

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Farmácia

AVALIAÇÃO DO USO DE BENTONITA NA PREPARAÇÃO DE NANOSISTEMAS
COM ATIVIDADE BIOLÓGICA

Kelen Carine Costa Soares

Orientadores: Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral
Prof. Dra. Sheila Garcia

Rio de Janeiro
2003

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Farmácia

**AVALIAÇÃO DO USO DE BENTONITA NA PREPARAÇÃO DE NANOSISTEMAS
COM ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Kelen Carine Costa Soares

Tese apresentada como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, junto à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro
2003

FICHA CATALOGRÁFICA

615.19
S676a

Soares, Kelen Carine Costa

Avaliação do uso de bentonita na preparação de nanosistemas com atividade biológica./ Kelen Carine Costa Soares – Rio de Janeiro: UFRJ / FF, 2003.

XIX, 117f.:il; 31cm.

Orientadores: Lúcio Mendes Cabral e Sheila Garcia.

Dissertação (mestrado) – UFRJ / FF / Programa de pós graduação da faculdade de farmácia, 2003.

Referências bibliográficas: f. 110-117

1. Bentonita. 2. Filtro solar. 3. Liberação prolongada. 4. Tecnologia Farmacêutica. I. Cabral, Lucio Mendes; II. Garcia, Sheila; III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia; IV. Título.

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Farmácia

**AVALIAÇÃO DO USO DE BENTONITA NA PREPARAÇÃO DE NANOSISTEMAS
COM ATIVIDADE BIOLÓGICA**

KELEN CARINE COSTA SOARES

Tese submetida como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Orientadores: _____
Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral

Prof. Dra. Sheila Garcia

Banca examinadora: _____
Prof. Dr. Ailton Gomes

Prof. Dra. Elisabete Pereira Santos

Prof. Dra. Célia Santos Silva

Suplente: _____
Prof. Dra. Janayna Albuquerque dos Santos

DEZEMBRO
2003

Este trabalho foi realizado sob a orientação do Professor Dr. Lúcio Mendes Cabral e da Professora Dra. Sheila Garcia, do Departamento de Medicamentos, Faculdade de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

AGRADECIMENTOS:

Ao Prof. Lúcio Mendes Cabral, pela orientação, dedicação, apoio e amizade.

À Prof. Sheila Garcia, pela orientação e colaboração.

À Prof. Elisabete Pereira pela colaboração com as análises de FPS *in vivo*.

Ao laboratório Alergisa (SP) pelas análises de FPS *in vivo*.

À Prof. Janayna Albuquerque pela colaboração com os estudos de irritabilidade cutânea e ocular.

Ao Prof. Ailton Gomes e Dra Ai Ren (IMA) pela dedicação e colaboração com as análises de difração de raio-x.

À Prof. Glória Soares pela colaboração com as análises em MET.

Ao Prof. Carlos Rangel pela amizade e colaboração com os estudos de modelagem molecular.

À Prof. Nádia Volpato pelo acompanhamento.

Ao Técnico Epitácio de Souza Lima pela paciência e colaboração com os testes de irritabilidade *in vivo*.

Aos amigos do Instituto de Biofísica, André Silva e Iranáia Miranda pela disponibilização da utilização de aparelhagem específica.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Celular, Ana Beatriz, Celso Pereira, Douglas pelo carinho e incentivo de longo tempo.

Aos amigos do dia a dia com quem pude por várias vezes contar.....

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	x
Índice de figuras.....	xi
Índice de gráficos.....	xiv
Índice de tabelas.....	xv
Índice de quadros.....	xvii
Resumo.....	xviii
Abstract.....	xix
Introdução.....	01
1.1. Considerações gerais.....	01
1.2. Argilas como excipientes farmacêuticos.....	03
1.2.1. Características gerais.....	03
1.2.2. Capacidade de troca catiônica.....	06
1.3. Agentes de compatibilização.....	07
1.4. Nanotecnologia.....	09
1.5. Proteção solar.....	11
1.6. Moléculas orgânicas fotoprotetoras.....	13
1.7. Formação de complexos de argila com filtro solar.....	16
1.8. Formação de complexos de argila com fármaco.....	16
1.9. Técnicas para avaliar as interações fármaco-argila.....	18
1.10. Mecanismos de desorção.....	20
2. OBJETIVOS.....	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
3.1. Materiais.....	25
3.1.1. Equipamentos.....	25
3.1.2. Reagentes e Solventes.....	25
3.2. Métodos.....	26
3.2.1. Teste de interação.....	26
3.2.2. Determinação indireta do processo de interação argila/molécula hóspede.....	29
3.2.3. Difração de raio-x.....	30

3.2.4. Análise conformacional.....	31
3.2.5. Microscopia eletrônica.....	32
3.2.6. Preparo das formulações fotoprotetoras.....	33
3.2.7. Análise do fator de proteção solar.....	35
3.2.7.1. Análise <i>in vitro</i> pelo método de Mansur.....	35
3.2.7.2. Análise <i>in vivo</i>	36
3.2.8. Teste de irritabilidade cutânea e ocular.....	37
3.2.8.1. Irritabilidade ocular.....	37
3.2.8.2. Irritabilidade cutânea primária.....	38
3.2.8.3. Irritabilidade cutânea cumulativa.....	38
3.2.9. Análise do perfil de dissolução do aciclovir intercalado com bentonita sódica e delaminada com íons alquilamônio.....	40
3.2.9.1. Preparo dos comprimidos.....	40
3.2.9.2. Medição da dureza dos comprimidos aciclovir com bentonita sódica e delaminada...	41
3.2.9.3. Teste de dissolução.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1. Ensaio de interação.....	42
4.1.1. Ensaio de interação do octil dimetil PABA (Eusolex 6007®).....	42
4.1.1.1. Preparo da reta de calibração.....	42
4.1.1.2. Ensaio de interação do octil dimetil PABA com bentonita sódica.....	43
4.1.1.3. Ensaio de interação do octil dimetil PABA com bentonita delaminada.....	49
4.1.2. Ensaio de interação do mentil antranilato.....	53
4.1.2.1. Preparo da reta de calibração.....	53
4.1.2.2. Ensaio de intercalação do mentil antranilato com bentonita sódica.....	53
4.1.2.3. Ensaio de intercalação do mentil antranilato com bentonita delaminada.....	56
4.1.3. Ensaio de interação do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora.....	57
4.1.3.1. Preparo da reta de calibração.....	57
4.1.3.2. Ensaio de interação do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora com bentonita delaminada....	58
4.1.3.3. Ensaio de intercalação do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora com bentonita sódica.....	61
4.1.4. Ensaio de interação do ácido sulfônico fenilbenzimidazol.....	62
4.1.4.1. Preparo da reta de calibração.....	62

4.1.4.2. Ensaio de interação do ác. sulf. fenilbezimidazol com bentonita delaminada.....	63
4.1.5. Ensaio de interação com atenolol.....	64
4.1.5.1. Ensaio de interação do atenolol com bentonita sódica.....	65
4.1.5.2. Ensaio de interação do atenolol com bentonita delaminada.....	70
4.1.6. Ensaio de interação com espironolactona.....	71
4.1.6.1. Ensaio de interação da espironolactona com bentonita delaminada.....	72
4.1.6.2. Ensaio de interação da espironolactona com bentonita sódica.....	74
4.1.7. Ensaio de interação com aciclovir.....	74
4.1.7.1. Ensaio de intercalação do aciclovir com bentonita sódica.....	75
4.1.7.2. Ensaio de intercalação do aciclovir com bentonita delaminada.....	77
4.2. Análise dos produtos de intercalação.....	80
4.2.1. Análise por Infravermelho.....	80
4.2.2. Análise em microscopia eletrônica de transmissão	89
4.2.3. Análise por difração de raio-x.....	92
4.2.3.1. Análise da interação do octil dimetil PABA com as argilas.....	93
4.2.3.2. Análise da interação do mentil antranilato com as argilas.....	96
4.2.3.3. Análise da interação do atenolol com a bentonita sódica.....	99
4.2.3.4. Análise da interação do aciclovir com as argilas.....	101
4.3. Estudo da influência do quitosano em geles fotoprotetores.....	104
4.4. Análise do fator de proteção solar <i>in vivo</i>	105
4.5. Análise da irritabilidade ocular e cutânea.....	107
4.6. Ensaio de dissolução do aciclovir.....	107
5. CONCLUSÃO.....	109
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS

FPS – Fator de proteção Solar

ODP – Octil dimetil PABA

MA – Mentil antranilato

Quit – Quitosano

Bent Na – Bentonita sódica

Visc B8 – Bentonita delaminada (viscogel B8®)

Arg – Argila

meq – Miliequivalente

UV – Ultravioleta

mL – Mililitro

g – Grama

P.A. – Para análise

DME – Dose mínima eritematógena

LD₅₀ - Dose letal para 50% de um grupo de animais

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 -- Estrutura idealizada da montmorilonita.....	4
Figura 2 -- Microestrutura da bentonita.....	5
Figura 3 -- Processo de troca catiônica entre os íons alquilamônio e os cátions intercalados entre as lamelas da argila.....	7
Figura 4 -- Orientações dos íons alquilamônio nas lamelas.....	8
Figura 5 -- Fotomicrografia de corte transversal de microesfera de polianidrido.....	9
Figura 6 -- Fotomicrografia de microcápsula.....	10
Figura 7 -- Fórmula estrutural genérica da maioria dos filtros solares.....	14
Figura 8 -- Comportamento previsto de modelo de compartimento único com a administração contínua ou intermitente de fármacos.....	17
Figura 9 -- Distribuição das espécies de tetraciclina.....	20
Figura 10-- Espectro de infravermelho do complexo montmorilonita-clindamicina.....	21
Figura 11 -- Perfil de dissolução da griseofulvina.....	22
Figura 12 -- Degradação da digoxina.....	23
Figura 13 -- Princípio da difração de raio-x.....	31
Figura 14 -- Descrição esquemática de um microscópio de transmissão eletrônica.....	33
Figura 15 -- Olho sadio e com lesão simultânea da íris, córnea e conjuntiva.....	38
Figura 16 -- Processo de troca catiônica entre ativo e bentonita sódica.....	48
Figura 17 -- Espectro de infravermelho da bentonita sódica.....	80
Figura 18 -- Espectro de infravermelho da bentonita delaminada.....	81
Figura 19 -- Espectros de infravermelho da bentonita original, octil dimetil PABA, quitosano, amostra de ODP intercalado com bentonita sódica na presença e ausência de quitosano.....	82
Figura 20 -- Espectros de infravermelho da bentonita delaminada pura(viscogel B8), octil dimetil PABA e amostra de ODP intercalada com bentonita delaminada.....	83
Figura 21 -- Espectros de infravermelho de bentonita sódica pura, mentil antranilato,	84

quitosano, amostra de Ma intercalado com bentonita sódica na presença e ausência de quitosano.....	
Figura 22 -- Espectro de Infravermelho da bentonita delaminada pura (viscogel B8), mentil antranilato e amostra de MA intercalada com bentonita delaminada.....	85
Figura 23 -- Espectros de infravermelho da bentonita sódica pura, atenolol e amostra de atenolol intercalado com bentonita sódica.....	86
Figura 24 -- Espectro de infravermelho da bentonita sódica pura, aciclovir e bentonita sódica intercalada com aciclovir.....	87
Figura 25 -- Espectros de infravermelho da bentonita delaminada pura, aciclovir e amostra de aciclovir intercalado com bentonita delaminada.....	88
Figura 26 -- Bentonita Sódica com aumento de 100.000x.....	89
Figura 27 -- Bentonita Delaminada com aumento de 100.000.x.....	90
Figura 28 -- Bentonita Delaminada + ODP com aumento de 100.000x.....	90
Figura 29 -- Bentonita Delaminada +mentil antranilato com aumento de 80.000x.....	91
Figura 30 -- Bentonita Delaminada + aciclovir com aumento de 100.000 x.....	91
Figura 31 -- Amostra de bentonita sódica pura, bentonita sódica intercalada com octil dimetil PABA(ODP), e intercalada com octil dimetil PABA sendo seguida a adição de quitosano.....	93
Figura 32-- Amostra de viscogel B8 e viscogel B8 intercalada com octil dimetil PABA(ODP).....	94
Figura 33 -- Estrutura química básica da molécula de octil dimetil PABA.....	95
Figura 34 -- Estrutura química minimizada da molécula de octil dimetil PABA.....	95
Figura 35 -- Amostra de bentonita sódica pura, bentonita sódica intercalada com mentil antranilato(MA), e intercalada com mentil antranilato sendo seguida a adição de quitosano.....	96
Figura 36 -- Amostra de viscogel B8 e viscogel B8 intercalada com mentil antranilato.....	97
Figura 37 -- Estrutura química básica da molécula de mentil antranilato.....	98
Figura 38 -- Estrutura minimizada da molécula de mentil antranilato.....	98
Figura 39 -- Amostra de bentonita sódica pura e intercalada com atenolol.....	99
Figura 40 -- Estrutura química básica do atenolol.....	100
Figura 41 -- Estrutura minimizada do atenolol.....	100

Figura 42 -- Amostra de bentonita sódica pura e intercalada com aciclovir.....	101
Figura 43 -- Amostra de viscogel B8 pura e intercalada com aciclovir.....	102
Figura 44 -- Estrutura química básica do aciclovir.....	103
Figura 45 -- Estrutura minimizada do aciclovir.....	103

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Reta de calibração do octil dimetil PABA.....	43
Gráfico 2 -- Reta de calibração do mentil antranilato.....	53
Gráfico 3 – Reta de calibração do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora.....	58
Gráfico 4 -- Reta de calibração do ácido sulfônico fenilbenzimidazol.....	62
Gráfico 5 – Reta de calibração do atenolol.....	65
Gráfico 6 -- Reta de calibração da espironolactona.....	72
Gráfico 7 -- Reta de calibração do aciclovir.....	74
Gráfico 8 – Efeito da bentonita sódica e delaminada na liberação do aciclovir.....	108

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 -- Comprimentos de onda utilizados para construção da reta de calibração e avaliação da interação dos diferentes ativos com os dois tipos de bentonita.....	30
Tabela 2 -- Condições de ensaio consideradas ótimas, utilizadas para avaliar a interação com a bentonita sódica e delaminada.....	42
Tabela 3 -- Otimização do tempo de ensaio para octil dimetil PABA e bentonita sódica.....	44
Tabela 4 -- Otimização da temperatura de ensaio do octil dimetil PABA com bentonita sódica.....	45
Tabela 5 -- Otimização da relação entre ativo e argila no ensaio do octil dimetil PABA com bentonita sódica.....	46
Tabela 6 -- Análise da influência do pH no ensaio entre octil dimetil PABA e bentonita sódica.....	47
Tabela 7 -- Ensaio em maior escala entre octil dimetil PABA e bentonita sódica.....	49
Tabela 8 -- Otimização do tempo de ensaio entre octil dimetil PABA e bentonita delaminada.....	49
Tabela 9 -- Otimização da temperatura de ensaio entre octil dimetil PABA e bentonita delaminada.....	50
Tabela 10 -- Otimização da relação entre octil dimetil PABA e bentonita delaminada.....	51
Tabela 11 -- Ensaio em maior escala entre octil dimetil PABA e bentonita delaminada.....	52
Tabela 12 -- Otimização do tempo de ensaio entre mentil antranilato e bentonita sódica....	54
Tabela 13 -- Otimização da temperatura de ensaio entre mentil antranilato e bentonita sódica.....	55
Tabela 14 -- Ensaio entre mentil antranilato e bentonita sódica em maior escala.....	55
Tabela 15 -- Otimização do tempo de ensaio entre mentil antranilato e bentonita delaminada.....	56
Tabela 16 -- Ensaio entre mentil antranilato e bentonita delaminada em maior escala.....	57
Tabela 17 -- Otimização do tempo de ensaio entre 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora e bentonita delaminada.....	59

Tabela 18 -- Otimização da temperatura de ensaio entre 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora e bentonita delaminada.....	60
Tabela 19--Otimização do tempo de ensaio entre 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora e bentonita sódica.....	61
Tabela 20 -- Otimização do tempo de ensaio entre ácido sulfônico fenilbenzimidazol e bentonita delaminada.....	63
Tabela 21 -- Otimização da temperatura de ensaio entre ácido sulfônico fenilbenzimidazol e bentonita delaminada.....	64
Tabela 22 -- Otimização do tempo de ensaio entre atenolol e bentonita sódica.....	66
Tabela 23 -- Otimização da temperatura ótima de ensaio entre atenolol e bentonita sódica	67
Tabela 24 -- Otimização da relação entre as quantidades de atenolol e bentonita sódica do ensaio.....	68
Tabela 25 -- Análise do efeito de diferentes solventes na interação do atenolol com bentonita sódica.....	69
Tabela 26 -- Otimização do tempo de ensaio entre atenolol e bentonita delaminada.....	70
Tabela 27 -- Otimização da temperatura de ensaio entre atenolol e bentonita delaminada..	71
Tabela 28 -- Otimização do tempo de ensaio entre espironolactona e bentonita delaminada.....	73
Tabela 29 -- Otimização da temperatura de ensaio entre espironolactona e bentonita delaminada.....	73
Tabela 30 -- Otimização do tempo de ensaio entre aciclovir e bentonita sódica.....	75
Tabela 31 -- Otimização da relação das quantidades de aciclovir e bentonita sódica no ensaio.....	76
Tabela 32 -- Ensaio entre aciclovir e bentonita sódica em maior escala.....	77
Tabela 33 -- Otimização da temperatura de ensaio entre aciclovir e bentonita delaminada.	78
Tabela 34 -- Otimização da relação entre as quantidades de aciclovir e bentonita delaminada.....	79
Tabela 35 -- Resultado do d_{001} e do Δd_{001} encontrado por difração de raio-x.....	94
Tabela 36 – Valores médios dos FPS de cada um dos geles analisados.....	104
Tabela 37 -- Valores de FPS obtidos por teste in vivo.....	106
Tabela 38 – Resultado de teste de irritabilidade ocular e cutânea.....	107

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 -- Substâncias utilizadas no teste de interação com a bentonita sódica e viscogel B8®.....	27
Quadro 2 -- Determinação da Dose Mínima Eritematógena.....	37

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar a capacidade de interação da argila bentonita com diferentes moléculas bioativas. Com relação a este estudo, 7 substâncias foram testadas. Quatro destas foram moléculas fotoprotetoras (Octil Dimetil PABA, Mentil Antranilato, 3(4-metilbenzilideno)-cânfora e Ácido Sulfônico Fenilbenzimidazol), as outras foram fármacos com diferentes atividades farmacológicas (Atenolol, Espironolactona e Aciclovir). As moléculas fotoprotetoras que interagiram eficientemente com a argila, foram formuladas em cremes. Os cremes preparados com a molécula de filtro solar químico interagindo com argila foram analisados de forma que o fator de proteção solar *in vivo* e o grau de irritabilidade foram obtidos. De forma acessória a essas atividades, a influência do quitosano nestas preparações e em geles com apenas o filtro químico foi avaliado também. O estudo mostrou um pequeno aumento na proteção solar, uma vez que a argila pode ser considerada um filtro solar físico. Nos testes onde o grau de irritabilidade ocular e cutânea foram avaliados, estando a molécula de filtro solar químico no espaço interlamelar da argila, o contato com a pele não foi direto, o que diminuiu a irritação dérmica e ocular provocada pelos filtros solares. Entre os fármacos testados, aciclovir foi o que melhor interagiu com a bentonita sódica e delaminada. Comprimidos com aciclovir interagindo com argila foram analisados no teste de dissolução e os resultados demonstraram a possibilidade de uso da bentonita como um excipiente de liberação prolongada.

ABSTRACT

This work aims to study the interactions capacity of the bentonite clay with different molecules bioactives. Regarding this study, seven substances were tested. Four of them were photoprotected molecules and the others were drugs with different pharmacological activities. The photoprotected molecules, that efficiently interacted with the clay, were formulated with creams. The creams prepared with the molecule of the chemistry sunscreen interacting with clay were analyzed in order that the sun protector factor *in vivo* and the irritability degree are obtained. Besides these activities, the influence of the chitosan in these extracts and in gels with only chemical filters was evaluated as well. The study has shown a slight increase in sun protection, as far as the clay may be considered a physical sunscreen. In the test where the ocular and skin irritability degree was evaluated, being the chemical sunscreen molecule in the interlayer space clay, the contact with the skin isn't direct, what decreased the dermic and ocular irritation provoked by sunscreens. Among the drugs tested, acyclovir was the one that better interacted with the sodic and delaminated bentonite. Pills with acyclovir interacting with clay were analyzed in a dissolution test and the results demonstrated the possibility of using bentonite as a sustained release excipient.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Considerações gerais

Desde o início dos tempos, a natureza tem servido a humanidade, como fonte das mais variadas matérias primas. Entre estas, podemos citar as plantas, que tem sido utilizadas como fonte para a preparação de vários medicamentos fitoterápicos, fornecendo novas substâncias biologicamente ativas e matérias primas para a indústria farmacêutica e outros ramos industriais. Sua utilização na área farmacêutica remota dos primórdios da humanidade, sendo exemplo desta, o emprego do *Aloe vera* e do *Aloe barbadensis* por Dioscórides no início do século I da era cristã (MARTIN et al, 1965).

Outros produtos de uso farmacêutico também têm sido obtidos a partir de matérias primas vegetais. Dentre estes, podemos destacar os derivados de celulose, utilizados como excipientes das mais variadas funções em diversos tipos de formas farmacêuticas. Estes derivados são empregados como aglutinantes, desagregantes, revestimentos, agentes suspensores e matrizes para preparação de formas farmacêuticas de liberação modificada (HANDBOOK , 1986).

Os produtos de uso farmacêutico, excipientes ou ativos, precisam atender a um número de requerimentos com respeito à segurança de seu uso, estabilidade e eficácia terapêutica. Em termos dos excipientes farmacêuticos, a propriedade fundamental destes produtos se refere a sua inocuidade química, microbiológica e ausência de atividade farmacológica, enquanto que alguns atributos físicos podem ter importância, como sabor e cor que afetam a aceitação pelo paciente, ou ainda textura e conteúdo de água que afetam os processos de fabricação.

Dentre os derivados de celulose, destaca-se entre outros, a hidroxipropil metilcelulose (HPMC), utilizada principalmente na preparação de formas farmacêuticas de liberação modificada (MARTIN et al, 1965). A celulose, origem de todos estes derivados, representa a maior fonte de biomassa de nosso planeta, o que justificaria sua intensa exploração industrial nas mais variadas áreas.

Outras fontes naturais podem fornecer substâncias de interesse farmacêutico. Um destes exemplos seria a utilização de polissacarídeos de origem vegetal como a goma guar, goma caroba, goma xantana e de outra galactomanana obtida em 25 % de rendimento médio da *Prosopis juliflora*, conhecida vulgarmente como Algaroba a MSG (mesquite seed gum). Outro polissacarídeo de relevante interesse para a indústria farmacêutica seria o quitosano. Esta substância é uma N-acetilglicosamina, obtida de carapaças de caranguejos, esqueletos de

camarões e outros crustáceos (HIRANO, 1988). Este biopolímero representa a segunda maior fonte de biomassa de nosso planeta, sendo usualmente obtido por desacetilação da quitina, considerada como seu precursor sintético. O rendimento de obtenção se encontra entre 25-35%, o que, ao se considerar sua matéria prima como rejeito das indústrias pesqueiras e a utilização unicamente de soluções alcalinas e de ácidos minerais em seu processo de preparação, permite se entender o por que de seu custo ser bem reduzido. Outras vantagens evidentes deste polímero podem ser detectadas quando o mesmo se destina ao uso farmacêutico, visto que o quitosano é atóxico, (LD_{50} 16g/Kg) e biodegradável, sendo degradado no organismo humano pela lisozima. Na indústria farmacêutica, este tem sido aplicado tanto como excipiente como fármaco propriamente dito, em especial no controle dos níveis de colesterol no sangue. Este biopolímero se mostra como um excipiente muito versátil, sendo utilizado em comprimidos de liberação prolongada (KRISTMUNSDOTTIR et al, 1995), na preparação de microesferas (YOSHINO et al, 1996), geles (MIYAZAKI et al, 1981) e excipientes para granulação por via úmida ou compressão direta. Devido ao seu caráter catiônico o quitosano apresenta alta substantividade, ou seja, elevada capacidade de aderência ou combinação com o substrato queratinizado, formando um filme protetor, elástico e aderente (WATCHER et al, 1996; PITTERMAN, 1998).

A melhora da resistência à água de emulsões fotoprotetoras adicionadas de quitosano também pode aparecer com quitosano de alto peso molecular e de grupos catiônicos. O alto peso molecular do quitosano pode contribuir no preparo de formulações cosméticas, onde não é desejável que se ocorra o processo de absorção, para a redução da possibilidade da penetração indesejável na pele (TIRREL, 1981; AKELAH, 1984).

Sílica e alguns silicatos como talco, kaolinita, smectita e argilas fibrosas são exemplo de excipientes minerais amplamente usados na preparação de medicamentos (HERMOSÍN et al, 1981; ALVAREZ, 1984; GALÁN et al, 1985).

A capacidade das argilas em adsorver e desorver moléculas orgânicas é bem conhecida, e torna estes materiais muito atraentes como carreadores e suportes para substâncias com propriedades farmacêuticas (HOYO et al, 2001).

Alguns tipos de argilas fibrosas e laminares são utilizadas como estabilizantes devido sua natureza tixotrópica positiva, o que faz com que a viscosidade destes produtos diminua, facilitando a administração, e após o uso o produto retorna a sua estrutura de gel, rápido o suficiente, para evitar segregação dos componentes (VISERAS & LOPEZ-GALINDO, 1999). As argilas minerais também exibem propriedades desejáveis para produtos utilizados como desintegrantes, aglutinantes e diluentes. Estes materiais incham na presença de água, formam

geles em baixa concentração, sendo quimicamente inertes e estáveis em uma ampla faixa de temperatura (WAI et al, 1966).

1.2- Argilas como excipientes farmacêuticos

1.2.1- Características gerais

As argilas minerais apresentam inúmeras aplicações e ampla diversidade de uso, o que se deve à facilidade com que esses materiais são modificados (BERGAYA & LAGALY, 2001). Dentre as diferentes alternativas a argila de uso farmacêutico mais relevante seria a bentonita. Este silicato é constituído de cerca de 60% de montmorilonita, quartzo, feldspato e diferentes cátions, sendo suas características funcionais derivadas de seu maior constituinte, ou seja, da montmorilonita.

A estrutura básica destas argilas consiste de um octaedro de alumínio e magnésio em combinação com um tetraedro de sílica, que são arrançados de diferentes formas produzindo a superfície de carga, morfologia e superfície de área característica de cada tipo de argila. A superfície de carga pode ser resultante tanto da substituição isomorfa (por exemplo magnésio em lugar do alumínio) ou quebra de ligações nas extremidades da argila. A superfície de carga resultante de uma substituição isomorfa é negativa, sendo esta contrabalanceada por cátions como cálcio e magnésio, e caracterizada pela capacidade de troca catiônica.

As argilas podem ser classificadas morfológicamente como lâminas (estrutura em camadas) ou fibras. O grupo da Kaolina consiste de uma superfície plana tetraédrica de sílica e uma fração octaédrica de alumínio em igual proporção. Estes minerais apresentam pequena ou nenhuma substituição isomorfa e normalmente não aumentam de tamanho em soluções aquosas. As Smectitas, onde estão incluídas bentonita, hectorita e saponita, apresentam não mais uma proporção de 1:1, como as Kaolinas, mas sim de 2:1 (razão tetraédrica de sílica e octaédrica de alumínio ou magnésio). Nestas argilas a superfície octaédrica se encontra entre duas superfícies tetraédrica de sílica (figura 1). A substituição isomorfa ocorre em ambas superfícies fornecendo uma elevada capacidade de troca catiônica. Devido à elevada hidrofiliabilidade deste tipo de argila, uma grande quantidade de moléculas de água são imobilizadas entre as camadas, conferindo uma maior viscosidade e capacidade de expansão ao grupo das smectitas. Dessa forma esses minerais podem ser utilizados como agentes desintegrantes de comprimidos devido a sua propriedade de expansão (WHITE & HEM, 1983).

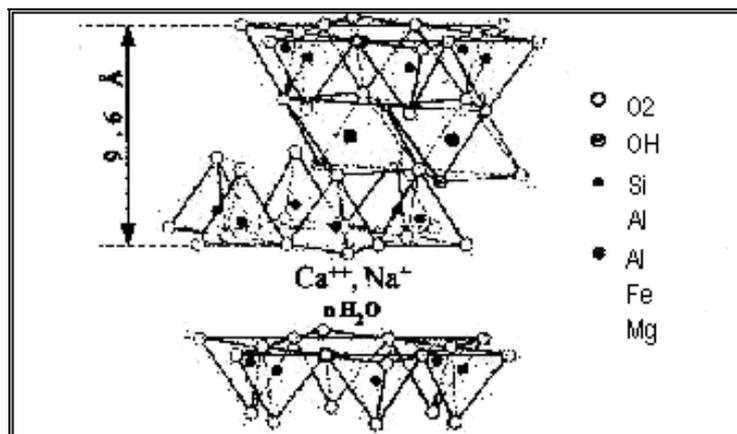


Figura1: Estrutura idealizada da montmorilonita ^{*1} (Extraído de Kornmann,2001).

As argilas fibrosas, como atapulgita e sepiolita são minerais do tipo 2:1 como as smectitas, mas as camadas são alongadas ao longo do eixo x. Esses materiais não apresentam nenhuma possibilidade de expansão. As argilas fibrosas são efetivos agentes incrementadores de viscosidade pois as fibras arranjam em emaranhados, levando a gelificação das dispersões onde estão contidas.

A morfologia das argilas também influencia na propriedade de adsorção das argilas. As smectitas são capazes de acomodar moléculas de soluto num grande espaço entre as camadas. Já as argilas fibrosas apresentam uma geometria fixa que é muito pequena para aceitar moléculas grandes como a água, amônia, ou álcoois primários.

As argilas se dividem em três grupos em termos de superfície de área:

- Grupo da Kaolina, que não são expandíveis e apresentam uma superfície de área de 3-15m²/g, o que inclui apenas a superfície externa.
- As argilas fibrosas, que apresentam uma moderada superfície decorrente de sua natureza fina. A superfície de área também é toda externa sendo da ordem de 300m²/g.
- Smectitas (as argilas que se expandem), apresentam a maior superfície de área chegando a 600-800m²/g o que se deve a sua extensa área de superfície interna (WHITE & HEM, 1983).

¹ * Estrutura proposta por Hoffmann, Endell e Wilm, mostrando duas camadas tetraédricas fusionadas com uma octaédrica. Os pontos em cinza e em preto indicam a localização das substituições isomorfas no octaedro e no tetraedro respectivamente.

Existem diferentes modos de se modificar argilas minerais: adsorção, troca iônica com cátions inorgânicos e complexos catiônicos, troca iônica com cátions orgânicos, enxerto de compostos orgânicos, reação com ácidos, polimerização interlamelar ou intraparticular e interparticular, calcinação, delaminação e reagregação da argila mineral smectita, e tratamentos físicos como liofilização e ultrassom (BERGAYA & LAGALY, 2001).

Os mecanismos de adsorção das argilas estão diretamente relacionados à superfície de área e/ou capacidade de troca. A bentonita é geralmente escolhida como argila modelo por exibir alta capacidade de troca (80-150mEq/100g) e elevada superfície de área.

