



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Desenvolvimento e Caracterização de Formulações Oraís de
Liberação Prolongada contendo Nanocompósitos de Silicatos
Lamelares de Rivastigmina para o Tratamento da Doença de
Alzheimer**

Arídio Mattos Junior

Rio de Janeiro
2010

ARIDIO MATTOS JUNIOR

Desenvolvimento e Caracterização de Formulações Orais de Liberação Prolongada Contendo Nanocompósitos de Silicatos Lamelares de Rivastigmina para o Tratamento da Doença de Alzheimer

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral

Rio de Janeiro

2010

M444d Mattos Junior, A.

Desenvolvimento e caracterização de formulações orais de liberação prolongada contendo nanocompósitos de silicatos lamelares de rivastigmina para o tratamento da doença de Alzheimer / Arídio Mattos Junior; orientador Lúcio Mendes Cabral. – Rio de Janeiro: UFRJ, 2010.

xx, 124f. : il. col. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2010.

Inclui bibliografia.

1. Rivastigmina. 2. Nanocompósitos. 3. Doença de Alzheimer. 4. Silicatos lamelares. 5. Formulações de liberação prolongada. I. Cabral, Lúcio Mendes. II. Título.

CDD 615.19

ARIDIO MATTOS JUNIOR

Desenvolvimento e Caracterização de Formulações Orais de Liberação Prolongada Contendo Nanocompósitos de Silicatos Lamelares de Rivastigmina para o Tratamento da Doença de Alzheimer

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador:

Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Marcelo de Pádula
Faculdade de Farmácia - UFRJ

Prof^a. Dr^a. Luiza Rosária Sousa Dias
Faculdade de Farmácia - UFF

Prof. Dr. Carlos Rangel Rodrigues
Faculdade de Farmácia - UFRJ

“A coisa mais indispensável a um
homem é reconhecer o uso que deve
fazer do próprio conhecimento”

Platão

Aos meus pais Arídio e Sandra,
e aos meus irmãos Alessandra, Jizele, Cátia e Thiago.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pela minha vida, pela minha saúde, minha família, meus amigos, meus estudos, pelas oportunidades de aprendizado e por todo o caminho percorrido até aqui.

Agradeço aos meus santos padroeiros **São Cosme e São Damião** por toda a Luz, proteção e bênçãos na minha vida.

Agradeço aos meus pais **Arídio e Sandra** pela maravilhosa criação, por todo o amor, atenção e carinho, pelas oportunidades de crescimento, pelos corações generosos e cheios de ternura. Vocês me ensinaram o significado de família, de união e, principalmente, de amor. Se hoje estou aqui, sou eternamente grato à vocês!

Agradeço também aos meus irmãos **Alessandra** (Alê), **Jizele** (Leleli), **Cátia** (Yuyu) e **Thiago** (Bizico) pela companhia, pelas alegrias, pelo amor e união. Amo muito vocês.

Agradeço ao meu orientador **Lúcio**, pelo aprendizado diário, pela oportunidade de amadurecimento profissional, apoio e confiança.

Agradeço a Professora **Ana Cláudia** por ter me apresentado ao Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica. Se não fosse por você, não teria conhecido pessoas tão especiais.

Agradeço a **Camila Dornelas**, minha primeira (des)orientadora no LabTIF, e também amiga, colega, companheira, professora, confidente, etc. Obrigado pelo carinho, amizade, força, ensinamentos, risadas e toda a confiança desde que fui seu estagiário. Nem preciso dizer que morro de saudades, neh!!!

Agradeço a todos os colegas do **LabTIF**, fundamentais na realização deste trabalho. **Alex, Carolzinha, Cide, Daniel, Flavinha, Giovanni, Jaque, Karlinha, Lidi, Lulú, Lula, Maísa, Maíra, Marcela, Michele, Patrícia, Thiago e Túlio**. Com vocês aprendi muito, principalmente sobre amizade, convivência e respeito.

Agradeço ao **LabCQ**, em especial a **Prof. Valéria, Dna. Maria, Eliane, Alice, Gisele, Juliana, Vinicius, Eduardo e Mayre**. Muito obrigado pelas dicas, sugestões, apoio, e também pela ajuda com o HPLC e com o infravermelho.

Agradeço ao **Professor Luís Maurício T. R. Lima**, ao **Luís Henrique e Adriana do Laboratório de anobiotecnologia farmacêutica** pelo suporte com o fluorímetro.

Agradeço ao **Laboratório Farmacêutico da Marinha** por abrir as portas para que eu fizesse as análises de DSC.

Agradeço a **Beth** do laboratório de Processos de separação com membranas e polímeros (PAM / COPPE) pela paciência, gentileza e todos os ensinamentos com o TGA.

Agradeço aos Professores da banca de acompanhamento **Gisela Maria Dellamora Ortiz e Carlos Rangel Rodrigues** por toda a ajuda, pelas dicas e puxões de orelha necessários.

Agradeço aos professores da banca de avaliação, que aceitaram participar da defesa desta dissertação.

Agradeço aos meus amigos da faculdade que sempre me incentivaram, entenderam minhas ausências, passaram junto comigo os momentos mais importantes, dramáticos, engraçados e bizarros também. Agradeço em especial a **Paulinha Veronezi, Lorena, Carol Castro, Marcele, Mari Benevides, Claudinha, Cris Rocha, Cristine e Vivian**.

Agradeço a **CAPES** pelo suporte financeiro imprescindível.

Agradeço a todas as pessoas que sempre me incentivaram, me deram forças, me ouviram, me acompanharam, brigaram comigo, me ajudaram e que, de alguma maneira, tornaram real este momento da minha vida.

RESUMO

MATTOS JUNIOR, Arídio. **Desenvolvimento e caracterização de formulações orais de liberação prolongada contendo nanocompósitos de silicatos lamelares de rivastigmina para o tratamento da doença de Alzheimer.** Rio de Janeiro, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

A Rivastigmina (RVT) é um fármaco bastante eficaz no tratamento da doença de Alzheimer, que tem como mecanismo de ação a inibição das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase. O fármaco possui tempo de meia-vida de eliminação bastante curto (em torno de 1,5 horas) e também apresenta efeitos adversos dose-dependentes. Os silicatos lamelares possuem ampla aplicação farmacêutica, em virtude das suas características estruturais, podendo ser utilizados como matrizes de liberação prolongada de fármacos, formando sistemas estáveis, de baixo custo de produção, e que possibilitam a redução da dose de fármaco administrada, redução dos efeitos adversos e a manutenção dos níveis ótimos do fármaco. O trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de formulações de liberação prolongada de rivastigmina através da utilização de nanocompósitos de silicatos lamelares como matrizes de liberação para o fármaco. Foram produzidos nanocompósitos de RVT com montmorilonita (MMT) e também com as argilas organofílicas Viscogel S4® (VS4), Viscogel S7® (VS7) e Viscogel B8® (VB8) em diferentes tempos reacionais e diferentes proporções de RVT nos materiais, para que os parâmetros de tempo reacional e capacidade de troca catiônica (CTC) dos silicatos lamelares fossem avaliados. Os nanocompósitos de RVT-MMT foram caracterizados em relação ao rendimento e também pela técnica de difração de raios-X (DRX), sendo possível evidenciar a intercalação do fármaco nos nanomateriais produzidos. O nanocompósito de RVT-MMT com CTC de 100 mEq RVT / 100 g MMT e tempo reacional de 30 minutos foi selecionado para caracterização através das técnicas de Infravermelho por Transformada de Fourier (IV-TF) e análise termogravimétrica (ATG), utilizadas como técnicas adequadas para confirmação da formação de nanocompósitos com o material produzido. Os nanocompósitos RVT e argilas organofílicas foram caracterizados em relação ao rendimento e pela técnica de DRX. Os nanocompósitos selecionados por possuírem as características consideradas ideais foram caracterizados por IV-TF e por calorimetria exploratória diferencial (DSC), utilizadas como técnicas confirmatórias da intercalação do fármaco nas organoargilas. Através das análises realizadas foi possível elucidar o mecanismo de intercalação da RVT nesses materiais. Foram obtidas três formulações orais contendo os nanocompósitos RVT-MMT caracterizados e uma formulação oral de liberação imediata de RVT. As formulações foram caracterizadas através do peso médio, volume aparente e foram avaliadas através dos perfis de dissolução. A formulação D apresentou o melhor perfil de liberação da RVT em sucos gástrico e entérico simulados, apresentando correlação com o modelo de cinética de liberação de Higuchi.

ABSTRACT

MATTOS JUNIOR, Arídio. **Desenvolvimento e caracterização de formulações orais de liberação prolongada contendo nanocompósitos de silicatos lamelares de rivastigmina para o tratamento da doença de Alzheimer.** Rio de Janeiro, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

Rivastigmine (RVT) is a highly effective drug in Alzheimer's disease (AD) treatment, whose mechanism of action is the inhibition of the enzymes acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. This drug has a relative short half-life time (about 1.5 hours) and shows dose-dependent adverse effects. The layered silicates have wide pharmaceutical application, because of their structural features and can be used as an extended release drug matrix to form stable systems, with low production costs, and allow the reduction of the dose of the administered drug, reduce the adverse effects and maintain optimum levels of the drug in the bloodstream. The aim of this study is to develop prolonged release formulations of RVT through the use of layered silicate nanocomposites as a drug release matrix. The nanocomposites were produced with montmorillonite (MMT) and also with the organoclays Viscogel S4® (VS4), Viscogel S7® (VS7) and Viscogel B8® (VB8) at different reaction times and different proportions of RVT in the materials, evaluating the parameters of reaction time and cation exchange capacity (CEC) of the layered silicates. The RVT-MMT nanocomposites were characterized by yield and also by the X-ray diffraction (XRD) technique, showing the intercalation of the drug in the nanomaterials produced. The RVT-MMT nanocomposites with CTC RVT 100 mEq / 100 g MMT and 30 minutes of reaction time was selected for characterization using the Fourier Transform Infrared (FT-IR) and thermogravimetric analysis (TGA) techniques, used to confirm the formation of nanocomposites with the produced nanomaterial. RVT-organoclay nanocomposites were characterized by yield and XRD. The nanocomposites that presented the ideal characteristics were characterized by FT-IR and differential scanning calorimetry (DSC), to confirm the intercalation of the drug in the organophilic clays. Thus, it was possible to elucidate the mechanism of RVT intercalation in these materials. Three oral formulations containing the RVT-MMT nanocomposites and an immediate release oral formulation of RVT were produced. The formulations were characterized by weight, apparent volume and were evaluated by the dissolution profiles. Formulation D showed the best release profile of RVT in gastric and enteric simulated juices, correlating with the Higuchi's model of release kinetics.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 01 Esperança de vida ao nascer por sexo nos anos de 1998 e 2008	21
Figura 02 Pirâmide etária absoluta para o ano de 2010	22
Figura 03 Pirâmide etária absoluta para o ano de 2050	22
Figura 04 Mapa da prevalência de demência familiar e esporádica nos países em desenvolvimento	24
Figura 05 Curso típico da doença de Alzheimer através do tempo, tendo como base o exame “Mini-Mental State Examination” (MMSE), sendo ainda evidenciados os principais aspectos clínicos de cada estágio da doença.	25
Figura 06 Ilustração de um cérebro com degeneração tecidual causada pela Doença de Alzheimer	26
Figura 07 Esquema da hipótese da cascata amiloidal para a doença de Alzheimer, evidenciando os principais eventos relacionados com a etiologia da doença	27
Figura 08 Esquema de um neurônio mostrando uma neurotransmissão alterada pela doença de Alzheimer	38
Figura 09 Modelo esquemático de uma neurotransmissão colinérgica, sendo evidenciadas as enzimas que participam do processo	39
Figura 10 Representação das estruturas químicas do donepezil (a) e da galantamina (b)	30
Figura 11 Representação da estrutura química do tartarato de rivastigmina	31
Figura 12 Representação esquemática de diferentes materiais em escala nanométrica utilizados como sistemas de liberação modificada de fármacos	32
Figura 13 Representação esquemática da montmorilonita	36
Figura 14 Obtenção de uma argila organofílica a partir da esmectita sódica e de sal quaternário de amônio	37
Figura 15 Esquema ilustrativo da preparação dos nanocompósitos	46
Figura 16 Diagrama de Jablonski	54

Figura 17	Curva de calibração da RVT utilizando água destilada como solvente	58
Figura 18	Curva de calibração da RVT em metanol – água (95:5)	59
Figura 19	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-MMT com capacidade de troca catiônica de 60 mEq RVT / 100 g MMT.	62
Figura 20	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-MMT com capacidade de troca catiônica de 100 mEq RVT / 100 g MMT.	63
Figura 21	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-MMT com capacidade de troca catiônica de 120 mEq RVT / 100 g MMT.	63
Figura 22	Espectros de IV-TF da RVT, MMT, mistura física (114 mg RVT / 1 g material) e do nanocompósito (100 mEq RVT / 100 g MMT – 30 minutos).	65
Figura 23	Curva de decomposição térmica da MMT	67
Figura 24	Curva de decomposição térmica da RVT	68
Figura 25	Curva de decomposição térmica do nanocompósito selecionado	68
Figura 26	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS4 com capacidade de troca catiônica de 60 mEq RVT / 100 g VS4	71
Figura 27	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS4 com capacidade de troca catiônica de 100 mEq RVT / 100 g VS4	72
Figura 28	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS4 com capacidade de troca catiônica de 120 mEq RVT / 100 g VS4	72
Figura 29	Espectros de IV-TF da RVT, VS4 e dos nanocompósitos selecionados	74
Figura 30	Curvas de DSC da RVT, VS4, da mistura física referente a CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS4 e do nanocompósito com CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS4 e tempo reacional de 24 horas	76
Figura 31	Curvas de DSC da RVT, VS4, da mistura física referente a CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS4 e do nanocompósito com CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS4 e tempo reacional de 30 minutos	77

