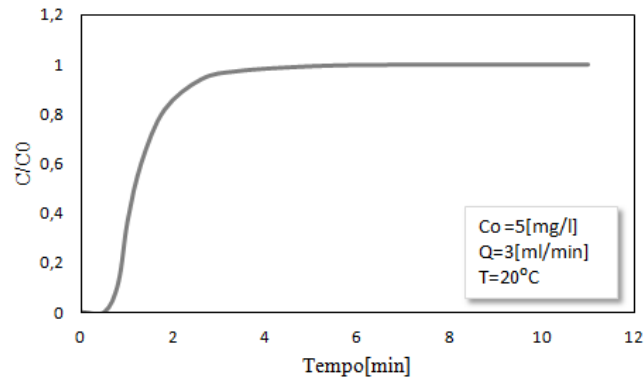


Figura 3.36: Curva de rutura do diclofnac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 5mg/L.

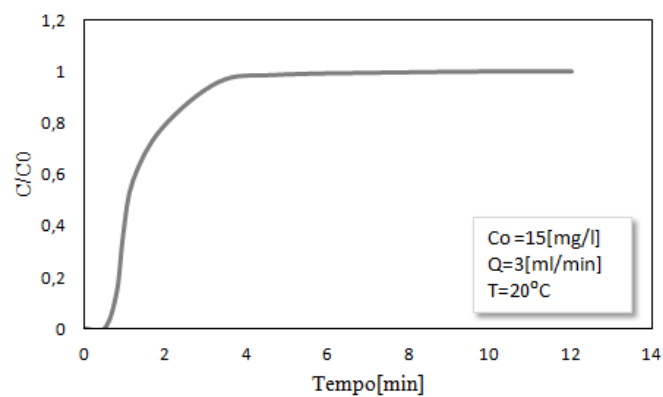


Figura 3.37: Curva de rutura do diclofnac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 15mg/L.

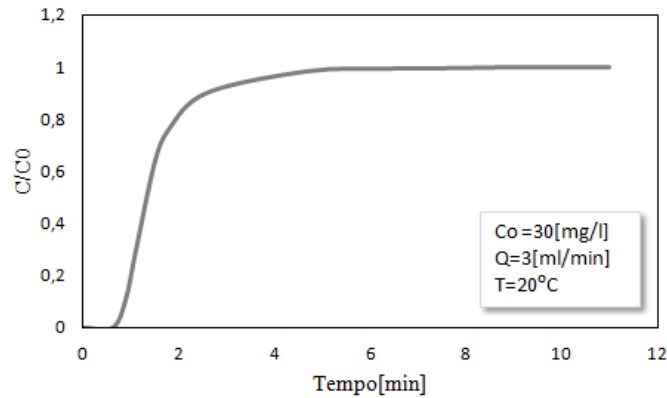


Figura 3.38: Curva de ruptura do diclofenac em MIL-100 à temperatura de 20°C, caudal de 3 mL/min e concentração de diclofenac de 30mg/L.

Da mesma maneira que ocorreu nas experiências com ZIF-8, nas experiências com MIL-100, ocorreu a ruptura do diclofenac e da cafeína logo após 1 min o que mostra também uma baixa capacidade de encapsulação do MIL-100 perante um eluente diferente. (metanol).

Isotérmicas de adsorção

As isotérmicas de adsorção do diclofenac e da cafeína no MIL-100, estão representadas na Figura 3.39. Através do gráfico verifica-se que, a capacidade de encapsulação não ultrapassa para os dois fármacos valores superiores a 0.40 mg/g para uma concentração de 30 mg/L no eluente metanol. Este valor é ligeira mente mais baixo do que o valor obtido nas experiências com ZIF-8 na presença do metanol pois capacidade de encapsulação para os dois fármacos ronda valores perto de 0.60 mg/g para uma concentração de 30 mg/L.

Observa-se ainda que, na presença do metanol que a quantidade de diclofenac adsorvida é maior do que a quantidade adsorvida de cafeína apenas para as concentrações de 15 e 30 mg/L para as concentrações de 1 e 5 mg/L são aproximadamente iguais.