Em relação à microestrutura da bentonita (figura 2), a lamela apresenta um diâmetro aproximado entre 100 a 200 nm e 1 nm de espessura. De 5 a 10 lamelas estão associadas pela presença de íons entre essas na partícula primária (posição transversal de 8 a 10 nm), as quais formam grandes agregados irregulares (diâmetro de 0,1 a 10 μm) levando a uma estrutura estratificada da argila (GIANNELIS, 1995).

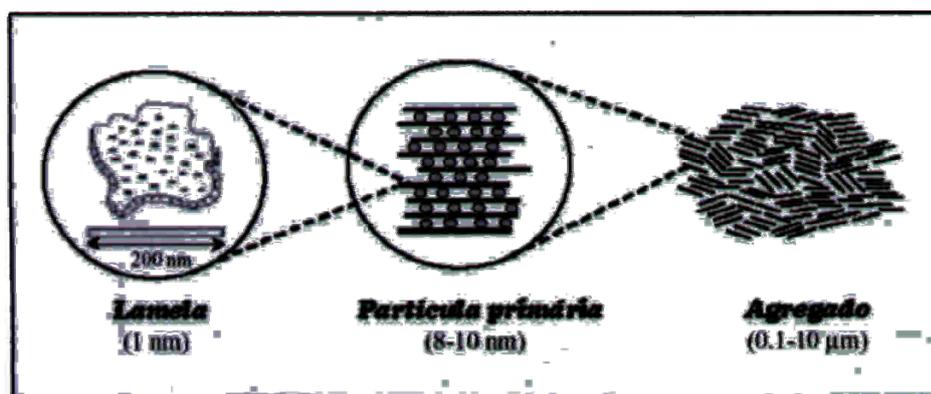


Figura2: Microestrutura da bentonita. Os círculos cinza na partícula representam os cátions intercalados (Extraído de Kornmann,2001).

É sabido que qualquer cátion intercalado dentro do espaço interlamelar da bentonita pode ser trocado. Os cátions intercalados que ocorrem naturalmente são Na^+ , Ca^{2+} , K^+ e Mg^{2+} , podendo ser obtida a argila homoiônica, através da troca destes cátions por soluções concentradas de NaCl ou MgCl_2 (KORNMAN, 2001). As concentrações desses cátions variam dependendo da origem geológica e podem catalisar reações de degradação do fármaco ou levar a formação de complexos fármaco-argila. As bentonitas usualmente possuem baixa atividade

catalítica, entretanto, quando os íons intercalados naturalmente são trocados por um cátion apropriado, a bentonita se torna ativa em vários graus (KOWALSKA et al,2001).

Após o primeiro relato de adsorção de íons orgânicos (GIESEKING, 1939) e moléculas orgânicas não iônicas de característica polar pela bentonita (MC EWAN, 1944), foi demonstrado que inúmeras moléculas orgânicas podem ser adsorvidas pelas argilas, especialmente pela bentonita (THENG, 1974). Também foram realizados estudos sobre os mecanismos de interação (CARTENSEN & SU, 1971) e nos fatores que afetam a expansão interlamelar das argilas com os compostos orgânicos (BARSHAD, 1952).

A bentonita tem sido utilizada tanto para preparação de sistemas de liberação prolongada em vistas de sua capacidade adsortiva elevada (MC GINIT & LACH, 1978), assim como, um agente suspensor e excipiente para comprimidos (WAIK et al, 1996). A presença de argila no trato gastrointestinal é de interesse farmacêutico devido ao resultante decréscimo na biodisponibilidade dos fármacos administrados oralmente e na possibilidade de uma ação contínua decorrente de uma velocidade de absorção controlada, assegurando desta forma níveis plasmáticos eficientes por longos períodos de tempo (CAMAZANO et al, 1980).

Uma nova e atrativa alternativa, pode ser obtida com a possibilidade de se explorar o processo de delaminação da argila com fármacos positivamente carregados, descrito anteriormente na utilização do 5-fluor uracila, onde este não só se intercala no interior das lamelas da argila, como também se adsorve em sua superfície (WANG et al, 2002). O processo de adsorção/delaminação, já havia sido descrito, ocorrendo em maior ou menor grau, dependendo da densidade de cargas do grupamento amino protonado e do volume da molécula utilizada (SANCHES MARTIN, 1981).

1.2.2- Capacidade de troca catiônica

Para uma determinada argila, a quantidade máxima de cátions que podem ser trocados é constante e conhecido como capacidade de troca catiônica (CEC). Esta é medida em miliequivalentes por grama (meq/g) ou mais freqüentemente por 100g (meq/100g) de argila.

A determinação da capacidade de troca catiônica é um pouco que arbitrária e nenhum grau de exatidão tem sido requerido. A medida é geralmente feita por saturação da argila com NH_4^+ ou Ba^+ e determinação da quantidade presa pela argila em pH 7, por titulação condutimétrica (BUSENBERG & CLEMENCY,1973; MORTLAND & MELLOR,1954). Um outro

método consiste da saturação da argila com íons alquilamônio e avaliação da quantidade dos íons intercalados por ignição da amostra (MC ATEE, 1959).

1.3-Agentes de compatibilização

Tendo as argilas uma característica polar, decorrente de sua composição ser quase que completamente de sílica, a dispersão de um fármaco menos hidrofílico na argila depende da introdução de um agente de compatibilização, substância anfifílica dotada de uma cadeia lipofílica longa, uma vez que a maioria dos fármacos possui características apolares.

O primeiro agente de compatibilização usado na síntese de nanocompósitos foram os aminoácidos. Os aminoácidos são moléculas que consistem de um grupo amino básico ($-NH_2$) e um grupo carboxil ácido ($-COOH$). Em meio ácido ocorre uma transferência intramolecular de um próton, do grupo carboxil para o grupamento amino. Uma troca catiônica se torna então possível entre a função NH_3^+ formada e o cátion intercalado entre as lamelas da argila. Desta forma a argila se torna organofílica.

Numerosos outros agentes vem sendo utilizados sendo o mais comum os íons alquilamônio, o que se deve à facilidade da troca destes com os íons presentes entre as lamelas da argila, figura 3 (KORNMANN, 2001).

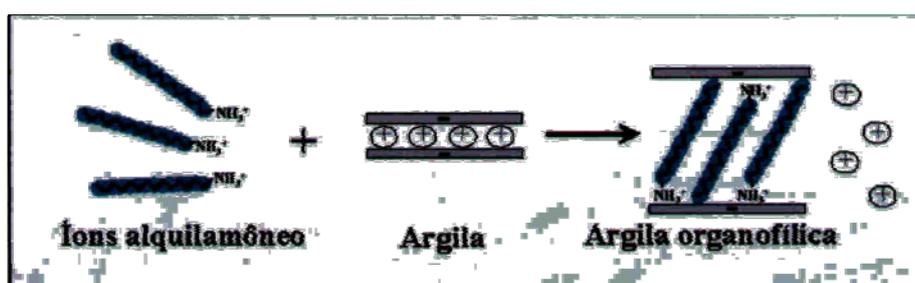


Figura3: Processo de troca catiônica entre os íons alquilamônio e os cátions intercalados entre as lamelas da argila Extraído de (Kornmann, 2001).

Os íons alquilamônio mais utilizados são alquiâminas primárias, colocadas em meio ácido para protonar a função amina. Sua fórmula básica é $CH_3-(CH_2)_n-NH_3^+$, aonde n está entre

1 e 18. Foi demonstrado que as cadeias com mais de 8 átomos de carbono favorecem a síntese de nanocompósitos delaminados (ocorre troca catiônica). Enquanto que íons de cadeia curta levam a formação de nanocompósitos intercalados (ocorre apenas uma adsorção física). (WANG & PINNAVAIA, 1998)

Dependendo da densidade de cargas da argila, os íons alquilamônio arranjam-se de diferentes formas (figura 4) entre as lamelas, adotando as seguintes orientações: monocamada, apresentando espaçamento interlamelar de 13,6 Å, bicamada (espaço interlamelar igual a 17,7 Å), pseudo-tricamada (espaço interlamelar igual a 21,7 Å) e parafínica, espaçamento interlamelar maior que 22 Å (LEE & KIM, 2002).

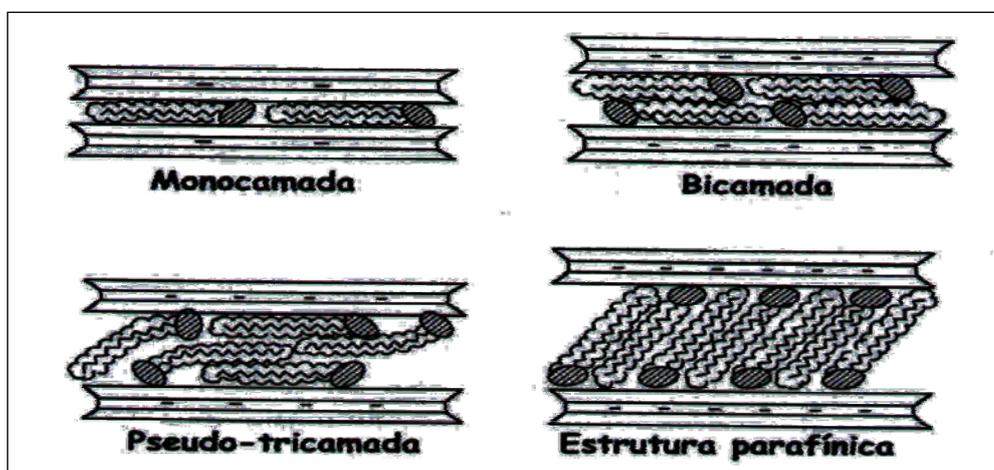


Figura4: Orientações dos íons alquilamônio na lamelas (Extraído de Lee & Kim, 2002).

Os íons alquilamônio quando adotam uma conformação do tipo parafínica, onde há elevada densidade de cargas, provocam um aumento do espaço entre as lamelas da ordem de 10 Å. Dessa forma, ocorre uma diminuição da energia da superfície da argila tal, que moléculas de diferentes polaridades podem ser intercaladas entre as lamelas (LEBARON et al, 1999).

1.4- Nanotecnologia

O termo micro/nanopartículas é genérico, sendo usado, de acordo com o tamanho da partícula a que se está referindo. Partículas com tamanho menor de 1µm são consideradas nanopartículas, enquanto que partículas maiores são denominadas de micropartículas. O termo

micro/nanopartícula é amplo e refere-se a dois tipos de estruturas diferentes micro/nanoesferas e micro/nanocápsulas.

Denomina-se micro ou nanoesferas aqueles sistemas em que o fármaco encontra-se homogeneamente disperso no interior da matriz polimérica ou cerosa. Dessa forma obtém-se um sistema monolítico, onde não é possível identificar um núcleo diferenciado, figura 5.

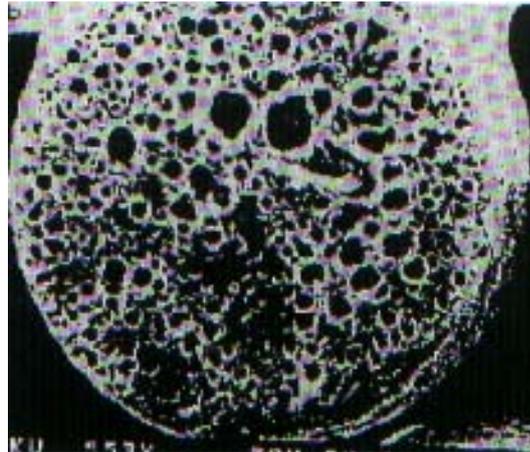


Figura 5: Fotomicrografia de corte transversal de microesfera de polianidrido (Extraído de Newton, 2002).

Micro/nanocápsulas, ao contrário, constituem sistemas reservatórios, onde é possível identificar um núcleo diferenciado, que pode ser sólido ou líquido. Nesse caso, a substância ativa encontra-se envolvida por uma membrana, geralmente polimérica, isolando o núcleo do meio externo, figura 6 (NEWTON, 2002).

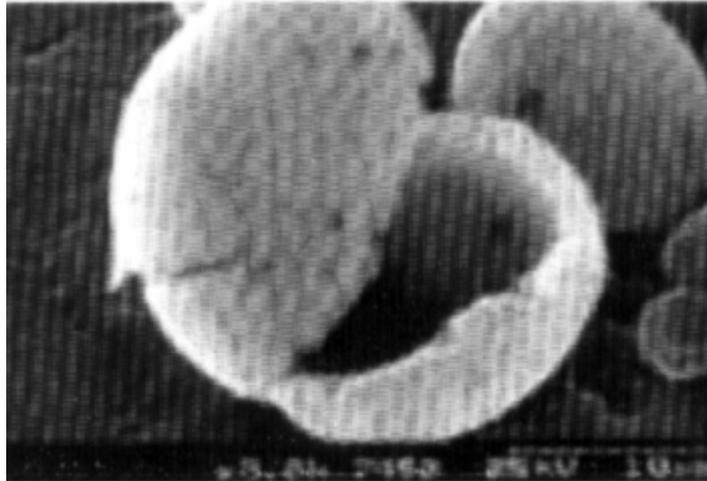


Figura 6: Fotomicrografia de microcápsula (Extraído de Newton, 2002)

Em cerca de 20 anos, o micro/nanoencapsulamento de fármacos, tornou-se uma tecnologia de compartimentalização de substâncias, bem estabelecida. Esses sistemas possibilitam o isolamento e a manutenção de moléculas no interior da micro/nanoestrutura, com dimensões variando de alguns nanômetros, até alguns milímetros de diâmetro, conforme a metodologia utilizada, funcionando como verdadeiros reservatórios do agente ativo.

A microencapsulação foi inicialmente utilizada pela National Cash Register Company, na produção do papel cópia sem carbono. Neste processo, duas tinturas separadas por um material argiloso, quando juntas, reagem originando cor, sendo a mistura das tinturas causadas pelo rompimento do filme com um instrumento no ato de escrever.

O sucesso da microencapsulação levou muitos cientistas, de várias áreas, a aplicar a tecnologia de micro/nanoencapsulação, sendo que atualmente a utilização passa pelas áreas gráficas, de indústria farmacêutica, de agricultura, de indústria de alimentos, entre outras (NEWTON, 2002).

Na área farmacêutica, a microencapsulação assume, na atualidade, uma das alternativas mais viáveis para o desenvolvimento de novas formulações, uma vez que possibilita, de maneira racional e efetiva, aumentar a eficiência terapêutica de substâncias já amplamente utilizadas.

Inicialmente, micropartículas foram produzidas com tamanhos variando de 5 μ m até 2 mm. Entretanto, desde de 1980, uma segunda geração de sistemas microparticulados de

dimensões menores vem sendo desenvolvidos. Esses sistemas incluem nanopartículas (10-1000nm de diâmetro) e micropartículas (1-10 μ m de diâmetro).

Outros sistemas capazes de encapsular substâncias ativas são os lipossomas, microemulsões e uma variedade de ciclodextrinas (NEWTON, 2002).

Uma terceira geração de sistemas nanoparticulados tem sido produzida para direcionar sistemas coloidais para sítios específicos de ação farmacológica, proporcionando alta concentração do fármaco no órgão ou tecido alvo.

A aplicação de sistemas micro/nanoparticulados na área farmacêutica esta sendo amplamente estudada, e têm sido utilizados para a obtenção de formas sólidas de óleos, no mascaramento do sabor e odor desagradáveis de substâncias ativas, no aumento da solubilidade, na diminuição da volatilização de fármacos líquidos, na prevenção de incompatibilidades entre substâncias ativas contidas na mesma formulação, para tornar materiais tóxicos manipuláveis de maneira segura, para aumentar características de fluxo de materiais sólidos em processos de compressão, e para produzir liberação controlada e vetorização de fármacos, entre outras (NEWTON, 2002).

Entretanto existe ainda uma grande dificuldade de produção em grade escala destes sistemas micro/nanoparticulados, tendo eles uma baixa reprodutibilidade. As alternativas que se mostram mais promissoras são as microemulsões e a utilização de argilas, principalmente a bentonita/montimorilonita.

1.5-Proteção Solar

Existem diversas evidências que a pele humana é danificada pela exposição à luz solar. O componente UV (290 –400nm) da radiação solar que alcança a Terra é o principal fator causador de patologias na pele incluindo respostas inflamatórias (como eritema e edema) e efeitos a longo prazo como envelhecimento cutâneo, imunossupressão e câncer de pele (PATHAK, 1991). O conhecimento dos efeitos deletérios da luz solar tem levado a um grande uso de preparações tópicas fotoprotetoras (HAYDEN et al, 1998).

A região ultravioleta do espectro eletromagnético, pode ser dividida em três regiões. UV-A (320-400nm), causa bronzeamento direto da pele com eritema fraco, ou sub-queimadura. Havendo exposição contínua, não somente se acelera o envelhecimento da pele, mas, também ocorre implicação carcinogênica. A faixa UV-B (280-320nm) causa resposta de eritema e, em

associação bronzeamento indireto da pele. Sob irradiação intensa freqüente, o UV-B pode produzir carcinomas de pele. A parte do espectro solar correspondente a faixa UV-C (100-280nm) não alcança a Terra, já que os comprimento de onda abaixo de 290nm, são absorvidos pela camada de ozônio da atmosfera (BAIRD, 1995). A radiação UV-C é germicida e mostra-se altamente danosa à pele humana, devido ao seu alto teor de energia.

As preparações anti-solares são usualmente aplicadas em uma extensa área da pele para prevenir a formação de eritema induzida pela luz solar. Desta forma a eficiência da formulação está relacionada com a formação de um filme protetor na pele, devendo o filtro solar ter uma alta afinidade pelo extrato córneo. Os produtos designados à proteção solar devem conter ingredientes ativos que fiquem retidos na pele por um certo período de tempo, mantendo sua atividade mesmo após transpiração ou contato com água (LOWE et al, 1997). Os dois sistemas básicos de proteção contra a radiação UV são compostos moleculares (filtro solar químico) e compostos particulados de dimensões nanométricas como o dióxido de Titânio (filtro solar físico). Os filtros orgânicos absorvem a radiação UV, impedindo a transmissão da radiação até os tecidos subjacentes. Já os filtros inorgânicos atuam bloqueando a radiação e não absorvendo como os filtros químicos.

A eficácia de um filtro solar é descrita pelo fator de proteção solar (FPS), que é definido pela razão entre a dose de energia UV requerida para produzir um eritema mínimo na pele protegida e a dose de energia UV requerida para produzir eritema na pele não protegida. A dose pode ser medida pela intensidade da luz ou pelo tempo de exposição (PITTET & GIVAUDAN, 1988).

Existem diferentes métodos para determinação do fator de proteção solar:

- Métodos *in vitro* baseados em medição de efeitos físicos:

O efeito físico de uma fórmula de filtro solar pode ser facilmente determinado pelo método Diffey e Robson: uma quantidade definida da fórmula teste é transferida para uma folha delgada de metal, cuja superfície irregular simula a pele humana. A luz UV com energia espectral definida precisamente é, então, transmitida através da folha que serve de amostra e suporte. A absorção da luz, atribuível a fórmula em teste é determinada espectrograficamente. Por meio de integração acima das seções de espectro UVB, podem ser calculados o fator de proteção UVB.

O fator de proteção solar também pode ser avaliado, empregando a espectrofotometria para avaliação dos produtos solares químicos. O método desenvolvido por Mansur e

colaboradores apresenta boa correlação com resultados encontrados *in vivo* (MANSUR et al, 1986).

- Métodos baseados em eficácia biológica:

Atualmente, existem quatro métodos candidatos a teste para a determinação de eficácia biológica de formulação de filtro UVA: Medição de eritema induzido por UVA em pele sensibilizada de voluntários; método de reação de eritema recente em pele de pessoas não sensibilizadas, após dose muito alta de irradiação UVA; medição colorimétrica do escurecimento direto do pigmento, induzido pelo UVA, em voluntários; medição colorimétrica de reação de bronzeamento recente em peles humanas não sensitivas, após alta dose de irradiação UVA.

Para aumentar o fator de proteção solar deve ser utilizada uma maior concentração da molécula fotoprotetora na formulação, utilizar uma combinação de filtros, ou ainda empregar melhoradores na formulação.

A utilização de um filtro UV particular depende de fatores como eficácia da molécula do filtro, solubilidade do filtro, compatibilidade com o veículo ou meio em que é empregado, potencial causador de irritação ou de alergia do filtro, fotoestabilidade da molécula do filtro sob condições de uso, concentração de uso.

1.6-Moléculas orgânica fotoprotetoras

Moléculas orgânicas com ação fotoprotetora são compostos que diminuem a dose de radiação UV que alcança a pele humana por absorção da radiação via promoção de um elétron em orbital molecular de baixa energia para um orbital de alta energia.

Os compostos com atividade fotoprotetora são estruturalmente similares. A maioria deles são compostos aromáticos dissubstituídos que apresentam um grupamento carbonila, cetona ou éster, e um substituinte com par de elétrons livre (amina ou metoxila) doadores de elétrons, usualmente em posição *orto* ou *para* ao grupamento carbonila (figura 7). O elevado grau de conjugação permite a essas moléculas absorver numa região apropriada para proteção contra a radiação ultravioleta (ISAACS, 1987) convertendo a energia restante em radiação inócua.

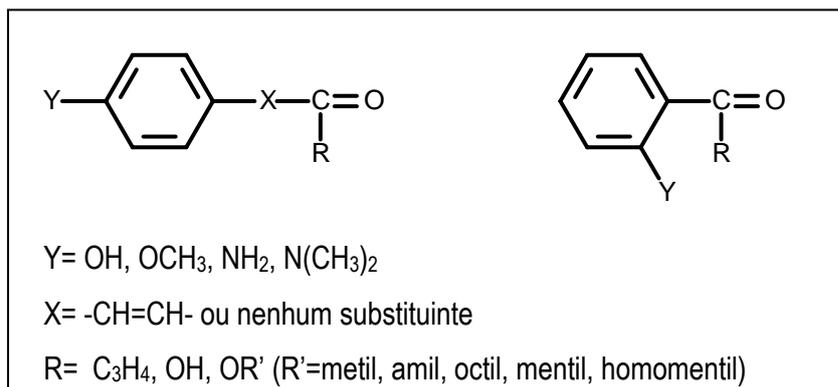


Figura7: Fórmula estrutural genérica da maioria dos filtros solares (Extraído de Shaath, 1987)

O primeiro filtro, da classe dos PABA, disponível comercialmente foi o ácido *p*-aminobenzóico (PABA), que absorve fortemente na região UV-B. Vários ésteres do PABA são utilizados, por serem mais lipossolúveis. Porém tanto o PABA quanto seus ésteres causam reações alérgicas, e desta forma atualmente a maioria das formulações não mais utilizam o PABA (DORIS, 1997).

As moléculas fotoprotetoras podem ser divididas em absorvedores UV-A e absorvedores UV-B. Todos os absorvedores UV-A são *orto*-dissubstituídos. A ligação hidrogênio intramolecular permite a estas moléculas promover mais facilmente uma delocalização eletrônica, o que corresponde a um menor requerimento de energia. Os absorvedores UV-B são *para*-dissubstituídos, sendo o octil dimetil PABA um dos filtros mais clássicos (KLEIN, 1992).

A molécula fotoprotetora ativada pode dissipar o excesso de energia na forma de calor, fluorescência, interação com moléculas vizinhas ou sofrendo modificações químicas (BROADBENT et al, 1996; STOKES & DIFFEY, 1999). Este mecanismo não apenas reduz a eficiência do protetor solar durante seu uso, como também leva ao acúmulo na pele de produtos de degradação freqüentemente associados com irritação e fotoalergia das preparações anti-solares (DEFLANDRE & LANG, 1988; DROMGOOLE & MAIBACH, 1990). Conseqüentemente a fotoestabilidade das moléculas com ação fotoprotetora deve ter uma atenção especial. A utilização de ciclodextrinas para aumentar a estabilidade das moléculas orgânicas fotoprotetoras já foi demonstrado para os filtros 2-etilhexil-*p*-metoxicinamato, butilmetoxidibenzoilmetano (SCALIA et al, 2002) e 2-etilhexil-*p*-dimetilaminobenzoato (SCALIA et al, 1999).

A utilização de processos de microencapsulamento é outra alternativa já estudada que promove o aumento da fotoestabilidade, além de aumentar a substantividade e diminuir a toxicidade das moléculas orgânicas fotoprotetoras. (ANSELMINI et al, 2002).

Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) vem sendo introduzidas como carreadores para vários componentes ativos de medicamentos e cosméticos (MÜLLER et al, 1995). As NLS são obtidas por uma simples troca do lipídio líquido das emulsões por um lipídio sólido, a temperatura ambiente e também na temperatura do corpo humano (MÜLLER et al, 2002).

Estas nanopartículas lipídicas podem atuar como filtros solares físicos, por meio de reflexão da radiação UV (WISSING et al, 2001). A dispersão é porém dependente do grau de cristalinidade da matriz lipídica, sendo desejável para incorporar uma molécula fotoprotetora uma matriz lipídica altamente cristalina (WISSING & MULLER, 2002 a). Estudos realizados *in vitro* com o filtro benzofenona-3 demonstraram a possibilidade de formulação de um filtro solar mais efetivo e seguro com reduzida quantidade de molécula orgânica (WISSING & MULLER, 2002 a). A influência da nanopartícula sólida lipídica na liberação e absorção cutânea foi estudada com oxibenzona (WISSING & MULLER, 2002 b). Este carreador demonstrou ser capaz de fornecer um sistema de liberação diferenciado, retendo o filtro solar por mais tempo na superfície da pele, que é o seu local de ação.

Nanocápsulas contendo filtros lipofílicos, como o Octil metoxicinamato (Parsol MCX – OMC) vem sendo estudadas (ALVAREZ-ROMÁN et al, 2001). A liberação *in vitro* das nanocápsulas com OMC é governada pela hidrofobicidade e cristalinidade do polímero e pela lipofilicidade do componente ativo. As nanocápsulas com OMC fornecem uma proteção significativamente maior contra eritema induzido por UV em comparação com a formulação em gel convencional devido à formação de um filme na superfície da pele.

Os produtos fotoprotetores devem exibir resistência a água, o que significa manutenção do fator de proteção solar após imersão em água ou transpiração e, conseqüentemente maior tempo de proteção.

A resistência à água dos produtos fotoprotetores pode ser aumentada pela adição de substâncias hidrofóbicas formadoras de filme ou polímeros catiônicos (SCHRADER et al, 1997). Estudos para avaliar a capacidade do quitosano em aumentar a resistência à água de filtros UV em uma formulação fotoprotetora demonstraram que este polímero aumenta a adesão dos filtros UV aumentando sua resistência a água (KLINGELS et al, 1999)

1.7- Formação de complexos de argila com filtro-solar

O aumento pela procura por produtos que bloqueiem a radiação e protejam contra o câncer de pele, tem levado aos estudos de interação entre moléculas orgânicas, que absorvam na região do UV, e as argilas minerais.

A interação de moléculas fotoprotetoras entre as lamelas da argila desperta interesse, devido a probabilidade de aumento da capacidade de proteção contra a radiação ultravioleta, tanto da argila pura, como da molécula do filtro solar isolado.

Interação entre etilcinamato e montimorilonita (bentonita purificada), já foi descrita. O método utilizado para promover a interação foi adsorção gasosa, uma vez que o método convencional de intercalação é inviável por conta da insolubilidade da molécula fotoprotetora em água (HOYO et al, 2001).

1.8- Formação de complexos de argila com fármaco

A utilização de fármacos na forma de complexos adsorvidos com argilas minerais pode levar a um decréscimo da biodisponibilidade quando estes são administrados por via oral. Como consequência existe a possibilidade de obtenção de uma ação controlada do fármaco através de pequena, mas progressiva liberação do fármaco, aumentando desta forma sua eficiência e reduzindo a dosagem.

Sistemas de liberação controlada oferecem várias vantagens quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos. Nas formas de administração convencionais a concentração do fármaco na corrente sanguínea apresenta um aumento, atinge um pico máximo e então declina. Desde de que cada fármaco possui uma faixa de ação terapêutica acima da qual ele é tóxico e abaixo da qual ele é ineficaz, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas. Este fato é ainda mais problemático se a dose efetiva estiver próxima à dose tóxica. O objetivo dos sistemas de liberação controlada consistem em manter a concentração do fármaco entre estes dois níveis por um tempo prolongado, utilizando-se de uma única dosagem (figura 8)(RANG & DALE, 2001)

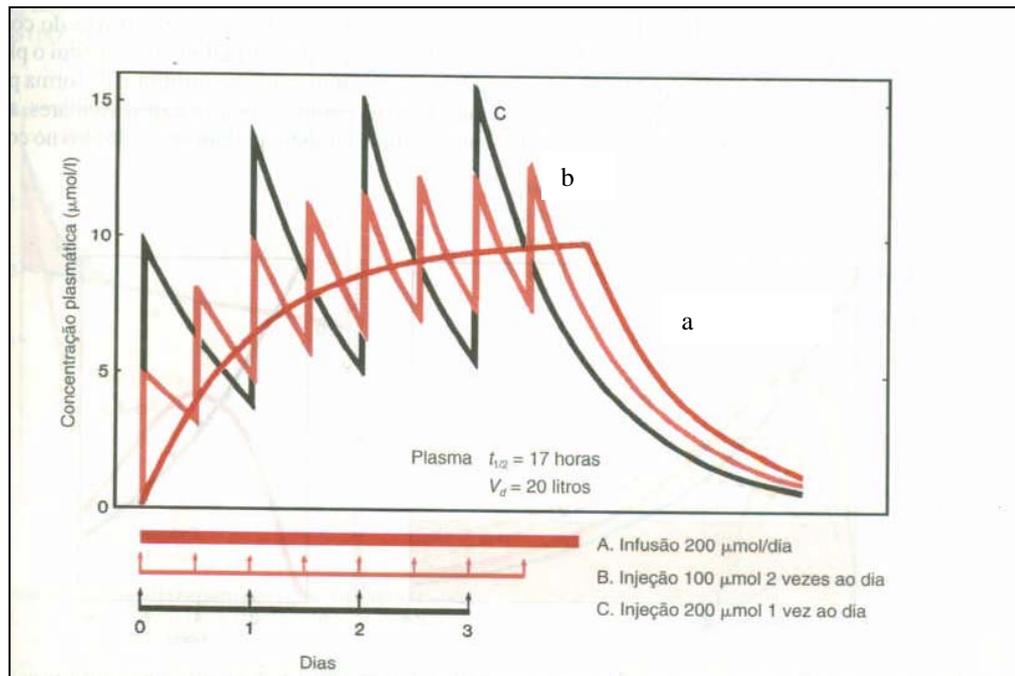


Figura 8: Comportamento previsto do modelo de compartimento único com a administração contínua ou intermitente de fármacos (Extraído de Rang & Dale, 2001).

O sistema de liberação controlada oferece as seguintes vantagens:

- Aumento da eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco e maior tempo de permanência na circulação;
- Diminuição significativa da toxicidade;
- Existe a possibilidade de direcionamento a alvos específicos, sem retenção significativa do fármaco;
- Menor número de vezes de administração do fármaco.

Um dos fármacos cujo processo de interação com a montmorilonita já foi estudado é o propranolol (MARTIN et al, 1981). Foi observado neste caso que a principal reação que ocorre é a troca dos íons sódio da montmorilonita pelos íons amônio do propranolol em solução. Em valores de pH baixos a adsorção não diminui, o que indica que a substituição dos íons sódio pelos íons hidrogênio (H_3O^+) não ocorre. A reação de adsorção ocorre dentro de 15 minutos.