Figura 32	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS7 com capacidade de troca catiônica de 60 mEq RVT / 100 g VS7	80
Figura 33	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS7 com capacidade de troca catiônica de 100 mEq RVT / 100 g VS7	81
Figura 34	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS7 com capacidade de troca catiônica de 120 mEq RVT / 100 g VS7	81
Figura 35	Espectros de IV-TF da argila organofílica VS7 e dos nanocompósitos RVT-VS7 selecionados	83
Figura 36	Curvas de DSC da organoargila VS7, da mistura física referente a CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS7 e do nanocompósito com CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS7 e tempo reacional de 30 minutos	85
Figura 37	Curvas de DSC da organoargila VS7, da mistura física referente a CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS7 e do nanocompósito com CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS7 e tempo reacional de 72 horas	86
Figura 38	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VB8 com capacidade de troca catiônica de 60 mEq RVT / 100 g VB8	89
Figura 39	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VB8 com capacidade de troca catiônica de 100 mEq RVT / 100 g VB8	89
Figura 40	Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VB8 com capacidade de troca catiônica de 120 mEq RVT / 100 g VB8	90
Figura 41	Espectros de IV-TF da organoargila VB8 e dos nanocompósitos RVT-VB8 selecionados	91
Figura 42	Curvas de DSC da argila organoargila VB8, da mistura física referente a CTC de 120 mEq RVT / 100 g VB8 e dos nanocompósito com CTC de 120 mEq RVT / 100 g VB8 e tempos reacionais de 1 hora e 48 horas	93
Figura 43	Espectros de fluorescência da RVT no meio de SGS	96
Figura 44	Curva de calibração da RVT em SGS	97
Figura 45	Curva de calibração da RVT em SES	97
Figura 46	Perfil de liberação da formulação A de liberação imediata de RVT em meio de SGS	100

Figura 47	Perfil de liberação da formulação B de nanocompósitos de RVT-MMT em meio de SGS	103
Figura 48	Estágios do processo de erosão de matriz hidrossolúvel de liberação de fármacos	105
Figura 49	Perfil de liberação da formulação C de nanocompósitos de RVT-MMT em meio de SGS	106
Figura 50	Perfil de liberação em meio de SGS da formulação D de nanocompósitos de RVT-MMT	108
Figura 51	Perfil de dissolução em meio de SES da formulação D contendo nanocompósitos RVT-MMT	110

LISTA DE TABELAS E QUADROS

		Página
Quadro 01	Principais grupos de argilominerais com importância industrial	37
Quadro 02	Exemplos de sais quaternários de amônio utilizados na preparação de argilas organofílicas e suas respectivas fórmulas químicas moleculares	40
Tabela 01	Resultados de rendimento, proporção de RVT no nanocompósito (mg/g), espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar obtidos para os nanocompósitos RVT-MMT	61
Tabela 02	Resultados de rendimento, proporção de RVT no nanocompósito (mg/g), espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar obtidos para os nanocompósitos RVT-VS4	70
Tabela 03	Resultados de rendimento, proporção de RVT no nanocompósito (mg/g), espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar obtidos para os nanocompósitos RVT-VS7	79
Tabela 04	Resultados de rendimento, proporção de RVT no nanocompósito (mg/g), espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar obtidos para os nanocompósitos RVT-VB8	88
Tabela 05	Formulação A obtida para as cápsulas de liberação imediata de RVT	99
Tabela 06	Dados de liberação da formulação A de liberação imediata de RVT em meio de SGS	99
Tabela 07	Formulação E de liberação imediata de RVT	101
Tabela 08	Formulação B obtida para as cápsulas contendo nanocompósitos de RVT-MMT	102
Tabela 09	Dados de liberação da formulação B contendo nanocompósitos RVT-MMT em meio de SGS	103
Tabela 10	Formulação C contendo nanocompósitos RVT-MMT	105
Tabela 11	Dados de liberação da formulação C contendo nanocompósitos RVT-MMT em meio de SGS	106
Tabela 12	Formulação D contendo nanocompósitos RVT-MMT	107

Tabela 13	Dados de liberação da formulação D contendo nanocompósitos RVT-MMT em meio de SGS	108
Tabela 14	Dados de liberação da formulação D contendo nanocompósitos RVT-MMT em meio de SES	109
Tabela 15	Dissolução da Formulação D nos tempos de 12, 16 e 20 horas	110
Tabela 16	Cinéticas de liberação para a formulação 03 nos meios de SGS e SES	111

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
ATG	Análise termogravimétrica
BuChE	Butirilcolinesterase
ChAT	Colina acetiltransferase
CTC	Capacidade de troca catiônica
DA	Doença de Alzheimer
DRX	Difração de raios-x
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL	Interleucina
IV-TF	Infravermelho por Transformada de Fourier
MEG	Monoestearato de glicerila
MMSE	Exame do estado mini-mental (do inglês <i>Mini-Mental State Examination</i>)
MMT	Montmorilonita
NMDA	N-metil D-aspartato
PPA	Proteína precursora amilóide
RVT	Rivastigmina
SES	Suco entérico simulado
SGS	Suco gástrico simulado
VB8	Viscogel B8 [®]
VS4	Viscogel S4 [®]
VS7	Viscogel S7 [®]

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	21
1.1 ENVELHECIMENTO POPULACIONAL	21
1.2 A DOENÇA DE ALZHEIMER	23
1.2.1 Aspectos Clínicos	24
1.2.2 Características Histológicas	25
1.2.3 Etiologia da Doença	26
1.2.4 Tratamento	28
1.3 NANOTECNOLOGIA NA LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS	32
1.3.1 Nanocompósitos de Silicatos Lamelares	33
1.3.1.1 Técnicas de caracterização de nanocompósitos	38
1.3.1.1.1 Difração de Raios-x	38
1.3.1.1.2 Infravermelho por transformada de Fourier	39
1.3.1.1.3 Análise termogravimétrica	39
1.3.1.1.4 Calorimetria exploratória diferencial	40
2. OBJETIVOS	42
2.1 OBJETIVO GERAL	42
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
3. MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1 MATERIAL	43
3.1.1 Insumos e Reagentes	43
3.1.2 Equipamentos	43
3.1.3 Materiais acessórios	44
3.2 MÉTODOS	44
3.2.1 PREPARAÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO DE RVT	44
3.2.1.1 Curva de calibração de RVT em água	44
3.2.1.2 Curva de calibração de RVT em metanol – água	44
(95:5)	
3.2.1.3 Curva de calibração de RVT em meio de suco	45
gástrico simulado	

3.2.1.4 Curva de calibração de RVT em meio de suco entérico simulado	45
3.2.2 PREPARAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS	45
3.2.2.1 Nanocompósitos RVT - MMT	45
3.2.2.2 Nanocompósitos RVT – argilas organofílicas	46
3.2.3 CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS	47
3.2.3.1 Difração de Raios-X (DRX)	47
3.2.3.2 Infravermelho por Transformada de Fourier (IV-TF)	48
3.2.3.3 Análise termogravimétrica (TGA)	48
3.2.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial	48
3.2.4 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES ORAIS	49
3.2.4.1 Preparação da formulação de liberação imediata de RVT	49
3.2.4.2 Preparação das formulações de liberação prolongada utilizando nanocompósitos de RVT-MMT	49
3.2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS DE RVT	51
3.2.5.1 Peso médio	51
3.2.5.2 Volume aparente	51
3.2.5.3 Dissolução	52
3.2.5.3.1 Dissolução em suco gástrico simulado	52
3.2.5.3.2 Dissolução em suco entérico simulado	53
3.2.5.3.3 Quantificação do fármaco por espectrofotometria de fluorescência	53
3.2.5.4 Doseamento	55
3.2.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	56
3.2.7 AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE LIBERAÇÃO	56
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.1 PREPARAÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO DE RVT	58
4.1.1 Curva de calibração de RVT em água	58
4.1.2 Curva de calibração de RVT em metanol – água (95:5)	59
4.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS RVT-MMT	60

4.2.1	Rendimento	60
4.2.2	Difração de Raios-X	62
4.2.3	Infravermelho por Transformada de Fourier	64
4.2.4	Análise Termogravimétrica	67
4.4	PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS	69
	NANOCOMPÓSITOS RVT-VS4	
4.3.1	Rendimento	69
4.3.2	Difração de Raios-X	71
4.3.3	Infravermelho por Transformada de Fourier	73
4.3.4	Calorimetria exploratória diferencial	75
4.4	PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS	78
	NANOCOMPÓSITOS RVT-VS7	
4.4.1	Rendimento	79
4.4.2	Difração de Raios-X	80
4.4.3	Infravermelho por Transformada de Fourier	82
4.4.4	Calorimetria exploratória diferencial	84
4.5	PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS	87
	NANOCOMPÓSITOS RVT-VB8	
4.5.1	Rendimento	87
4.5.2	Difração de Raios-X	88
4.5.3	Infravermelho por Transformada de Fourier	91
4.5.4	Calorimetria exploratória diferencial	92
4.6	ESTUDO MECANÍSTICO DE INTERCALAÇÃO DA RVT NAS	94
	ARGILAS ORGANOFÍLICAS	
4.7	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES ORAIS	95
4.7.1	Linearidade do método de quantificação por espectrofotometria de fluorescência	95
4.7.2	Preparação e caracterização da formulação de liberação imediate de RVT	98
4.7.3	Preparação e caracterização das formulações de liberação prolongada de nanocompósitos RVT-MMT	102
4.8	CINÉTICA DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA FORMULAÇÃO	111

5. CONCLUSÕES	113
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	113
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115

1. INTRODUÇÃO

1.1 ENVELHECIMENTO POPULACIONAL

A população mundial vem passando por uma fase de envelhecimento, decorrente dos avanços da medicina e das melhorias nas condições gerais de vida. De acordo com estudo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009), a esperança de vida ao nascer para ambos os sexos no Brasil aumentou de 69,66 anos em 1998 para 72,86 anos em 2008, ou seja, no decorrer de 10 anos, a esperança de vida ao nascer aumentou 3,2 anos (Figura 1).

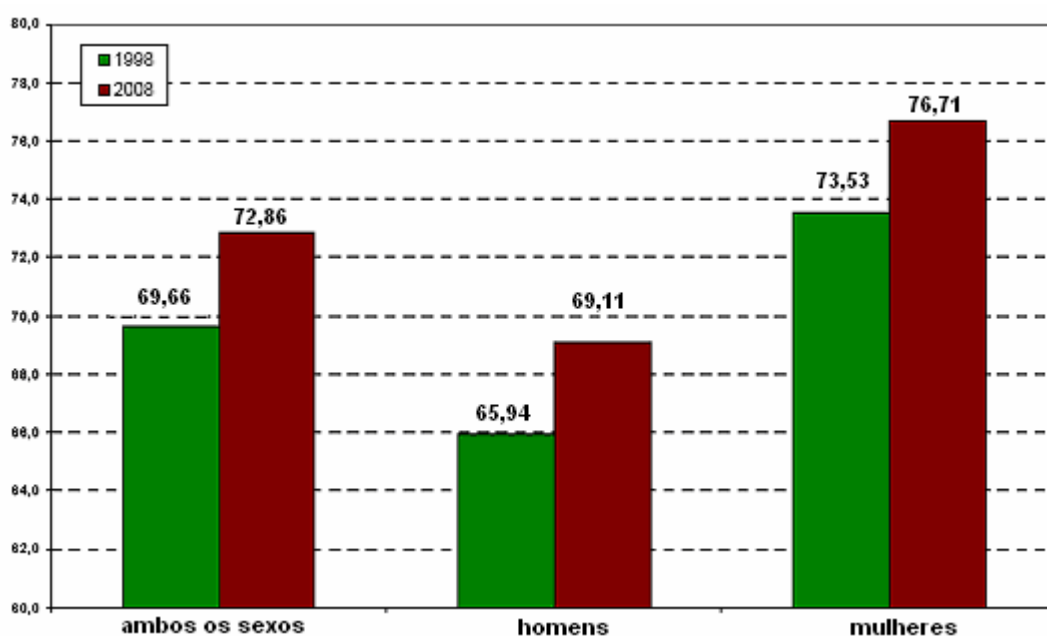


Figura 1: Esperança de vida ao nascer por sexo nos anos de 1998 e 2008. Extraído de IBGE, 2009.

Essa fase de envelhecimento contínuo pode ser analisada através da alteração nos perfis demográficos das pirâmides etárias absolutas esperadas para os anos de 2010 (Figura 2) e 2050 (Figura 3), onde se observa um aumento da densidade demográfica na população acima de 60 anos com o decorrer dos anos (IBGE, 2009).