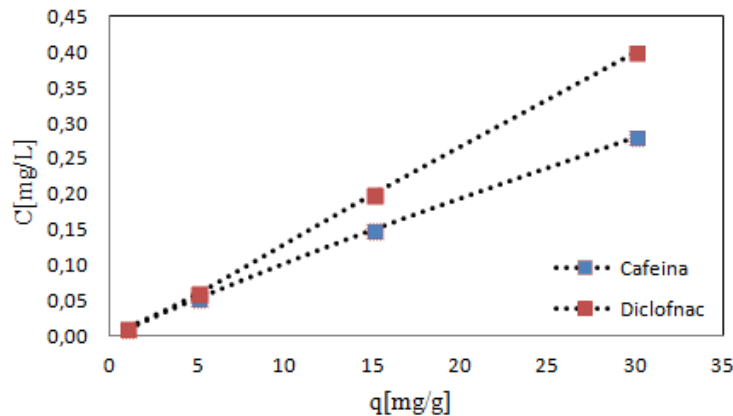


Figura 3.39: Isotérmicas de equilíbrio de adsorção do diclofenac e da cafeína a 20°C no MOF MIL-100 utilizando a metanol como eluente.

De igual forma que ocorreu com as experiências realizadas com ZIF-8, ao longo das experiências realizadas com MIL-100, observa-se que a quantidade adsorvida aumenta com o aumento da concentração de fármaco e a capacidade de encapsulação é pequena nas condições utilizadas, mesmo testando eluentes diferentes.

O estudo “*Metal-organic frameworks as efficient materials for drug delivery*” realizado em 2006 [21], verificou que o MIL-100 pode reter nos seus poros cerca 1.37 g de ipobrufeno por grama de MIL-100 este estudo foi realizado em fluido corporal simulado e demonstra que as primeiras moléculas do fármaco utilizado começam a ser libertadas nas primeiras 2h e as restantes são libertadas ao longo de 3 dias.

No presente trabalho a capacidade de adsorção do MIL-100, quer para a cafeína quer para o diclofenac não ultrapassou valores superiores a 0.40 mg/g para uma concentração de 30 mg/L.

Estes resultados são muito semelhantes aos observados com o ZIF-8 o que sugere que as experiências não terão sido realizadas nas melhores condições. Uma explicação possível poderá ser a necessidade de ativar os adsorventes antes das experiências para que os seus poros fiquem livres para adsorver os compostos. Note-se que durante a síntese destes materiais existem solventes que podem ficar encapsulados na estrutura porosa sendo necessário um protocolo de ativação especial que não foi possível aplicar ao longo das experiências. Recomenda-se que em futuros trabalhos seja utilizado um protocolo de ativação dos MOFs que garanta a sua eficácia durante a adsorção. Outra explica-

ção para os resultados poderá ser um empacotamento deficiente da coluna originando espaços livres para os compostos saírem livremente da coluna (channeling).

3.4. Dessorção

A dessorção é um fenómeno pelo qual uma substância é libertada da superfície do adsorvente. Neste trabalho foi estudada a capacidade de dessorção, do carvão carvão ativado NORIT Sx Plus em eluente água desionizada e do MOF ZIF -8 em eluente metanol. Os resultados das experiências de dessorção serão apresentados nos subtópicos seguintes. O fenómeno de dessorção também está associado à libertação controlada de fármacos, como a cafeína e o diclofnac no caso em estudo.

3.4.1. Carvão ativado

Foram realizadas experiências de dessorção com carvão ativado NORIT Sx Plus para as concentrações iniciais de 15 e 30 mg/L de diclofenac.

As Figuras 3.40 e 3.41 indicam os resultados de dessorção obtidos para uma quantidade de 0.11 g e 0.116 g, de carvão, correspondentes ao Run 4 e Run 5 descritos na tabela 3.1.