Clindamicina, tetraciclina, 5-fluorouracil, dexametasona, clorfeniramina, são exemplos de outros fármacos, cuja interação com a argila já foi estudada. A formação do complexo com dexametasona resulta num processo reversível com pequena e prolongada desorção do fármaco. (FORTEZA et al, 1989). No caso da clorfeniramina o único mecanismo responsável pela interação foi troca catiônica com o íon clorfeniramônio (CAMAZANO et al, 1980).

Há porém alguns pontos nesta nova tecnologia que precisam ser amadurecidos e pensados com cuidado. Por exemplo, a dificuldade de interrupção da ação farmacológica de um medicamento administrado via sistemas de liberação modificada, assim como, o risco de nanopatologia, designando a presença de nanopartículas de natureza inorgânica, em tecidos humanos que não são metabolizadas e tem excreção dificultada levando a sintomas como febre, hepatomegalia e acidose metabólica, o que nos obriga a rever os conceitos de biodisponibilidade neste sistemas.

1.9-Técnicas para avaliar as interações fármaco-argila

As interações fármaco-argila têm sido tradicionalmente estudadas pelo uso de isotermas de adsorção (análise calorimétrica de varredura). Esta abordagem clássica indica a quantidade de fármaco adsorvido, mas fornece apenas evidencia indireta do mecanismo de adsorção. A interação de fármacos com as argilas que se expandem pode ser avaliada por difração de raios-x, uma vez que, o espaçamento axial se adapta a molécula intercalada quando a adsorção ocorre no espaço interlamelar. Desta forma o aumento do espaçamento interlamelar devido à adsorção pode ser comparado às dimensões moleculares para elucidar a orientação do fármaco adsorvido (WHITE & HEM, 1983).

Para chegar a conclusões sobre a presença e tamanho da molécula do fármaco no espaço interlamelar, toda água precisa ser excluída do sistema fármaco-argila. Assim quando os difratogramas de raios-x mostram um aumento do espaçamento basal em comparação com a argila desidratada, este espaçamento é decorrente apenas das dimensões da molécula adsorvida. O espaçamento d_{001} obtido pela difração de raio-x para a bentonita desidratada e na ausência de um fármaco é igual a 9,5 Å. A adsorção de moléculas entre as lamelas da argila aumenta o espaçamento d_{001} ; a diferença entre o espaçamento d_{001} da bentonita expandida pela formação de um complexo com uma molécula e o espaçamento d_{001} da bentonita sem complexo e desidratada é designado como sendo o valor de Δd_{001} .

Analisando o arranjo tetraédrico da sílica nas argilas do grupo smectitas, se observa cavidades na superfície de oxigênio, que pode acomodar uma porção da molécula do fármaco adsorvida. Desta forma, o aumento do espaço interlamelar poderia ser menor (na ordem de 1Å) que a dimensão do fármaco adsorvido (GREEN-KELEY, 1955)

A baixa sensibilidade da análise e limites de operação do equipamento podem ocasionar conclusões equivocadas sobre a estrutura do nanomaterial. Portanto algumas vezes, faz-se necessário o uso da microscopia de transmissão eletrônica como complemento da técnica anterior. A microscopia de transmissão eletrônica dá a medida direta da distribuição espacial das lamelas, mas requer o cuidado na preparação da amostra e análise. Tal técnica permite ainda, com o uso do software de análise de imagens, quantificar o tamanho do sistema obtido e sua respectiva distribuição (KORNMANN, 2001).

Análise por espectrofotometria no infravermelho pode fornecer informações sobre o mecanismo de adsorção comparando os espectros de infravermelho do fármaco adsorvido e do fármaco puro. Pode se verificar o deslocamento de absorção de alguns grupamentos funcionais do fármaco adsorvido por influência da argila (WHITE & HEM, 1983).

O efeito da argila no equilíbrio ácido-base de um fármaco, sendo ele uma base ou um ácido fraco, é um método utilizado para determinação da interação da argila com a forma neutra e carregada do fármaco. O pK do fármaco é alterado se a argila interage preferencialmente com uma das espécies ionizadas do mesmo. Tal fato é o que ocorre especialmente com bases fracas, pois uma vez que a argila apresenta uma superfície negativa, esta é capaz de interagir mais fortemente com a forma protonada da base, HB⁺, do que com a base neutra, B (FELDKAMP & WHITE, 1979). A tetraciclina por exemplo contém um grupamento básico e dois grupamentos ácidos, sofrendo o seguinte equilíbrio:



O primeiro pK é alterado de 3,34 para 6,23 na presença de montmorilonita, indicando uma interação mais forte da argila com as espécies protonadas, H₃T⁺, do que com as espécies neutras, H₂T⁰. O segundo pK altera de 7,86 para 8,01 na presença de montmorilonita, o que

indica uma pequena preferência para adsorção das espécies neutra frente às iônicas, HT^- . (BROWNE et al, 1980).

A adsorção preferencial de uma das espécies do equilíbrio ácido-base tem importante efeito na distribuição das espécies do fármaco. Como podemos ver pela figura 9, a adsorção preferencial das espécies protonadas, leva a um predomínio destas até pH 6. Desta forma, as espécies neutras da tetraciclina estariam presentes numa pequena região do trato gastrointestinal se a argila também está presente.

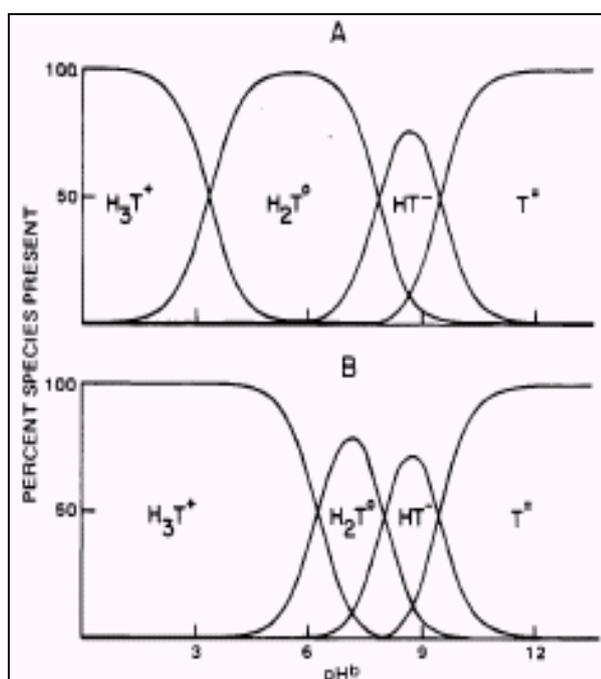


Figura 9: Distribuição das espécies de Tetraciclina. (A) Em suspensão aquosa. (B) Em suspensão com montmorilonita (Extraído de Browne et al, 1980).

1.10- Mecanismos de desorção

A adsorção de um fármaco pela argila pode levar a inúmeros efeitos desejáveis como aumento da palatabilidade, aumento da dissolução, ou ainda liberação controlada do fármaco, devendo este ser liberado da argila para exercer sua ação farmacológica. No caso de administração oral, o complexo fármaco-argila encontra um gradiente de pH na região de

absorção do trato gastrointestinal que varia de 2 no estômago até 6 no intestino delgado. Além disso o complexo está sujeito a diluição na presença do fluido gástrico aquoso e um aumento da força iônica no fluido intestinal. Sendo assim a argila deve adsorver o fármaco de modo apropriado para que este seja liberado no trato gastrointestinal em resposta a uma variação de pH, diluição ou aumento da força iônica (WHITE & HEM, 1983).

O fato do grupo das smectitas adsorverem as espécies protonadas de bases fracas por troca catiônica e espécies neutras por adsorção física, tem sido utilizado para produzir complexos fármaco-argila com absorção sistêmica prolongada de fármaco (MC GINITY & LACH, 1978). A desorção da clindamicina, uma base fraca, ilustra este princípio. A clindamicina não é desorvida do complexo montmorilonita-clindamicina com presença de água deionizada em pH 2 (figura 10) mas tal fato ocorre em pH11. Desta forma a base fraca que existe em sua forma protonada em pH 2 estaria fortemente adsorvida pela smectita no estômago e sua absorção seria reduzida. Entretanto, quando o complexo fármaco-argila sai do estômago, o alto valor de pH do intestino delgado leva a um predomínio da forma neutra do fármaco que é adsorvida fisicamente. Logo o fármaco é desorvido da argila estando disponível para absorção por um tempo prolongado (WHITE & HEM, 1983).

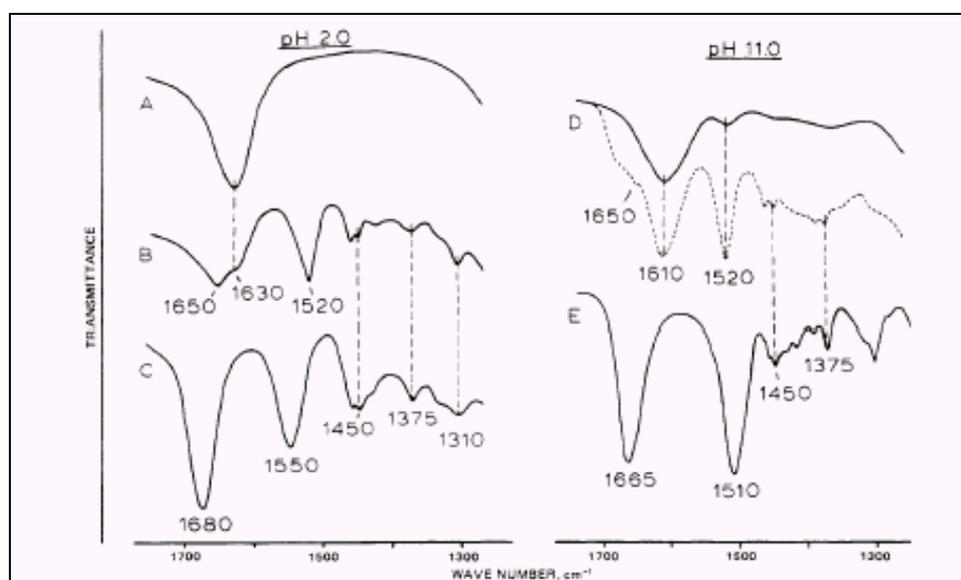


Figura 10: Espectro de Infravermelho do complexo montmorilonita-clindamicina. (A) montmorilonita (B) complexo montmorilonita-clindamicina em pH 2. (C) clindamicina em pH 2. (D) complexo montmorilonita-clindamicina em pH 11. (E) clindamicina em pH 11 (Extraído de White & Hem, 1983).

A molécula de um fármaco que é adsorvida na superfície da argila encontra-se num ambiente químico especial que faz com que a velocidade de dissolução do fármaco aumente caso as forças de adsorção sejam mais fortes que as forças intermoleculares do cristal do fármaco. Um aumento da velocidade de dissolução tem sido observada para a griseofulvina, figura 11, indometacina e predinisona (MC GINITY & HARRIS, 1980 a,b).

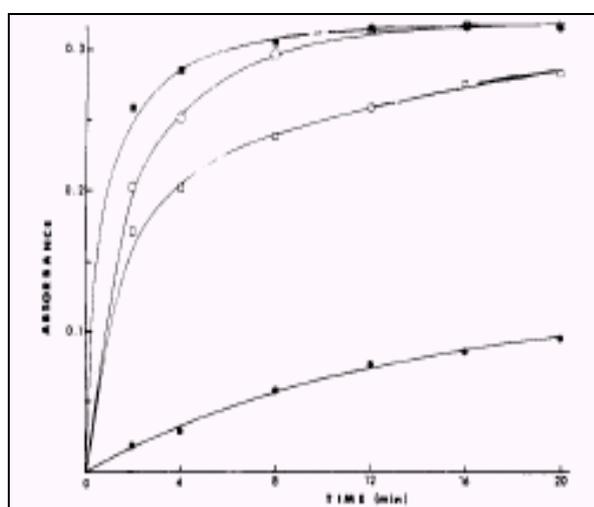


Figura 11: Perfil de dissolução da griseofulvina em polisorbato aquoso a 37°C. (●) griseofulvina. (□) complexo 1:1 griseofulvina-montimorilonita. (○) complexo 1:4 griseofulvina-montimorilonita. (■) complexo 1:9 griseofulvina-montimorilonita (Extraído de Mc Ginity & Harris, 1980b).

O efeito catalítico de uma superfície negativa deve ser considerado quando o fármaco é susceptível a degradação por hidrólise catalisada por ácido. A adsorção na argila e conseqüente aceleração da degradação podem ocorrer no estômago caso o fármaco, degradado por hidrólise ácido catalisada, seja co-administrado com argila. A digoxina é exemplo de um fármaco que permanece 80% intacto e disponível para absorção após uma hora (tempo estimado de residência gástrica) de exposição a um pH 2, a temperatura de 37°C. Entretanto quando na presença de montimorilonita nenhuma digoxina persiste após submissão as mesmas condições, figura 12 (PORUBCAN et al, 1979).

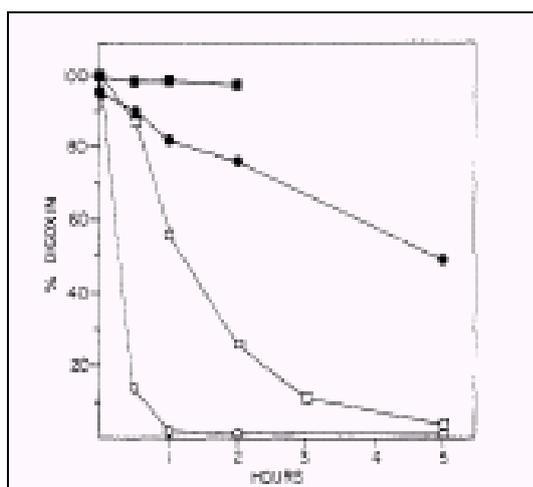


Figura 12: Degradação da digoxina (0,2mg/100mL) a 37°C. (●) solução em pH2. (○) suspensão de montmorilonita em pH2 (1g/100mL). (■) solução em pH3. (□) suspensão de montmorilonita em pH3 (1g/100mL) (Extraído de Porubcan, 1979).

Outro tipo de degradação que pode ocorrer quando uma molécula do fármaco entra em contato com a argila, é sua degradação oxidativa devido à presença de íons ferro. Problemas de estabilidade deste tipo podem ser evitados pela seleção de uma argila com a superfície livre de ferro, obtendo-se assim efeitos desejáveis da interação fármaco-argila e evitando os efeitos indesejáveis pela seleção de um tipo apropriado de argila (CORNEJO et al, 1983)

Utilizar a delaminação e adsorção de fármacos ou substâncias com ação fotoprotetoras (HOYO et al, 2001) aminados em bentonita, seguido ou não a intercalação deste novo material com polímeros biocompatíveis/biodegradáveis, representaria uma nova e atraente alternativa para a preparação de novos sistemas de interesse farmacêutico e cosmético.

O uso da bentonita na formulação de filtros solares, pode levar a uma maior estabilidade do filtro, menor grau de penetração na pele (diminuindo problemas de irritação), e maior proteção, visto que a argila por si só é considerada um bloqueador solar físico.

Estes novos sistemas ainda teriam a capacidade de aumentar a estabilidade tanto “in vivo” quanto em condições normais de manuseio e armazenagem do produto, funcionando de forma análoga àquela observada para as ciclodextrinas, sendo similares a sistemas baseados no uso de matrizes hidrofílicas em micro ou nanopartículas de liberação prolongada.

1- OBJETIVOS:

Neste trabalho tomou-se como objetivos gerais:

1. Avaliar o efeito da veiculação de moléculas com efeito fotoprotetor em preparações contendo quitosano de diferentes pesos moleculares.
2. Avaliar a capacidade de interação de diferentes moléculas bioativas (fármacos e substâncias fotoprotetoras) com a bentonita sódica e bentonita delaminada com íons alquilamônio, otimizando o ensaio.

Como objetivos específicos considerou-se:

1. Verificar a influência do processo de interação na funcionalidade de moléculas fotoprotetoras (FPS e grau de irritabilidade).
2. Analisar a associação dos complexos de moléculas fotoprotetoras com quitosano.
3. Analisar a influência do processo de interação com fármacos tradicionalmente utilizados em terapia, especificamente, em suas solubilidade/dissolução e estabilidade.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- MATERIAIS

3.1.1- Equipamentos

Agitador mecânico Fisaton – 713D, com hélice tipo centrífuga;
Balança analítica METTLER TOLEDO – AG 204;
Espectrofotômetro UV-Vis – 634S (Varian);
Placa de aquecimento com agitação CORNING – PC 230;
Banho de Ultrassom THORNTON – T14;
Centrífuga (Quimis);
Potenciômetro (Quimis);
Espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier, FTIR-8300 (Shimadzu);
Difratômetro de raio-x (Rigaku, modelo Miniflex);
Microscópio Eletrônico de Transmissão (JEOL, modelo 2000Fx);
Prensa hidráulica – PHS 15t (Schulz);
Durômetro (Schleuniger);
Dissolutor (Ética);
Pacote estatístico STATISTICA (Stat Soft Company - USA);
SPARTAN 1.0.5 (Wavefunction, Inc. Irvine, CA, 2000)

3.1.2- Reagentes e Solventes

Todos os reagentes e solventes utilizados neste trabalho apresentaram-se em grau analítico. Já as matérias-primas, foram utilizadas como adquiridas, apresentando-se em grau farmacêutico.

Ácido láctico a 85% (Natural Pharma);

Conservantes: metiparabeno, propilparabeno, sorbato de potássio;
Estearato de isoocila: CETIOL 868® (HENKEL);
Etanol PA (VETEC);
Glicerina (Natural Pharma);
Octil Dimetil PABA (Eusolex 6007® / MERCK);
Mentil Antranilato (Neo Heliopan MA® / Galena);
3-(4'-Metilbenzilideno)-Cânfora (Eusolex 6300® / MERCK);
Ácido Sulfônico Fenilbenzimidazol (Eusolex 232® / MERCK);
PABA (MERCK);
Atenolol (Gemini Exports);
Espironolactona (NORTEC);
Aciclovir (CIEL);
Bentonita Sódica (Bentonita do Noredeste/Bentec);
Bentonita delaminada (Viscogel B8® / Bentec);
Ácido Acético (VETEC);
Hidróxido de Sódio PA (NUCLEAR);
Ácido Clorídrico 37% (TEDIA);
Quitosano (SIGMA);
Celulose Microcristalina (Vivapur);
Estearato de Magnésio (FARMOS).
Hidroxiethylcelulose (Natrosol Base Comercial livre /FARMOS)

3.2- MÉTODOS

3.2.1- Teste de interação

Estudos prévios demonstram que a bentonita purificada (montimorilonita) interage bem com diferentes fármacos. Sendo a bentonita um material mais fácil de ser obtido e de menor custo, moléculas com diferentes características foram testadas frente a sua capacidade de interagir com a bentonita sódica. Estudos de interação também foram realizados com uma argila de característica mais apolar, previamente delaminada com íons alquilamônio.

A bentonita sódica utilizada apresenta sua capacidade de troca catiônica de 96meq/100g, conforme determinado previamente. A bentonita delaminada, apresenta seu grupamento alquil correspondente a uma cadeia C18 (Viscogel B8®).

As moléculas testadas apresentavam ação fotoprotetora e diferentes atividades farmacêuticas, sendo elas descritas no quadro 1.

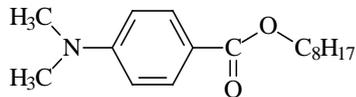
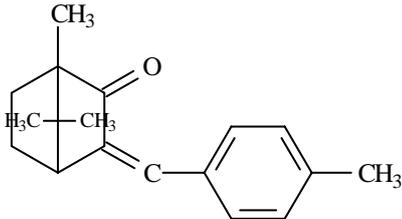
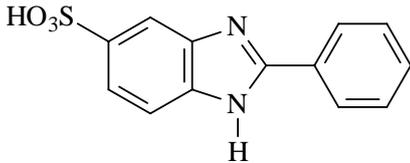
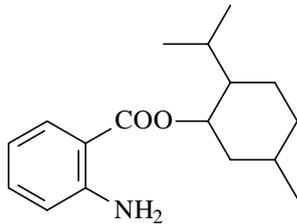
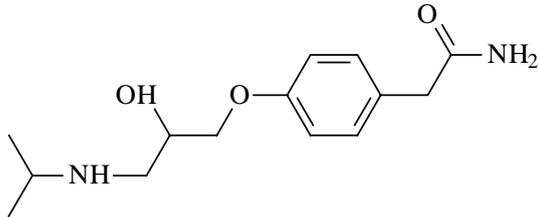
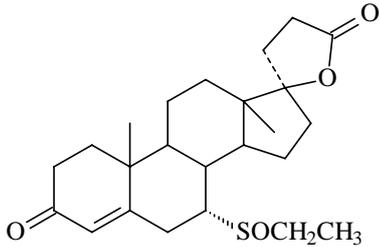
Os ensaios de interação das moléculas de ativo com as duas formas de bentonita foram realizados solubilizando a molécula de ativo em solvente apropriado, seguindo da adição da argila, mantendo a mistura sob agitação durante um certo período de tempo e uma certa temperatura.

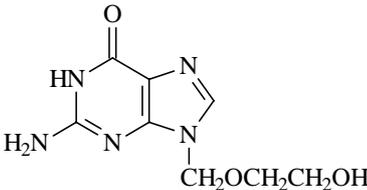
O solvente utilizado, assim como quantidade de ativo e argila, tempo de contato e temperatura, foram otimizados de acordo com o ativo em questão, buscando sempre a maior interação do ativo na argila, menor tempo e menor temperatura para o ensaio.

Depois de decorrido o tempo determinado para o ensaio, a mistura foi centrifugada. O sobrenadante foi analisado por espectrofotometria no UV-Vis para determinação da quantidade de moléculas que interagiram com a argila. O "pellet" foi lavado com água e seco para análises posteriores.

Infravermelho, Difração de Raio-X e Microscopia eletrônica, foram técnicas utilizadas para confirmar a interação das moléculas com os dois tipos de argila.

Quadro1: Substâncias utilizadas no teste de interação com a bentonita sódica e Viscogel B8®

Molécula	Ação Biológica
<p>Octil dimetil PABA (Eusolex 6007®)</p> 	Filtro-solar (UVB)
<p>3-(4-Metilbenzilideno)-cânfora (Eusolex 6300®)</p> 	Filtro-solar (UVB)
<p>Ac Sulfônico Fenilbenzimidazol (Eusolex 232®)</p> 	Filtro-solar (UVB)
<p>Mentil Antranilato (Neo-Heliopan MA®)</p> 	Filtro-solar (UVA)
<p>Atenolol</p> 	Anti-hipertensivo (antagonista β1 seletivo)
<p>Espironolactona</p> 	Diurético (inibidor de aldosterona)

<i>Molécula</i>	<i>Ação Biológica</i>
<p>Aciclovir</p> 	Antiviral

3.2.2- Determinação indireta do processo de interação argila/molécula hóspede

Para a quantificação indireta, da quantidade de ativo que interagiu com as argilas, por meio da espectrofotometria de UV-Vis, foi realizada uma curva de calibração de cada uma das substâncias no solvente utilizado para o ensaio de interação e no comprimento de onda mais adequado para cada substância (Tabela 1). As soluções de cada ativo para montagem da curva tiveram as seguintes concentrações: 2µg/mL, 4µg/mL, 6µg/mL, 8µg/mL, 10µg/mL, 12µg/mL. Sendo cada um dos pontos feito em triplicata.

Tabela 1: Comprimentos de onda utilizados para construção da reta de calibração e avaliação da interação dos diferentes ativos com os dois tipos de bentonita.

<i>Ativo</i>	λ (nm)
Octil Dimetil PABA	311
3-(4-Metilbenzilideno)-cânfora	300
Ac. Sulfônico Fenilbenzimidazol	302
Mentil Antranilato	336
Atenolol	279
Espironolactona	238
Aciclovir	270

Após o ensaio de intercalação dos filtros octil dimetil PABA e mentil antranilato com a bentonita sódica, parte da amostra seca, em placa de aquecimento, foi dispersa em uma solução 0,5 % de quitosano em ácido láctico, sendo mantida sob agitação, a temperatura ambiente, durante 18 horas. Após decorrido o tempo do ensaio, a amostra foi centrifugada, o "pellet" devidamente lavado com água, seco e analisado.

3.2.3- Difração de raio-x

Difração de raio-x é um método utilizado para avaliar o espaçamento entre as lamelas da argila, o qual pode ser aumentado quando uma molécula de ativo se intercala na mesma. A preparação da amostra não envolve nenhum item em especial e a análise pode ser feita rapidamente.

A figura 13 mostra a difração que ocorre entre duas lamelas de argila consecutivas separadas por uma distância d (espaço interlamelar). Raios-x de comprimento de onda λ interceptam a argila no ângulo incidente θ . O valor experimental 2θ é correspondente ao ângulo entre a onda difratada e a onda que entra na argila. A "onda normal" traçada na figura, conecta dois pontos idênticos entre duas ondas incidentes e duas ondas difratadas de duas lamelas consecutivas. Para que essas duas ondas sejam construtivas a distância $A+B$ (espaço que difere o caminho percorrido pelas duas ondas) deve ser igual a um número inteiro de comprimento de onda ($A+B=n.\lambda$). Uma vez que a distância d é normal (forma um ângulo de 90°) aos planos, e a "onda normal" traçada na figura, é normal aos raios incidentes e difratados, os ângulos opostos a A e B também são θ . Desta forma $A=d.\text{sen}\theta$ e $B=d.\text{sen}\theta$. Logo, $A+B=2.d.\text{sen}\theta$, devendo a interferência construtiva ocorrer quando $n.\lambda=2.d.\text{sen}\theta$ (KORNMAN, 2001).

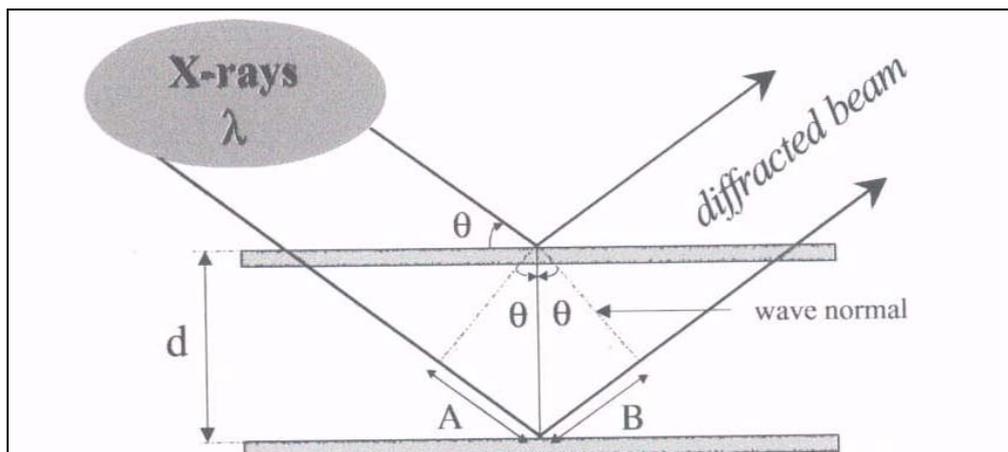


Figura 13: Princípio da difração de Raio-X (Extraído de Kornmann, 2001)

As amostras previamente secas em placa de aquecimento, obtidas pelo ensaio de interação, foram analisadas em um difratômetro de raio-x. O ângulo de difração (2θ) foi registrado de 2° a 10° em temperatura ambiente. Radiação CuK_α foi utilizada como fonte do raio-x, que foi operado a 40kV e 30mA.

3.2.4- Análise conformacional

Análise conformacional dos ativos intercalados foi realizada utilizando o programa SPARTAN 1.0.5 (Wavefunction, Inc. Irvine, CA, 2000), AM1 Hamiltonian com. Os ângulos diédricos foram achados entre 0° e 360° em 30 etapas. Pós a reotimização das conformações de energia mínima com as palavras chaves GNORM=0.2 e PRECISE, análises em matriz Hessian foram aplicadas para caracterizar inequivocamente a mínima superfície de energia potencial. A dimensão mínima dos ativos foi estimada com base no raio de van der Waals e estrutura molecular.

3.2.5- Microscopia Eletrônica

A interpretação dos resultados das análises, obtidos pela difração de raio-X, devem ser feitos com cuidado, uma vez que a sensibilidade da análise e os limites do equipamento podem levar a conclusões erradas. Desta forma a microscopia de transmissão eletrônica é uma técnica necessária para complementar o raio-X, fornecendo uma medida direta da distribuição espacial das lamelas (KORNMANN, 2001).

A microscopia de transmissão eletrônica é uma técnica poderosa para se estudar estruturas na escala nanométrica, podendo logo ser utilizada para confirmar os resultados obtidos pela difração de raio-X sobre a organização lamelar das argilas.

Na microscopia de transmissão eletrônica, a formação da imagem se deve ao espalhamento de elétrons que ocorre quando um feixe destes atravessa a amostra. A microscopia de transmissão eletrônica pode ser dividida em três componentes (WILLIAMS & CARTER, 1996): o sistema de iluminação, as lentes objetivas e o sistema de imagem (figura 14). O sistema de iluminação compreende a fonte (1), que produz os elétrons e as lentes (2) equipadas com um diafragma (3), o qual direciona o feixe de elétrons para a amostra (4). A lente usa um campo eletromagnético para focalizar o feixe de elétrons. Os elétrons são espalhados após passarem pela amostra. Eles são então transferidos para as lentes objetivas. A primeira imagem da amostra é formada pelas lentes objetivas (5). A abertura da objetiva (6) controla o espalhamento do feixe de elétrons e dá o contraste da imagem. O sistema de imagem utiliza diferentes lentes (lentes intermediárias (7) e lentes projetoras (8)) para ampliar a imagem e focá-la na tela de visualização onde o operador pode observar a imagem ampliada da amostra (KORNMANN, 2001).

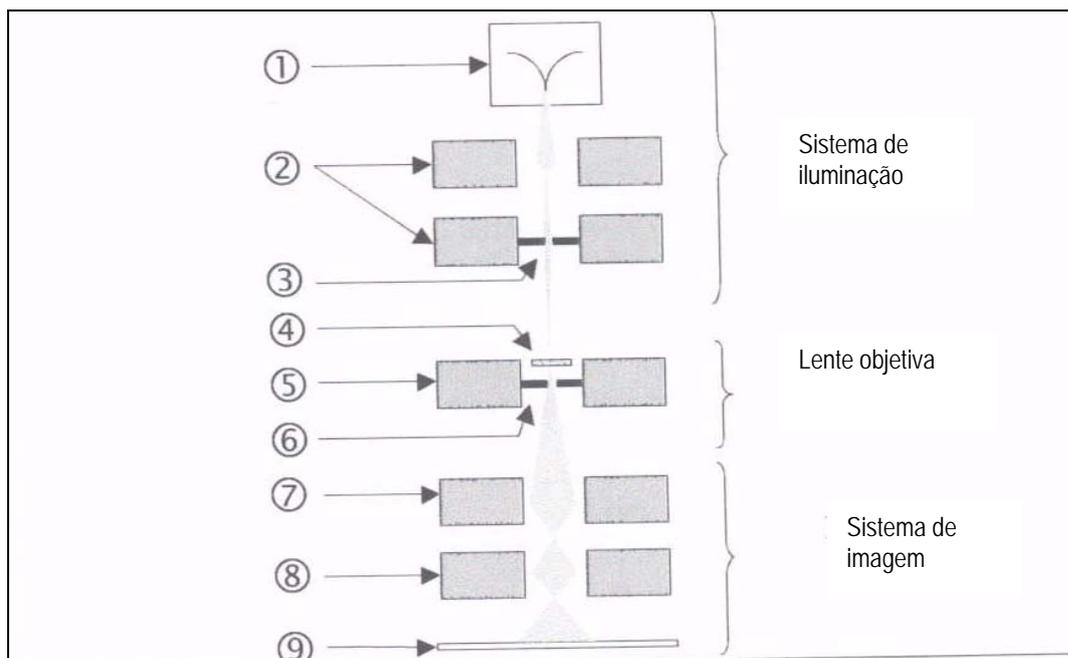


Figura 14: Descrição esquemática de um microscópio de transmissão eletrônico (Extraído de Kornmann, 2001)

Para o preparo das amostras uma pequena quantidade de pó foi dispersa em álcool etílico numa cuba de ultrassom por 2 minutos. Duas gotas da dispersão pó-álcool foram então gotejadas numa grade de cobre recoberta com filme de Carbono especial para uso em microscopia eletrônica de transmissão. Após secagem ao ar durante 24 horas as amostra foram observadas no microscópio eletrônico de transmissão JEOL, modelo 2000Fx, operando com 200KV.