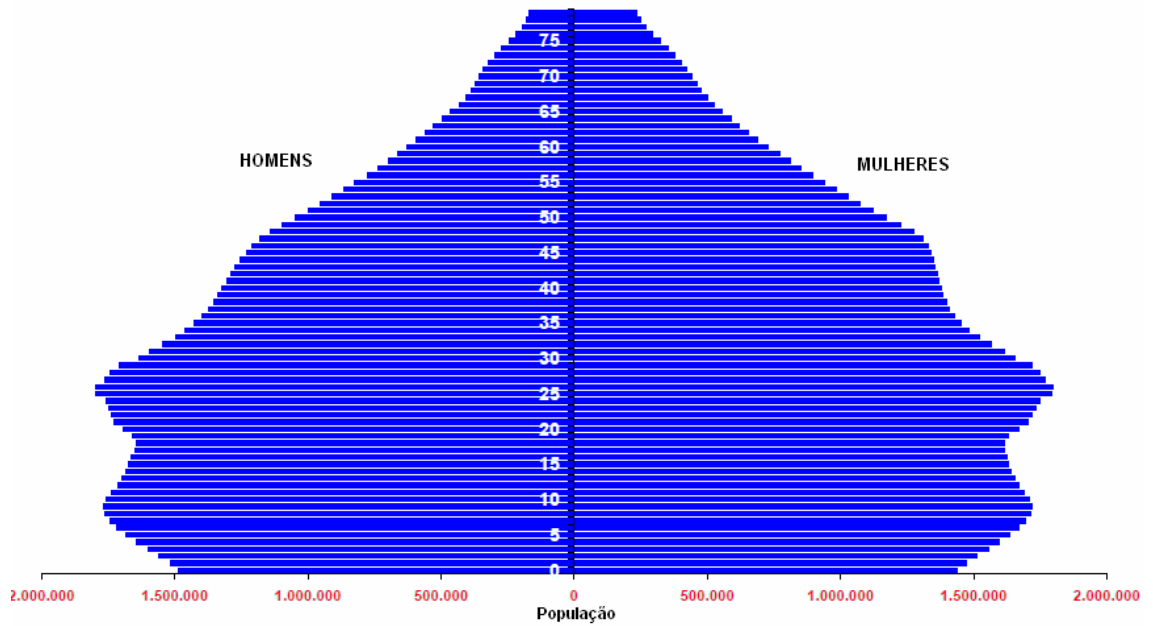


Figura 2: Pirâmide etária absoluta para o ano de 2010. O lado esquerdo representa a população masculina e o lado direito representa a população feminina. Adaptado de IBGE, 2009.

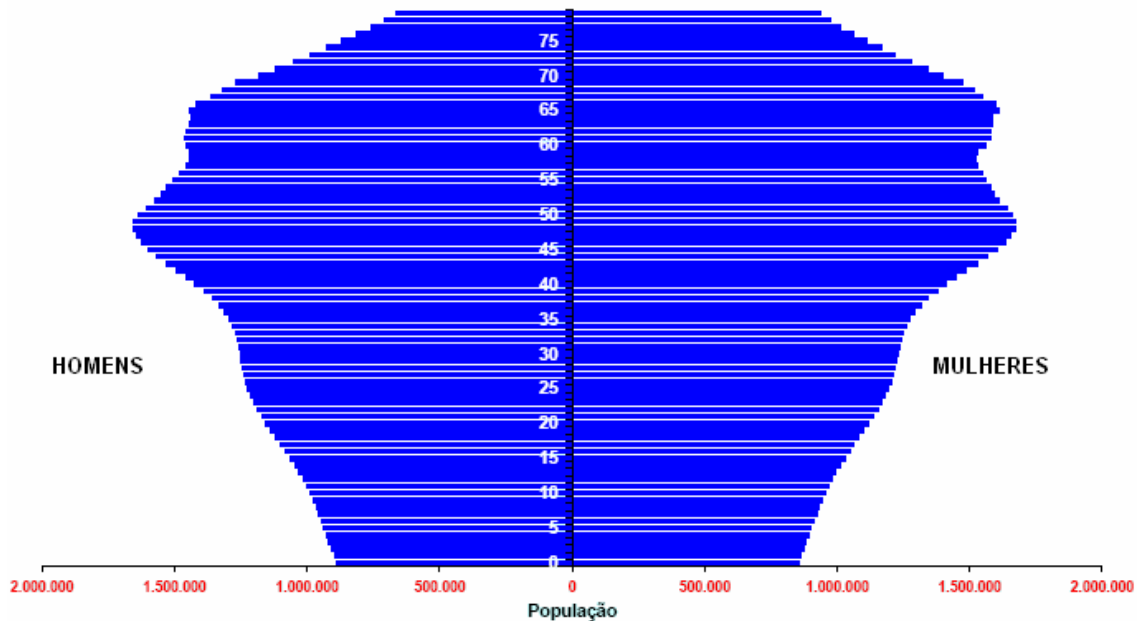


Figura 3: Pirâmide etária absoluta para o ano de 2050. O lado esquerdo representa a população masculina e o lado direito representa a população feminina. Adaptado de IBGE, 2009.

Para o ano de 2050 é esperada uma expectativa de vida média de 81,29 anos, sendo a população idosa representante de 22,71% da população total do Brasil (IBGE, 2009).

Essa transição no perfil demográfico da população traz várias implicações, não somente nos campos social e econômico do país, mas no que diz respeito à saúde pública (IBGE, 2009), pois o envelhecimento populacional gera uma série de transtornos relacionados à idade, entre os quais podem ser citados o aumento da incidência das neoplasias, osteoporose, doenças coronarianas e também das doenças conhecidas como demências. (APRAHAMIAN MARTINELLI & YASSUDA, 2009).

1.2 A DOENÇA DE ALZHEIMER

A palavra demência é originada do latim (*dementia*) e significa, genericamente, qualquer deterioração mental. As demências são consideradas síndromes e são causadas geralmente por algum tipo de trauma vascular cerebral ou algum processo degenerativo e causam diversos transtornos mentais, físicos e psicológicos aos seus portadores (KORCZIN & HALPERIN, 2009). Essas síndromes são caracterizadas pela deterioração da memória e deficiência na cognição, influenciando diretamente na vida do indivíduo, pois afetam principalmente e diretamente os aspectos funcionais, ocupacionais, sociais e educacionais do indivíduo (AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION, 1994; APRAHAMIAN, MARTINELLI & YASSUDA, 2009).

Existem diversos fatores de risco associados à demência, como por exemplo, a idade avançada, dietas com alta quantidade de gorduras saturadas e colesterol, fumo, baixo grau de escolaridade, ansiedade, depressão, doenças coronarianas, derrame, traumas cerebrais, hipertensão e doenças inflamatórias (KORCZIN & HALPERIN, 2009). As formas mais frequentes de demência são a demência cerebrovascular, demência fronto-temporal e a Doença de Alzheimer (CARAMELLI & BARBOSA, 2002).

A Doença de Alzheimer (DA) é uma das principais manifestações de demência, descrita inicialmente em 1907 por Alois Alzheimer, um neuropatologista alemão, sendo o nome da doença proposto em 1910 em sua homenagem (WOODRUFF-PAK, 1997)

O Brasil está inserido numa área de alta prevalência (maior do que 5,0%) de demência (Figura 4), apresentando valor numérico de 5,3% e apresentando prevalência para Doença de Alzheimer de 2,7% (KALARIA et al., 2008).

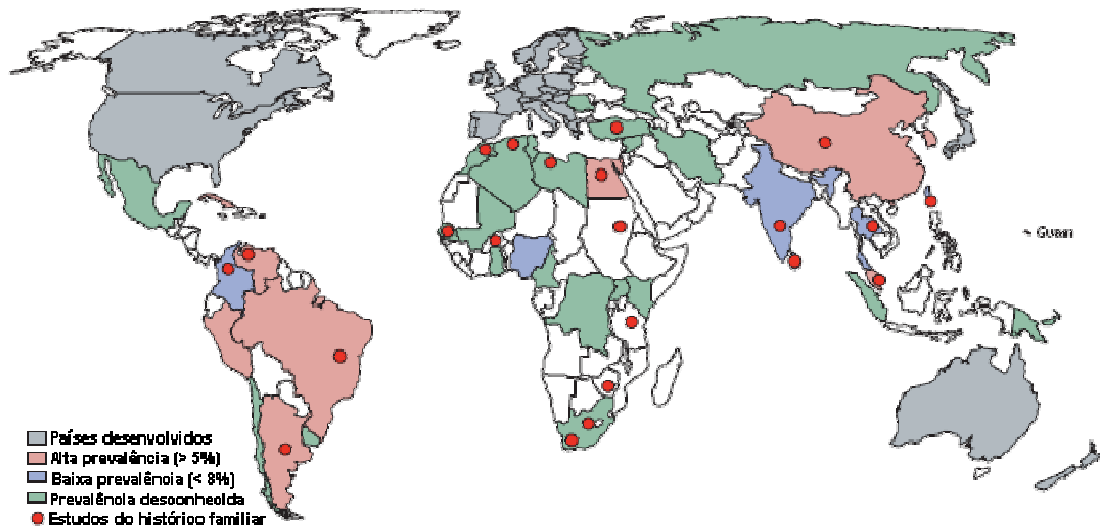


Figura 4: Mapa da prevalência de demência familiar e esporádica nos países em desenvolvimento (Adaptado de KALARIA et al., 2008).

A DA é clinicamente caracterizada por um declínio cognitivo associado ao comprometimento das atividades diárias, e ainda distúrbios comportamentais de ordem psicológica e motora, que resultam em deficiência progressiva e incapacitação (ZHAO & TANG, 2002; SCARPINI, SCHELTENS & FELDMAN, 2003).

1.2.1 Aspectos Clínicos

Dentre os aspectos clínicos observados (Figura 5), estão a perda de memória recente e falhas na linguagem no primeiro estágio da doença, perda da capacidade da resolução de problemas e execução de atividades cotidianas, manuseio de ferramentas e objetos e também deterioração das funções cognitivas. Nos estágios mais avançados da doença observa-se perda da vigília, da autonomia, da independência e da lucidez (LINDEBOOM & WEINSTEIN, 2004).

Além desses sintomas, são também observados distúrbios comportamentais, como agressividade, alucinações, irritabilidade, hiperatividade, transtornos depressivos, apatia, perda de peso, insônia e dificuldade de concentração (WRAGG & JESTE, 1989; FORLENZA, 2000).

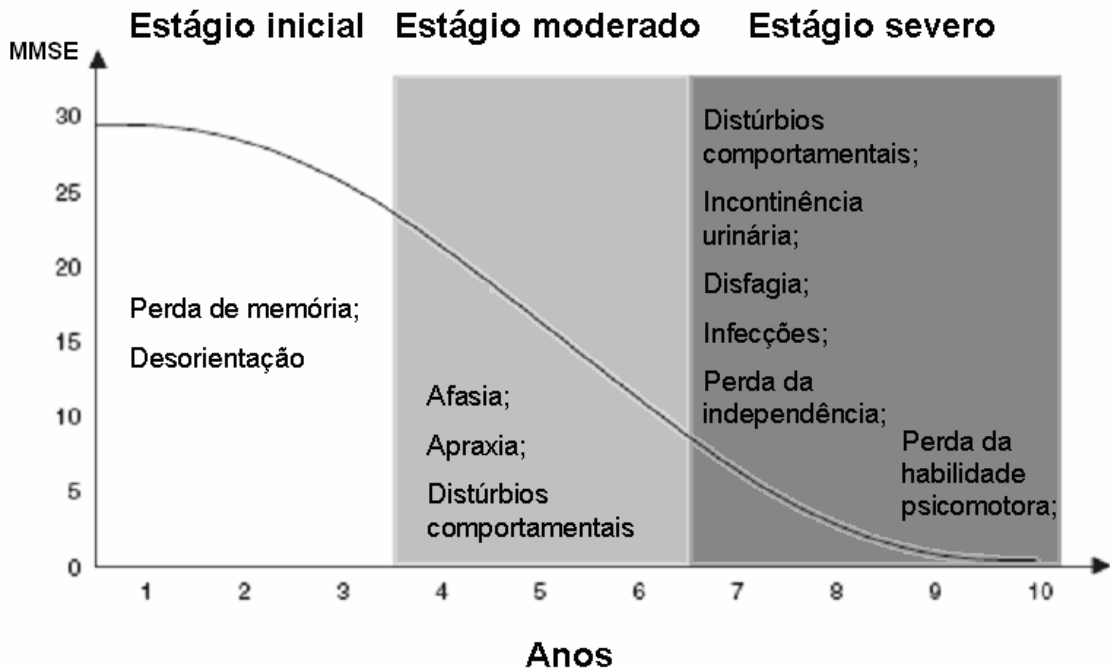


Figura 5: Curso típico da doença de Alzheimer através do tempo, tendo como base o exame “Mini-Mental State Examination” (MMSE), sendo ainda evidenciados os principais aspectos clínicos de cada estágio da doença. Adaptado de VOISIN & VELLAS, 2009.

1.2.2 Características histológicas

A DA é caracterizada histologicamente e neuropatologicamente pelo aparecimento de placas neuríticas senis, que são formadas por dendritos e axônios em degeneração com ativação de astrócitos e células da glia, pela presença de emaranhados neurofibrilares provenientes do acúmulo de filamentos da proteína *Tau*, pela morte neuronal e perda sináptica (SCARPINI, SHELTONS & FELDMAN, 2003; HAMDAN, 2008).

As áreas do cérebro mais afetadas (Figura 6) são as responsáveis pela cognição e memória, incluindo os lobos parietal e temporal corticais, além de afetar também o córtex frontal, o hipocampo, o giro cingulado e certas regiões subcorticais (CHAN, CHIEN & LIN, 2008; HAMDAN, 2008).