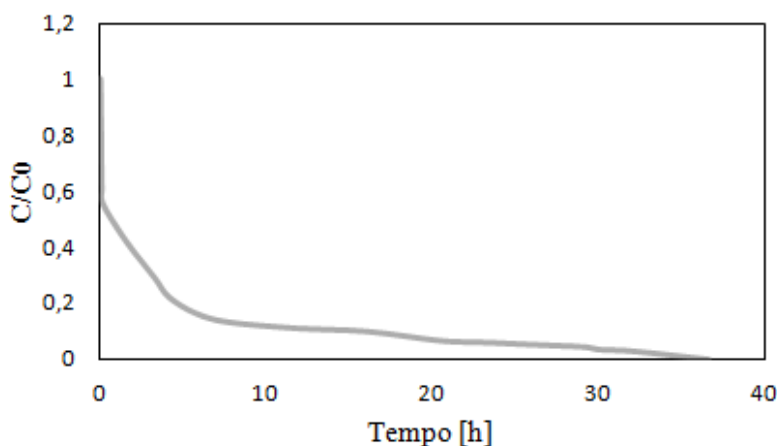


Figura 3.40: Curva de ruptura da dessorção de diclofenac para a concentração inicial de 15 mg/L de carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C e caudal de 1 mL/min.

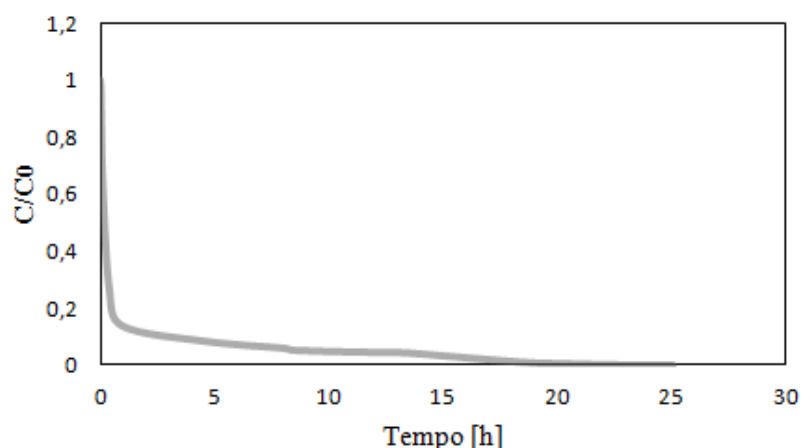


Figura 3. 41: Curva de ruptura da desorção de diclofenac para a concentração inicial de 30 mg/L de carvão ativado NORIT Sx Plus à temperatura de 20°C e caudal de 1 mL/min.

As curvas de desorção representadas nas figuras 3.41 e 3.42 mostraram um processo de libertação dos compostos, muito rápida no início seguida de uma aproximação lenta até à concentração nula. Este processo ocorreu num intervalo de tempo relativamente curto, inferior ao tempo de operação da coluna observado durante o processo de adsorção.

Uma explicação possível poderá ser uma forte resistência à transferência de massa impedindo que os compostos adsorvidos tenham bastante dificuldade de sair do carvão.

Na tabela 3.6 pode-se observar o valor das massa adsorvida na adsorção e na desorção, bem como, o valor da percentagem de massa removida, correspondentes ao Run 4 e Run 5 descritos na tabela 3.1.

Tabela 3.6: Resultados obtidos nas experiências de desorção do diclofenac em carvão ativado.

Experiência	Adsorvato	C ₀ [mg/L]	Q [ml/min]	Massa do adsorvente [g]	Massa Adsorvida		Massa Removida %
					Adsorção	Desorção	
Run 4	diclofenac	15	1	0.1118	31,2	3,8	12%
Run 5	diclofenac	30	1	0.1168	44,9	2,5	6%

Ao longo das experiências de desorção do carvão ativado, verificou-se que a massa de diclofenac removida para ambos os Runs era muito baixa. Somente 12% da massa de diclofenac para uma concentração inicial de 15 mg/L foi removida do carvão, e para

uma concentração inicial de 30mg/L de diclofenac apenas foi removida 6% da sua massa. Este comportamento é observado de maneira semelhante para todas as experiências estudadas. Uma justificação para este fenómeno poderá estar relacionada com uma adsorção química ficando os compostos ligados à estrutura porosa do carvão. Outra explicação poderá ser que, os compostos saem muito lentamente da estrutura porosa não sendo possível observar a variação da sua concentração pois esta ocorre a valores muito baixos não sendo possível detetá-los pelo detetor UV.

Nas experiências de dessorção demonstrou-se que praticamente o diclofenac não pode ser removido do adsorvente utilizando como eluente a água desionizada.