3.2.6- Preparo das formulações fotoprotetoras

Para avaliar a capacidade do quitosano em aumentar a performance de fotoproteção de preparações antisolares, geles contendo os filtros solares: PABA e octil dimetil PABA a 3,6 % e 6% juntamente com quitosano a 0,9% foram preparados.

Foram preparados três tipos de geles antisolares:

1. Gel A:

Em um gral com auxílio de um pistilo incorporou-se ao gel de natrosol (1%) base comercial, o filtro solar a 3,6 % e a 6%

2. Gel B:

Em um gral com auxílio de um pistilo incorporou-se ao gel de natrosol base comercial, o filtro solar (3,6% e 6%) sob agitação constante seguida da solução de quitosano a 0,9% até se obter a homogeneidade da mistura.

3. Gel C:

Primeiramente, foi preparado o gel de natrosol pesando-se 1g de natrosol e dissolvendo-o em 50 mL de solução de quitosano a 0,9%, sob agitação mecânica constante. Em seguida vertemos sobre este gel, 6g ou 3,6g do filtro solar dissolvido em 50 mL de etanol sob agitação até homogeneidade da mistura.

Foram preparadas um total de 12 outras formulações, para avaliar o efeito da argila nas formulações antisolares sendo elas compostas pelos seguintes ativos:

1. Octil Dimetil PABA
2. Mentil Antranilato
3. Bentonita Sódica
4. Bentonita Delaminada
5. Octil dimetil PABA intercalado com bentonita sódica
6. Octil dimetil PABA intercalado com bentonita delaminada
7. Mentil Antranilato intercalado com bentonita sódica
8. Mentil Antranilato intercalado com bentonita delaminada
9. Mistura física de Octil dimetil PABA e bentonita sódica
10. Mistura física de Octil dimetil PABA e bentonita delaminada
11. Mistura física de Mentil Antranilato e bentonita sódica
12. Mistura física de Mentil Antranilato e bentonita delaminada

A formulação adotada foi igual a anteriormente utilizada no estudo da ação de dióxido de titânio, por BRAILE, 2001.

Chembase.....	10% (p/p)
Estearato de Isooctila.....	4% (p/p)
Glicerina.....	4% (p/p)
Nipagin.....	0,1% (p/p)
Sorbato de Potássio.....	0,5% (p/p)
Filtro.....	6% (p/p)
H ₂ O.....	qsp.....100mL (p/p)

Após a pesagem das matérias primas, em balança digital, a emulsão foi preparada com o aquecimento das fases aquosa e oleosa separadas, a 75°C e 70°C respectivamente em placa de aquecimento, sendo o filtro solar, intercalado ou não a argila, acrescentados no final do processo a uma temperatura inferior a 50°C.

3.2.7- Análise do valor do fator de proteção solar

3.2.7.1- Análise *in vitro* pelo método de Mansur

Os geles preparados para verificar a performance de fotoproteção de preparações antisolares contendo quitosano, foram submetidos a testes comparativos de determinação do FPS *in vitro*.

Foram pesados 0,5 gramas de cada gel em um balão volumétrico de 100mL contendo 30mL de etanol PA. Dissolvida a amostra, o volume foi completado devidamente com etanol PA e a solução homogeneizada (procedimento feito em triplicata). 1mL de cada balão foi transferido para um balão volumétrico de 25mL, sendo o volume completado com etanol PA. Dessa forma a concentração final da solução foi de 0,2µg/mL. A absorvância no espectrofotômetro de UV foi lida, realizando-se a varredura do espectro de 200 a 400nm. Os valores foram medidos em triplicata, o desvio padrão e a média das absorvâncias foram plotadas na equação de Mansur (abaixo) para cálculo do FPS *in vitro*.

$$\text{FPS espectrof} = \text{FC} \cdot \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \cdot \text{I}(\lambda) \cdot \text{Abs}(\lambda)$$

FC = fator de correção, igual a 10.

EE (λ) = efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda λ .

I (λ) = intensidade de luz solar no comprimento de onda λ .

3.2.7.2- Análise *in vivo*

Para verificar o efeito das argilas na formulação fotoprotetora, foram realizadas determinações dos FPS *in vivo* utilizando a metodologia preconizada pelo FDA(USA, 1993).

Foram selecionados 20 voluntários de pele branca, entre 19 e 50 anos. Os voluntários receberam instruções de como proceder durante o período de teste e assinaram um termo de consentimento aprovado por um Comitê de Ética em Pesquisa (BRASIL, 1996).

Foi utilizado um simulador de Arco Solar – Multiport 601 – como fonte de irradiação, com luz UV de arco xenônio, de 150 Watts, contendo filtros WG 320 e UG 11, fabricado pela Solar Light Company, Philadelphia, USA. A potência da lâmpada foi controlada, periodicamente, durante o teste por um sistema de espectroradiometria.

Como controle foi utilizada uma formulação padrão contendo salicilato de homomentila a 8,0%, que corresponde a um FPS igual a 4.

A dose mínima eritematosa foi determinada através de uma seqüência de exposições a luz UV (Joules/minuto), em progressão geométrica, sendo cada uma graduada com um aumento em torno de 25% em relação à anterior. Os locais de teste foram avaliados, 24 horas após a irradiação, pelo eritema de acordo com o quadro 2.

Quadro2: Determinação da Dose Mínima Eritematógena

<i>Reação</i>	<i>Resultado</i>
0 - ausente	Negativo (-)
1- eritema mínimo	Duvidoso (+/-)
2- eritema definido	Positivo (+)
3- eritema moderado	Positivo (++)
4- eritema intenso	Positivo (+++)

Os dorsos dos voluntários foram demarcados em 2 áreas, medindo 50 cm² cada uma . Os produtos a serem avaliados e o filtro solar padrão foram aplicados em áreas adjacentes, uniformemente, em quantidade de 0,1g, equivalente a 2,0 mg/cm². Após 15 minutos (tempo suficiente para secagem do produto), foram iniciadas as irradiações.

Os tempos de exposição foram calculados para cada área individualmente, de acordo com a Dose Mínima Eritematógena (DME) determinada na pele desprotegida e com o valor de FPS do produto previamente estimado.

O FPS foi calculado como a razão entre o tempo necessário para produzir o eritema mínimo na pele protegida, pelo tempo necessário para produção do eritema mínimo na pele desprotegida.

3.2.8-Teste de irritabilidade cutânea e ocular

3.2.8.1- Irritação ocular

Numa etapa de avaliação das propriedades tóxicas de uma substância para uso como cosméticos, a determinação das propriedades irritantes e/ou dos efeitos corrosivos sobre os olhos de mamíferos constitui uma etapa inicial importante que indica os prováveis riscos à exposição dos olhos e conjuntivas a uma substância-teste. Quando as alterações sobre os olhos são reversíveis como consequência da aplicação de uma substância teste, temos uma irritação ocular. Já quando esses efeitos são irreversíveis temos um efeito corrosivo (BRITO, 1994)

O pH de cada formulação a ser testada foi estabelecido previamente. 1 grama de cada formulação foi diluída com 2 mL de água purificada e 0,1mL dessa solução foi aplicada dentro da

bolsa conjuntival de um dos olhos de cada um dos animais, após levantar delicadamente a pálpebra inferior do globo ocular. Em seguida as duas pálpebras foram unidas durante 10 segundos para evitar perda da substância. O outro olho não recebeu nenhum tipo de tratamento servindo como controle. Os animais utilizados para os testes foram coelhos albinos neozelandeses adultos, sendo utilizados 2 coelhos para testar cada formulação.

O grau de irritação foi avaliado no momento da aplicação, após 4, 24, 48 e 72 horas de aplicação. A avaliação foi feita observando a presença ou ausência de lesão na córnea, na íris e na conjuntiva (figura 15). A lesão na córnea é indicada pela opacidade desta. A lesão na íris é indicada por uma resposta inflamatória, e a lesão na conjuntiva é indicada por vermelhidão das conjuntivas palpebrais e do bulbo, da córnea e da íris (BRITO, 1994).

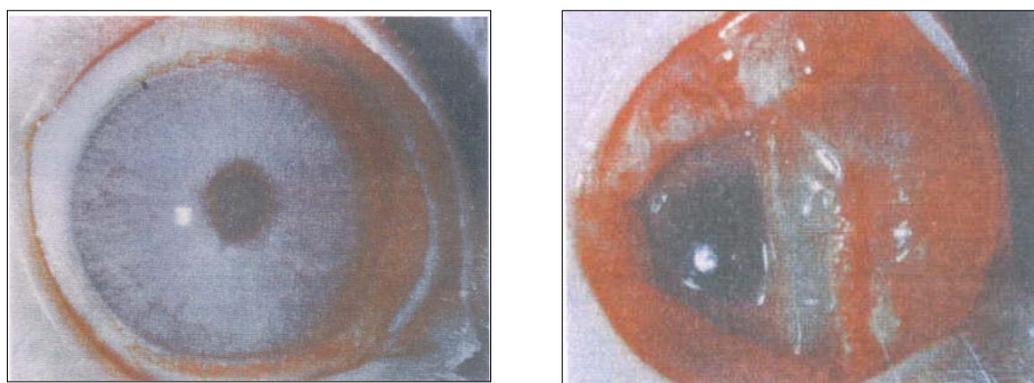


Figura 15: Olho sadio(esquerdo) e com lesão simultânea da íris, córnea e conjuntiva (Olho direito)(Extraído de Brito, 1994)

3.2.8.2- Irritabilidade cutânea primária

A determinação das propriedades irritantes e/ou dos efeitos corrosivos sobre a pele de mamíferos contitui-se numa etapa importante que indica os prováveis resultados da pele humana em exposição a esta substância.

Vinte e quatro horas antes da aplicação da substância-teste, os pêlos da região dorsal do tronco dos animais foram depilados. Foram escolhidos aleatoriamente, quatro sítios de aplicação, dois dos quais foram submetidos à abrasão.

Foram utilizados 4 coelhos albinos neozelandeses adultos para testar cada formulação. Uma quantidade de 0,5 gramas da formulação foi aplicada nos locais escolhidos para a reação, um submetido à abrasão e outro, não. Os sítios adjacentes, um submetido à abrasão e o outro

não, serviram como controle para o ensaio. A área de aplicação foi recoberta por uma compressa de gaze fixada por esparadrapo hipoalergênico e presa por fita crepe.

A duração da exposição foi de 4 horas, sendo a substância-teste retirada e a região lavada com água para eliminação dos resíduos da substância teste. A observação dos sintomas de edema e eritema nos animais foi feita 4, 24, 48 e 72 horas após a aplicação (BRITO, 1994).

O teste de irritabilidade cutânea primária foi o primeiro teste de irritabilidade realizado, sendo os demais testes (irritabilidade ocular e cutânea cumulativa) dispensados quando este deu positivo.

3.2.8.3- Irritabilidade cutânea cumulativa

Este teste indica os prováveis resultados da exposição repetida na pele humana de uma determinada substância.

O teste foi realizado da mesma maneira que a irritabilidade primária, sendo cada formulação reaplicada após 24, 48 e 72 horas após a primeira aplicação (BRITO, 1994).

3.2.9- Análise do perfil de dissolução do aciclovir intercalado com bentonita sódica e delaminada com íons alquilamônio

3.2.9.1 Preparo dos comprimidos

Foram produzidos 3 lotes de comprimidos de aciclovir intercalado com a bentonita sódica. Com cada um destes lotes, foram preparados 4 comprimidos, sendo realizados três testes de dissolução utilizando três comprimidos em cada teste. Um comprimido foi utilizado para medição da dureza.

Outro lote foi feito utilizando uma mistura física de aciclovir e bentonita sódica, nas mesmas proporções encontradas no teste de interação.

O mesmo foi feito para aciclovir intercalado com bentonita delaminada com íons alquilamônio.

Os comprimidos foram feitos de acordo com a seguinte formulação por compressão direta:

- Aciclovir intercalado com argilaqsp 100mg de Aciclovir
- Celulose microcristalina (Vivapur® 101).....20% do pó com Aciclovir
- Estearato de Magnésio.....1,5% do pó com Aciclovir mais Vivapur®

3.2.9.2- Medição da dureza dos comprimidos de aciclovir com bentonita sódica e delaminada

A dureza dos comprimidos foi medida adicionando um comprimido de cada lote produzido na cavidade do durômetro. Uma força foi então imposta ao comprimido até que este foi quebrado, sendo anotado o valor da força utilizada.

3.2.9.3- Teste de dissolução

Em um total de 4 cubas (3 para o ensaio e uma para reposição) foram colocados 900mL de suco gástrico, mantido a 37°C e sob uma agitação de 50 rpm, utilizando o aparato II da Farmacopéia Americana para o ensaio (USP 26).

O suco gástrico foi preparado dissolvendo-se 2 gramas de NaCl em quantidade suficiente de água para solubilizar o sal. Foi adicionado 7 mL de HCl a solução, avolumando o volume para 1L com água. O pH da solução foi monitorado, através de potenciômetro previamente calibrado, durante a adição do ácido, ajustando para $1,2 \pm 0,1$ o valor do pH.

Um comprimido foi colocado em cada uma das cubas respeitando um intervalo de 1 minuto entre as cubas.

Alíquotas de 10 mL foram retiradas de 10 em 10 minutos, de cada uma das cubas, até um tempo final de 2 horas de ensaio, sendo o volume repostado com igual volume de suco gástrico a 37°C.

As alíquotas foram diluídas com suco gástrico de forma apropriada, segundo a curva de calibração, para realização da análise por espectrofotometria no comprimento de onda de 270 nm.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Ensaio de interação

Para cada substância onde foi avaliado sua capacidade de interação com a bentonita sódica e delaminada, foi realizado um estudo de otimização das condições do ensaio, analisando as condições que mais favorecem a interação. Os parâmetros otimizados foram: tempo total de ensaio, temperatura e a relação de concentração entre ativo e argila.

A tabela 2 mostra as condições de ensaio consideradas ótimas para cada substância.

Tabela 2: *Condições de ensaio consideradas ótimas, utilizadas para avaliar a interação com a bentonita sódica e delaminada*

Ativo	Solvente	Tempo	Temperatura	Conc. (bent Na)	Conc. (visc B8)
Eusolex 6007®	Hac/H ₂ O - 2:1	30 min	Temp amb.	440meq/100g	440meq/100g
Eusolex 6300®	Etanol	5 horas	50°C	-	393meq/100g
Eusolex 232®	NaOH 15%	2 horas	70°C	-	365meq/100g
Neo-HeliopanMA®	Hac/H ₂ O - 2:1	30 min	Temp amb.	364meq/100g	364meq/100g
Atenolol	HCl 0,1N	30 min	Temp amb.	169meq/100g	-
Espironolactona	Etanol	30 min	Temp amb.	-	60meq/100g
Aciclovir	HCl 0,1N	30 min	Temp amb.	444meq/100g	444meq/100g

4.1.1. Ensaio de interação do Octil Dimetil PABA (Eusolex 6007®)

4.1.1.1- Preparo da reta de calibração

Para analisar a quantidade de ativo que não interagiu com a argila durante o ensaio de interação (chegando a quantidade que interage por diferença), foi feita uma análise por espectrofotometria ultravioleta. Uma curva de calibração (gráfico1) do ativo em questão foi previamente realizada nas concentrações de 4µg/ml, 6µg/ml, 8µg/ml, 10µg/ml e 12µg/ml utilizando como solvente ácido acético / H₂O 2:1, e o comprimento de onda de 311nm. Neste

solvente ocorre a protonação da amina terciária do filtro solar em questão, gerando o íon amônio necessário para o provável processo de intercalação (PORUBCAN, 1978).

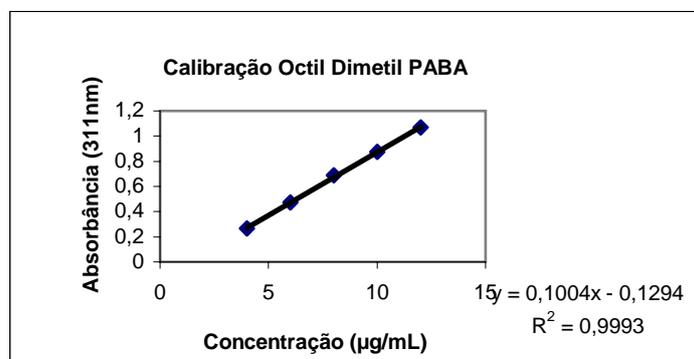


Gráfico1: Reta de calibração do octil dimetil PABA

4.1.1.2- Ensaio de interação do octil dimetil PABA com bentonita sódica

a) Otimização do tempo de ensaio

Tomando-se por base estudos realizados com moléculas estruturalmente relacionadas ao octil dimetil PABA (LEE & KIM, 2002), os tempos de ensaio propostos foram 30 minutos, 1 hora, 2 horas e 4 horas, sendo cada ensaio realizado em triplicata. A temperatura dos ensaios foi de 70°C, sendo acima de 4 horas verificada a degradação do filtro por cromatografia em camada delgada.

O ensaio foi realizado com 400mg de bentonita sódica, 60 mg de ativo - concentração equivalente a 66meq de ativo/100g arg, compatível com a capacidade máxima de troca descrita em literatura (LEE & KIM, 2002) - e 10 mL de ácido acético / água (2:1). A diluição do sobrenadante do ensaio necessária para análise no espectrofotômetro foi de 4000x.

O programa STATISTICA foi empregado para analisar as diferentes quantidades de octil dimetil PABA que teria interagido com a argila nos diferentes tempos de ensaio, sendo aplicado o teste T para amostras dependentes. Os resultados podem ser considerados iguais para valores de $p \geq 0,05$ (tabela 3).

Tabela 3: Otimização do tempo de ensaio para octil dimetil PABA e bentonita sódica

Tempo	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
30'	0,529	33,77	7,3	37	
30'	0,498	35,01	7,6	38	--
30'	0,555	32,73	7,1	36	
1h	0,320	42,10	9,2	46	
1h	0,380	39,71	8,6	44	0,0698
1h	0,410	38,51	8,4	42	
2h	0,663	28,43	6,2	31	
2h	0,533	33,61	7,3	37	0,4381
2h	0,526	33,89	7,4	37	
4h	0,571	32,10	7,0	35	
4h	0,484	35,56	7,7	39	0,6914
4h	0,494	35,16	7,6	39	

Após avaliação estatística não foi verificada qualquer diferença entre os resultados obtidos com o menor tempo de ensaio (e por isso mais vantajoso) com os demais tempos de ensaio, sendo adotado o tempo de 30 minutos para os estudos posteriores.

b) Otimização da temperatura do ensaio

Considerando que temperaturas muito elevadas poderiam levar a degradação do ativo que se busca intercalar dentro da argila e a descrição em literatura da temperatura de 70°C como valor máximo neste tipo de reação (LEE & KIM, 2002), esta foi considerada como ponto inicial no processo de otimização. As demais temperaturas de ensaio analisadas foram 30°C, 40°C, 50°C e 60°C, sendo cada ensaio realizado em triplicata. A proposta do uso de temperaturas menores buscou evitar a degradação da molécula hóspede, assim como tornar o processo mais atraente em termos econômicos.

O tempo de ensaio de 30 minutos e as demais condições anteriores foram mantidas. Os resultados foram listados na tabela 4.

Tabela 4: Otimização da temperatura de ensaio do octil dimetil PABA com bentonita sódica

Temperatura	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
30°C	0,517	34,25	7,4	38	
30°C	0,413	38,39	8,3	42	--
30°C	0,380	39,71	8,6	44	
40°C	0,451	36,88	8,0	41	
40°C	0,428	37,79	8,2	42	0,8399
40°C	0,428	37,79	8,2	42	
50°C	0,495	35,13	7,6	39	
50°C	0,421	38,08	8,3	42	0,6349
50°C	0,448	37,00	8,0	41	
60°C	0,461	36,48	7,9	40	
60°C	0,434	37,55	8,2	41	0,6220
60°C	0,457	36,64	8,0	40	
70°C	0,320	42,10	9,2	46	
70°C	0,380	39,71	8,6	44	0,4557
70°C	0,410	38,51	8,4	42	

Analisando-se o total de meq fixado de cada temperatura pelo método estatístico teste T para amostras dependentes, onde se compara os resultados de intercalação obtidos com a temperatura de 30°C com as demais, notamos que não há diferença significativa entre as temperaturas analisadas ($p > 0,05$) e portanto a temperatura de 30°C foi considerada ideal, poupando o filtro de uma condição de elevada temperatura.

c) Otimização da relação de concentração de ativo e argila

As concentrações de filtro analisadas foram 66, 88, 147 e 440 meq/100g arg, o que corresponde a relação de 1:6,7; 1:5; 1:3 e 1:1 de filtro/argila, respectivamente, sendo a massa de ativo fixada em 60 mg e variando apenas a massa de argila presente.

O tempo de ensaio foi de 30 minutos, e a temperatura de 30°C sendo mantidas as demais condições do ensaio tido como ideal até o momento (tabela 5).

Tabela 5: Otimização da relação entre ativo e argila no ensaio do octil dimetil PABA com bentonita sódica

Relação ativo:argila	Meq/100g arg	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
1:6,7	66	0,517	34,25	7,4	38
1:6,7	66	0,413	38,39	8,3	42
1:6,7	66	0,380	39,71	8,6	44
1:5	88	0,516	34,29	9,5	50
1:5	88	0,436	37,47	10,4	55
1:5	88	0,445	37,12	10,3	54
1:3	147	0,459	36,56	15,2	89
1:3	147	0,462	36,44	15,2	89
1:3	147	0,495	35,12	14,6	86
1:1	440	0,559	32,57	27,1	238
1:1	440	0,445	37,12	31,0	272
1:1	440	0,515	34,33	28,6	252

Podemos notar claramente que os valores de meq de filtro incorporado à argila nas diferentes proporções são diferentes.

A relação que oferece maior quantidade de ativo fixada foi escolhida para futuras análises por ser mais confortável a análise com maior quantidade de material e também por já ter esgotado, nessa condição, a capacidade de troca catiônica da bentonita.

- A melhor condição de ensaio considerada para os posteriores estudos de interação da argila sódica e octil dimetil PABA foi:

Tempo 30 minutos

Temperatura..... 30°C

Relação ativo/argila..... 1:1

Nessa condição são fixados cerca de 254meq de octil dimetil PABA/100g de argila.

A capacidade de troca iônica da bentonita utilizada foi determinada como sendo 96meq/100g, logo chegamos a conclusão que o octil dimetil PABA está interagindo com a bentonita não só por um processo de troca catiônica como também por uma simples adsorção nas lamelas da argila.

Foi realizado ainda um ensaio para se verificar o tipo de interação que está ocorrendo entre o filtro e a argila seria depende da ionização da molécula de filtro solar. Este ensaio foi feito em pH alcalino (em torno de 11, medido com papel indicador de pH), utilizando etanol como solvente, nas condições determinadas ótimas (tabela 6).

Tabela 6: Análise da influência do pH no ensaio entre octil dimetil PABA e bentonita sódica

pH	Abs. 311nm
11	1,323
11	1,279
11	1,287

As leituras elevadas obtidas por UV indicam que o filtro não conseguiu interagir com a argila e logo a protonação do grupamento amina presente na molécula do octil dimetil PABA é fundamental para que ocorra tal interação. Podemos assim pensar que a interação está ocorrendo por meio de uma troca catiônica (figura 16). O tipo de interação foi melhor avaliado por outros métodos de análise.

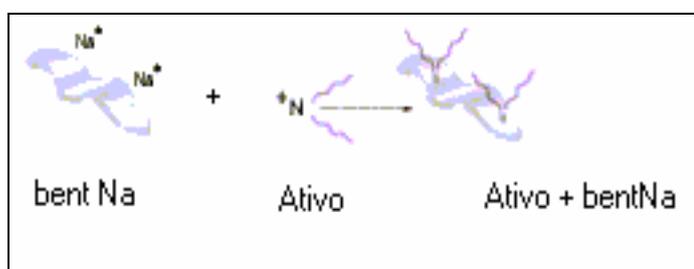


Figura 16: Processo de troca catiônica entre ativo e bentonita sódica

d) Estudo de escalonamento da reação de intercalação

Buscando simular condições mais próximas de uma escala, ao menos, laboratorial, se avaliou a manutenção dos resultados obtidos inicialmente quando do aumento de escala da reação. Como seria necessário para estudos posteriores de determinação do FPS, um mínimo de 600 mg de filtro foram intercalados. Foi realizado então um ensaio em maior escala, para verificar se a porcentagem de filtro fixada na argila é mantida.

A massa de ativo e de argila utilizadas foram de 1100mg em 185 ml de ácido acético / água (2:1). O tempo de ensaio foi de 30 minutos na temperatura de 30°C, sendo a diluição do sobrenadante de 74000x.

O resultado do ensaio demonstrou que a quantidade de filtro que interage com a argila não altera com o aumento de escala do ensaio (tabela 7), indicando um provável escalonamento do processo sem alteração significativa dos resultados até então obtidos.

Tabela 7: ensaio em maior escala entre octil dimetil PABA e bentonita sódica

Ensaio	Abs. 311nm	m. fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
1	0,522	619,9	28,2	248
2	0,538	608,1	27,6	243
3	0,559	592,6	26,9	237

4.1.1.3. Ensaio de interação do octil dimetil PABA com bentonita delaminada

a) Otimização do tempo de ensaio

As condições de ensaio foram as mesmas adotadas com o ensaio de otimização do tempo para bentonita sódica.

Comparando-se o meq fixado no tempo de 30 minutos, com os demais pelo método estatístico adotado, notamos que não existe uma diferença significativa entre os diferentes tempos de ensaio ($p > 0,05$), adotando-se como tempo ideal o menor (30') (tabela 8).

Tabela 8: Otimização do tempo de ensaio entre octil dimetil PABA e bentonita delaminada

Tempo	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/ 100g Arg	p
30'	0,260	44,49	9,7	49	
30'	0,420	38,11	8,3	42	--
30'	0,310	42,49	9,2	47	
1h	0,310	42,49	9,2	47	
1h	0,220	46,08	10,0	51	0,3394
1h	0,190	47,27	10,3	52	
2h	0,276	43,85	9,5	48	
2h	0,244	45,12	9,8	50	0,4987
2h	0,300	42,89	9,3	47	
4h	0,327	41,82	9,1	46	
4h	0,254	44,73	9,7	49	0,4296
4h	0,194	47,12	10,2	52	

b) Otimização da temperatura do ensaio

Com o tempo de ensaio ajustado em 30 minutos, foi avaliada a influência da temperatura no processo, sendo mantidas as demais condições do ensaio realizado com a bentonita sódica. Após a análise dos resultados obtidos a temperatura considerada ótima foi de 30°C (tabela 9).

Tabela 9: Otimização da temperatura de ensaio entre octil dimetil PABA e bentonita delaminada

Temperatura	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	P
30°C	0,279	43,73	9,5	48	
30°C	0,255	44,69	9,7	49	--
30°C	0,263	44,37	9,6	49	
40°C	0,259	44,53	9,7	49	
40°C	0,252	44,80	9,7	49	0.1835
40°C	0,237	45,40	9,9	50	
50°C	0,254	44,73	9,7	49	
50°C	0,348	40,98	8,9	45	0,3206
50°C	0,324	41,94	9,1	46	
60°C	0,268	44,17	9,6	49	
60°C	0,273	43,97	9,6	48	0,9002
60°C	0,266	44,25	9,6	49	
70°C	0,260	44,49	9,7	49	
70°C	0,420	38,11	8,3	42	0,3715
70°C	0,310	42,49	9,2	47	

c) Otimização da relação de concentração de ativo e argila

Estabelecidos o tempo (30 min) e temperatura ideal (30°C) para o ensaio, sendo mantidas as demais condições do estudo realizado com a bentonita sódica para otimizar a relação de concentração de ativo e bentonita sódica, o mesmo foi empregado quando do uso da bentonita delaminada.

Podemos notar claramente que os valores de meq de filtro incorporado à argila nas diferentes proporções são diferentes, sendo o percentual mantido, da mesma forma que o observado para a bentonita sódica. A relação adotada para análises posteriores foi a de 1:1 pelos mesmos motivos já descritos para a bentonita sódica (tabela10).

Tabela 10: Otimização da relação entre octil dimetil PABA e bentonita delaminada

Relação ativo:argila	meq / 100g de arg	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
1:6,7	66	0,279	43,73	9,5	48
1:6,7	66	0,255	44,69	9,7	49
1:6,7	66	0,263	44,37	9,6	49
1:5	88	0,364	40,34	11,2	59
1:5	88	0,307	42,61	11,8	62
1:5	88	0,329	41,74	11,6	61
1:3	147	0,576	31,90	13,3	78
1:3	147	0,518	34,21	14,3	84
1:3	147	0,465	36,32	15,1	89
1:1	440	0,533	33,61	28,0	246
1:1	440	0,460	36,52	30,4	268
1:1	440	0,520	34,11	28,4	250

- A melhor condição de ensaio determinada para a argila delaminada e octil dimetil PABA foi:

Tempo 30 minutos

Temperatura..... 30°C

Relação ativo/argila..... 1:1

Nessa Condição são fixados por volta de 257meq /100g de argila, quantidade similar à fixada pela bentonita sódica.

Foi realizado, da mesma forma que para a bentonita sódica, um ensaio para verificar se o tipo de interação que está ocorrendo entre o filtro e a argila seria depende da ionização da molécula de filtro solar. Este ensaio foi feito em pH alcalino (em torno de 11), utilizando etanol como solvente, nas condições determinadas ótimas.

Da mesma forma encontrada para a bentonita sódica as leituras por UV indicaram que o filtro não conseguiu interagir com a argila e logo o meio ácido é importante para que ocorra

interação da molécula do filtro com a bentonita delaminada. O tipo de interação foi melhor avaliado por outros métodos de análise.

d) Estudo de escalonamento do processo de intercalação

Foi realizado, da mesma forma que para a bentonita sódica, um ensaio em maior escala, para verificar se a porcentagem de filtro fixada na argila é mantida. As condições do ensaio foram as mesmas adotadas para o ensaio em maior escala para a bentonita sódica.