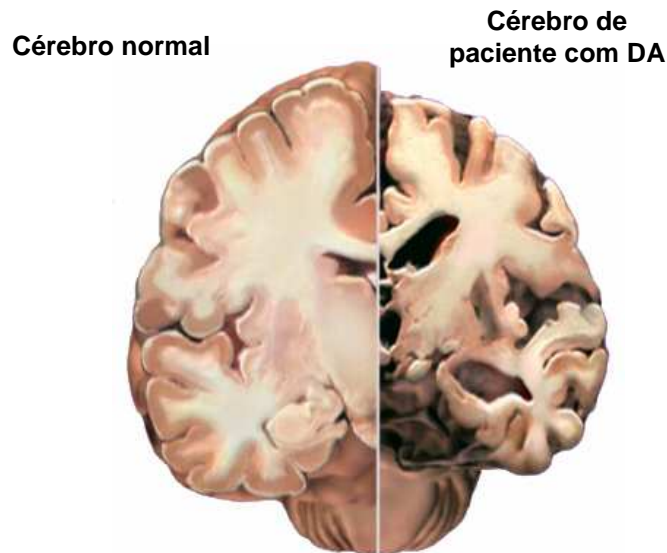


Figura 6: Ilustração de um cérebro com degeneração tecidual causada pela Doença de Alzheimer. Extraído de <http://catalog.nucleusinc.com/imagescooked/27634W.jpg>.

Os níveis de determinados neurotransmissores encontram-se reduzidos, como por exemplo a acetilcolina, noradrenalina, serotonina e somatostatina, enquanto os níveis de glutamato encontram-se geralmente elevados (CHAN, CHIEN & LIN, 2008).

1.2.3 Etiologia da Doença

Diversas teorias foram propostas para tentar explicar a etiologia da DA baseadas nos marcadores da doença.

De acordo com a hipótese clássica da cascata amiloidal (Figura 7), que é uma das teorias mais difundidas sobre a fisiopatologia da DA, a neurodegeneração é originada da clivagem proteolítica da proteína precursora amilóide (PPA), que origina

produção de substância β -amilóide. A produção exacerbada de substância β -amilóide gera deposição e agregação, com conseqüente formação das placas senis, gerando stress oxidativo, neuroinflamação e destruição neuronal (HARDY & SELKOE, 2002, VAN MARUM, 2008).

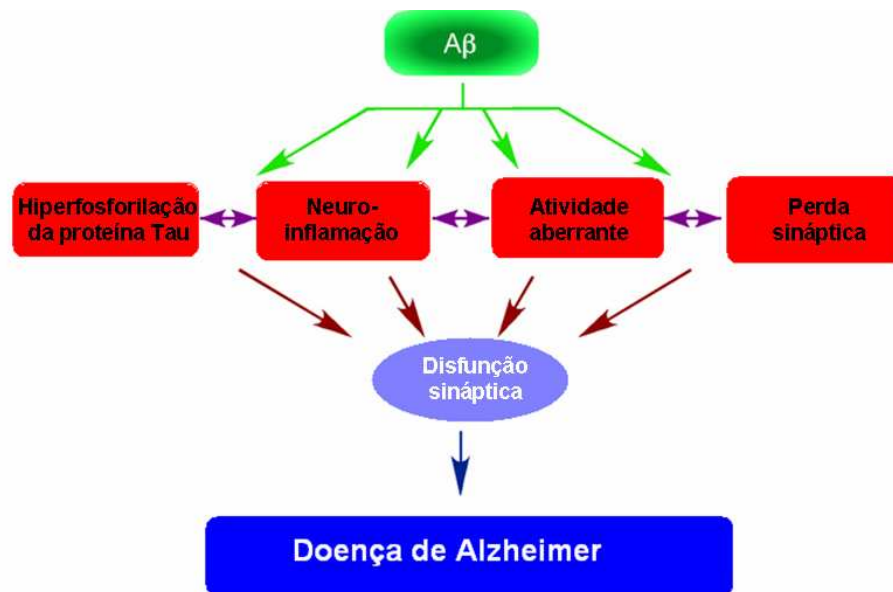


Figura 7: Esquema da hipótese da cascata amiloidal para a doença de Alzheimer, evidenciando os principais eventos relacionados com a etiologia da doença. (Adaptado de PIMPLIKAR, 2009).

Apesar de possuir mecanismo ainda pouco estudado, a hipótese da neuroinflamação é baseada na alta produção de citocinas proinflamatórias (interleucina (IL)-1 β , IL-6, IL-12, interferon- γ , fator de necrose tumoral α) presentes no sangue de pacientes com DA (CHAN, CHIEN & LIN, 2008).

De acordo com a teoria colinérgica, a DA é causada por uma deficiência de enzimas colinérgicas, principalmente acetilcolinesterase (AChE) e colina acetiltransferase (ChAT). Essa deficiência enzimática ocasiona uma redução nos níveis cerebrais de acetilcolina (ACh), o que levaria aos aparecimento dos sintomas comportamentais, funcionais e cognitivos observados nos pacientes (CHAN, CHIEN & LIN, 2008).

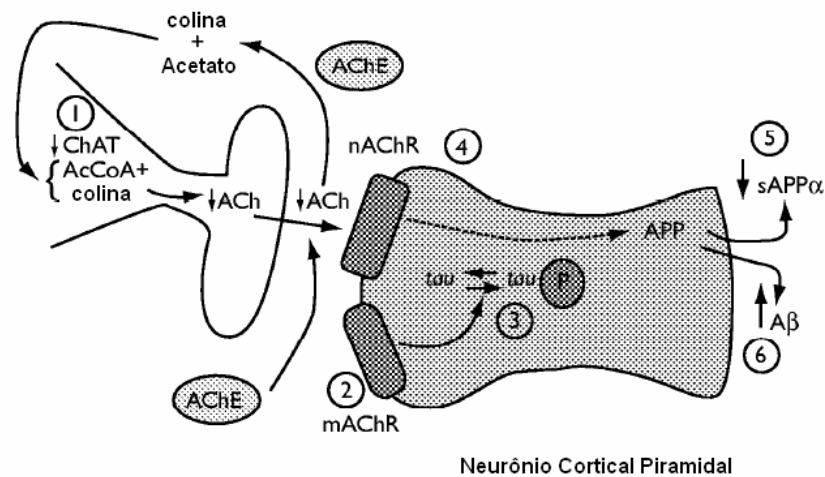


Figura 8: Esquema de um neurônio mostrando uma neurotransmissão alterada pela doença de Alzheimer. Adaptado de WILLIAMS, NAZARIANS & GILL, 2003.

1.2.4 Tratamento

A terapia para a DA ainda não é totalmente eficiente, apesar dos esforços na busca por formas efetivas de tratamento (SERENIKI & VITAL, 2008). Isso ocorre porque a patogênese da DA sugere que os sintomas se tornam aparentes somente alguns anos ou décadas após o início do processo da doença (ALLAN *et al.*, 2010).

Alguns estudos mostraram novas abordagens terapêuticas para a DA de acordo com as hipóteses patológicas evidenciadas, e dentre essas novas formas de terapia estão incluídas a utilização de inibidores de secretase, vacinação com peptídeo β -amilóide, agentes antiinflamatórios e quelantes de metais (SCARPINI, SHELTENS & FELDMAN, 2003), além de inibidores de agregação de proteína β -amilóide, estatinas e inibidores de receptores N-metil D-aspartato (NMDA) (VAN MARUM, 2008; CREED & MILGRAM, 2010).

Os inibidores de colinesterase são os fármacos mais utilizados no tratamento da DA em virtude da melhora observada nos sintomas comportamentais, funcionais e cognitivos da doença, sendo considerados fármacos de escolha para o tratamento das formas leve a moderada da doença (SCARPINI, SHELTENS & FELDMAN,

2003). Eles atuam por reduzir a degradação da ACh nas fendas sinápticas, aumentando a capacidade de estimular receptores nicotínicos e muscarínicos cerebrais, melhorando assim a neurotransmissão colinérgica (Figura 9) (SCARPINI, SHELTEMS & FELDMAN, 2003).

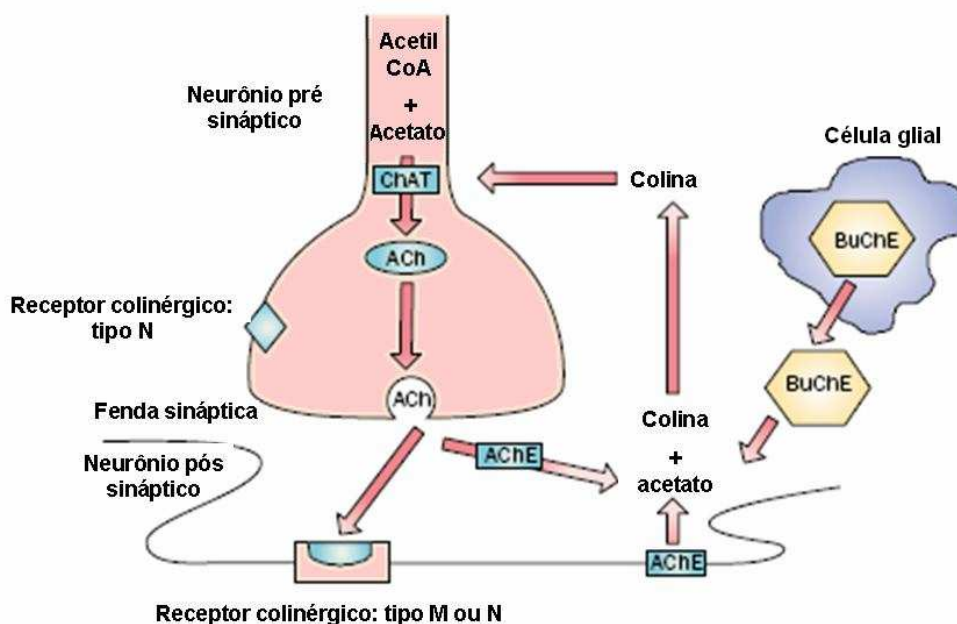


Figura 9: Modelo esquemático de uma neurotransmissão colinérgica, sendo evidenciadas as enzimas que participam do processo. (Adaptado de SCARPINI, SCHELTEMS & FELDMAN, 2003)

De acordo com a portaria da secretaria de Atenção a Saúde nº 843 de 06 de novembro de 2002 que aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para a Doença de Alzheimer, os fármacos prescritos para o tratamento da doença no Brasil são a Galantamina, com dose inicial de 5-8 mg ao dia, podendo a dose ser aumentada gradualmente até 24-25 mg ao dia; o Donepezil, com dose inicial de 5,0 mg, podendo a dose aumentar para 10,0 mg ao dia, se a dose de 5,0 mg não obtiver resposta; e a Rivastigmina, com dose inicial de 1,5 mg duas vezes ao dia, podendo a dose ser aumentada até 6mg duas vezes ao dia.

O donepezil (Figura 10a) é um fármaco derivado das piperidinas que possui elevada seletividade para inibição da AChE e é considerado inibidor reversível e não-competitivo da enzima. Dentre os aspectos farmacocinéticos descritos, o fármaco possui extensa ligação a proteínas plasmáticas (em torno de 96%), elevado

tempo de meia-vida (tempo estimado de 70 horas), além de sofrer extenso metabolismo de primeira passagem no fígado (SCARPINI, SCHELTENS & FELDMAN, 2003).

A galantamina (Figura 10b) é um fármaco da classe dos alcalóides fenantrênicos que possui capacidade de modulação alostérica do receptor nicotínico em um local adicional ao sítio de ACh da enzima, melhorando desse modo a neurotransmissão colinérgica (GROSSBERG, 2003). O fármaco possui baixa ligação a proteínas plasmáticas (em torno de 18% de ligação), sofre metabolização pelo sistema microsomal hepático e possui tempo de meia-vida de 6 horas (SCARPINI, SCHELTENS & FELDMAN, 2003).

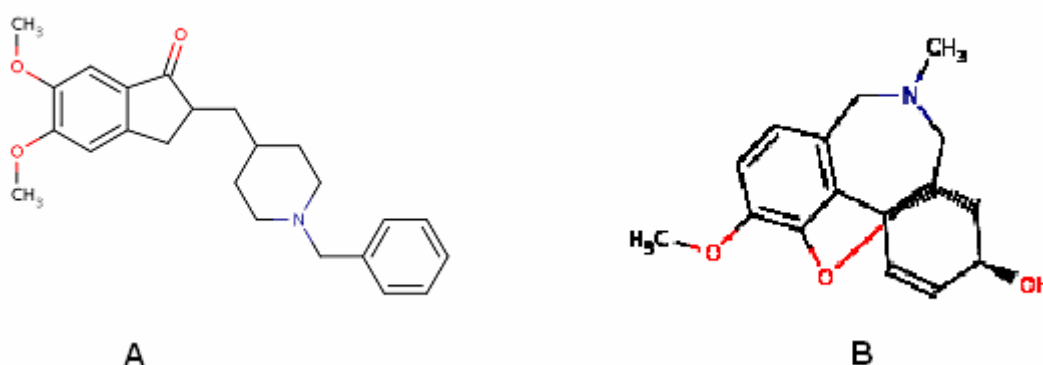


Figura 10: Representação das estruturas químicas do donepezil (A) e da galantamina (B). Extraído de <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00843>. Acesso em 05 de agosto de 2010.