3.4.2. MOF ZIF-8

Experiências semelhantes de dessorção foram realizadas no MOF ZIF-8, para as concentrações iniciais de 1, 5, 15 e 30 mg/L de diclofenac.

As Figuras 3.42 e 3.43, 3.44 e 3.45 exibem os resultados de dessorção obtidos para uma quantidade de 0.08 g de ZIF-8, correspondentes ao Run 13, 14, 15 e 16 descritos na tabela 3.3.

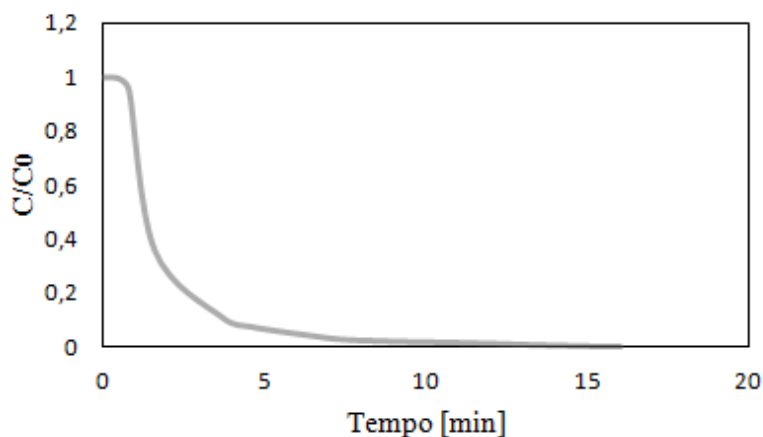


Figura 3.42: Curva de rutura da dessorção do diclofenac para a concentração inicial de 1 mg/L de ZIF-8 à temperatura de 20°C e caudal de 3 mL/min em eluente metanol.

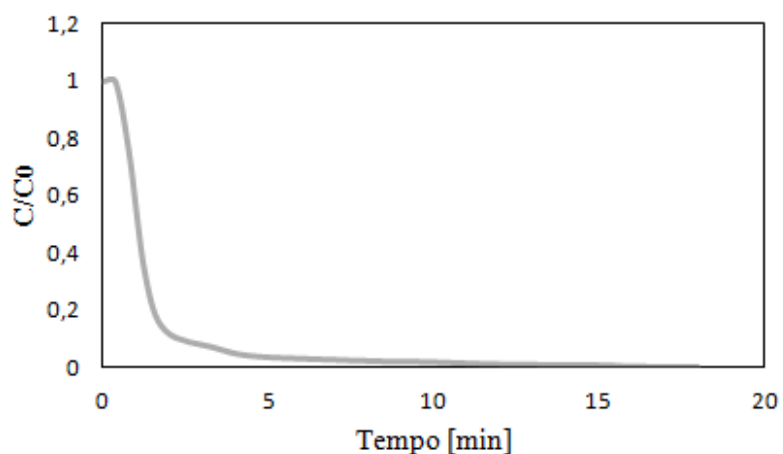


Figura 3.43: Curva de ruptura da dessorção do diclofenac para a concentração inicial de 5 mg/L de ZIF-8 à temperatura de 20°C e caudal de 3 mL/min em eluente metanol.

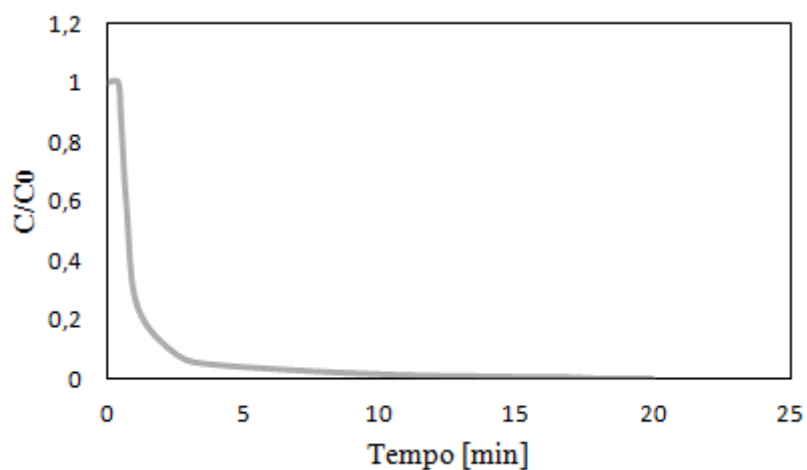


Figura 3.44: Curva de ruptura da dessorção do diclofenac para a concentração inicial de 15 mg/L de ZIF-8 à temperatura de 20°C e caudal de 3 mL/min em eluente metanol.