O resultado do ensaio demonstrou que a quantidade de filtro que interage com a argila não altera com o aumento de escala do ensaio (tabela 11).

Tabela 11: Ensaio em maior escala entre octil dimetil PABA e bentonita delaminada

Reação	Abs. 311nm	m. fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
1	0,488	644,94	29,3	258
2	0,498	637,58	29,0	255
3	0,470	658,21	30,0	263

4.1.2. Ensaio de interação do mentil antranilato

4.1.2.1 Preparo da reta de calibração

Seguindo um procedimento análogo ao adotado para o processo de intercalação do octil dimetil PABA, a quantidade de mentil antranilato que não interagiu com a argila durante o ensaio de interação foi quantificado por espectrofotometria de UV, sendo feita previamente uma curva de calibração do ativo em questão nas mesmas concentrações feitas para o octil dimetil PABA. O solvente utilizado foi ácido acético / H₂O 2:1, e o comprimento de onda de 336nm.

O valor de r (coeficiente de correlação) obtido, 0,9999, assim como os valores de absorvância obtidos (condizentes com os valores a serem lidos nos experimentos anteriores), mostraram ser a reta adequada para a finalidade proposta (gráfico 2).

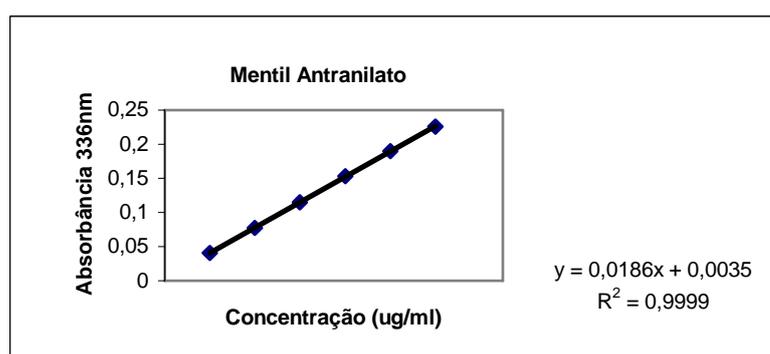


Gráfico 2: Reta de calibração Mentil Antranilato

4.1.2.2- Ensaio de intercalação do mentil antranilato com bentonita sódica

a) Otimização do tempo de ensaio

Os tempos de ensaio analisados foram 30 minutos e 4 horas. Sendo cada ensaio realizado em triplicata na temperatura de 30°C, uma vez que, nos estudos anteriores, os tempos de reação acima de 30 min não influenciaram de forma significativa nos rendimentos de intercalação obtidos. Acima de 4 horas foi verificada uma coloração amarela no sobrenadante, indicando uma possível degradação do filtro, confirmada por cromatografia de camada fina.

O ensaio foi realizado com 400mg de bentonita sódica, 60 mg de ativo (concentração relativa a 54,5meq de mentil antranilato/100g arg) e 10 mL de ácido acético / água (2:1). A diluição do sobrenadante do ensaio necessária para análise no espectrofotômetro foi de 4000x (tabela 12).

Analisando-se o rendimento em meq de cada tempo pelo teste T para amostras dependentes notamos que não existe uma diferença significativa entre os diferentes tempos de ensaio ($p > 0,05$), adotando-se como tempo ideal o menor (30').

Tabela 12: Otimização do tempo de ensaio entre mentil antranilato e bentonita sódica

Tempo	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	P
30'	0,109	37,3	8,1	34	
30'	0,100	39,3	8,5	36	--
30'	0,108	36,0	7,8	33	
4h	0,082	43,1	9,4	39	
4h	0,110	37,1	8,1	34	0,9870
4h	0,113	36,5	7,9	33	

b) Otimização da temperatura do ensaio

Seguindo a mesma racionalização empregada na otimização do tempo de ensaio as temperaturas de ensaio analisadas foram 30°C e 70°C, sendo cada ponto realizado em triplicata. O tempo de reação utilizado foi de 30 minutos, sendo mantidas as demais condições do ensaio anterior.

Analisando-se estatisticamente o valor do rendimento em meq fixado em cada temperatura testada, não notamos qualquer diferença significativa entre os diferentes ensaios ($p > 0,05$). Logo, a temperatura considerada ótima foi de 30°C, poupando o filtro de uma condição de elevada temperatura, que poderia provocar sua degradação (tabela 13).

Tabela 13: Otimização da temperatura de ensaio entre mentil antranilato e bentonita sódica

Temperatura	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
30°C	0,109	37,3	8,1	34	
30°C	0,100	39,3	8,5	36	--
30°C	0,108	36,0	7,8	33	
70°C	0,112	36,7	8,0	33	
70°C	0,110	37,1	8,1	34	0,5286
70°C	0,109	37,3	8,1	34	

c) Estudo do escalonamento do processo de intercalação

Foi realizado um ensaio em maior escala, utilizando uma relação 1:1 de filtro e argila (condição considerada ótima para o ensaio com octil dimetil PABA).

O tempo de ensaio foi de 30 minutos, temperatura de 30°C (condições otimizadas), 1100mg de ativo e argila, 185ml de solvente ácido acético / água 2:1. O sobrenadante foi diluído 74000x para análise espectrofotométrica (tabela14).

Tabela 14: Ensaio entre mentil antranilato e bentonita sódica em maior escala

Reação	Abs. 311nm	m. fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
1	0,113	664,4	30,2	220
2	0,110	676,3	30,7	224
3	0,119	640,5	29,1	212

A condição de fixação considerada ótima para o mentil antranilato na bentonita sódica foi igual a do octil dimetil PABA, sendo fixado por volta de 220 meq/100g de argila.

4.1.2.3- Ensaio de intercalação do mentil antranilato com bentonita delaminada

a) Otimização do tempo de ensaio

As condições de ensaio foram as mesmas adotadas para o ensaio de otimização do tempo para bentonita sódica, utilizando-se os valores extremos de temperatura e tempo, de forma a se confirmar as condições tidas como ideais para este outro tipo de argila.

O tempo adotado como ótimo foi o de 30 minutos e a temperatura de 30°C, uma vez que não foi verificada diferença significativa entre os resultados (tabela 15).

Tabela 15: Otimização do tempo de ensaio entre mentil antranilato e bentonita delaminada

Tempo	Temperatura	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
30'	30°C	0,032	53,9	11,7	49	
30'	30°C	0,052	49,6	10,8	45	--
30'	30°C	0,035	53,2	11,6	48	
4h	30°C	0,060	47,8	10,4	43	
4h	30°C	0,065	46,8	10,2	43	0,6905
4h	30°C	0,064	47,0	10,2	43	
30'	70°C	0,071	45,5	9,9	41	
30'	70°C	0,063	47,2	10,3	43	0,1181
30'	70°C	0,056	48,7	10,6	44	

O escalonamento do processo utilizando-se a bentonita delaminada foi investigado na relação filtro solar / argila 1:1 sendo as condições do ensaio idênticas as utilizadas no ensaio com a bentonita sódica e mentil antranilato, para o aumento de escala (tabela 16).

Tabela 16: Ensaio entre mentil antranilato e bentonita delaminada em maior escala

Reação	Abs. 311nm	m. fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	Meq fix/100g Arg
1	0,108	684,2	31,1	226
2	0,118	644,5	29,3	213
3	0,112	686,3	31,2	227

A condição de fixação ótima do mentil antranilato na bentonita delaminada é igual a do octil dimetil PABA, sendo fixado por volta de 220 meq de filtro/100g de argila.

Os resultados similares encontrados para a interação do octil dimetil PABA e mentil antranilato com as duas argilas era esperado, uma vez que essas duas moléculas apresentam grupamentos protonáveis em pH ácido, o que garante que ocorra além de uma simples adsorção uma troca catiônica (PORUBCAN, 1978).

4.1.3- Ensaio de interação do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora

4.1.3.1- Preparo da reta de calibração

A curva de calibração do ativo em questão foi previamente realizada nas concentrações de 4µg/ml, 6µg/ml, 8µg/ml, 10µg/ml e 12µg/ml utilizando como solvente etanol, e o comprimento de onda de 300nm.

O solvente utilizado para esse ativo, diferentemente dos demais, não foi um ácido por não haver na estrutura da molécula nenhum sítio capaz de ser protonado. O valor do coeficiente de correlação ($r=0,9997$), assim como, os valores de absorvância obtidos mostraram ser esta reta adequada para os estudos a serem realizados (gráfico 3).

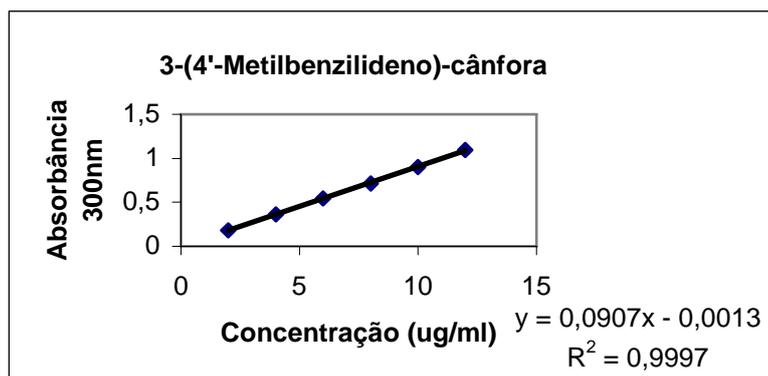


Gráfico 3: Reta de calibração do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora

4.1.3.2- Ensaio de interação do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora com bentonita delaminada

O ensaio com a argila delaminada foi feito previamente ao ensaio com a argila sódica por ser esperado uma melhor interação do ativo com esta argila, visto seu interior organofílico (KORNMANN, 2001). Como o 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora não apresenta uma característica catiônica, (como os demais ativos testados até agora) mas sim uma característica neutra, a interação por troca catiônica não é mais possível, sendo a adsorção o único meio de fixação desse ativo na argila. Por sua vez o processo de adsorção pode ocorrer mais facilmente na argila delaminada devido as características apolares do ativo e de tal argila, assim como, do maior espaçamento presente entre suas lamelas (KORNMANN, 2001).

a) Otimização do tempo de ensaio

Considerando-se a necessidade de uma maior energia para a intercalação da molécula hóspede não protonada, do que aquela verificada para substâncias protonadas os tempos de ensaio propostos foram 1, 2, 4, 6 e 8 horas, sendo cada ensaio realizado em triplicata. A temperatura dos ensaios foi de 50°C (20°C maior que a anterior), utilizando 400mg de bentonita delaminada, 400 mg de ativo (concentração igual a 393meq de 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora/100g argila) e 10 mL de etanol PA (pH em torno de 6). A diluição do sobrenadante para análise no espectrofotômetro foi de 80.000x.

Foram observadas diferenças significativas entre os rendimentos correspondentes aos tempos de 4 e 6 horas, quando realizado o teste estatístico, onde se comparou o tempo de ensaio referente a 1 hora com os demais tempos ($p < 0,05$). Foi adotado como tempo ideal o de 4 horas por ser o menos variável (tabela17).

Tabela 17: Otimização do tempo de ensaio entre 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora e bentonita delaminada

Tempo	Abs. 300nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
1h	0,418	30,2	3,8	30	--
	0,441	9,9	1,2	10	
	0,439	11,6	1,5	11	
2h	0,387	57,5	7,2	57	0,1696
	0,402	40,0	5,0	39	
	0,395	50,5	6,3	50	
4h	0,375	68,1	8,5	67	0,01967
	0,373	70,0	8,8	69	
	0,371	71,7	9,0	70	
6h	0,336	102,5	12,8	101	0,0087
	0,377	66,4	8,3	65	
	0,355	85,7	10,7	84	
8h	0,392	53,1	6,6	52	0,2772
	0,402	40,0	5,0	39	
	0,405	41,6	5,2	41	

b) Otimização da temperatura do ensaio

As temperaturas adicionais analisadas foram 30°C e 70°C. Com a de 30°C se buscou identificar a real necessidade de uma maior energia para o processo de intercalação quando do uso de moléculas hóspedes não protonáveis. A temperatura de 70°C foi estudada para avaliação do efeito da maior temperatura de trabalho no processo. O tempo de ensaio de 4 horas e as demais condições do ensaio foram mantidas para otimização da temperatura (tabela 18).

Tabela 18: Otimização da temperatura de ensaio entre 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora e bentonita delaminada

Temperatura	Abs. 311nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação (%)	meq fix/100g Arg
30°C	0,425	24	3,0	24
30°C	0,384	60,15	7,5	59
30°C	0,359	82,2	10,3	80,8
50°C	0,375	68,1	8,5	67
50°C	0,373	70	8,8	69
50°C	0,371	71,7	9,0	70
70°C	0,547	0	0	0
70°C	0,464	0	0	0
70°C	0,430	19,58	2,4	19

A temperatura considerada ideal foi 50°C, por ser a menos variável.

A interação do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora com a bentonita delaminada não se mostrou eficaz. Sendo a grande variação entre os resultados dos ensaios atribuída ao fato da única interação possível ser um simples processo de adsorção do ativo entre as lamelas da argila, o que difere do processo de intercalação verificado com as moléculas hóspedes protonadas, que poderiam inclusive competir com o grupamento alquilamônio presente na argila delaminada.

4.1.3.3- Ensaio de intercalação do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora com bentonita sódica

Ainda que o processo com a argila sódica, seja em teoria, menos susceptível a sucesso do que aquele realizado com a argila delaminada, foi investigado o uso desta primeira no processo de intercalação.

Os tempos de 2 e 4 horas foram analisados para avaliação da interação do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora com a bentonita sódica, na temperatura de 50°C (temperatura ótima

para a interação com a argila delaminada). As demais condições de ensaio foram idênticas as adotadas para o ensaio com a bentonita delaminada (tabela 19).

Tabela 19: Otimização do tempo de ensaio entre 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora e bentonita sódica

Tempo	Abs. 300nm	m.fixada	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
2h	0,924	0	0	0
	0,872	0	0	0
	0,687	0	0	0
4h	0,484	0	0	0
	0,385	59,3	14,8	58
	0,419	29,3	7,3	29

Em duas horas de reação, não foi possível se observar a fixação do filtro solar na argila; ao se elevar o tempo de reação para 4 horas, não foi alcançada uma reprodutibilidade mínima no ensaio e os valores de ativo fixado foram novamente baixos, considerando-se que o 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora não foi capaz de interagir com a bentonita sódica.

Os resultados dos ensaios do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora com as duas argilas demonstrou conforme o esperado e descrito previamente que a interação de tal ativo neutro com as argilas, é inferior ao encontrado para as moléculas com características catiônicas (octil dimetil PABA e mentil antranilato). Outro fato notado foi a melhor interação da molécula neutra com a bentonita delaminada em comparação com a sódica, o que se deve as características apolares tanto dessa argila como do ativo, conforme já citado anteriormente.

4.1.4- Ensaio de interação do Ácido Sulfônico Fenilbenzimidazol

4.1.4.1- Preparo da reta de calibração

A reta de calibração do ativo em questão foi previamente realizada nas mesmas concentrações utilizadas para os outros ativos, sendo utilizado NaOH 0,02N como solvente (o ativo em questão é solúvel apenas em pH 8,0 quando na presença de NaOH), e o comprimento de onda de 302nm. Tanto o valor do coeficiente de dispersão ($r=0,9997$), quanto os valores de absorvância lidos, demonstraram a adequação da reta de calibração para sua funcionalidade (gráfico 4).

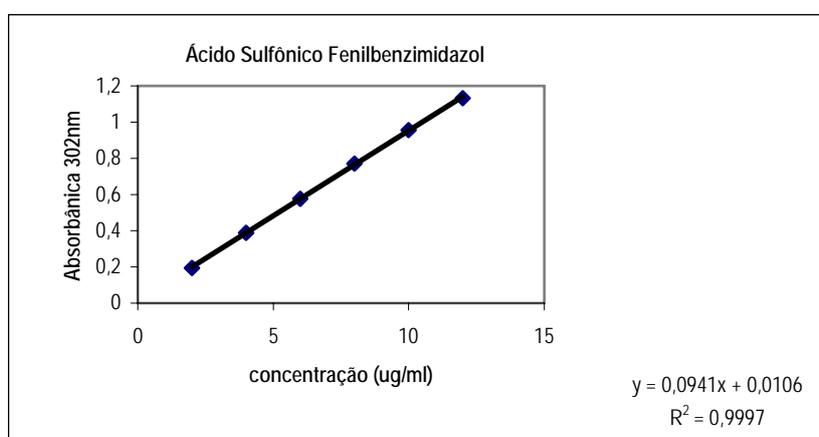


Gráfico 4: Reta de calibração do ácido sulfônico fenilbenzimidazol

4.1.4.2- Ensaio de interação do ácido sulfônico fenilbenzimidazol com bentonita delaminada

A princípio, poderia se esperar, devido ao caráter aniônico do Ácido Sulfônico Fenilbenzimidazol, que ocorresse uma repulsão entre as cargas da argila sódica e a molécula do ativo, não ocorrendo qualquer interação com tal argila. A interação com a argila delaminada também deveria ser afetada, mas de forma menos drástica devido sua característica apolar. Porém uma vez que se utilizou um solvente de caráter básico na reação de intercalação (NaOH), o intumescimento da argila poderia ser mais efetivo, possibilitando uma melhora no rendimento do processo de intercalação, em relação ao que se poderia prever em termo teóricos.

Seguindo o modelo de outra molécula hóspede pouco reativa, 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora, o estudo foi conduzido com os tempos de ensaio de 2 e 4 horas; a temperatura dos ensaios foi de 70°C, utilizando 400mg de bentonita delaminada, 400 mg do ácido sulfônico fenilbenzimidazol (equivalente a 365meq de ativo/100g argila) e 10 mL de NaOH 0,02N (pH 10,0). A diluição do sobrenadante para análise no espectrofotômetro foi de 80.000x.

Analisando-se a o rendimento expresso em meq fixado de cada tempo pelo método estatístico previamente citado não foi notada qualquer diferença significativa entre os tempos de ensaio analisados, adotando-se como tempo ideal o de 2 horas (tabela 20).

Tabela 20: Otimização do tempo de ensaio entre ácido sulfônico fenilbenzimidazol e bentonita delaminada

Tempo	Abs. 300nm	m.fixada	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
2h	0,372	92,8	11,6	85	--
	0,376	89,4	11,2	81	
	0,384	82,6	10,3	75	
4h	0,378	87,7	11,0	80	0,3152
	0,379	86,8	10,9	79	
	0,429	44,3	5,5	40	

As temperaturas de ensaio analisadas foram 30°C, 50°C e 70°C, sendo cada ensaio realizado em triplicata (tabela 21).

O tempo de ensaio foi fixado em 2 horas, sendo mantidas as demais condições do ensaio realizado para otimização do tempo.

Aparentemente, o baixo percentual de fixação à temperatura de 30°C, assim como, os teores elevados e muito variáveis observados em temperaturas mais elevadas, indica estar havendo à degradação da molécula hóspede, somado a uma adsorção variável na superfície da argila.

Tabela 21: otimização da temperatura de ensaio entre ácido sulfônico fenilbenzimidazol e bentonita delaminada

Temperatura	Abs. 302nm	m.fixada	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
30°C	0,513	0	0	0
30°C	0,478	4,4	5,5	4
30°C	0,416	55,3	6,9	50
50°C	0,395	73,2	9,2	67
50°C	0,352	109,8	13,7	100
50°C	0,478	4,4	5,5	4
70°C	0,372	92,8	11,6	85
70°C	0,376	89,4	11,2	81
70°C	0,384	82,6	10,3	75

Pode se considerar, após o fracasso da intercalação do ácido sulfônico fenilbenzimidazol com a argila delaminada nas condições de 2 horas a 70°C, que a estrutura desta molécula hóspede não se presta para o processo de intercalação em bentonita delaminada ou sódica.

4.1.5- Ensaio de interação com atenolol

Para se traçar um perfil da influência da estrutura físico-química da molécula hóspede no processo de interação com bentonita sódica ou modificada novas estruturas químicas foram avaliadas. Estas novas moléculas apresentam atividades farmacológicas reconhecidas, buscando ressaltar a importância destas argila como carreadores de fármacos, servindo inclusive, como precursores de novos sistemas terapêuticos.

A curva de calibração do ativo em questão foi previamente realizada nas concentrações de 20µg/ml, 40µg/ml, 60µg/ml, 80µg/ml, 100µg/ml e 120µg/ml utilizando como solvente HCl 0,1N e o comprimento de onda de 279nm. Tanto o coeficiente de correlação quanto as absorvâncias verificadas confirmam sua adequação para os estudos aqui propostos. (gráfico 5).

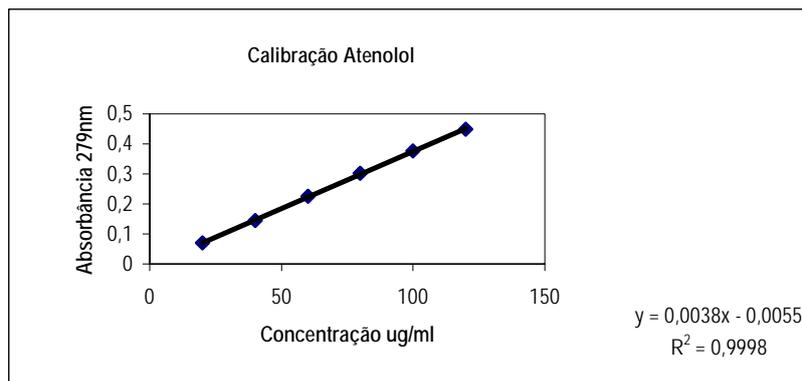


Gráfico 5: Retas de calibração do atenolol

4.1.5.1- Ensaio de interação do atenolol com bentonita sódica

a) Otimização do tempo de ensaio

A estratégia de otimização do processo seguiu o disposto para os filtros solares protonáveis, como o octil dimetil PABA.

Os tempos de ensaio analisados foram então 30 minutos, 1, 2, e 4 horas, a temperatura dos ensaios foi de 30°C, utilizando 400mg de bentonita sódica, 60 mg de atenolol (concentração equivalente a 56,3meq de atenolol/100g argila) e 10 mL de HCl 0,1N. A diluição do sobrenadante para análise no espectrofotômetro foi de 200x.

Não foi notada qualquer diferença significativa entre os diferentes tempos de ensaio, sendo portanto adotado como ideal o tempo de 30 minutos (tabela 22).

Tabela 22: Otimização do tempo de ensaio entre atenolol e bentonita sódica

Tempo	Abs. 279nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
30 min	0,526	32,03	7,0	30,06	--
	0,482	34,35	7,5	32,24	
	0,439	36,61	8,0	34,36	
1h	0,480	34,45	7,5	32,34	0,2984
	0,434	36,87	8,0	34,61	
	0,451	35,98	7,8	33,77	
2h	0,503	33,24	7,2	31,20	0,6168
	0,505	33,13	7,2	31,10	
	0,468	35,08	7,6	32,93	
4h	0,500	33,39	7,3	31,34	0,4731
	0,503	33,20	7,2	31,16	
	0,542	31,18	6,8	29,27	

b) Otimização da temperatura de ensaio

Novamente, as temperaturas de ensaio analisadas foram 30°C e 70°C, sendo cada ensaio realizado em triplicata.

O tempo de ensaio foi de 30 minutos, sendo mantidas as demais condições do ensaio realizado para otimização do tempo.

Conforme pode se observar com os resultados da tabela 23, a temperatura considerada ótima foi de 30°C.

Tabela 23: Otimização da temperatura ótima de ensaio entre atenolol e bentonita sódica

Temperatura	Abs. 279nm	m.fixada (mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
30 °C	0,526	32,03	7,0	30,06	--
	0,482	34,35	7,5	32,24	
	0,439	36,61	8,0	34,36	
70°C	0,780	18,7	4,1	17,55	0,4058
	0,428	37,2	8,1	34,92	
	0,520	32,4	7,0	30,41	

c) Estudo do escalonamento do processo de intercalação

As relações de concentração entre ativo e argila analisadas foram: 1: 6,67 (56meq/100g arg), 1:4,4 (84meq/100g arg), 1:4 (94meq/100g arg), 1: 3,3 (113meq/100g arg), 1:2,2 (169meq/100g arg) e 1:1,3 (282 meq/100g arg).

O tempo de ensaio foi de 30 minutos, e a temperatura de 30°C sendo mantidas as demais condições dos ensaios anteriores. Os diferentes experimentos realizados foram listados na tabela 24.

Tabela 24: Otimização da relação entre as quantidade de atenolol e bentonita sódica do ensaio

Relação ativo:arg	meq atenolol/100g de argila	Abs. 279nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	Dil
1:6,67	56	0,439	36,61	8,0	34	200x
	56	0,482	34,35	7,5	23	
	56	0,526	32,03	7,0	30	
1:4,4	84	0,761	49,7	10,1	47	200x
	84	0,664	54,8	11,2	51	
	84	0,664	54,8	11,2	51	
1:4	94	0,049	42,6	8,5	40	4000x
	94	0,056	35,3	7,1	33	
	94	0,048	43,7	8,7	41	
1:3,3	113	0,061	50	9,6	47	4000x
	113	0,088	21,6	4,2	20	
	113	0,075	35,3	6,8	33	
1:2,2	169	0,117	51	8,8	48	4000x
	169	0,101	68	11,7	64	
	169	0,099	70	12,1	66	
1:1,3	282	0,261	19,5	2,8	18	4000x
	282	0,318	0	0	0	
	282	0,320	0	0	0	

As concentrações de 84 meq/100g arg e 169meq/100g argila, por apresentarem os rendimentos de intercalação e reprodutibilidade maiores, foram analisadas mais cuidadosamente

por difração de raio-x e Infravermelho. A concentração de 84 meq/100 g arg foi a considerada ideal para prosseguimento dos testes, por ser a que utiliza menor quantidade de ativo, alcançando o maior rendimento de intercalação.

d) Otimização do solvente utilizado

Inicialmente, foi realizado um ensaio utilizando como solvente HCl 1N , para avaliação da força de protonação do solvente no processo de interação . Com esse ensaio se esperava obter uma maior ionização do atenolol e conseqüentemente melhor interação com a bentonita.

As condições adotadas neste ensaio foram as consideradas ótimas com a utilização de HCl 0,1N e 84meq de atenolol/100g arg, substituindo-se todavia, o solvente utilizado.

O resultado encontrado foi igual ao encontrado utilizando HCl 0,1 N como solvente, o que demonstra que a interação do fármaco não está sendo prejudicada por uma deficiência de ionização do atenolol.

Foram realizados outros ensaios utilizando solventes que não causam protonação do atenolol, para verificação da interação entre o fármaco e a bentonita numa condição onde a troca iônica estaria impedida. As condições desses ensaios foram as mesmas consideradas para o teste anterior empregando-se todavia, etanol e água como solvente (tabela 25).

Tabela 25: Análise do efeito de diferentes solventes na interação do atenolol com bentonita sódica

Solvente	Abs 279 nm	m. fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	Dil
Etanol	0,085	12,4	2,5	11,6	2000x
	0,086	11,8	2,4	11,1	
	0,080	15,0	3,1	14,1	
Água (pH10)	0,737	32,6	6,7	204	140x
	0,716	33,4	6,8	209	
	0,737	32,6	6,7	204	

Os resultados obtidos com etanol se mostraram menores que os obtidos em meio aquoso, conseqüência óbvia da menor gelificação da argila neste solvente. Como não foi possível se remover totalmente a água da argila após a reação, com o uso de água como solvente, não se pode afirmar ser este solvente responsável pelo rendimento observado, assim como, pelo elevado valor do mesmo.

Concluiu-se ser o HCl 0,1N o solvente ideal para o processo de intercalação entre o atenolol e a bentonita sódica.

4.1.5.2- Ensaio de interação do atenolol com bentonita delaminada

a) Otimização do tempo de ensaio

Baseando-se nos ensaios anteriores realizados com a bentonita sódica, os tempos de ensaio analisados foram estabelecidos em 30 minutos e 4 horas.

As demais condições de ensaio foram as mesmas adotadas para otimização do tempo utilizando-se bentonita sódica, sendo a diluição do sobrenadante de 4000x.

Não foi verificada interação efetiva do atenolol com a bentonita delaminada em nenhum dos dois tempos analisados. O tempo de 30 minutos foi escolhido para dar continuidade aos testes (tabela 26).

Tabela 26: Otimização do tempo de ensaio entre atenolol e bentonita delaminada

Tempo	Abs. 279nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
30 min	0,051	0,5	0,1	0,47
	0,048	3,7	0,8	3,47
	0,047	4,7	1,0	4,41
4 h	0,050	1,6	0,3	0,47
	0,048	3,7	0,8	3,47
	0,046	5,8	1,3	5,44

O aumento da temperatura de 30°C para 70°C, não promoveu nenhuma melhora no processo de intercalação (tabela 27).

Tabela 27: Otimização da temperatura de ensaio entre atenolol e bentonita delaminada

Temperatura	Abs. 279nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação (%)	meq fix/100g Arg
30 °C	0,051	0,5	0,1	0,47
	0,048	3,7	0,8	3,47
	0,047	4,7	1,0	4,41
70°C	0,059	0	0	0
	0,060	0	0	0
	0,064	0	0	0

O atenolol apesar de catiônico como o octil dimetil PABA e o mentil antranilato, apresenta seu grupamento amina impedido estéricamente por um grupamento isopropila. Tal fato pode dificultar sua interação com as argilas, não sendo possível desta forma se obter bons resultados no processo de intercalação. Ao mesmo tempo, a menor basicidade desta amina e conseqüente menor grau de ionização, também comprometem o processo de interação (SOLOMONS,1996)

4.1.6- Ensaio de interação com espironolactona

A utilização da espironolactona foi proposta de forma a confirmar a influência de uma molécula não ionizável lipofílica no processo de interação com a bentonita.

O processo se iniciou com a preparação da reta de calibração da Espironolactona, realizada nas concentrações de 2µg/ml, 4µg/ml, 6µg/ml, 8µg/ml, 10µg/ml e 12µg/ml utilizando como solvente etanol PA e o comprimento de onda de 238nm. Tanto o coeficiente de correlação obtido ($r=0,9996$) quanto as absorvâncias medidas confirmam a aplicabilidade da reta obtida para os experimentos a serem realizados (gráfico6).

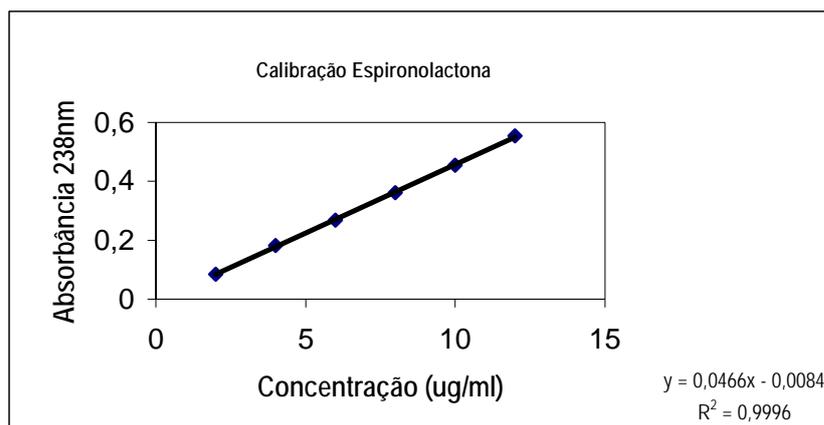


Gráfico 6: Reta de calibração Espironolactona

4.1.6.1- Ensaio de interação da espironolactona com bentonita delaminada

a) Otimização do tempo de ensaio

Como a molécula do 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora, estruturalmente semelhante a espironolactona, não apresentou bons rendimentos no processo de intercalação, foi proposto o aumento do tempo de reação.