A Rivastigmina (RVT) (Figura 11) é um fármaco da classe dos fenilcarbamatos que inibe tanto a AChE quanto a butirilcolinesterase (BuChE) reversivelmente, apresentando seletividade pelas isoformas do sistema nervoso central, devido à facilidade de transpor a barreira hematoencefálica, aumentando assim a eficácia na manutenção dos níveis de acetilcolina cerebrais (GROSSBERG, 2003). Durante o curso da doença, a atividade da BuChE encontra-se exacerbada, pelo fato de estar associada às células gliais, que estão em constante multiplicação no decorrer da doença (SCARPINI, SCHELTENS & FELDMAN, 2003). A presença de uma alta

quantidade de BuChE em algumas regiões do cérebro, como hipocampo, hipófise e tálamo sugere que a inibição de ambas as enzimas tem um papel importante no tratamento da DA (FINKEL, 2004).

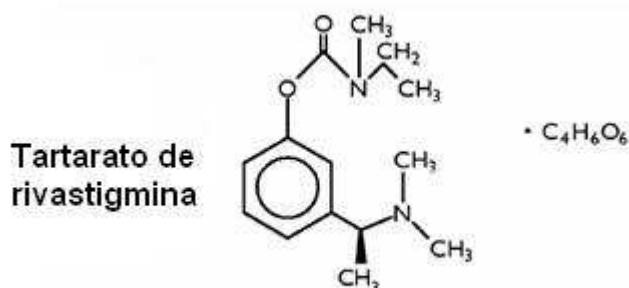


Figura 11: Representação da estrutura química do tartarato de rivastigmina. (Extraída de WILLIAMS, NAZARIANS & GILL, 2003)

A RVT é absorvida totalmente e rapidamente quando administrada sob a forma do sal correspondente (tartarato de rivastigmina) por via oral, apresentando pico de concentração plasmática em aproximadamente 1 hora e biodisponibilidade de aproximadamente 36,0%, o que sugere um significativo efeito de primeira passagem (WILLIAMS, NAZARIANS & GILL, 2003). Já a biodisponibilidade transdérmica do fármaco é em torno de 45,0% e apresenta pico de concentração plasmática que varia entre 4,5 e 15,5 horas (CHAN, CHIEN & LIN, 2008).

O fármaco apresenta um tempo de meia-vida farmacocinética de 1,5 horas, enquanto o tempo de meia-vida farmacodinâmica é estimado em 10 horas, visto que o fármaco se liga ao sítio alostérico da enzima. Ainda assim, apresenta uma ligação de cerca de 40% a proteínas plasmáticas e a eliminação ocorre preferencialmente pela urina.

Sua eficácia e tolerabilidade foram testadas em diversos estudos clínicos (WILLIAMS, NAZARIANS & GILL, 2003). Os efeitos adversos mais comuns relatados são gastrointestinais, incluindo náusea, vômito e diarreia, que são decorrentes do efeito colinomimético que o fármaco produz (LEFÈVRE *et al*, 2008). Também são relatados alguns efeitos adversos relacionados ao sistema nervoso central, como tontura e dor de cabeça (WILLIAMS, NAZARIANS & GILL, 2003).

Esses efeitos adversos se tornam mais frequentes conforme o aumento da dose administrada (LEFÈVRE *et al.*, 2008). Alguns outros efeitos colaterais também foram relatados nesse mesmo estudo, embora em menor frequência, e incluíam agitação, sonolência, rinite, tosse e incontinência urinária. Reações adversas menos intensas são observadas quando do uso do sistema de liberação prolongada na forma de adesivo de liberação transdérmica, pelo fato de diminuir as flutuações na biodisponibilidade farmacocinética do fármaco (CHAN, CHIEN & LIN, 2008).

1.3 NANOTECNOLOGIA NA LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

A nanotecnologia pode ser definida como a compreensão e estudo de matérias que apresentam dimensão entre 1 e 100 nanômetros (KOO, RUBINSTEIN & ONYUKSEL, 2005; PAUL & ROBESON, 2008). Dentre as inúmeras aplicações da nanotecnologia, pode-se destacar o estudo de processos e fenômenos em escala nanométrica, produção de dispositivos em nanoescala e de nanomateriais (KOO, RUBINSTEIN & ONYUKSEL, 2005), abrangendo os campos da física, da química, biologia e também da engenharia (KUMAR *et al.*, 2009).

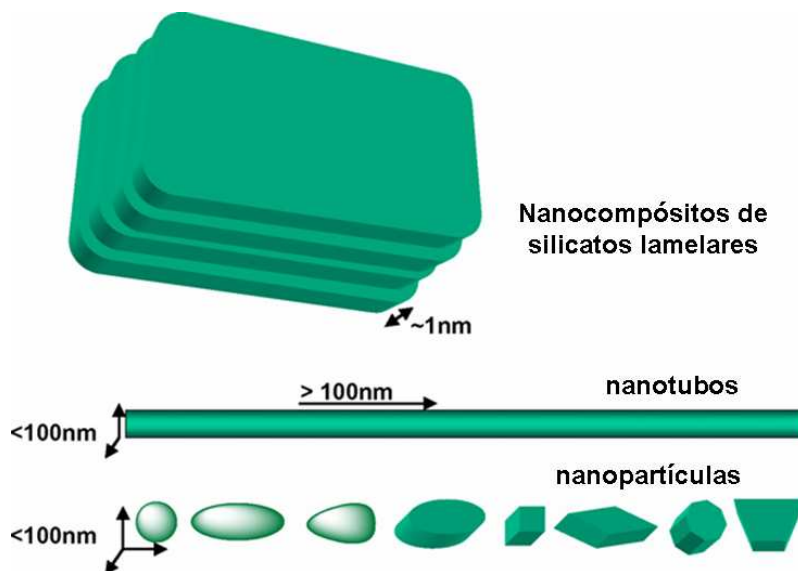


Figura 12: Representação esquemática de diferentes materiais em escala nanométrica utilizados como sistemas de liberação modificada de fármacos (Adaptado de KUMAR *et al.*, 2009).

Atualmente, o campo da nanotecnologia voltado para liberação de fármacos é de grande interesse para pesquisa, já que cerca de 95% dos novos fármacos produzidos possuem algum tipo de propriedade farmacocinética ou biofarmacêutica que necessita de aprimoramento (KOO, RUBINSTEIN & ONYUKSEL, 2005). Dentre as vantagens da utilização de nanomaterias na liberação de fármacos pode-se citar a formação de sistemas de liberação com vetorização a determinados órgãos e tecidos, redução do volume de distribuição do fármaco, redução da dose de administração, melhora na estabilidade do ativo e na solubilidade de fármacos hidrofóbicos (KOO, RUBINSTEIN & ONYUKSEL, 2005).

Os sistemas de liberação de fármacos em escala nanométrica mais comumente utilizados compreendem os lipossomas, as microemulsões e nanoemulsões, as nanopartículas, dendrímeros, nanogéis (KOO, RUBINSTEIN & ONYUKSEL, 2005) e os nanocompósitos de silicatos lamelares (AGUZZI *et al.*, 2007).

1.3.1 Nanocompósitos de silicatos lamelares

Os materiais conhecidos como nanocompósitos podem ser designados como materiais formados por híbridos orgânicos e inorgânicos, nos quais um dos seus componentes fica disperso em escala nanométrica (MORELLI & RUVOLLO FILHO, 2010). Essa combinação mantém as características estruturais de cada componente separadamente, ao mesmo tempo em que as propriedades do material formado são superiores às propriedades de cada componente em separado (DORNELAS, 2008).

As argilas são rochas moles constituídas por materiais denominados “argilominerais” com teores variáveis de rochas residuais, denominados “minerais acessórios” (SANTOS *et al.*, 2008), sendo que as propriedades físico-químicas e tecnológicas desses materiais decorrentes, principalmente, das propriedades dos argilominerais (MURRAY, 2000).

As argilas minerais apresentam inúmeras aplicações e uma grande diversidade de uso, devido à facilidade com que esses materiais são modificados (BERGAYA & LAGALY, 2001; LEE & KIM, 2004; LEROUX, 2006; COELHO *et al*, 2008). Pode-se citar a utilização das argilas como fertilizantes, catalisadores, agentes descorantes e clarificadores de óleo e ainda agentes de filtração (PAIVA, MORALES & DÍAZ, 2008). Dentre as argilas que possuem aplicação farmacêutica, pode-se destacar a utilização do caulim como adjuvante, absorvente e diluente, além de possuir ação anti-diarréica (FRANCO, SANCHEZ & PEREZ, 1982), o talco, utilizado na elaboração de cosméticos, tintas e cobertura de papel (PONTES & ALMEIDA, 2005) e a bentonita. O quadro 1 mostra os principais grupos de argilominerais com importância industrial.

Quadro 1: Principais grupos de argilominerais com importância industrial (Adaptado de ALBANEZ, 2008)

Grupo da caulinita	Caulinita; Haloisita
Grupo das serpentinas	Amianto; Crisotila; Antigorita
Grupo do talco-pirofilita	Talco; Pirofilita
Grupo das micas	Mica moscovita; Sericita e Ilita; Biotita, Lepidolita
Grupo das esmectitas	Montmorilonita (bentonita); Sapolita; Montronita; Hectorita
Grupo das vermiculitas	Macro-vermiculitas
Grupo da paligorsquita/sepiolita	Paligorsquita; Sepiolita
Camadas mistas	Ilita-Montmorilonita; Montmorilonita-vermiculita

A argila que possui uma maior aplicabilidade farmacêutica é a bentonita, por possuir baixo custo, apresentar uma alta capacidade de troca catiônica (CTC) (que varia entre 80 e 150 mEq/100 g), elevada área específica (que é a denominação utilizada para designar a área de superfície externa das partículas), alta capacidade de inchamento quando em contato com água, propriedades adsorptivas, reológicas e coloidais, além de apresentar resistência à temperatura (PAIVA, MORALES & DÍAZ,

2008). Este silicato é constituído de cerca de 85% de montmorilonita (MMT), além de quartzo, feldspato, illita e opal (BONINA *et al.*, 2007), é também constituído por diferentes cátions, como por exemplo cálcio, sódio e lítio, sendo as características funcionais derivadas de seu maior constituinte, ou seja, da MMT.

A fórmula química geral dessas argilas é $M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$ e a estrutura básica (Figura 13) consiste de um octaedro de alumínio e magnésio em combinação com um tetraedro de sílica, unidos através de átomos de oxigênio presentes em ambas as camadas, formando estruturas lamelares e produzindo a superfície de carga, a morfologia e a área de superfície, que assumirão características dos diferentes tipos de argila (MCLAUHLIN & THOMAS, 2008). As lamelas são mantidas por forças de *Van der Waals* e por forças polares fracas. Entre essas lamelas estão presentes cátions trocáveis, como por exemplo, Na^+ , Ca^{2+} e Li^+ , que fazem o contra-balanço da carga da superfície, que é de carga negativa e resultante da substituição isomorfa (quando ocorre troca entre os cátions presentes nas lamelas) ou de quebra de ligações das extremidades da argila. A capacidade de troca catiônica da argila é caracterizada pela superfície de carga negativa (DRITS, 2003).

Em relação à microestrutura da bentonita, cada lamela apresenta um diâmetro aproximado entre 100 a 200 nm e 1 nm de espessura. Entre 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, com diâmetro que varia de 0,1 a 10 μm (GIANNELIS, 1995).

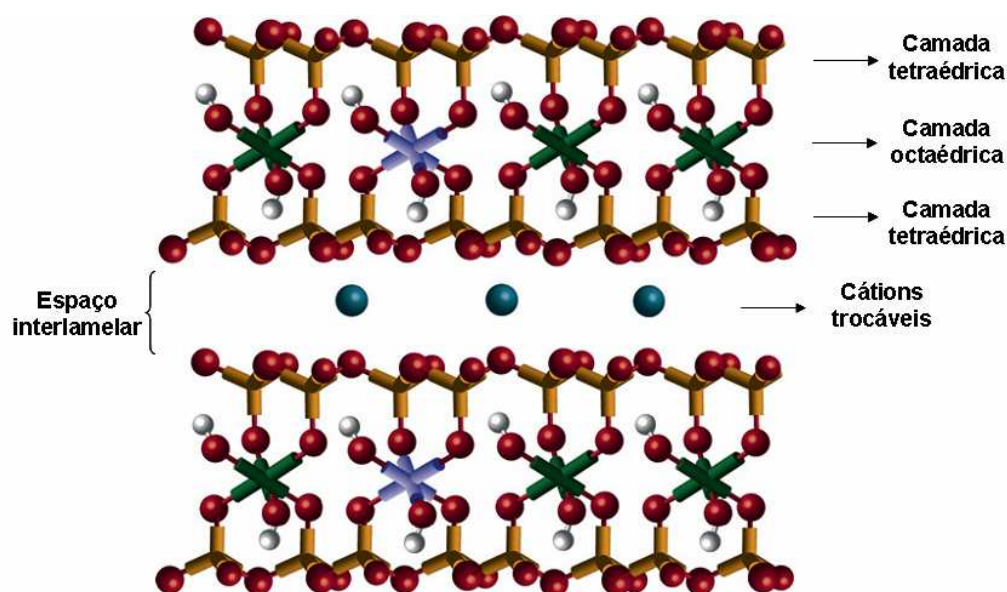


Figura 13: Representação esquemática da montmorilonita. (Adaptado de PAUL & ROBESON, 2008)

Devido à elevada hidrofiliabilidade deste tipo de argila, uma grande quantidade de moléculas de água é imobilizada entre as camadas, conferindo maior viscosidade e capacidade de expansão e intumescimento ao grupo das esmectitas e seus derivados. Dessa forma, esses minerais podem ser utilizados como agentes desintegrantes de comprimidos e outros tipos de excipientes farmacêuticos devido a sua propriedade de expansão (WHITE & HEM, 1983; LEE & KIM, 2004). Elas também são efetivos agentes incrementadores de viscosidade, pois as fibras se arranjam em emaranhados, levando a geleificação das dispersões nas quais estão contidas.