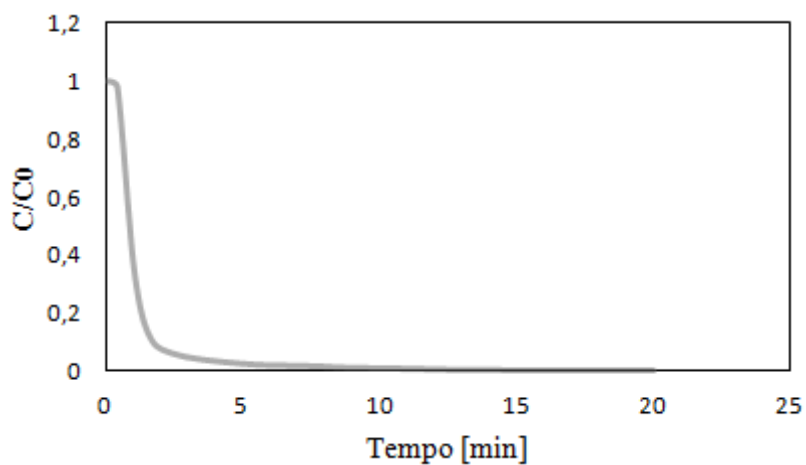


Figura 3.45: Curva de ruptura da dessorção do diclofenac para a concentração inicial de 30 mg/L de ZIF-8 à temperatura de 20°C e caudal de 3 mL/min em eluente metanol.

Na tabela 3.7 pode-se observar o valor das massa adsorvida na adsorção e na dessorção, bem como, o valor da percentagem de massa removida correspondentes ao Run 13, 14, 15 descritos na tabela 3.3.

Tabela 3.7: Resultados obtidos nas experiências de dessorção do diclofenac em ZIF-8.

Experiência	Adsorvato	C ₀ [mg/L]	Q [ml/min]	Massa do adsorvente [g]	Massa adsorvida [mg]		Massa removida %
					Adsorção	Dessorção	
Run 13	diclofenac	1	3	0.08386	0,002	0,001	61%
Run 14	diclofenac	5	3	0.08386	0,009	0,007	78%
Run 15	diclofenac	15	3	0.08386	0,026	0,020	80%
Run 16	diclofenac	30	3	0.08386	0,041	0,037	87%

Na tabela 3.7 demonstra que na dessorção é possível remover entre 61 e 87% da massa adsorvida num intervalo de tempo semelhante ao que demorou a saturar o leito na etapa de adsorção.

Estes resultados mostram que a libertação do MOF ZIF-8 ocorre sem grandes dificuldades indicando que a resistência à transferência de massa nestes materiais é bastante baixa.

Capítulo 5

CONCLUSÃO

Neste trabalho, apresentou-se um estudo detalhado da encapsulação e liberação controlada de fármacos. Para tal desenvolveu-se uma metodologia experimental que utilizou uma técnica de cromatografia frontal num sistema HPLC, com o objetivo de medir isotérmicas de adsorção da cafeína e do diclofenac.

Este estudo levou à medição do grau de encapsulação e da eficiência da liberação controlada de dois tipos de materiais porosos, o MOF ZIF -8 e MIL-100, e também o carvão ativado *Norit SX PLUS*, como potenciais sistemas de encapsulação e liberação controlada.

No presente estudo foi possível verificar que a capacidade de adsorção de diclofenac sobre o carvão ativado *NORIT Sx Plus* é bastante elevada com valores que podem atingir 385 mg/g para concentrações de diclofenac na ordem dos 30 mg/L.

Portanto, o carvão ativado *Norit SX PLUS* utilizado neste trabalho demonstrou ser estável nas condições de uso que o tornaria um excelente sistema de liberação controlada se fosse possível transformá-lo num material 100% biocompatível.