Os tempos de ensaio analisados foram: 30 minutos, 2 e 19 horas. A temperatura do ensaio foi de 30°C, sendo utilizado 400mg de argila, 60 mg de ativo (concentração igual a 36meq de espironolactona/100g argila) e 10 ml de etanol PA. A Diluição do sobrenadante para análise no espectrofotômetro foi de 4000x.

Novamente, rendimentos de intercalação muito baixo foram obtidos (tabela 28). Todavia, para a realização de novos experimentos, o tempo considerado ótimo foi de 30 minutos, por apresentar maior uniformidade entre os resultados de rendimento obtidos.

Tabela 28: Otimização do tempo de ensaio entre espironolactona e bentonita delaminada

Tempo	Abs. 238nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação (%)	meq fix/100g Arg
30 min	0,480	18,1	3,9	10,9
	0,500	16,4	3,6	9,84
	0,480	18,1	3,9	10,9
2 h	0,698	0	0	0
	0,708	0	0	0
	0,783	0	0	0
19h	0,483	17,8	3,9	10,7
	0,615	6,5	1,4	3,9
	0,615	6,5	1,4	3,9

b) Otimização da temperatura de ensaio

Novamente, o aumento da temperatura para 70°C, foi avaliado de forma a se buscar uma melhora no rendimento de interação.

O tempo de ensaio foi de 30 minutos, sendo mantidas as demais condições do ensaio realizado para otimização do tempo.

Nenhuma melhora significativa foi observada com o aumento da temperatura (tabela 29), sendo pouco viável o processo com moléculas não ionizáveis e a bentonita delaminada.

Tabela 29: Otimização da temperatura de ensaio entre espironolactona e bentonita delaminada

Temperatura	Abs. 238nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg
30 °C	0,480	18,1	3,9	10,9
	0,500	16,4	3,6	9,84
	0,480	18,1	3,9	10,9
70°C	0,544	12,6	2,7	7,56
	0,526	14,1	3,1	8,46
	0,544	12,6	2,7	7,56

4.1.6.2- Ensaio de intercalação da espironolactona com bentonita sódica

Foi feito um ensaio na condição considerada ótima para a argila delaminada com a argila sódica. A diluição para análise no espectrofotômetro foi de 80.000x

A Espironolactona não foi capaz de interagir com a argila sódica.

A Espironolactona, assim como o filtro solar 3-(4'-metilbenzilideno)-cânfora apresentam um caráter lipofílico não ionizável, o que provavelmente provoca uma repulsão, e não uma interação, com as lamelas da argila sódica, inviabilizando por completo o processo.

4.1.7- Ensaio de Interação com Aciclovir

De forma a se obter maiores informações a cerca do processo de intercalação molécula hóspede/ argila, uma substância com mais de um sítio ionizável ($pK_{a1}=2,3$; $pK_{a2}=9,3$) foi estudada. Desta forma, o aciclovir foi utilizado, sendo sua reta de calibração feita nas concentrações de 2 μ g/mL, 4 μ g/mL, 6 μ g/mL, 8 μ g/mL, 10 μ g/mL e 12 μ g/mL, utilizando como solvente HCl 0,1N e comprimento de onda de 270nm (gráfico 7). As absorvâncias lidas e o coeficiente de correlação calculado mostram a adequação da reta obtida para o estudo realizado.

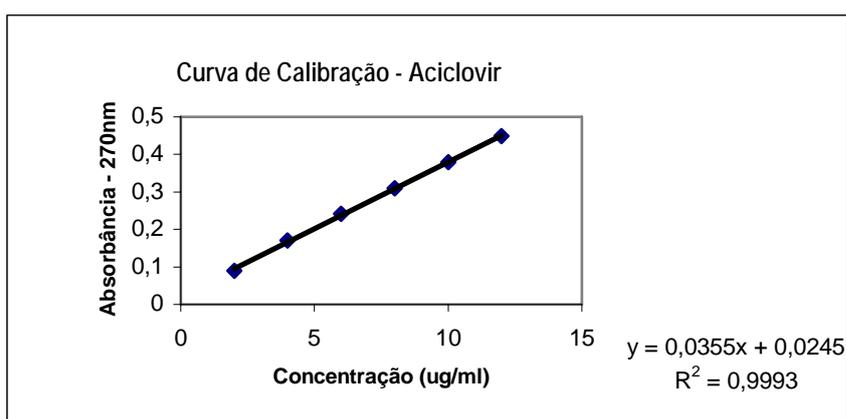


Gráfico 7: Reta de calibração aciclovir

4.1.7.1- Ensaio de intercalação do aciclovir com bentonita sódica

a) Otimização do tempo de ensaio

Os tempos de ensaio testados foram 30 minutos e 4 horas, numa temperatura de 30°C, seguindo a metodologia proposta para o octil dimetil PABA. 400mg de argila, 60 mg de aciclovir (concentração equivalente a 66meq/100g de argila) e 10 ml de HCl 0,1N foram utilizados no ensaio, sendo necessária uma diluição de 4000x para análise espectrofotométrica realizada posteriormente (tabela 30).

Tabela 30: Otimização do tempo de ensaio entre aciclovir e bentonita sódica

Tempo	Abs. 270nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
30 min	0,093	52,3	11,4	58	--
	0,104	51,1	11,1	57	
	0,180	42,5	9,2	47	
4 horas	0,090	52,6	11,4	58	0,2697
	0,105	51	11,1	56	
	0,208	39,4	8,6	44	

Segundo o teste estatístico, não houve diferenças significativas no resultado obtido com os diferentes tempos, sendo considerado ótimo o tempo de 30 minutos.

b) Otimização da temperatura de ensaio

Seguindo a padronização anterior, a temperatura foi elevada para 70°C de forma a se buscar um aumento no rendimento do processo. O rendimento médio obtido com esta temperatura foi 53,66meq/100g de argila, estatisticamente igual a média obtida a 30°C, 54meq/100g de argila ($p=0,9447$), não havendo incremento no processo.

c) Otimização da relação da concentração entre fármaco e argila

Avaliou-se a influência da concentração de aciclovir no processo utilizando-se valores de meq de aciclovir por 100 gramas de argila iguais a 66 (1: 6,67), 88 (1:5), 150 (1:3), 444 (1:1) e 888 (2:1), sendo as demais condições de reação as previamente descritas como ótimas (tabela 31).

Tabela 31: Otimização da relação das quantidades de aciclovir e bentonita sódica no ensaio

Relação ativo:argila	Meq/100g Arg	Abs. 270nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	Dil
1:6,67	66	0,093	52,3	11,4	58	4000x
		0,104	51,1	11,1	57	
		0,180	42,5	9,2	47	
1:5	88	0,189	61,5	12,8	68	4000x
		0,192	61,1	12,7	67,8	
		0,174	63,2	13,2	70,2	
1:3	150	0,650	64,5	11,7	71,6	4000x
		0,615	68,5	12,5	76	
		0,543	76,6	13,9	85	
1:1	444	0,620	32,9	16,5	146	4000x
		0,636	31,1	15,6	138	
		0,646	30	15,0	133	
2:1	888	0,111	52,5	23,3	310	40000x
		0,101	63,8	28,4	377	
		0,098	67,2	29,9	397	

As concentrações consideradas ótimas foram 444 e 888 meq/100g de argila por serem as que resultaram em uma maior massa da aciclovir fixada na argila, devendo estas serem estudadas no processo de escalonamento.

d) Estudo de escalonamento do processo

Foi realizado um ensaio em maior escala nas concentrações de 444 e 888 meq de aciclovir/100g argila, sendo as demais condições ótimas mantidas.

A diferença nas leituras de absorvância obtidas na concentração de 444 meq/100g de argila são decorrentes das diferentes massas de aciclovir e argila utilizadas em cada teste, mantendo sempre porém a concentração final de 444meq de aciclovir/100g de argila (tabela32).

A concentração considerada ótima foi a de 444meq/100g, uma vez que, esta apresentou maior reprodutibilidade durante o estudo de aumento de escala.

Tabela 32: Ensaio entre aciclovir e bentonita sódica em maior escala

meq/100g Arg	Abs. 270nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	Dil
444	0,08	375	18,8	166	400000x
	0,146	947	15,8	140	600000x
	0,144	980	16,3	145	600000x
888	0,115	481	21,4	284	400000x
	0,120	424	18,9	251	
	0,140	199	8,9	118	

4.1.8.2- Ensaio de intercalação do aciclovir com bentonita delaminada

a) Otimização da temperatura de ensaio

A otimização da temperatura de ensaio para a bentonita delaminada foi realizada nas mesmas condições que para a bentonita sódica, no tempo de 30 minutos (tempo considerado ótimo para esta argila).

Analisando-se a o meq fixado de cada temperatura pelo método estatístico teste T para amostras dependentes notamos que não existe uma diferença significativa entre as diferentes temperaturas analisadas ($p > 0,05$), adotando-se como temperatura ótima a de 30°C (tabela 33).

Tabela 33: Otimização da temperatura de ensaio entre aciclovir e bentonita delaminada

Temperatura	Abs. 270nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	p
30°C	0,462	10,7	2,3	12	--
	0,476	9,2	2,0	10	
	0,439	13,3	2,9	15	
70°C	0,420	15,5	3,4	17	0,1333
	0,422	15,2	3,3	17	
	0,430	14,3	3,1	16	

Uma redução significativa na quantidade de fármaco intercalada foi verificada neste caso como consequência da baixa lipofilicidade do mesmo, o que reduz a afinidade pela cavidade organofílica da argila.

b) Otimização da relação da concentração entre fármaco e argila

Tal ensaio manteve as mesmas condições utilizadas para o ensaio equivalente feito para a bentonita sódica. Sendo adotada a concentração de 444meq/100g arg, tida como ótima neste ensaio (tabela 34).

Tabela 34: Otimização da relação entre as quantidades de aciclovir e bentonita delaminada

Relação ativo:argila	Meq/100g Arg	Abs. 270nm	m.fixada(mg)	Rendimento de intercalação(%)	meq fix/100g Arg	Dil
1:6,67	66	0,462	10,7	2,3	12	4000x
		0,476	9,2	2,0	10	
		0,439	13,3	2,9	15	
1:5	88	0,592	16,1	3,4	17,8	4000x
		0,517	24,5	5,1	27,2	
		0,610	14	2,9	15,5	
1:3	150	0,110	53,7	10,0	59,6	40000x
		0,096	69,4	13,0	77	
		0,115	33	6,2	36,6	
1:1	444	0,078	38,6	19,3	171	40000x
		0,078	38,6	19,3	171	
		0,079	39,7	19,9	176	
2:1	888	0,079	27	12,0	159	80000x
		0,072	43	19,1	254	
		0,070	47	20,9	278	

O aciclovir se mostrou capaz de interagir eficientemente tanto com a bentonita sódica quanto com a bentonita delaminada, fato esperado por ter a molécula do aciclovir uma característica catiônica evidente que a torna capaz de interagir com as argilas por meio de uma troca catiônica e também por uma simples adsorção, assim como as moléculas fotoprotetoras octil dimetil PABA e mentil antranilato.

Conforme o esperado as moléculas com características catiônicas são capazes de interagir melhor com a argila sódica e delaminada do que as moléculas neutras e aniônicas, desde que a protonação não esteja sendo impedida pela presença de grupos volumosos. A interação hidrofóbica que poderia ocorrer entre as moléculas lipofílicas e a argila delaminada, se mostrou pouco eficaz em termos de levar a um produto de intercalação estável e em alto rendimento

Análises de difração de raio-x, infravermelho e microscopia eletrônica foram feitas com as amostras de argila contendo octil dimetil PABA, mentil antranilato, atenolol (apenas argila

sódica) e aciclovir para melhor compreensão do tipo de interação que ocorreu entre essas moléculas e as argilas.

4.2- Análise dos produtos de intercalação

4.2.1- Análise por Infravermelho

O espectro da bentonita sódica (figura 17) pode ser facilmente interpretado: a banda forte e larga em 3446 cm^{-1} se deve a $\nu(\text{OH})$ da estrutura e hidroxilas de água envolvidas em pontes de hidrogênio. A banda anterior fina em 3627 cm^{-1} se deve a vibração axial dos grupamentos OH estruturais (FARMER, 1974). A deformação das moléculas de água é responsável pela intensidade média da banda observada em 1636 cm^{-1} . As bandas que decorrem das vibrações das lamelas do silicato podem ser observadas entre $1100 - 450\text{ cm}^{-1}$ (FARMER, 1974). A banda de alta intensidade em 1049 cm^{-1} é devido ao estiramento Si-O-Si. A banda fraca em 799 cm^{-1} se deve ao estiramento Si-O.

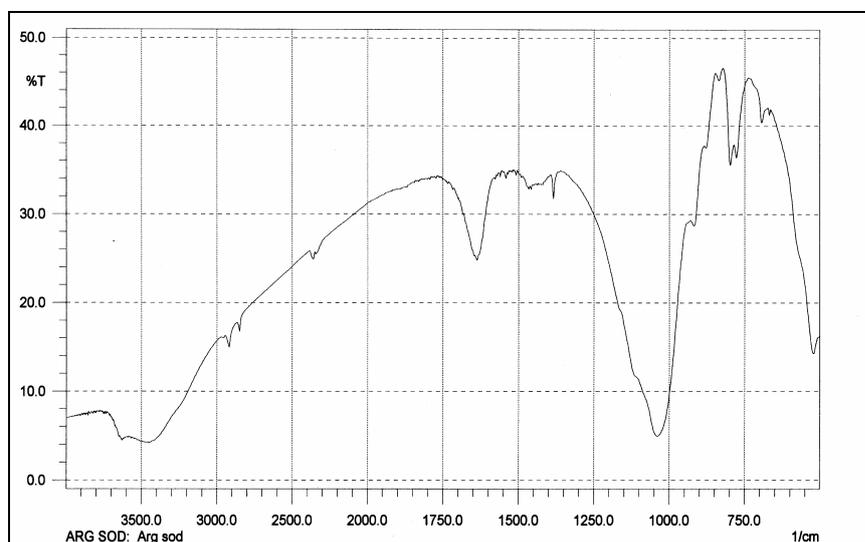


Figura 17: Espectro de infravermelho da bentonita sódica

O espectro da bentonita delaminada (viscogel B8) apresenta algumas diferenças quando comparado com o espectro da bentonita sódica (figura 18). A banda em 3446 cm^{-1} se mostra bem menos intensa, o que decorre do fato da ausência de água entre as lamelas desta

argila. As bandas correspondentes a deformação axial de C – H (2962 cm^{-1}), $\nu_{\text{as}}\text{ CH}_3$ (2872 cm^{-1}), $\nu_{\text{s}}\text{ CH}_3$ (2924 cm^{-1}), $\nu_{\text{as}}\text{ CH}_2$ (2853 cm^{-1}), decorrentes da presença da cadeia alquílica C 18 podem ser observadas. A banda correspondente à deformação angular simétrica no plano de N – H é observada na região de $1650\text{-}1580\text{ cm}^{-1}$ com intensidade de média a forte.

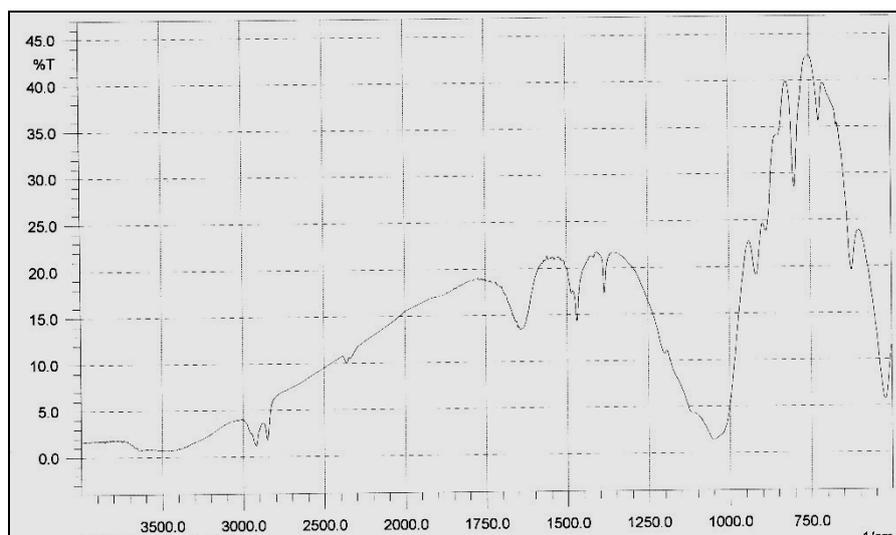


Figura 18: Espectro de infravermelho da bentonita delaminada

Nos espectros das amostras contendo ativo incorporado a bentonita (figura 19 a 25) é possível notar que ocorre uma superposição quase total dos espectros correspondentes a bentonita pura e o ativo puro. Podemos observar também que as bandas não mudam de posição o que indica que a interação entre os ativos e a bentonita é preferivelmente fraca (adsorção). Outra observação fácil de ser feita é quanto a banda em 1636 cm^{-1} que se deve a deformação de moléculas de água na bentonita pura. Tal banda é geralmente modificada quando temos um ativo interagindo com a bentonita o que sugere que a intercalação teria deslocado as moléculas de água do espaço interlamelar, o que pode ser favorecido pelas características hidrofóbicas dos ativos (HOYO et al, 2001).

Os espectros das amostras contendo além do ativo e argila, quitosano incorporado, demonstraram que o quitosano não desloca o ativo já ligado a argila, uma vez que as bandas correspondentes ao ativo ainda são observadas (figuras 19 e 21).

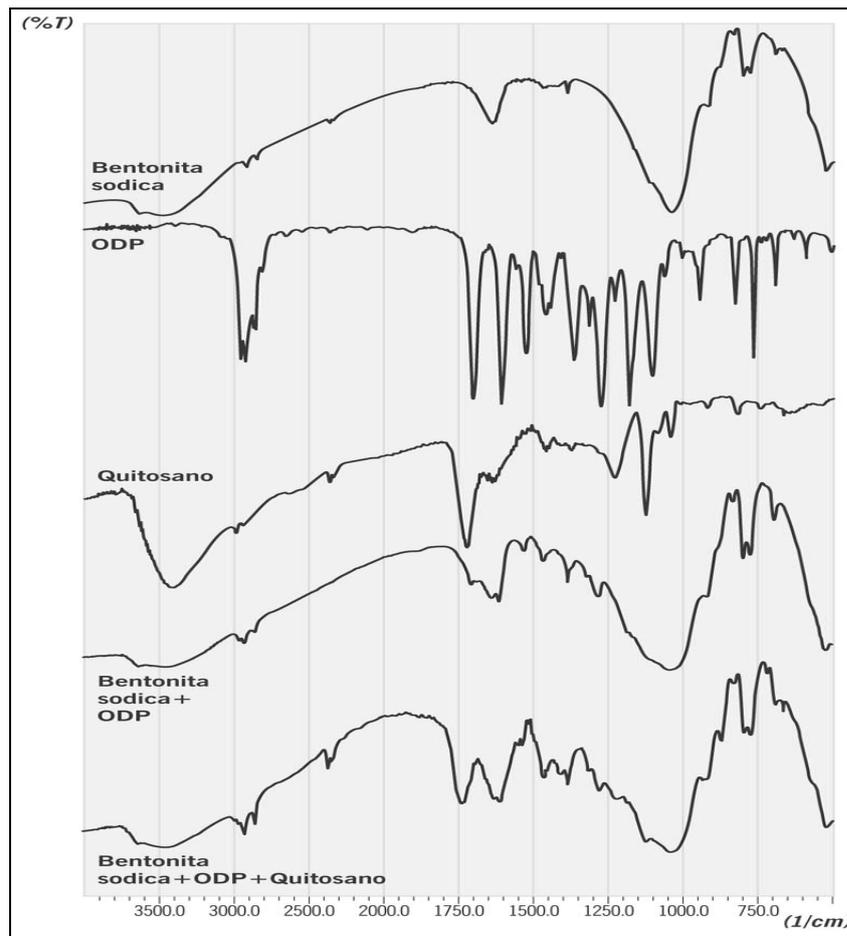


Figura 19: Espectros de Infravermelho da bentonita original, octil dimetil PABA, quitosano, amostra de ODP intercalado com bentonita sódica na presença e ausência de quitosano.

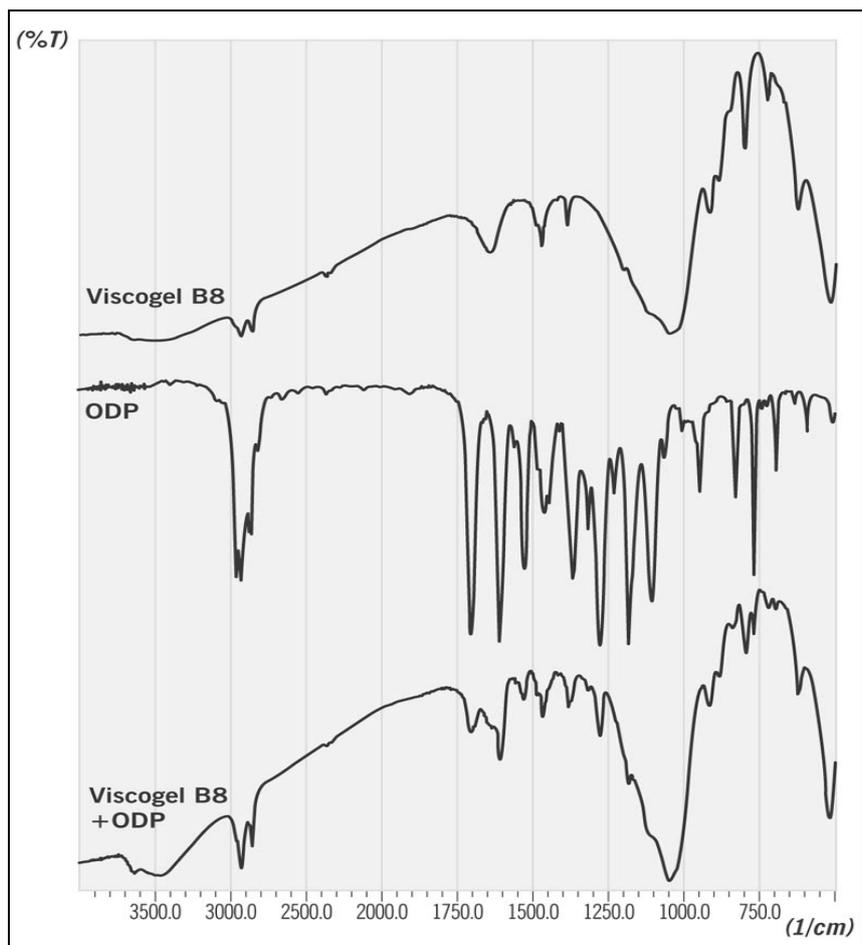


Figura20: Espectros de infravermelho da bentonita delaminada pura (Viscogel B8), octil dimetil PABA e amostra de ODP intercalada com bentonita delaminada

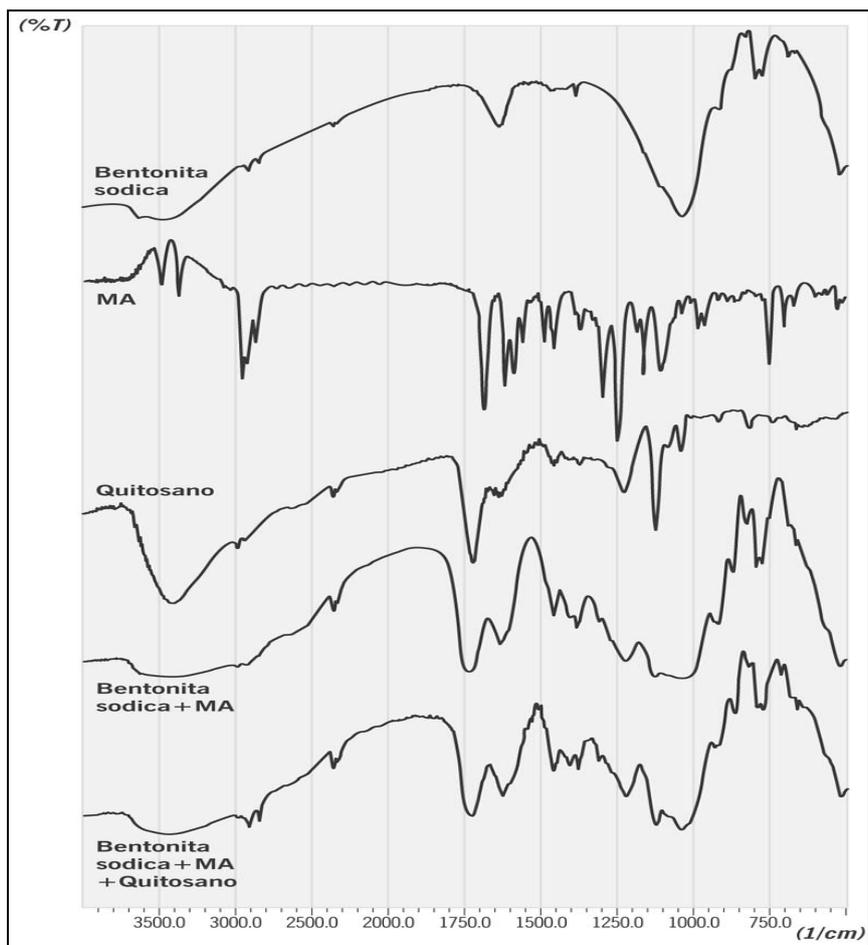


Figura21: Espectros de infravermelho de bentonita sódica pura, metil Antranilato, quitosano, amostra de Ma intercalado com bentonita sódica na presença e ausência de quitosano.

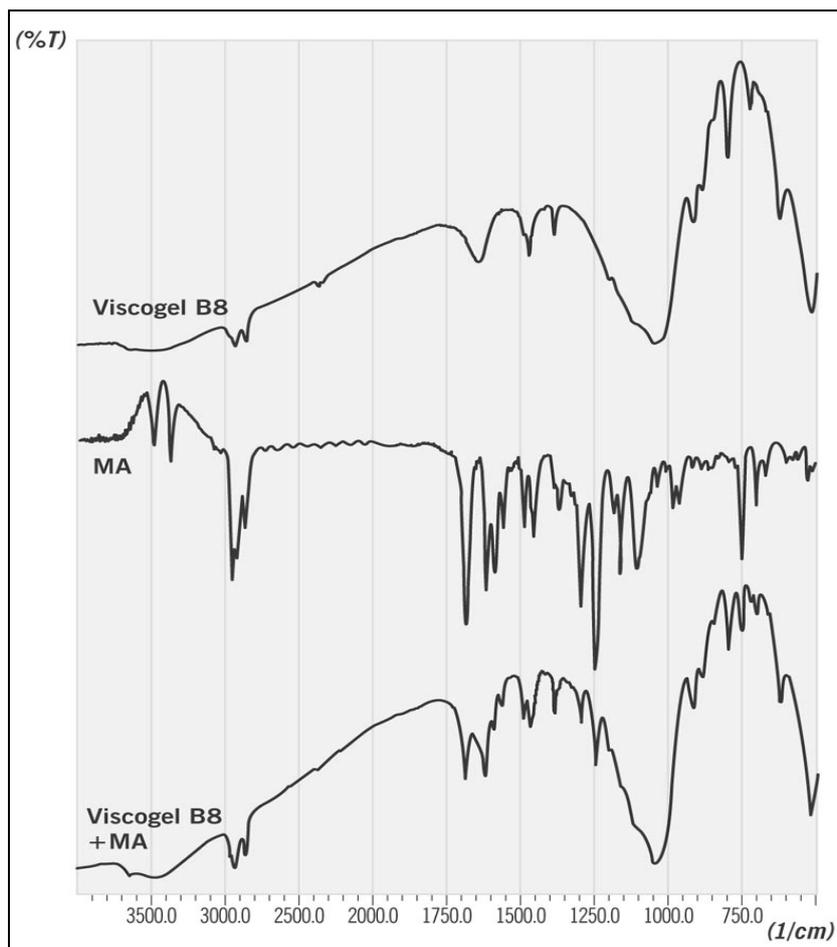


Figura22: Espectro de Infravermelho da bentonita delaminada pura (Viscogel B8), mentil Antranilato e amostra de MA intercalada com bentonita delaminada

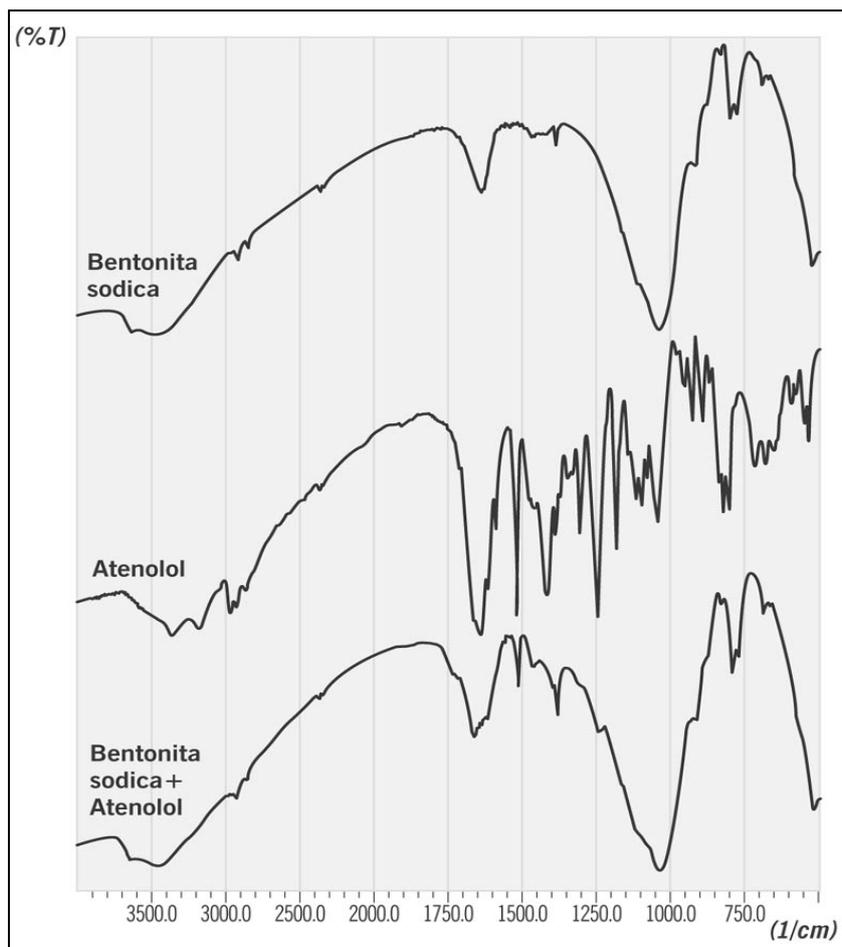


Figura23: Espectros de infravermelho da bentonita sódica pura, atenolol e amostra de atenolol intercalado com bentonita sódica