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 esmectita, e tratamentos físicos como liofilização e ultrassom (BERGAYA & LAGALY, 2001). Os mecanismos de adsorção das argilas estão diretamente relacionados à área de superfície e/ou capacidade de troca.

As argilas organofílicas também possuem aplicação farmacotécnica, podendo ser utilizadas na indústria. Esse tipo de material é produzido a partir do tratamento das argilas minerais com moléculas orgânicas, como por exemplo, surfactantes não-

iônicos, álcoois, aldeídos, silanos, sais de anilina e sais quaternários de amônio. Essa substituição leva à modificação de suas propriedades iniciais, devido à sua elevada superfície hidrofóbica, facilitando assim a incorporação de moléculas orgânicas no interior das lamelas (SOUZA, PESSAN & RODOLFO-JR, 2006; PAIVA, MORALES & DÍAZ, 2008). A principal forma de preparação desse tipo de material é através da intercalação com sais quaternários de amônio de cadeias longas (Figura 14).

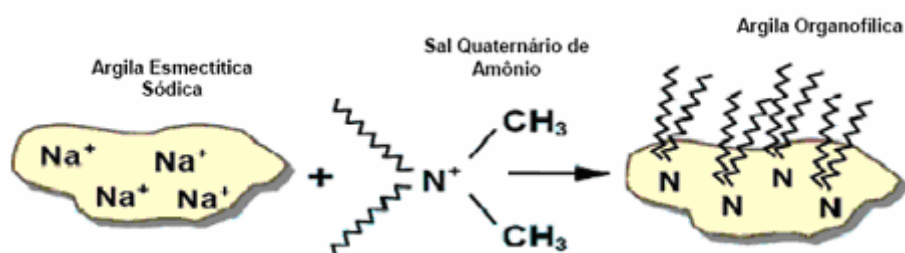


Figura 14: Obtenção de uma argila organofílica a partir da esmectita sódica e de sal quaternário de amônio. (Extraído de GROßMANN, 2004).

Diversos tipos de sais alquilamônios com diferentes tamanhos de cadeias alquílicas são utilizados na preparação de argilas organofílicas, o que resulta na produção de argilas com espaçamentos basais variados (PAIVA, MORALES & DÍAZ, 2008). O quadro 2 mostra o resumo dos sais quaternários de amônio empregados na preparação das argilas organofílicas e suas respectivas fórmulas químicas. Em destaque, pode-se citar a utilização das argilas organofílicas Viscogel B8[®] (VB8), Viscogel S4[®] (VS4) e Viscogel S7[®] (VS7), respectivamente produzidas a partir da intercalação dos sais quaternários de amônio cloreto de dialquil dimetilamônio – 2 propanol, cloreto de dialquil dimetilamônio e cloreto de alquil dimetil benzilamônio na esmectita sódica (RODRIGUES, 2010).

Quadro 2: Exemplos de sais quaternários de amônio utilizados na preparação de argilas organofílicas e suas respectivas fórmulas químicas moleculares. Adaptado de PAIVA, MORALES & DÍAZ, 2008.

Sal quaternário de amônio	Fórmula química molecular
Haleto de diestearil dimetil amônio	$[(\text{CH}_3)_2(\text{C}_{18}\text{H}_{37})_2\text{N}^+]\text{X}$
Haleto de dialquil dimetil amônio	$[(\text{CH}_3)_2\text{R}_2\text{N}^+]\text{X}$
Haleto de alquil benzil dimetil amônio	$[(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)\text{RN}^+]\text{X}$
Haleto de alquil dimetil hidroxietil amônio	$[(\text{CH}_3)_2(\text{C}_{18}\text{H}_{37})(\text{C}_2\text{H}_4\text{OH})\text{N}^+]\text{X}$
Haleto de alquil trimetil amônio	$[(\text{CH}_3)_3\text{RN}^+]\text{X}$
Haleto de cetil trimetil amônio	$(\text{C}_{12}\text{H}_{33}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{X}$

1.3.1.1 Técnicas de caracterização de nanocompósitos

A caracterização dos nanocompósitos tem como objetivo observar a formação dos nanomateriais através de técnicas capazes de analisar a estrutura lamelar dos materiais e a eficiência da intercalação (PAIVA, MORALES & DIAS, 2008). As principais técnicas de caracterização de nanocompósitos consistem na difração de raios-x (DRX), infravermelho por transformada de Fourier (IV-TF), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (ATG), que serão abordadas individualmente nos subitens a seguir.

1.3.1.1.1 Difração de raios-X

A difração de raios-X é um dos principais métodos de caracterização da estrutura dos nanocompósitos de silicatos lamelares. Trata-se de um método não-destrutivo, com fácil preparação da amostra e tem por objetivo avaliar o espaço entre as lamelas do silicato lamelar (KORNMANN, 2001) e, dessa forma, predizer se houve inserção de moléculas de fármaco entre as lamelas da argila através da análise do deslocamento do pico característico de sua lamela (d_{001}) (KOO, 2006).

O espaçamento interlamelar do material pode ser calculado através da aplicação da Equação de Bragg, representada por $\text{sen}\theta = n\lambda/2d$, onde d é a designação do espaço entre os planos lamelares da argila (espaçamento interlamelar), λ equivale ao comprimento de onda do raio-X e o valor de θ representa o ângulo incidente que os raios-X interceptam na argila (KOO, 2006).

1.3.1.1.2 Infravermelho por transformada de Fourier (IV-TF)

A técnica de IV-TF é uma alternativa para a caracterização de nanocompósitos de silicatos lamelares, onde busca-se evidenciar a presença do fármaco nos novos sistemas carreadores preparados.

O IV-TF tem como princípio a detecção dos diferentes modos vibracionais a que uma molécula está sujeita dependendo da energia absorvida, tendo relação com a diferença de energia absorvida entre o estado de vibração fundamental e aquele excitado (WANG, 2006). A energia de vibração molecular de interesse para este tipo de análise varia de 400 - 4000 cm^{-1} em número de ondas, região que se encontra entre as regiões do ultravioleta e das microondas, sendo que a frequência e a intensidade (expressa em Transmitância) de vibração são bastante sensíveis, permitindo a análise não só da composição, mas também da geometria de moléculas e materiais (SILVERSTEIN; WEBSTER & KIEMLE, 2006).

1.3.1.1.3 Análise termogravimétrica (ATG)

Podem ser definidos como ATG os modelos experimentais em que a determinação da perda de massa é utilizada para detectar e medir eventos químicos e físicos que venham a ocorrer numa dada faixa de temperatura com a amostra em análise (GALWEY & CRAIG, 2007). A ATG permite analisar a estabilidade térmica dos inclusos em função da perda de massa da amostra, através da quantificação dos produtos degradados volatilizados, que são analisados a uma determinada faixa

de temperatura (ALEXANDRE & DUBOIS, 2000). Os principais eventos que podem ser observados incluem a decomposição, a evaporação, a sublimação e a dessorção de gases da amostra (GALWEY & CRAIG, 2007).

1.3.1.1.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise de DSC é amplamente utilizada para fins de caracterização, por se tratar de um método que possui como vantagens principais a rapidez e a praticidade associadas, além do requerimento de uma massa pequena da amostra. A técnica envolve basicamente o aquecimento da amostra de forma linear, de modo que os eventos térmicos associados possam ser observados, tais como fusão, cristalização, transição vítrea e decomposição dos componentes da amostra (READING & CRAIG, 2007).

Alguns estudos foram realizados evidenciando a intercalação de fármacos em silicatos lamelares utilizando as técnicas de caracterização de nanocompósitos descrita. No estudo de intercalação de acetato de clorexidina em montmorilonita realizado por Meng e colaboradores (2009), houve uma liberação controlada do fármaco com duração de 72 horas, sendo que aproximadamente 24% da clorexidina havia sido liberada em 24 horas. Joshi e colaboradores (2009a) também estudaram a montmorilonita como um sistema carreador de fármacos através da intercalação com maleato de timolol, evidenciando que este pode ser utilizada como um sistema de liberação prolongada. Bonina e colaboradores (2007) estudaram a adsorção do complexo Fe(III)-salicilato em bentonita e caolim e também realizaram estudos de liberação *in vitro* com o complexo utilizando uma célula de difusão de Franz com membrana de acetato de celulose, evidenciando que houve uma liberação sustentada do salicilato. Além disso, fármacos que agem no sistema nervoso central também foram alvos de estudo. Nunes e colaboradores (2007) estudaram a intercalação e o perfil de liberação de nanocompósitos de sertralina e montmorilonita.

Através da exploração da estrutura nanométrica pré-formada desse tipo de material, pode-se inserir moléculas de fármaco no interior das lamelas, produzindo assim um sistema de liberação nanométrico de fármacos. Obtém-se um efeito semelhante ao observado com o uso de microemulsões, sem, contudo, apresentar os mesmos custos de preparação, garantindo ainda a possibilidade de se incrementar a estabilidade da molécula inserida, aos moldes do que se observa em processos de encapsulação em ciclodextrinas e similares (BERGAYA & LAGALY, 2001).

Pode-se, portanto, obter um sistema nanométrico de RVT utilizando nanocompósitos de silicatos lamelares como matrizes de liberação prolongada de fármacos como uma alternativa ao tratamento oral disponível atualmente, já que estes são sistemas de baixo custo associado, estáveis e de fácil preparação, que possibilitam a redução da dose administrada, manutenção dos níveis ótimos do fármaco e a redução dos efeitos adversos do fármaco (AULTON, 2005).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal desse trabalho consiste na aplicação do conceito de liberação prolongada de fármacos para o desenvolvimento de novas formulações orais de rivastigmina através da utilização de matrizes de liberação de fármacos formadas a partir de nanocompósitos de silicatos lamelares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Como objetivos específicos serão considerados os seguintes aspectos:

- Avaliação das propriedades da montmorilonita sódica como sistema carreador de fármacos para uso oral, através da preparação de nanocompósitos de rivastigmina;
- Avaliação das propriedades das argilas organofílicas Viscogel B8®, S4® e S7® como sistemas carreadores de fármacos para uso oral, através da preparação de nanocompósitos de rivastigmina.
- Caracterização dos nanocompósitos obtidos através de técnicas analíticas adequadas.
- Avaliação da formulação dos novos sistemas terapêuticos nanométricos preparados na forma de cápsulas gelatinosas duras de liberação prolongada da rivastigmina.
- Caracterização das cápsulas de rivastigmina de liberação imediata e de liberação prolongada para efeitos de comparação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Insumos e Reagentes

Todos os insumos e reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho estavam dentro do prazo de validade.

Foi utilizado ácido clorídrico 37% (SPECTRUM); aerosil® (Dióxido de silício coloidal) (DEGUSSA); água destilada; amidoglicolato de sódio (SERVIER DO BRASIL); brometo de potássio (VETEC); cápsula gelatinosa dura nº 2 (DEG); cápsula gelatinosa dura nº 3 (DEG); celulose microcristalina M102 (VETEC); cloreto de sódio (REAGEN); estearato de magnésio (FARMOS); fosfato de potássio monobásico (PROQUIMIOS); hidróxido de sódio (VETEC); hidroxipropilmetilcelulose 100.000 cps (Shin-Etsu chemical Co.); metanol grau HPLC/UV (VETEC); monoestearato de glicerila (HENRIFARMA); montmorilonita sódica (BENTEC); rivastigmina (ZHEJIAN JIUZHOU PHARMACEUTICA Co.); viscogel B8® (BENTEC); viscogel S4® (BENTEC); e viscogel S7® (BENTEC).

3.1.2 Equipamentos

Foi utilizado o analisador Termogravimétrico PERKIN ELMER; balança analítica METTLER TOLEDO – AG 204; calorímetro de varredura diferencial SHIMADZU – DSC 60; centrífuga SIGMA modelo 6 -15; difratômetro de raios-X RIGAKU MINIFLEX; dissolutor NOVA ÉTICA; encapsuladeira nº 2 CAPSUTEC; encapsuladeira nº 3 CAPSUTEC; espectrofotômetro de fluorescência JASCO FP-6300; espectrofotômetro de infravermelho SHIMADZU IR-PRESTIGE-21; espectrofotômetro UV-visível THERMO FISCHER SCIENTIFIC – modelo GENESYS 10uv scanning; estufa de secagem LAWES; placa de agitação e aquecimento CORNING PC-230 e; Potenciômetro QUIMIS;

3.1.3 Materiais acessórios

A vidraria graduada utilizada no desenvolvimento do trabalho estava devidamente calibrada.