De igual forma que ocorreu com as experiências realizadas com carvão, ao longo das experiências realizadas com MOFs, observou-se, que a quantidade adsorvida aumenta com o aumento da concentração de fármaco.

Verificou-se ainda que a capacidade de encapsulação dos MOFs é pequena nas condições utilizadas, visto, que a capacidade de adsorção do MIL-100, quer para a cafeína quer para o diclofenac não ultrapassou valores superiores a 0.40 mg/g para uma concen-

tração de 30 mg/L e a capacidade de encapsulação do ZIF-8 não ultrapassou para os dois fármacos valores superiores a 0.60 mg/g para uma concentração de 30 mg/L.

Nas experiências de dessorção (libertação dos fármacos adsorvidos) verificou-se que só 12% da massa adsorvida de diclofenac no carvão ativado é libertada, o que indica algum tipo de adsorção química ou resistência à transferência de massa que terá de ser detalhadamente estudada em futuras experiências. No caso do MOF ZIF a massa libertada de diclofenac pode chegar até aos 87% num intervalo de tempo comparável ao da etapa de adsorção, o que permite concluir que nestes materiais a resistência à transferência de massa é baixa.

Conclui-se, que ao longo das experiências com MOFs, provavelmente ocorreu um empacotamento deficiente da coluna originando espaços livres para os compostos saírem livremente da coluna (channeling) e ainda, que é necessário ativar os adsorventes antes das experiências para que os seus poros fiquem livres para adsorver os compostos.

Aconselha-se que em trabalhos futuros seja utilizado um protocolo de ativação dos MOFs que garanta a sua eficácia durante a adsorção. Será também importante melhorar a forma de empacotamento da coluna. Os MOFs estudados consistem num pó muito fino que provoca uma elevada queda de pressão na coluna. Poderá também ser importante, em experiências futuras, proceder a uma aglomeração prévia do pó, transformando-o em partículas de maior dimensão, com o objetivo de diminuir queda de pressão existente na coluna e tornar o escoamento mais eficiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Horcajada P, Serre C, Vallet-Regi M, Sebban M, Taulelle F, Ferey G. (2006). *Metal-organic Frameworks as Efficient Materials for Drug Delivery*. *Angew Chem Int Ed*,45:5974–5978.
- [2] Coimbra, P. (2010). *Preparação e Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural*. Dissertação, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra.
- [3] Liu, Z., Jiao, Wang, Y., Zhou, C., Zhang, Z. (2008). *Advanced Drug Delivery Reviews*. 60 1650-1662.
- [4] PIRES, R. (2011). *Modelagem Matemática de Perfis de Liberação De Fármacos a Partir de Nanocarreadores*. Dissertação, Centro Universitário Franciscano de Santa Maria, Santa Maria.
- [5] Rodrigues, N. (2012). *Estudo da Liberação Controlada de Fármacos por Hidrógeis PVA/ATAPULGITA*. Projeto de Graduação, Escola Politécnica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- [6] Vilaça, N. (2012). *Encapsulamento de Fármacos em Zeólitos para Utilização no Tratamento do Carcinoma do Colorretal*. Dissertação de Mestrado, Escola Ciências, Universidade do Minho, Braga.
- [7] Mauro, C. (2007). *Comprimidos de Liberação Controlada*. Projeto, Escola Centro Universitário Das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo.
- [8] Kawashima, Y. (2001). *Preface Nanoparticulate Systems for Improved Drug Delivery*. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.1, n.47, p.1-2.
- [9] Azevedo, M. (2002). *Nanoesferas e a Liberação Controlada De Fármacos*. Monografia, Instituto de Química UNICAMP.
- Disponível em: <<http://lqes.iqm.unicamp.br>>
- [10] Park, K. (2002). *Recent Developments in Hydrogels*. Preface. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.54, n.1,p.1.