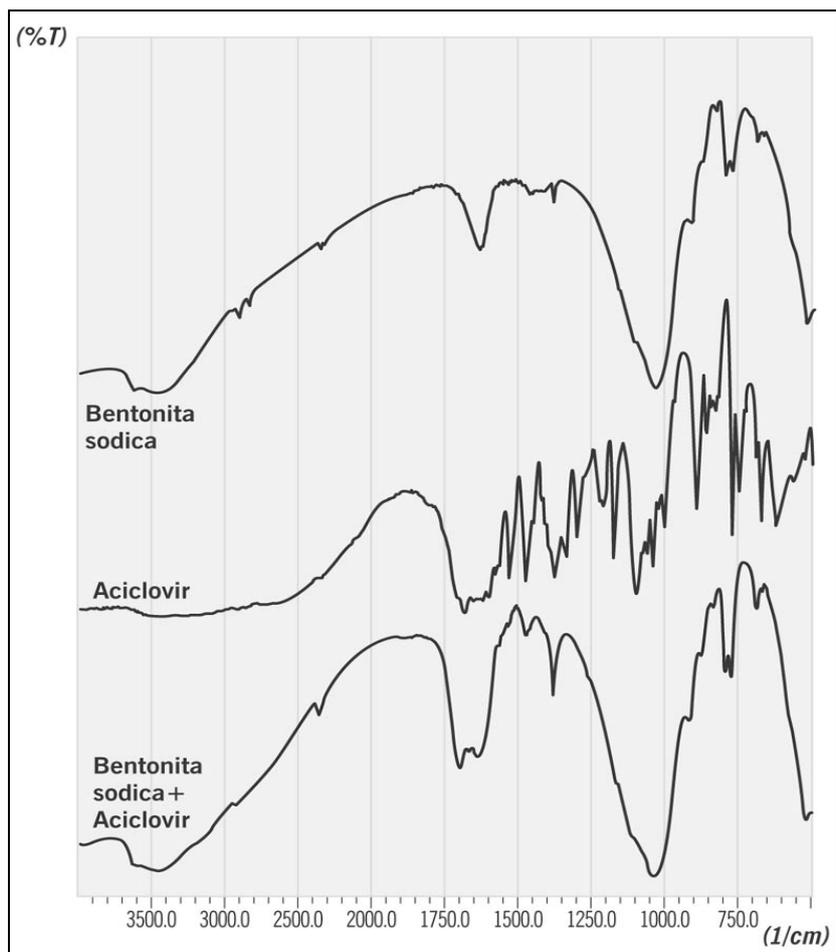


Figura24: Espectro de infravermelho da bentonita sódica pura, aciclovir e bentonita sódica intercalada com aciclovir

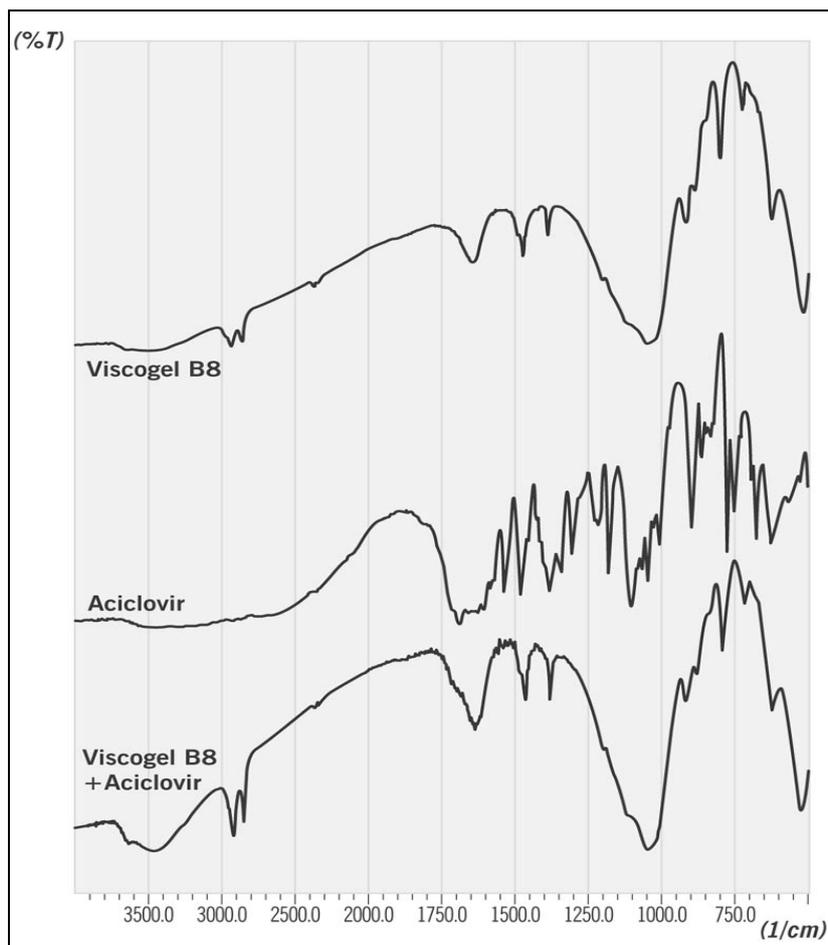


Figura25: Espectros de infravermelho da bentonita delaminada pura, aciclovir e amostra de aciclovir intercalado com bentonita delaminada

4.2.2. Análise em microscopia eletrônica de transmissão:

De forma a se confirmar a intercalação das moléculas hóspedes entre as lamelas da argila, foi proposto se caracterizar os produtos obtidos por microscopia eletrônica de transmissão.

Esta análise, assim como as análises por difração de raio-x, demonstrou que os ativos são intercalados na bentonita, o que provocou um deslocamento das lamelas da argila, aumentando o espaço interlamelar. Considera-se ser a microscopia a confirmação definitiva do processo de intercalação (KORNMANN, 2001).

Os espaçamentos obtidos pela análise de MET, foram alcançados com a análise de 2 a 3 áreas apenas, e portanto as fotos podem indicar apenas a tendência ao aumento do espaçamento, sendo o valor real do espaço interlamelar obtido pelas análises por difração de raio-x, onde tal distância é obtida utilizando valores médios de espaçamento. Sendo assim, foram analisadas por esta técnica apenas as amostras das bentonitas (sódica e delaminada) puras e os produtos de intercalação da bentonita delaminada.

As fotos dos materiais analisados se encontram ilustradas nas figuras 26 a 30.

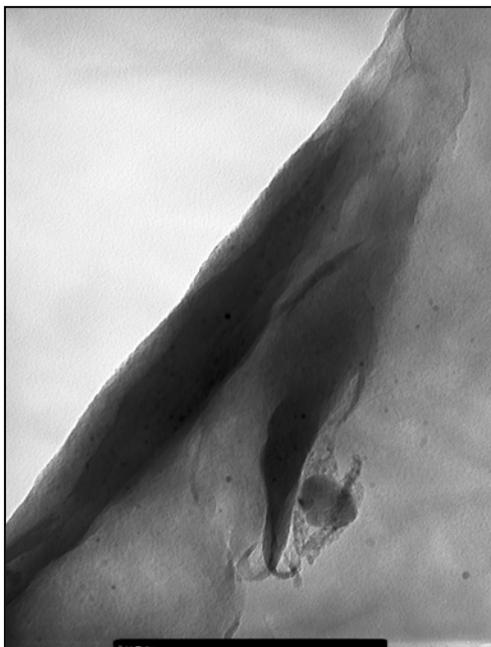


Figura 26: Bentonita sódica com aumento de 100.000x

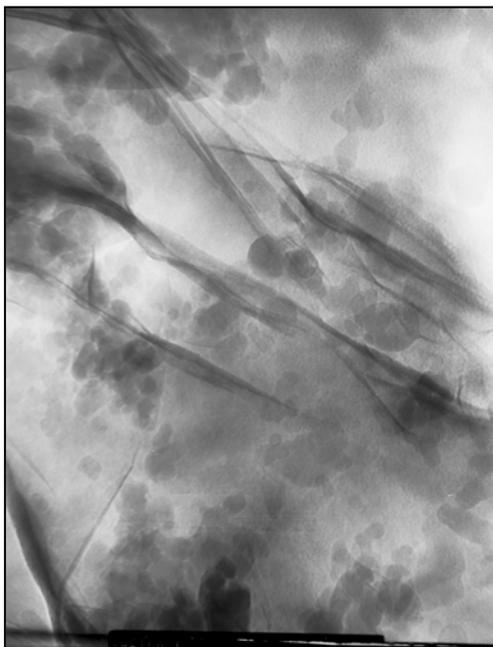


Figura 27: Bentonita Delaminada com aumento de 100.000x

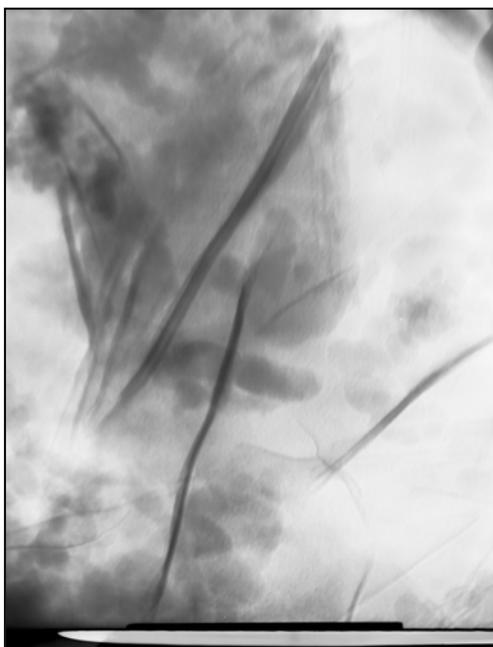


Figura 28: Bentonita delaminada + octil dimetil PABA com aumento de 100.000x



Figura29: Bentonita delaminada + mentil antranilato com aumento de 80.000x



Figura 30: Bentonita delaminada + Aciclovir com aumento de 100.000x

4.2.3- Análise por difração de Raio-X:

O espaçamento basal da bentonita sódica na ausência de água é de 9,5Å. A difração da bentonita sódica utilizada apresentou um pico correspondente a um espaçamento de 13,9Å, o que indica a presença de água no espaço interlamelar.

A difração da bentonita delaminada demonstrou que a distância interlamelar dessa argila é superior a bentonita sódica, sendo o valor de d_{001} igual a 28,95Å o que se deve a presença do sal de amônio quaternário.

A tabela 35 resume os resultados obtidos pela análise por difração de raio-x das diferentes amostras.

Tabela 35: Resultado do d_{001} e do Δd_{001} encontrado por difração de raio-X

Amostra	d_{001}	Δd_{001}
Bentonita Sódica	9,5Å	-
Bentonita Delaminada	28,95Å	-
Bentonita Sódica + ODP	14,97Å	5,47Å
Bentonita Sódica + MA	14,5Å	5Å
Bentonita Sódica + Atenolol	14,97Å	5,47Å
Bentonita Sódica + Aciclovir	12,9Å	3,4Å
Bentonita Delaminada + ODP	35,3Å	6,35Å
Bentonita Delaminada + MA	30,9Å	1,95Å
Bentonita Delaminada + Aciclovir	39,25Å	10,3Å

4.2.3.1- Análise da interação do octil dimetil PABA com as argilas

O octil dimetil PABA provocou um deslocamento de $5,47\text{\AA}$ ($14,97 - 9,5$) na bentonita sódica, indicando que o ativo não foi meramente adsorvido na superfície externa, mas sim que este entra no espaço interlamelar provocando um deslocamento do mesmo. Um deslocamento ainda maior ($7,8\text{\AA}$) foi observado com a adição de quitosano, dando indicação do preenchimento do interior da cavidade da argila pelo polímero.

Na bentonita delaminada o deslocamento provocado pelo octil dimetil PABA foi de $6,35\text{\AA}$ ($35,3-28,95$), o que provavelmente indica uma competição entre o sal de amônio da estrutura da argila e a molécula do filtro solar, sendo a inserção de um número maior de moléculas entre as lamelas o fator determinante deste aumento (Figura 31 e 32).

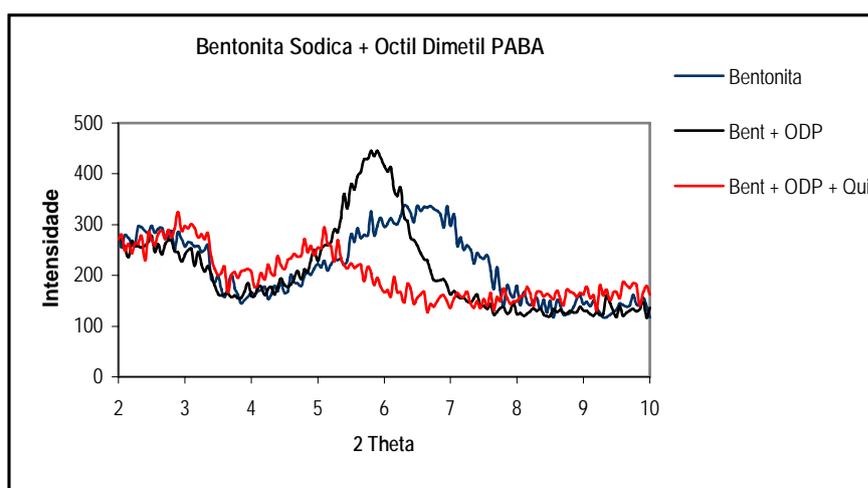


Figura 31: Amostra de bentonita sódica pura, bentonita sódica intercalada com octil dimetil PABA (ODP), e intercalada com octil dimetil PABA sendo seguida a adição de quitosano.

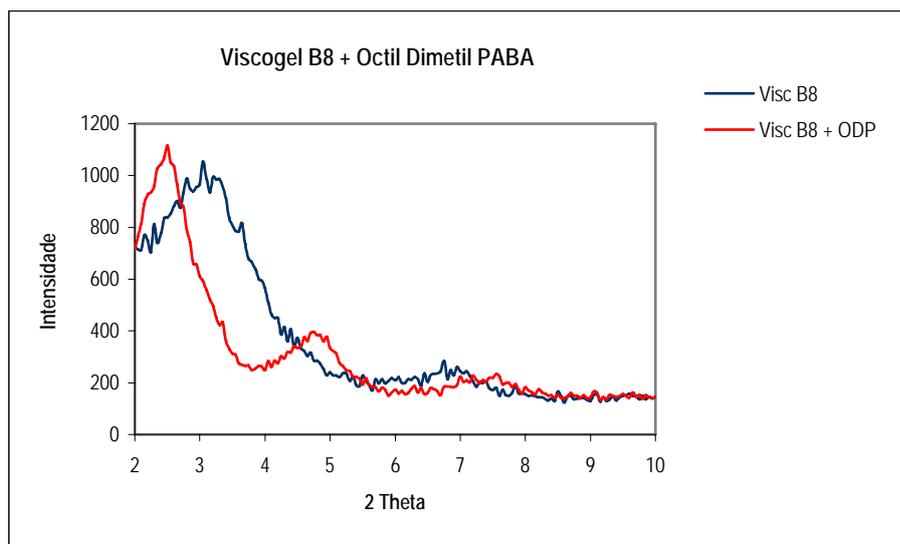


Figura 32: Amostra de viscogel B8 e viscogel B8 intercalada com octil dimetil PABA (ODP)

Estudos de modelagem molecular utilizando o programa SPARTAN, demonstraram que o valor da altura máxima do octil dimetil PABA, foi de 4,7 Å (figuras 33 e 34). Como o volume do ativo é menor que o deslocamento provocado por este, podemos crer que a molécula fotoprotetora está localizada dentro do espaço lamelar tanto da bentonita sódica como da delaminada.

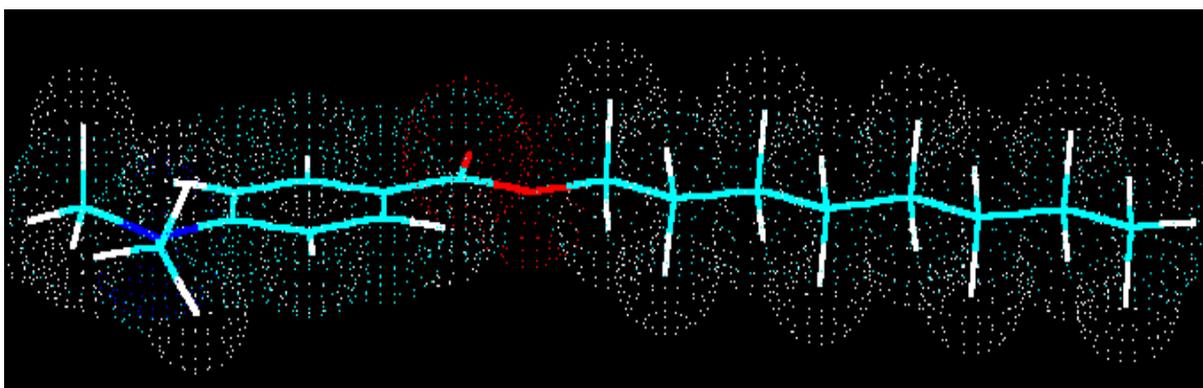


Figura 33: Estrutura química básica da molécula de octil dimetil PABA

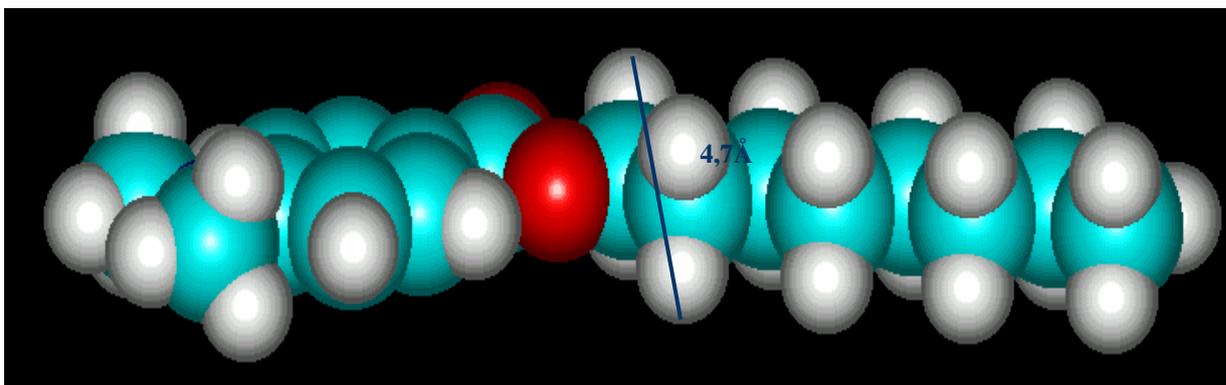


Figura 34: Estrutura química minimizada da molécula de octil dimetil PABA

4.2.3.2. Análise da interação do mentil antranilato com as argilas

O deslocamento provocado pelo mentil antranilato na bentonita sódica foi de 5\AA ($14,5-9,5$). Um deslocamento ainda maior ($7,8\text{\AA}$) foi observado com a adição de quitosano.

Na bentonita delaminada o deslocamento provocado pelo mentil antranilato foi de $1,95\text{\AA}$ ($30,9-28,95$). Pela análise dos resultados obtidos, existe a indicação que a interação do mentil antranilato com a bentonita sódica tem se dado entre as lamelas, enquanto com a bentonita delaminada, visto o elevado rendimento do processo, a interação preferencial tem se dado por adsorção superficial, condigente com o baixo deslocamento observado em suas lamelas, mesmo se admitindo um empacotamento molecular similar ao observado com o octil dimetil PABA (figura 35 e 36).

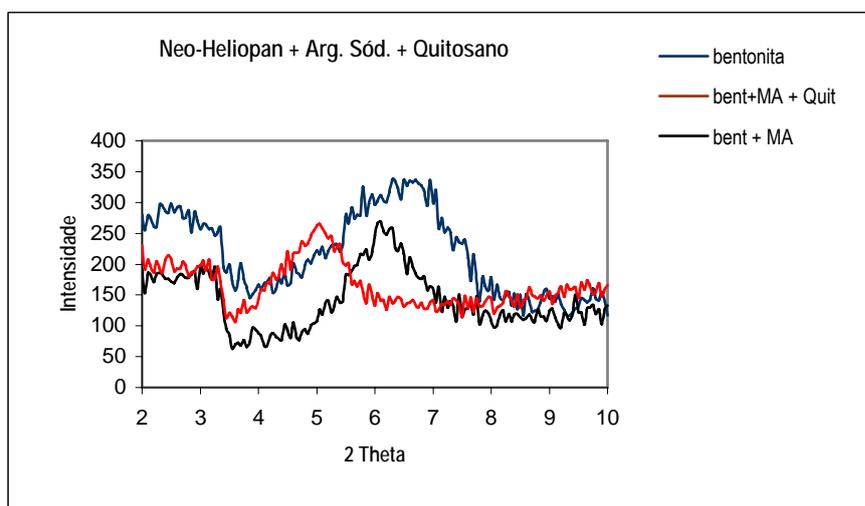


Figura 35: Amostra de bentonita sódica pura, bentonita sódica intercalada com mentil antranilato (MA), e intercalada com mentil antranilato sendo seguida a adição de quitosano.

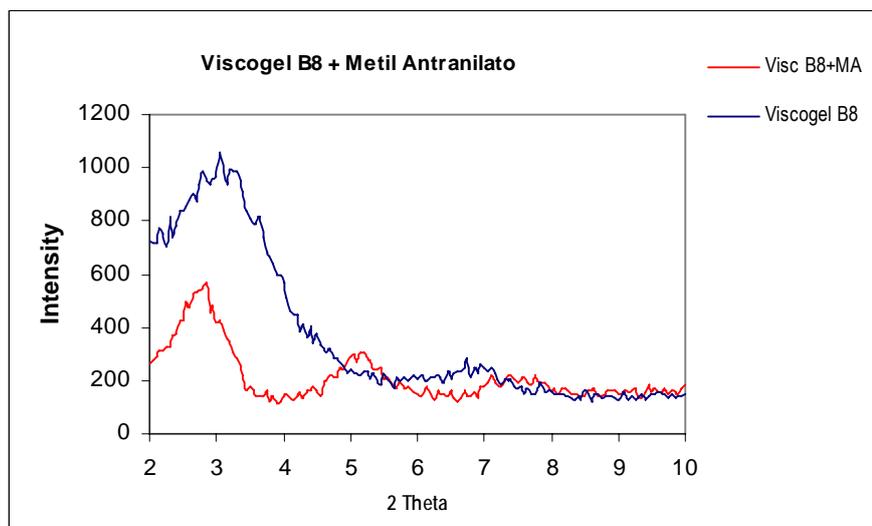


Figura 36: Amostra de viscogel B8 e Viscogel B8 intercalada com Mentil Antranilato

Pelo estudo de modelagem molecular o valor da altura máxima do mentil antranilato^{*1} é de 5,9Å (figuras 37 e 38), volume este maior que o deslocamento provocado pela intercalação do ativo com a bentonita sódica. Green-Kelley (1955) analisou algumas moléculas orgânicas adsorvidas no espaço interlamelar da bentonita e notou que o aumento no espaço interlamelar provocado por essa intercalação pode ser menor que a dimensão da molécula adsorvida na ordem de 1 Å. Estudos posteriores demonstraram que um diferente empacotamento geométrico pode ocorrer quando a molécula é adsorvida provocando em um menor espaçamento que o esperado (BRINDLEY & HOFFMANN, 1962).

O espaçamento interlamelar observado na intercalação do mentil antranilato com a bentonita sódica se deve, portanto a adsorção da molécula de mentil antranilato e sugere que uma única camada do ativo é adsorvida em uma orientação paralela no caso da argila sódica. O mesmo fenômeno não é verificado com a argila delaminada.

¹ * A estrutura utilizada para análise no programa de modelagem molecular, uma vez que a estrutura do mentil antranilato apresenta centros quirais, foi 1S 2R 5S (+) Mentil Antranilato.

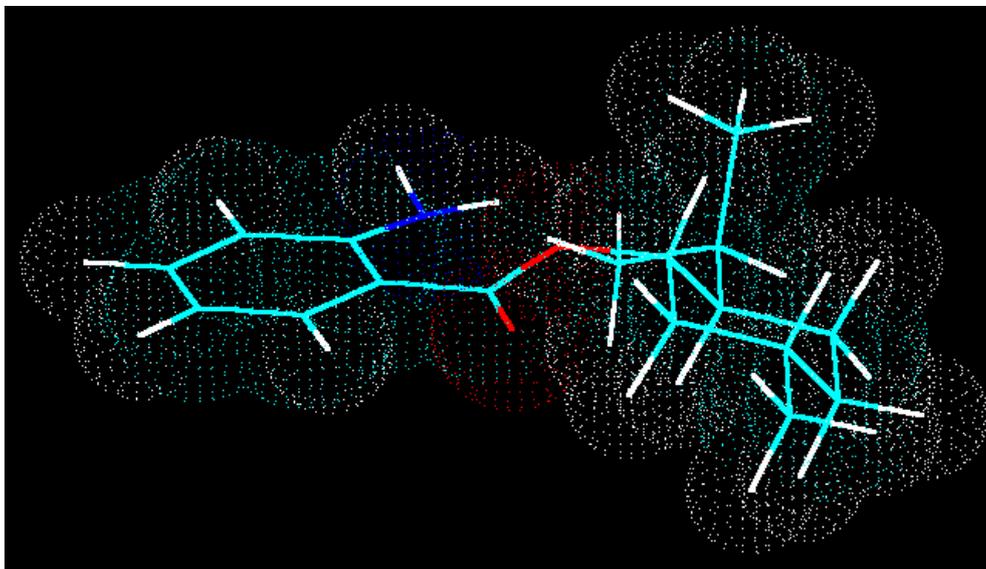


Figura 37: Estrutura química básica da molécula de mentil antranilato

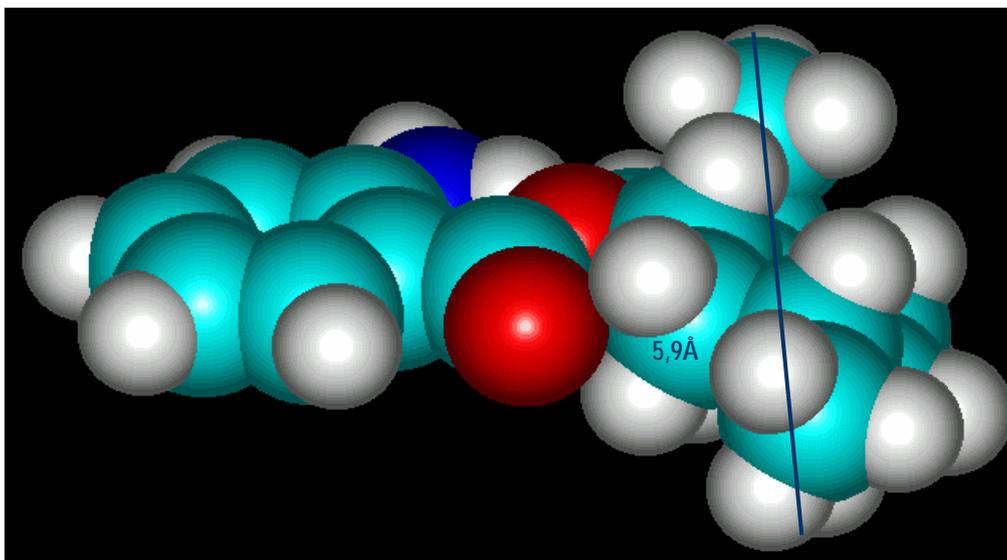


Figura 38: Estrutura minimizada da molécula de mentil antranilato

4.2.3.3- Análise da interação do atenolol com a bentonita sódica

O deslocamento provocado pelo atenolol na bentonita sódica (figura 39) foi de $5,47\text{\AA}$ ($14,97-9,5$). Quantidades diferentes de atenolol que interagiram com a bentonita ($84\text{meq}/100\text{g}$ e $169\text{ meq}/100$) foram analisadas não sendo observada nenhuma diferença entre as duas amostras em termos do espaçamento gerado. Tal fato indica que a capacidade máxima de troca catiônica da argila é alcançada com a concentração de $84\text{meq}/100\text{g}$, ocorrendo apenas um processo de adsorção com o aumento da concentração de ativo presente no ensaio.

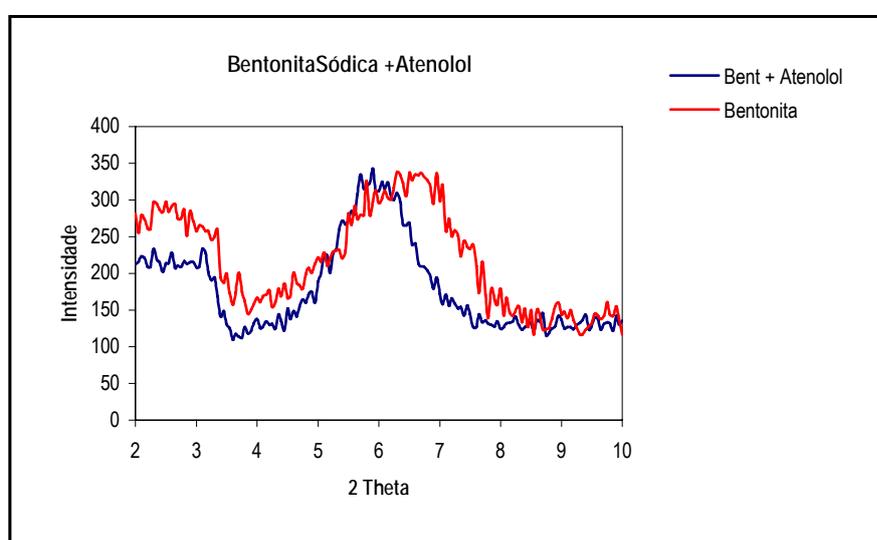


Figura 39: Amostra de bentonita sódica pura e intercalada com atenolol

Sendo a dimensão molecular do atenolol^{2*} igual a $5,4\text{\AA}$ este complexo é formado obrigatoriamente por uma monocamada do ativo, estando o anel benzenico do ativo arranjado de forma paralela a superfície do silicato, justificando o aumento de $5,4\text{\AA}$ provocado pela interação do atenolol com a bentonita sódica (figura 40e 41).

^{2*} A estrutura utilizada para análise no programa de modelagem molecular, uma vez que a estrutura do atenolol apresenta centros quirais, foi R(+) Atenolol.