Foram utilizados agitadores magnéticos; balões volumétricos; cacinhos de alumínio (SINC); caneco de inox com capacidade para 5,0 L; espátulas de inox; gral e pistilo de ágata; gral e pistilo de porcelana; membrana filtrante de acetato de celulose 0,22 μ , 47 mm diâmetro (MILLIPORE); pipetas volumétricas; provetas graduadas e; tamis malha 70 mesh (ABNT) – abertura de 0,210 mm

3.2 MÉTODOS

3.2.1 PREPARAÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO

3.2.1.1 Curva de calibração RVT em água

Foram preparadas soluções de RVT utilizando água destilada como solvente nas concentrações de 6,25 μ g/mL, 12,5 μ g/mL, 18,75 μ g/mL, 25,00 μ g/mL, 31,25 μ g/mL e 62,50 μ g/mL de rivastigmina base. A curva de calibração foi obtida através da leitura em absorbância das soluções em espectrofotômetro UV-visível no comprimento de onda fixo de 225 nm.

3.2.1.2 Curva de calibração RVT em metanol – água (95:5)

Para preparar a curva de calibração da RVT na mistura de solventes metanol – água (na proporção 95:5) foram preparadas soluções de RVT nas concentrações de 6,25 μ g/mL, 12,5 μ g/mL, 18,75 μ g/mL, 25,00 μ g/mL, 31,25 μ g/mL e 62,50 μ g/mL de rivastigmina base. Foram feitas leituras das soluções em espectrofotômetro UV-

visível no comprimento de onda de 225 nm e com os resultados de absorvância obtidos foi traçada a curva de calibração do fármaco.

3.2.1.3 Curva de calibração RVT em meio de suco gástrico simulado

Foram preparadas soluções de RVT no meio de suco gástrico simulado nas concentrações de 2,5 µg/mL, 5,0 µg/mL, 10,0 µg/mL, 15,0 µg/mL, 20,0 µg/mL e 25,0 µg/mL. As leituras foram feitas em espectrofotômetro de fluorescência com comprimento de onda de excitação a 223,0 nm e comprimento de onda de emissão fixo em 290,0 nm.

3.2.1.4 Curva de calibração RVT em meio de suco entérico simulado

A curva de calibração da RVT em meio de suco entérico simulado foi obtida através da leitura das soluções com concentrações de 0,1 µg/mL, 0,2 µg/mL, 2,5 µg/mL, 5,0 µg/mL, 10,0 µg/mL e 15,0 µg/mL em espectrofotômetro de fluorescência com comprimento de onda de excitação ajustado em 223,0 nm e comprimento de onda de emissão fixo em 290,0 nm.

3.2.2 PREPARAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS

3.2.2.1 Nanocompósitos RVT-MMT

Os nanocompósitos RVT-MMT foram preparados visando avaliar a influência dos parâmetros tais como tempo reacional e capacidade de troca catiônica da MMT no processo de obtenção desses nanomateriais. Para tal, foram utilizadas as proporções distintas de 60 mEq RVT / 100 g MMT, 100 mEq RVT / 100 g MMT e 120 mEq RVT / 100 g MMT baseadas na capacidade de troca catiônica da MMT. Para avaliar a influência do tempo reacional na formação dos nanocompósitos, foram definidos os tempos distintos de 30 minutos, 1 hora, 24 horas, 48 horas e 72 horas.

As etapas do processo de obtenção dos nanocompósitos são esquematizadas na figura 15. Primeiramente, as proporções de RVT e MMT foram dispersas em 200 mL de água destilada e em seguida foram colocadas sob agitação magnética nos diferentes tempos reacionais padronizados e à temperatura ambiente (Figura 15a). Após, o material foi centrifugado por 40 minutos a 4000 rpm, para que ocorresse o isolamento do nanocompósito formado do meio reacional (Figura 15b). O cálculo do rendimento do processo foi feito pela quantificação do fármaco no sobrenadante em espectrofotômetro UV-visível no comprimento de onda de 225 nm (Figura 15c) com base na curva de calibração da RVT em água previamente obtida (item 3.2.1.1). O sólido recolhido após a centrifugação foi colocado para secagem, em seguida foi triturado utilizando gral e pistilo (Figura 15d) e calibrado em tamis de malha 70 mesh (tamanho padronizado pela ABNT) (Figura 15e).

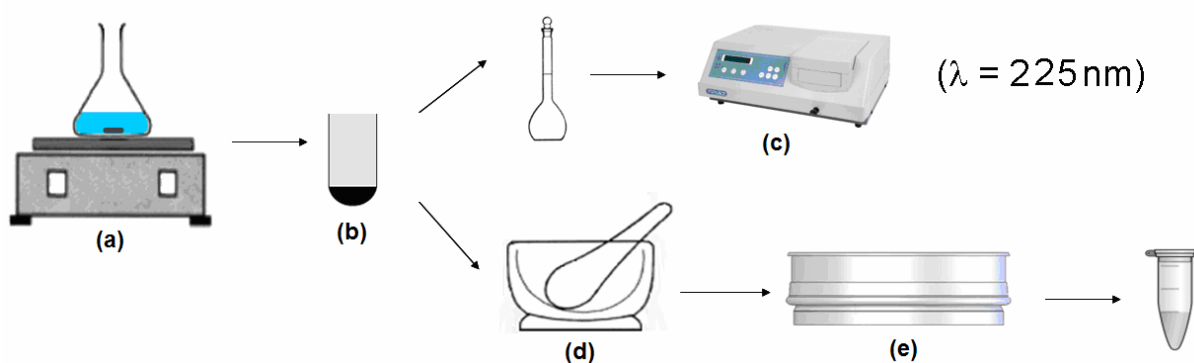


Figura 15: Esquema ilustrativo da preparação dos nanocompósitos.

3.2.2.2 Nanocompósitos RVT – organoargilas

Foram preparados nanocompósitos utilizando as organoargilas Viscogel B8®, Viscogel S4® e Viscogel S7®, buscando avaliar a influência do tempo reacional e da capacidade de troca catiônica dos silicatos lamelares no processo de obtenção dos nanocompósitos.

O processo de produção dos nanocompósitos seguiu o mesmo esquema da preparação dos nanocompósitos RVT-MMT. Primeiramente, foram selecionadas as proporções de 60 mEq RVT / 100 g organoargila, 100 mEq RVT / 100 g organoargila

e 120 mEq RVT / 100 g organoargila para tentar avaliar a influência do parâmetro capacidade de troca catiônica no processo de formação dos nanocompósitos. Em seguida, as proporções de RVT e de organoargila foram dispersas em 200 mL de solução metanol – água (95:5) e colocadas sob agitação magnética nos tempos reacionais de 30 minutos, 1 hora, 24 horas, 48 horas e 72 horas, para que fosse avaliado o parâmetro tempo reacional no processo de preparação dos nanocompósitos. O solvente foi selecionado com base na recomendação do fornecedor das argilas organofílicas BENTEC® e com base na solubilidade do fármaco. Decorrido o tempo reacional, o material foi centrifugado a 4000 rpm por 40 minutos, o sólido foi isolado e recolhido em placa de petri, e levado para secagem. Depois de seco, o material foi triturado com auxílio do gral e pistilo e calibrado em tamis de malha 70 mesh (ABNT). O cálculo do rendimento foi feito pela quantificação da RVT no sobrenadante em espectrofotômetro UV-visível no comprimento de onda de 225 nm com base na reta de calibração da RVT em metanol-água (95:5) previamente obtida (item 3.2.1.2)

3.2.3 CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS

3.2.3.1 Difração de Raios-X (DRX)

As amostras pulverizadas e calibradas em tamis de malha 70 (ABNT) foram analisadas em Difratorômetro de Raios-X (Rigaku) operado com potência no tubo de 40 kV e corrente a 30 mA. O ângulo de difração 2θ foi analisado entre 2 e 20° utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$ como fonte de raios-X (com comprimento de onda de 1,5418 Å).

Foram obtidos os padrões de difração dos silicatos lamelares (MMT, VS4, VS7 e VB8) e de todos os nanocompósitos obtidos, como uma forma de selecionar os nanocompósitos com as características consideradas ideais.

3.2.3.2 Infravermelho por transformada de Fourier (IV-TF)

Foram preparadas pastilhas com as amostras pulverizadas em KBr previamente dessecado a 1,0 % p/p. Os espectros de IV-TF foram obtidos na região entre 4000 e 400 cm^{-1} utilizando o Espectrofotômetro FT-IR SHIMADZU IR PRESTIGE-21.

3.2.3.3 Análise Termogravimétrica (ATG)

Cerca de 5,0 mg das amostras selecionadas foram corridas contra um padrão de alumina num fluxo de nitrogênio de 50 mL/minuto na faixa de temperatura entre 50 e 700°C com taxa de aquecimento de 10°C/minuto. O Analisador Termogravimétrico PERKIN-ELMER foi utilizado para realização das análises.

3.2.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Foi utilizado o aparelho SHIMADZU modelo DSC 60 para obtenção das curvas de DSC das amostras selecionadas. Cerca de 2,0 mg de cada amostra foram pesados em cadinho de alumínio que, em seguida, foi parcialmente fechado. A taxa de aquecimento utilizada foi de 15°C/minuto numa faixa de temperatura entre 25 – 300 °C, sob uma atmosfera de nitrogênio de 50 mL/minuto.

3.2.4 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES ORAIS

3.2.4.1 Preparação das cápsulas de liberação imediata de RVT

As cápsulas de liberação imediata de RVT foram preparadas para fins de comparação com as cápsulas produzidas contendo os nanocompósitos de silicatos lamelares de RVT, em termos dos perfis de liberação *in vitro* das formulações.

As cápsulas foram produzidas através da homogeneização dos componentes da formulação utilizando gral e pistilo. Todos os componentes foram previamente pulverizados (tamis malha 70 – ABNT) e homogeneizados através da mistura geométrica e, em seguida, foram encapsulados utilizando cápsulas gelatinosas duras n° 3 (com capacidade para 0,30 mL) com auxílio da Encapsuladeira CAPSUTEC n°3.

A formulação A de liberação imediata foi proposta contendo quantidade de tartarato de rivastigmina equivalente a 12,0 mg de RVT base, celulose microcristalina M102, utilizada na formulação com função de diluente, sendo insolúvel em água, amidoglicolato de sódio, atuando como desintegrante, estearato de magnésio, que possui função de lubrificante, e o dióxido de silício coloidal (Aerosil®) que possui função de adsorvente.

3.2.4.2 Preparação das cápsulas de liberação prolongada utilizando nanocompósitos de RVT-MMT

Foram propostas três formulações orais de RVT utilizando o nanocompósito que foi selecionado por possuir as características consideradas ideais.

A formulação B foi proposta visando analisar as propriedades do nanocompósito como uma matriz de liberação prolongada para a RVT. A formulação foi produzida através da homogeneização em gral e pistilo utilizando mistura geométrica dos componentes previamente pulverizados seguido de encapsulação em cápsulas gelatinosas duras n° 3. Para tal, foi calculada a quantidade de

nanocompósitos de RVT equivalente a 12,0 mg de RVT base e foram utilizados o amidoglicolato de sódio, celulose microcristalina M102, estearato de magnésio e Aerosil® como excipientes do formulação.

A formulação C foi proposta utilizando uma solução granulante de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) a 0,5% (p/v) em água para a fase interna, com inclusão do monoestearato de glicerila (MEG) como componente de fase interna e tem como função na formulação a formação de matriz de controle de liberação, e celulose microcristalina M102 como excipiente de fase externa, utilizado como diluente.

Primeiramente, os componentes da fase interna foram homogeneizados utilizando mistura geométrica e, em seguida, foi adicionada a solução de HPMC 0,5% até a obtenção do ponto de granulação. A massa úmida foi calibrada em tamis de malha 12 (ABNT) e levada à estufa até que a umidade dos grânulos permanecesse entre 3,0 a 5,0%. Em seguida, o granulado devidamente seco foi calibrado em tamis de malha 20 (ABNT) e homogeneizado com o componente de fase externa em gral e pistilo. A formulação devidamente homogeneizada foi encapsulada em cápsulas gelatinosas duras nº3.

A formulação D foi proposta utilizando uma maior quantidade de monoestearato de glicerila em relação à quantidade proposta para a formulação C e, também, adição de solução granulante de HPMC 0,7% em água (p/v). A fase externa proposta foi composta de HPMC 100.000 cps, que tem como função na formulação a formação de uma matriz hidrofílica de liberação de fármacos.

O desenvolvimento farmacotécnico da formulação D seguiu os mesmos passos utilizados para o desenvolvimento da formulação C. Os componentes da fase interna foram homogeneizados em gral e pistilo e a solução aglutinante (HPMC 0,7 % p/v) foi adicionada, lentamente, até a obtenção do ponto de granulação. A massa úmida foi calibrada em tamis de malha 12 e levada à estufa, até que a umidade dos grânulos permanecesse entre 3,0 e 5,0%. Os grânulos foram, então, calibrados em tamis de malha 20 e levados ao gral de porcelana, onde foram homogeneizados

juntamente com o componente de fase externa. A formulação foi encapsulada em cápsulas gelatinosas duras nº2.

3.2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS DE RVT

As cápsulas de liberação imediata e de liberação prolongada de RVT foram caracterizadas seguindo as especificações da Farmacopéia Brasileira Edição IV (1988) através dos ensaios de peso médio, volume aparente, dissolução em suco gástrico simulado e suco entérico simulado e teor.

3.2.5.1 Peso Médio

O ensaio de determinação de peso médio foi realizado nas formulações, seguindo as especificações da Farmacopéia Brasileira Edição IV (1988). Para tal, 20 cápsulas foram pesadas cheias, o conteúdo foi retirado e o invólucro pesado novamente, para que o peso do conteúdo fosse determinado. O desvio-padrão (DP) e o desvio-padrão relativo (DPR) foram calculados. Admite-se uma variação de peso de $\pm 10,0\%$ para as formulações com peso médio de até 300,0 mg e de $\pm 7,5\%$ para cápsulas com peso médio superior a 300,0 mg.