- [11] Rouxinol, F. (2009). *Preparação de Nanopartículas para Sistemas de Libertação Controlada de Substâncias Activas Usadas no Tratamento de Doenças Oftalmológicas*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências e tecnologia da Universidade de coimbra, Coimbra.
- [12] Huxford, R., Rocca, J., LIN, W.. (2010). *Metal-Organic Frameworks as Potential Drug Carriers*. US National Library of Medicine National Institutes of Health. 14(2): 262–268.
- [13] Rocca, J., LIU, D., LIN, W., (2011). *Nanoscale Metal_Organic Frameworks for Biomedical Imaging and Drug Delivery*. Accounts of Chemical Research. Vol. 44, No. 10,957–968.
- [14] Seda Keskin and Seda Kızılel, (2010). *Biomedical Applications of Metal Organic Frameworks*. Ind. Eng. Chem. Res. Vol. 44, No.10,957–968.
- [15] Hinks, N. J.; McKinlay, A. C.; Xiao, B.; Wheatley, P. S.; Morris, R. E, (2010). *Metal Organic Frameworks as NO Delivery Materials for Biological Applications*. Microporous Mesoporous Mater., 129, 330.
- [16] Horcajada, P.; Serre, C.; Maurin, G.; Ramsahye, N. A.; Balas, F.; Vallet-Regi, M.; Sebban, M.; Taulelle, F.; Ferey, G.(2008). *Flexible Porous Metal-Organic Frameworks for a Controlled Drug Delivery*. J. Am.Chem. Soc.,130, 6774.
- [17] Rowsell, J. and Yaghi, O. (2004). *Metal-organic frameworks: a new class of porous materials*. Microporous and Mesoporous Materials,73:3–14.
- [18] O’Keeffe, M., Eddaoudi, M., Li, H., Reineke, T., and Yaghi, O. (2000). *Frameworks for extended solids: Geometrical design principles*. Journal of Solid State Chemistry, 152:3–20.
- [19] Alistair C. McKinlay, Russell E. Morris, Horcajada, P., Grard Frey, Gref, R., Couvreur, P. and Serre, C., (2010). *BioMOFs: Metal–Organic Frameworks for Biological and Medical Applications*. Angew. Chem. Int. Ed., 49, 6260 – 6266.
- [20] Carvão ativado-Cabot Norit Activated Carbon. Disponível em: <<http://www.norit.com/markets-and-applications/>>

- [21] Pires, A., (2009). *Adsorção de Atenolol em Carvão Activado, Nanofibras e Nanotubos de Carbono*. Dissertação de Mestrado, Universidad Complutense de Madrid/Facultad de Ciencias Químicas, Porto.
- [22] Li, W., Peng, J., Zhang L., Yang, K., Xia, H. and Guo, S. (2008). *Effects of Carbonization Temperatures on Characteristics of Porosity in Coconut Shell Chars and Activated Carbons Derived from Carbonized Coconut Shell Char*. *Industrial Crops and Products*. 28, 190-198.
- [23] Girgis, B. S., Hendawy A.–N., (2002). *Porosity Development in Activated Carbons Obtained from Date Pits Under Chemical Activation with Phosphoric Acid*. *Journal of Microporous and Mesoporous Materials*. 52. 105-117.
- [24] BANSAL, R. C.; GOYAL, M. (2005). *Activated Carbon and its Surface Structure*. *Activated Carbon Adsorption*. USA: Taylor & Francis Group.
- [25] Ferreira, J., (2011). *Remoção de Micropoluentes Emergentes em Efluentes Sanitários através de Carvão Ativado*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- [26] Carvão ativado-Cabot Norit Activated Carbon. Disponível em: <http://www.norit.com/files/documents/EAPA-norit_pharmaceutical_brochure_english.pdf>
- [27] Jia-Ming Chern*, Yi-Wen Chien. (2002). *Adsorption of nitrophenol onto activated carbon: isotherms and breakthrough curves*. *Water Research* 36, 647–655.
- [28] Sotelo, J., Rodriguez, A., Álvarez, S., García, J.. (2012). *Removal of caffeine and diclofenac on activated carbon in fixed bed column*; *Chemical Eng. Research and Design*, 967-974.
- [29] Gomes, A., Cunha, S., (2012). *Encapsulação e libertação controlada da cafeína com recurso a Metal Organic Frameworks*. Projeto de Licenciatura. Instituto Politécnico de Bragança, Bragança.
- [30] Gelencser, A., kiss, G., Kricacsy, Z. Varga- Puchony, *J. Chromatogr. A*, 1995, 693, 217.

[31] Torres, A., (2008). *Cromatografia Líquida De Alta Eficiência*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Goiás, Goiás.