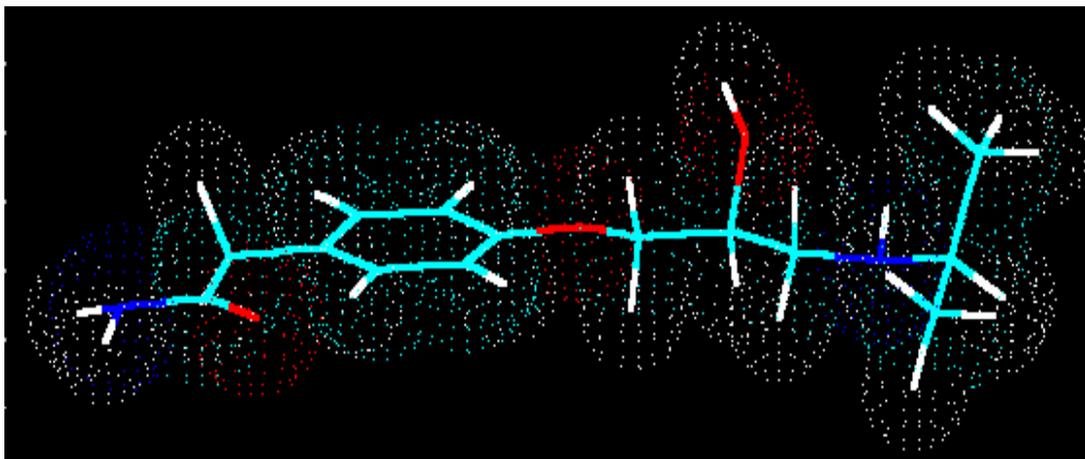


Figura 40: Estrutura química básica do atenolol

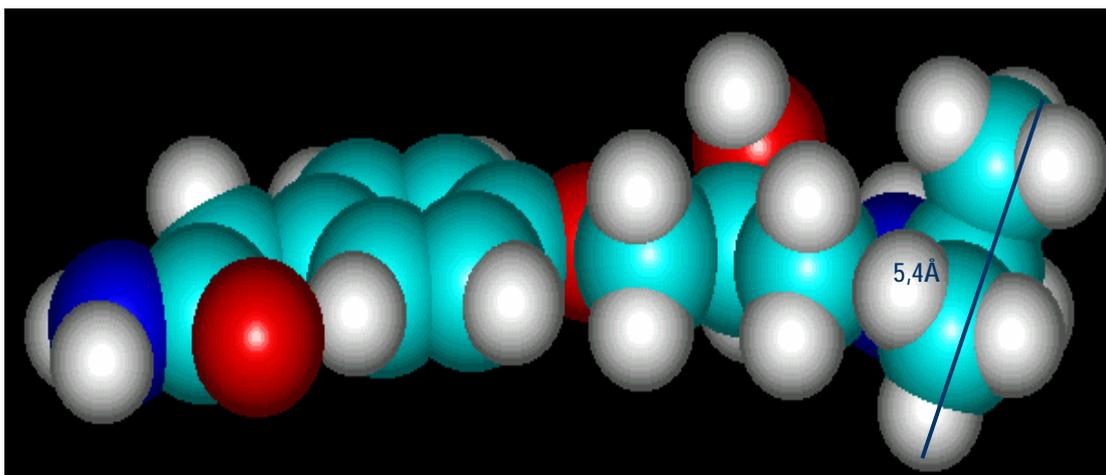


Figura 41: Estrutura minimizada do atenolol

4.2.3.4- Análise da interação do aciclovir com as argilas:

Até o momento, pode se verificar que, a similaridade estrutural das moléculas estudadas, assim como, suas dimensões moleculares, levavam à um processo de interação tanto com a argila sódica quanto com a delaminada muito similar, arranjando-se a substância intercalada de maneira paralela às lamelas na forma de uma monocamada. Como o aciclovir

provocou um deslocamento (Δd_{001}) de 3,4Å na bentonita sódica (figura 42) um comportamento similar pode também ser atribuído a este fenômeno.

O menor valor dimensional calculado para o aciclovir a foi de 4,4Å, sendo do mesmo modo que o mentil antranilato, o valor Δd_{001} menor em 1Å que o volume dimensional mínimo da molécula, ratificando o mecanismo preponderante para o processo de intercalação (figuras 44 e 45).

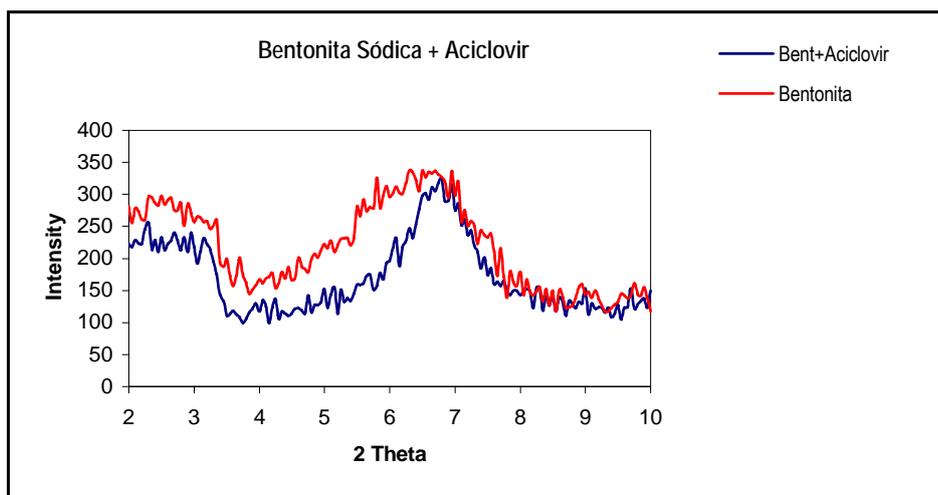


Figura42: Amostra de bentonita sódica pura e intercalada com aciclovir

O espaçamento observado para a argila delaminada foi de 10,3Å, superior aos anteriormente verificados (figura 43). Entretanto, nada se pode concluir sobre uma possível

modificação no mecanismo de intercalação neste caso (como a assunção de uma geometria parafínica) devendo ainda ter sido mantido o arranjo verificado em todos os processos até então estudados.

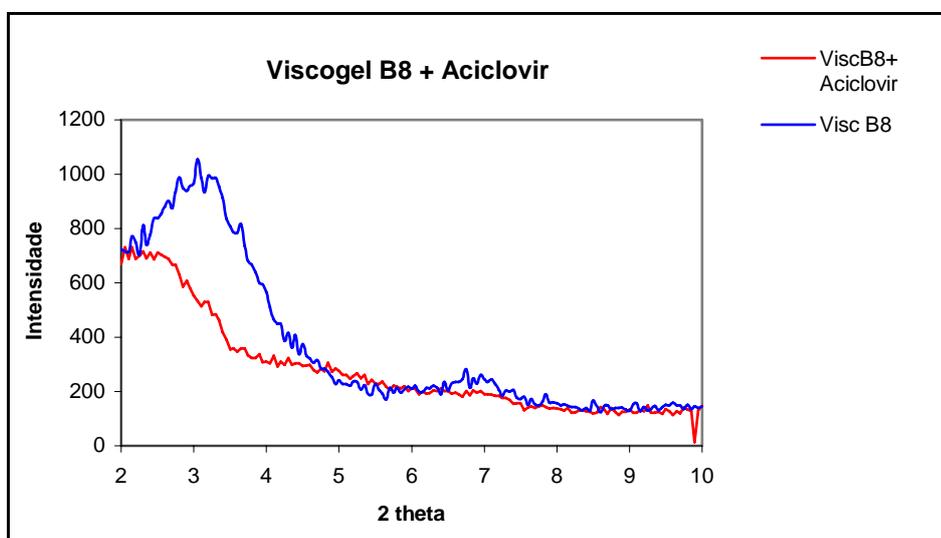


Figura 43: Amostra de Viscogel B8 pura e intercalada com aciclovir

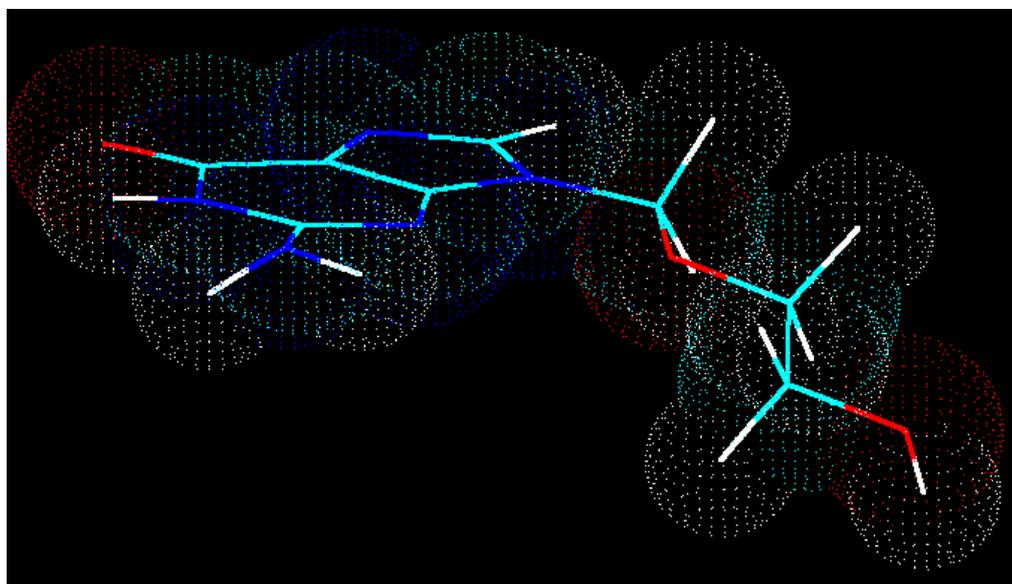


Figura 44: Estrutura química básica do aciclovir

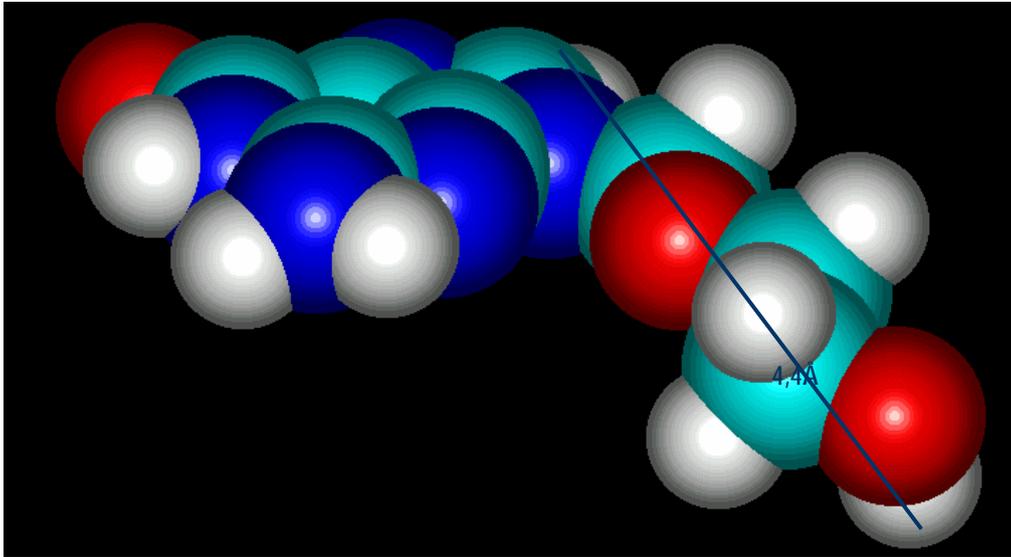


Figura 45: Estrutura minimizada do aciclovir

4.3- Estudo da influência do quitosano em geles fotoprotetores

Uma vez que os filtros solares octil dimetil PABA e PABA possuem sítios formadores de ligação hidrogênio em sua estrutura, poderia se especular que a interação destes com o quitosano afetaria o valor de FPS das formulações onde se combinam ambas substâncias. Tal fato, somado a capacidade deste polímero em interagir com a pele humana e promover uma maior resistência a água para as suas formulações, torna relevante a inserção do quitosano em formulações fotoprotetoras.

A análise do FPS *in vitro* das fórmulas estudadas se encontram listadas na tabela 38.

Tabela 36: Valores médios dos FPS *in vitro* de cada um dos geles analisados*³

Filtros	FPS
ODP a 3,6 % (gel A)	6,5
ODP a 3,6% (gel B)	6,4
ODP a 3,6 % (gel C)	7,7
ODP a 6 % (gel A)	14,7
ODP a 6% (gel B)	11,9
ODP a 6 % (gel C)	12,4
PABA a 3,6 % (gel A)	6,4
PABA a 3,6% (gel B)	2,3
PABA a 3,6% (gel C)	7,0
PABA a 6 % (gel A)	11,8
PABA a 6% (gel B)	10,4
PABA a 6% (gel C)	13,9

A estabilidade do gel foi outro parâmetro avaliado, sendo observado que os geles preparados com PABA degradaram ao longo do tempo, descartando a princípio o uso deste filtro solar nas formulações com Natrosol e quitosano. Os demais geles se mostraram estáveis após 12 meses de armazenagem a 30°C/ 60% umidade relativa.

Todas as formulações foram preparadas com quitosano de alto peso molecular de forma a se obter uma interação mais efetiva entre o polímero e o filtro, assim como, uma maior resistência a água da formulação.

Com a concentração de 6,0% em peso se verificou um maior aumento do FPS frente ao gel que não continha quitosano (Gel A). Ao mesmo tempo, a dissolução total do filtro solar se mostra fundamental para garantir a interação molécula-polímero, levando a um aumento do FPS. Verificou-se também a necessidade de uma carga efetiva maior para interação com o polímero, como se verifica na molécula do PABA.

*³ Gel A: gel sem quitosano; Gel B e C: geles com quitosano, sendo o gel C preparado filtro solar dissolvido

4.4- Análise do fator de proteção solar *in vivo*

Estudos anteriores mostram que o complexo formado entre uma molécula de filtro solar e argila resultam num aumento das propriedades de proteção da molécula fotoprotetora. Um maior tempo de proteção também vem sendo observado, o que se deve a dificuldade da remoção da molécula orgânica da argila, devido sua insolubilidade em água (HOYO, 2001).

Os resultados obtidos pelo teste de Fator de Proteção Solar *in vivo*, com as moléculas estudadas, demonstraram um aumento significativo do valor de FPS dos cremes obtidos por mistura física da bentonita sódica com os dois filtros analisados. O octil dimetil PABA que na formulação do filtro químico puro apresentou um valor de FPS igual a 8,0, quando misturado fisicamente com a bentonita apresentou um valor de FPS igual a 10. O mentil antranilato com valor de FPS igual a 5,3 quando formulado sozinho, passou a apresentar um valor de 8,0 quando formulado com a bentonita sódica na forma de uma mistura física.

Os resultados encontrados com os cremes obtidos pelo ensaio de interação do filtro com a argila foram menos promissores que os obtidos com a simples mistura física da argila com os filtros. O valor do FPS para o creme de octil dimetil PABA não foi alterado quando este foi intercalado com a bentonita, e o mentil antranilato teve um pequeno aumento indo para 6,4 o valor de FPS.

O fato dos filtros estarem no interior das lamelas da argila pode estar dificultando a ação das moléculas fotoprotetoras, mas não totalmente uma vez que o valor de FPS encontrado para o creme com a bentonita sódica pura foi muito inferior sendo igual a 3,2.

A interação com a bentonita delaminada foi ainda pior que com a sódica. O valor de FPS do octil dimetil PABA intercalado com essa argila diminuiu para 5,3 e o do mentil antranilato se manteve (tabela 37).

A presença de quitosano na formulação após intercalação do filtro na argila não alterou o valor de FPS encontrado para os dois filtros intercalados com a bentonita sódica. Tal fato pode ser explicado pela preferência da molécula em se ligar a bentonita, não interagindo com o quitosano nessas condições.

Todavia ainda se pode especular que, em termos da resistência à água, os novos filtros obtidos da intercalação da bentonita sódica com e sem quitosano poderiam apresentar resultados mais efetivos que suas misturas físicas correspondentes ou os filtros isolados.

Tabela 37: Valores de FPS obtidos por teste in vivo

Cremes	Valor de FPS
Metil Antranilato (MA)	5,3
Octil Dimetil PABA (ODP)	8,0
Bentonita Sódica	3,2
Bentonita Delaminada	3,2
Mistura física MA + Bentonita sódica	8,0
Mistura física ODP + Bentonita sódica	10,1
Bentonita sódica + ODP	8,0
Bentonita sódica + MA	6,4
Bentonita sódica + ODP + Quitosano	8,0
Bentonita sódica + MA + Quit	6,4
Bentonita Delaminada + ODP	5,3
Bentonita Delaminada + MA	5,3

4.5- Análise da irritabilidade ocular e cutânea

Para o teste de irritabilidade 5 cremes foram analisados, sendo eles o formulado com octil dimetil PABA puro, octil dimetil PABA intercalado com as duas argilas, octil dimetil PABA misturado fisicamente com a bentonita sódica e mentil antranilato intercalado com a bentonita sódica (tabela 38).

Apenas o creme contendo octil dimetil PABA puro foi considerado irritante pelos testes realizados sempre em 4 coelhos distintos.

O resultado mostrou que nenhuma das duas argilas são irritantes ao olho ou a derme dos coelhos estudados. A presença das argilas na formulação foi capaz de contornar os problemas referentes a irritabilidade do octil dimetil PABA, filtro este capaz de produzir uma irritação, assim como os demais desta classe. Dessa forma, podemos considerar que o efeito das argilas em reduzir reações alérgicas que ocorrem com sistemas fotoprotetores é uma das vantagens de associar bentonita com filtros químicos .

Tabela 38: Resultado do teste de irritabilidade ocular e cutânea

Cremes	Irritabilidade Ocular	Irritabilidade Cutânea
Octil Dimetil PABA	Não realizado *	positivo
Octil Dimetil PABA + Bent Na	negativo	negativo
Octil Dimetil PABA + Bent del	negativo	negativo
Mist. Fís. ODP + Bent Na	negativo	negativo
Mentil Antranilato + Bent Na	negativo	negativo

* O teste de irritabilidade ocular com Octil Dimetil PABA não foi realizado de forma a proteger o coelho a ser utilizado no ensaio, uma vez que o teste com a derme foi positivo.

4.6- Ensaio de dissolução do aciclovir

O gráfico 8 demonstra claramente que ocorreu um retardo na dissolução do aciclovir quando este foi intercalado com os dois tipos de bentonita. Quando o aciclovir foi intercalado com a bentonita delaminada apenas 2% do aciclovir contido na formulação foi liberado para o meio de dissolução. Ao passo que uma quantidade por volta de 70% é liberada na ausência de bentonita. A mistura física da bentonita delaminada com o aciclovir também retardou a liberação do ativo porém de forma menos eficiente que quando o ativo foi intercalado, chegando a 50% de aciclovir liberado ao fim da dissolução.

A intercalação do ativo com a bentonita sódica também retardou eficientemente a liberação do fármaco para o meio de dissolução. Porém, a mistura física do aciclovir com essa argila não alterou a quantidade final de aciclovir liberado para o meio de dissolução.

A bentonita delaminada se mostrou bastante eficaz em retardar a dissolução do ativo testado, o que se deve ao caráter lipofílico inerente desse material, podendo esta argila ser utilizada como uma nova matriz para liberação prolongada de fármacos, mostrando novamente outra vantagem deste tipo de carreador.

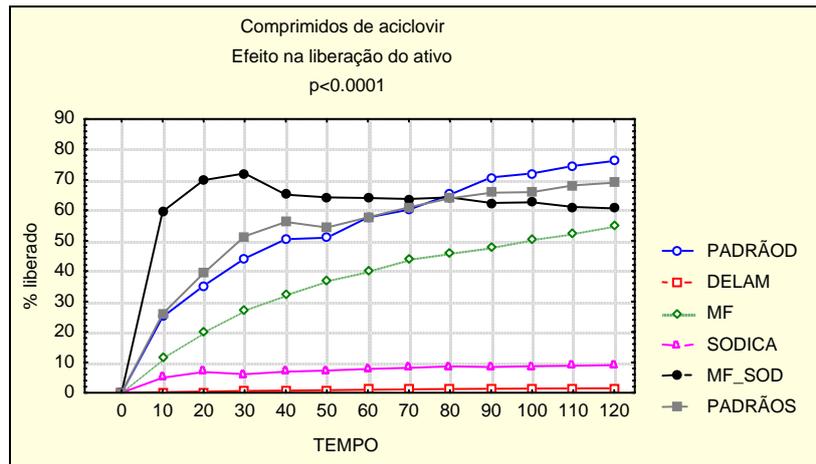


Gráfico 8: Efeito da bentonita sódica e delaminada na liberação do aciclovir

5- CONCLUSÃO:

Tanto a bentonita sódica como a delaminada demonstraram ter capacidade de interagir com diferentes moléculas, desde que essas tenham algumas propriedades específicas como por exemplo a capacidade de se protonarem em meio ácido.

Não foi observado aumento no valor do FPS nas formulações de cremes com moléculas fotoprotetoras que se intercalam entre as lamelas das argilas. Porém um aumento significativo foi observado quando a molécula fotoprotetora foi misturada fisicamente com a bentonita sódica. Tal fato se deve provavelmente a dificuldade de absorção que a molécula de filtro solar passa a ter quando dentro do espaço interlamelar.

A presença de argila nas formulações evitou a ocorrência de irritação, considerada clássica para os derivados de PABA. A irritação foi prevenida tanto nos cremes que apresentavam uma mistura física da argila com o filtro quanto nos cremes contendo a molécula de filtro dentro do espaço interlamelar das argilas.

As argilas também se mostraram efetivas quanto ao seu uso como retardante de dissolução do aciclovir, sendo neste caso a bentonita delaminada mais efetiva, o que é decorrente da sua característica lipofílica.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. AKELAH, AHMED. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, London, v. 34^A, n. 6, p. 263-286, 1984.
2. ALVAREZ, A. In: Singer, A., Galán, E. (Ed.). Palygorskite-sepiolite. Occurences, genesis and uses. Amsterdam : Elsevier, p. 253-287, 1984.
3. ALVAREZ-ROMÁN, R.; BARRÉ, G.; GUY, R. H.; FESSI, H. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 52, p. 191-195, 2001.
4. ANSELM, C. ET AL. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 242, n. 1-2, p. 207-211, 2002.
5. BAIRD, C. *Environmental Chemistry*. New York: Freeman, p. 98-102, 1995.
6. BARSHAD, I. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, v. 16, p. 176, 1952.
7. BERGAYA F. AND LAGALY G., *Applied Clay Science*. V. 19, p. 1-3, 2001.
8. Braile, M. C. *Eficiência e substantividade de preparações solares: avaliação do uso de dióxido de titânio e quitosano*. 2001. 117p. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001 .
9. BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n° 196/96. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 16 out. 1996.
10. BRITO, A. S. Manual de ensaios toxicológicos *In vivo*. Campinas, SP: Ed. UNICAMP, 1994. (Coleção Ciências Médicas).

11. BRINDLEY, G. W. AND HOFFMANN, R. W. Clays and Clay Minerals, v. 9, p. 546. 1962.
12. BROADBENT, J. K.; ET AL. Journal of Chromatography. , v. A 732, p. 101-110. 1996.
13. BROWNE, J. E.; ET AL. Journal of Pharmaceutical Science, v. 69, p. 811, 1980.
14. BUSENBERG, E.; CLEMENCY, C. V. Clays and Clays Minerals, v. 21, p. 213-215, 1973.
15. CAMAZANO, M. S.; ET AL. Journal of Pharmaceutical Science, v. 69, n. 10, p. 1142-1144, 1980.
16. CARTENSEN, J. T. ; SU, K. S. E. Journal of Pharmaceutical Science, v. 60, p. 733, 1971.
17. CORNEJO, J.; ET AL. Clays and Clay Mineral. v. 31, p. 109, 1983.
18. DAVIS, J. E. D. J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem. V. 24, p. 133-147, 1996.
19. DEFLANDRE, A.; LANG, G. Int. J. Invest. Dermatol. v. 113, p. 547-553, 1988.
20. DORIS, R. K. Journal of Chemical Education, v. 74, n. 1, p. 51-53, 1997.
21. DROMGOOLE, S. H.; MAIBACH, H. I. J. Am. Acad. Dermatol. v. 22, p. 1068-1078, 1990.
22. FARMER, V. C. London : Mineralogical Society, 1974. (Monograph, 4).
23. FELDKAMP, J. R.; WHITE, J. L. J. Colloid Interface Sci., v. 69, p. 97, 1979.

24. FORTEZA, M.; GALÁN, E.; CORNEJO, J. *Applied Clay Science*, v. 4, p. 437- 448, 1989.
25. GALÁN, E.; LISO, M. J.; FORTEZA, M. *Bol. Soc. Esp. Miner.*, v. 8, p. 369-378, 1985.
26. GIANNELIS E. In: Interrante, L. V. et al. *Materials chemistry: an emerging discipline*. Washington : American Chemical Society, 1995. p. 259-281.
27. GIESKING, J. E. *Soil Sci.*, v. 47, p. 1, 1939.
28. GREEN-KELLEY. R. *Trans. Faraday Soc.*, v. 51, p. 412, 1955.
29. HAYDEN, C. G.; ROBERTS, M. S.; BENSON, H. A. E. *Aust. N. Z. J. Med.*, v. 28. p. 639-646, 1998.
30. HERMOSÍN, M. C.; ET AL. *Journal of Pharmaceutical Science*, v. 70, p. 189-192, 1981.
31. HIRANO, S. *Chitin and Chitosan Science*, Nova York., 1988. p. 37.
32. HOYO, C. ; VICENTE, M. A.; RIVES, V., *Clay Minerals*, v. 36, p. 541-546, 2001.
33. ISAACS, N. S. *Physical Organic Chemistry*. New York : Wiley, 1987. p108-112.
34. KLEIN, K. *Cosmetics & Toiletries*, n. 107, p. 45-50, 1992.
35. KLINGELS, M.; ET AL. Henkel-Refrate, 1999. p. 35 .
36. KIM, B. H., ET AL. *Macromolecules*, v. 35, p. 1419-1423, 2002.
37. KNIGHT M., In: Meyers, R. A. *Encyclopedia of physical science and technology*. Orlando : Academic Press, 1987. v. 3, p. 274-284.

38. KORNMANN, X. 2001. Disponível em: http://www.mb.luth.se/a_mpp/mpp_staff/Xavier.Kornmann/introduction.pdf. Acesso em: 28/09/2003.
39. KOWALSKA, M., HÜLYA, G., COCKE, D. L. *Sci. Total Environ.*, v. 141, p. 223-240, 1994.
40. KOWALSKA M. W., ORTEGO J. D., JEZERSKI A., *Applied Clay Science*, v. 18, p. 233-243, 2001.
41. KRISTMUNDSDOTTIR, T., INGVARSDOLTIR, K., SAEMUNDSDOTTIR, G. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, v. 21, n. 13, p. 1591, 1995.
42. LEBARON P. C. ET AL., *Applied Clay Science*, v. 15, p. 11-29, 1999.
43. LEE, S. Y.; KIM, S. J. *Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects*. p. 1-7, 2002.
44. LOWE, J. N.; SHAATH, N. A.; PATHAK, M. A. *Sunscreens development, evaluation, and regulatory aspects*. 2. ed. New York : Marcel Dekker, 1997. p. 504-512
45. MACEWAN, D. M. C. *Nature*, v. 154, p. 577, 1944.
46. MANSUR, J. S.; ET AL. *An. Bras. Derm.*, v. 61, n. 4, p. 167-172, 1986.
47. MARTIN, E. W. ET AL. *Farmácia prática Remington*, 12. ed, p 777, 1965.
48. MARTIN, M. J. S.; ET AL *Journal of Pharmaceutical Pharmacology.*, v. 33, p. 408-410, 1981.
49. MC ATEE, J. L. *American Minerals.*, v. 44, p. 1230-1236, 1959.
50. MC GINIT, J., W., LACH, J. L. *Journal of Pharmaceutical Science.*, v. 66, n. 1, p. 63-66, 1978.

51. MC GINIT, J., W.; HARRIS, M. R. *Drug Dev. Indust. Pharm.*, v. 6, p. 35, 1980a.
52. MC GINIT, J., W.; HARRIS, M. R. *Drug Dev. Indust. Pharm.*, v. 6, p. 49, 1980b.
53. MIYAZAKI, S., ISHII, K., NADAI, T. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 29, n. 10, p. 3067, 1981.
54. MORTLAND, M. M.; MELLOR, J. L. *Soil Sci. Soc. Proc.*, v. 18, p. 363-364, 1954.
55. MOTOMATSU, M. ET AL., *Polymer*, v. 38, n. 1, p. 177-182, 1997.
56. MÜLLER, R. H.; ET AL. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 41, p. 62-69, 1995.
57. MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 54, Suppl. 1, p. S131-S155, 2002.
58. ANDREO FILHO, NEWTON. *Sistema de micro/nanoencapsulação de fármacos*. 2002. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002 .
59. PATHAK, M. A. *Skin Pharmacol.*, v. 4, p. 85-94, 1991.
60. PITTERMAN, W., HÖRNER, V.; WACHTER, R. *Henckel Referate*, v. 34, p. 59-65, 1998.
61. PITTET, G. H.; GIVAUDAN, S. A. *Drug Cosmetic Ind.*, v. 143, n. 3, p. 24, 1988.
62. PORUBCAN L. S.; ET AL. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 67, n. 8, p. 1081-1087, 1978.
63. PORUBCAN L. S.; ET AL. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 68, p. 358, 1979.
64. Rang H. P.; Dale M. M.; Ritter, J. M. *Farmacologia*. 4. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2001. p.72-77.

65. SANCHES MARTIN, M. J. J. *Pharmacy and Pharmacology*, v. 33, n. 6, p. 408-410, 1981.
66. SCALIA, S.; VILLANI, S.; CASOLARI, A.. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 51, p. 1367-1374, 1999.
67. SCALIA, S.; ET AL. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 30, p. 1181-1189, 2002.
68. SCHRADER, A.; ET AL. *Wachse-Journal*, v. 123, p. 503, 1997.
69. SHAATH, N. In: LOWE, N. J.; Shaatt, N. A. ; Pathak, M. A. *Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspects*. 2. ed. New York : Marcel Dekker, 1997. p. 3-33. (*Cosmetic Science and Technology* Series, v.15).
70. SOLOMONS, T. W. G. *Química orgânica*. 6. ed. Rio de Janeiro : LTC, 1996. 2 v.
71. STOKES, R.; DIFFEY, B. *Int. J. Cosmet. Sci.*, v. 21, p. 341-351, 1999.
72. THE HANDBOOK of pharmaceutical excipients. *American Pharmaceutical Association*, 1986. p. 51.
73. THENG, B. K. J. *The chemistry of clay-organic reactions*. London : Adam Hilger, 1974. p. 136-210.
74. TIRREL, D. A. *Polymer News*, v. 7, n. 3, p. 104-110, 1981.
75. USA. Department of Health, Education and Human Services, Food and Drug Administration. *Sunscreen drug products for over-the-counter human use*. Federal Register, v. 58, n. 90, p. 28194-28301, May, 1993.
76. VISERAS, C.; LOPEZ-GALINDO, A. *Applied Clay Science*, v. 14, p. 69-82, 1999.

77. WAI, K.; DEKAY, H. G.; BANKER, G. S. Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 55, n. 11, p. 1244-1248, 1966.
78. WAIK N.; BANKER, G. S.; DEKAY H. G. Pharmaceutical Science, v. 55, n. 11, p. 1244-1248, 1996.
79. WACHTER, R.; ET AL. Henchel Referate, , p. 32, 86-93, 1996.
80. WANG, CHENG-YI ET AL. Biomaterials, v. 23, p. 1981-1987, 2002.
81. WANG, Z.; PINNAVAIA, T. J. Chem. Mater., v. 10, p. 1820-1826, 1998.
82. WHITE, J. L.; HEM, S. L. Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev., v. 22, p. 665-671, 1983.
83. WILLIAMS, D. B.; CARTER, C. B. Transmission electron microscopy. New York : Plenum Press, 1996.
84. WISSING, S. A.; MÜLLER, R. Int. J. Cosm. Sci., v. 23, n. 4, p. 233-243, 2001.
85. WISSING, S. A.; MÜLLER, R. H. International Journal of Pharmaceutics, v. 242, p. 373-375, 2002a.
86. WISSING, S. A.; MÜLLER, R. H. Journal of Controlled Release, v. 81, p. 225-233, 2002b.
87. YOSHINO, T.; ET AL. STP Pharma Sciences, v. 6, n. 2, p. 122, 1996.