3.2.5.2. Volume Aparente

A Farmacopéia Brasileira define este teste como uma forma de comprovar o tamanho da cápsula proposto para as formulações.

O ensaio foi realizado separadamente para cada componente da formulação, onde 1,0 g foi pesado e adicionado a uma proveta graduada de 10,0 mL. Foram realizadas 10 batidas a uma altura de cerca de 15 cm sobre a superfície plana. O volume aparente (em mL/g) foi, então, determinado.

3.2.5.3 Dissolução

Os ensaios de dissolução são preconizados pela Farmacopéia Brasileira Edição IV (1988) como uma forma de determinação da quantidade de ativo liberado no meio de dissolução em um determinado intervalo de tempo sob condições experimentais específicas.

Os ensaios de dissolução foram realizados em suco gástrico e suco entérico simulados. Para cada ensaio foram utilizadas três cubas contendo 900 mL do meio utilizado mantido à temperatura de 37°C sob agitação de 50 rpm. O aparato cesta foi utilizado nos ensaios.

3.2.5.3.1 Dissolução em suco gástrico simulado (SGS)

O suco gástrico simulado foi preparado de acordo com as especificações da Farmacopéia Americana 30 (USP, 2007). Para tal, 2,0 g de NaCl foram solubilizados em quantidade suficiente de água destilada. Foram adicionados 7,0 mL de HCl à solução e o volume ajustado para 1,0 L com água destilada. O pH da solução foi monitorado com potenciômetro calibrado durante a adição do ácido e ajustado para $1,2 \pm 0,1$.

Para realizar o ensaio em suco gástrico, em cada uma das cubas foi adicionada 1 cápsula, respeitando-se o tempo de 1 minuto de adição entre as cubas. Alíquotas de 10 mL foram coletadas a cada 10 minutos de cada uma das cubas, repondo-se o volume de suco gástrico retirado à temperatura de 37 °C. Os ensaios foram realizados num tempo total de 120 minutos, que corresponde ao tempo médio de retenção gástrica de formas farmacêuticas de tamanho considerável, ou que tenham sido administradas juntamente com alimentos (VALADARES *et al*, 2006).

3.2.5.3.2 Dissolução em suco entérico simulado (SES)

O suco entérico simulado também foi preparado seguindo as especificações da USP 30 (2007). Foram dissolvidos 6,8 g de fosfato monobásico de potássio em quantidade suficiente de água para solubilizá-lo. Uma solução 0,2 N de NaOH foi preparada, sendo adicionados 77,0 mL desta solução à solução de fosfato monobásico de potássio. O volume foi, então, ajustado para 1,0 L com água destilada. O pH da solução foi devidamente medido e ajustado para $6,8 \pm 0,1$ em potenciômetro previamente calibrado.

Para realizar o ensaio em suco entérico, em cada uma das cubas foi adicionada 1 cápsula, respeitando-se o tempo de 1 minuto de adição em cada cuba. Alíquotas de 10 mL foram coletadas de cada cuba em intervalos de 20 minutos, repondo-se o volume retirado de suco entérico para cada alíquota à temperatura de 37 °C. Os testes foram conduzidos até o limite de 420 minutos, tempo este considerado de trânsito intestinal (VARUM *et al*, 2008).

3.2.5.3.3 Quantificação do fármaco por Espectrofotometria de fluorescência

A espectrofotometria de fluorescência ou espectrofluorimetria é uma técnica bastante difundida e amplamente utilizada em processos biotecnológicos, sequenciamento de ADN, análises forenses, diagnóstico e imagem celulares e moleculares e, também, como ferramenta de detecção e quantificação de fármacos em controle de qualidade (LAKOVICZ, 2006; SANTOS & GIL, 2010), por se tratar de um método de análise bastante sensível e seletivo para estes fins (SANTOS & GIL, 2010).

A fluorescência, juntamente com a fosforescência são subdivisões de um fenômeno denominado fotoluminescência, que pode ser definido como a emissão da luz por uma substância qualquer, que ocorre devido à transição de elétrons a níveis elevados de excitação eletrônica (LAKOVICZ, 2006). No fenômeno da fluorescência, os elétrons encontram-se no estado excitado singlete e emparelhados por spins em direções opostas. O retorno do spin ao estado fundamental ocorre num intervalo de

tempo relativamente curto, possuindo duração média de nanossegundos, com emissão de um fóton. Na fosforescência, a emissão da luz ocorre a partir do estado excitado tripleto. Neste caso, o elétron do estado excitado possui a mesma orientação do elétron do estado fundamental, formado por um desemparelhamento nos orbitais eletrônicos. Neste tipo de fenômeno, o intervalo de tempo de emissão do fóton dura geralmente alguns milissegundos, podendo durar alguns segundos (LAKOVICZ, 2006). O diagrama de Jablonski (Figura 16) ilustra as possíveis transições eletrônicas que podem ocorrer a partir do estado eletrônico fundamental que envolvem os fenômenos da fluorescência e da fosforescência.

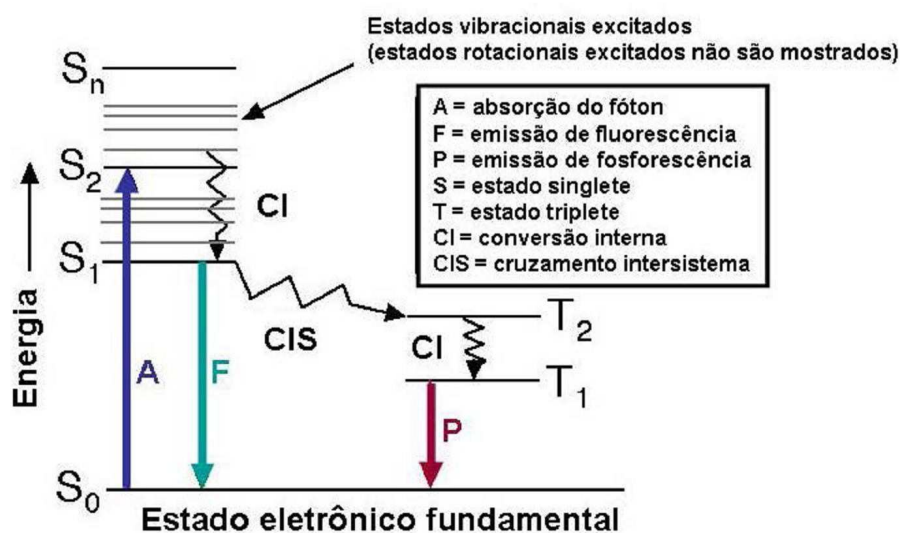


Figura 16: Diagrama de Jablonski. A seta A (azul) ilustra a absorção do fóton; a seta F (verde) representa a emissão do fóton por fluorescência; e a seta P (vermelha) representa a emissão do fóton no fenômeno da fosforescência. Extraído de SANTOS e GIL, 2010.

Para que uma molécula possa emitir fluorescência, é necessário que esta possua em sua estrutura algum grupamento fluoróforo, que pode ser intrínseco à molécula, como por exemplo grupamentos aromáticos mononucleares ou polinucleares, ou ainda fluoróforos extrínsecos, utilizados por conjugação e derivatização quando a molécula de interesse não emite fluorescência, entre os quais pode-se citar a fluoresceína (LAKOVICZ, 2006).

Em determinadas condições, as soluções de substâncias que são capazes de emitir fluorescência podem ter a emissão de luz com intensidades proporcionais as concentrações das soluções, o que torna a técnica de utilidade para fins analíticos.

Neste caso, o espectro é graficamente representado em relação à intensidade de fluorescência *versus* o comprimento de onda (expresso em nm) ou número de onda (expresso em cm^{-1}).

Dejaegher e colaboradores (2008) desenvolveram e validaram metodologia de determinação de 4-aminofenol, produto de degradação do paracetamol em formulações orais utilizando método fluorimétrico com limites de detecção e quantificação estimados em 0,0033 e 0,010 mg/100 mL, respectivamente.

Aydogmus (2009) desenvolveu e validou metodologia para quantificação do fosfato de oseltamivir em cápsulas através de método fluorimétrico com conjugação com fluorescamina, com limites de detecção e quantificação de 1,219 ng/mL e 4,064 ng/ml, respectivamente, e porcentagem de recuperação de 100,08%.

A quantificação da RVT nos ensaios de dissolução em SGS e SES foi realizada através da espectrofluorimetria e tendo como base as curvas de calibração previamente obtidas do fármaco nos meios de dissolução. Foi utilizado o espectrofotômetro de fluorescência JASCO modelo FP-6300. Os comprimentos de onda de excitação e emissão utilizados foram de 223,0 nm e 290,0 nm, respectivamente.

3.2.5.4 Doseamento

De acordo com as especificações da Farmacopéia Brasileira Edição IV (1988), foi realizado o ensaio de doseamento das formulações, para determinação do teor de ativo das cápsulas.

Para tal, o peso médio de uma cápsula foi adicionado ao bécher e adicionados 200 mL de água destilada. A solução foi levada à sonicação com amplitude de 100,0% e ciclo de 1,0 por uma hora. Após o tempo, o volume foi completado a 500,0 mL em balão volumétrico. As leituras foram feitas em espectrofotômetro de fluorescência utilizando o comprimento de onda de excitação de 223,0 nm e comprimento de onda de emissão de 290,0 nm.

3.2.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Os dados obtidos nos ensaios de dissolução em suco gástrico e suco entérico simulados foram tratados estatisticamente, sendo traçadas as curvas de liberação do fármaco *in vitro* ao longo do período proposto em cada estudo. Os valores de liberação foram calculados com base nas curvas de calibração previamente obtidas do fármaco nos meios de dissolução (SGS e SES) em espectrofotômetro de fluorescência (conforme item 3.2.5.3.3). Foram calculadas as porcentagens médias de liberação para cada formulação, assim como os valores de desvio-padrão e desvio-padrão relativos.

3.2.7 AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE LIBERAÇÃO

A cinética de liberação de uma formulação é um parâmetro de grande importância e que deve ser avaliado durante a etapa de desenvolvimento, pois a partir desta análise é possível avaliar a influência de determinados parâmetros, tais como a cristalinidade, solubilidade do ativo, tamanho da partícula na liberação do mesmo (MANADAS, PINA & VEIGA, 2002).

Os dados obtidos do perfil de liberação foram colocados em modelos matemáticos conforme as diferentes equações que descrevem as cinéticas de liberação de fármacos.

Zero Ordem:	$%F = a_1 + b_1 \cdot t$
Primeira Ordem:	$\ln (100 - \%F) = a_2 - b_2 \cdot t$
Higuchi:	$Mt/ M_{\infty} = K_H \sqrt{t} + b$

Onde:

$%F$ = percentual de liberação de fármaco;

t = tempo (min.);

a_1, a_2 , = interseções ao eixo do y ;

b_1, b_2 , = curvaturas das retas;

M_t e M_∞ = quantidade cumulativa absoluta de fármaco liberado no tempo t e no infinito, respectivamente;

b = quantidade inicial de fármaco na solução;

K_H = constante de liberação de Higuchi (características estruturais e geométricas do sistema);

A melhor adequação dos dados em gráficos em relação às diferentes equações citadas foi obtida pela observação do valor do coeficiente de correlação determinado por regressão linear em Excel®. A partir do modelo proposto, foram calculados os valores de fluxo de liberação e tempo de latência da formulação, a partir dos dados obtidos na equação da reta.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PREPARAÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO DE RVT

4.1.1 Curva de calibração de RVT em água

Foram utilizadas as concentrações de 6,25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 18,75 µg/mL, 25,00 µg/mL, 31,25 µg/mL e 62,50 µg/mL de rivastigmina base utilizando água destilada como solvente para que a curva de calibração do fármaco fosse obtida. Os dados obtidos são mostrados na figura 17.

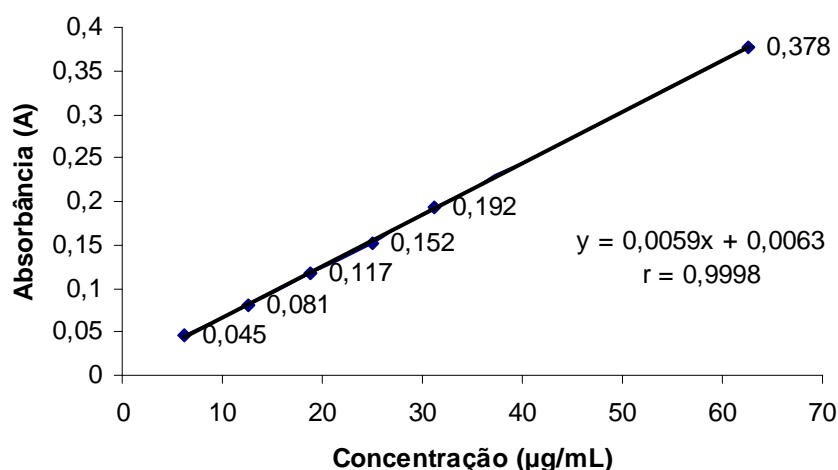


Figura 17: Curva de calibração da RVT utilizando água destilada como solvente.

A curva formada pelos pontos obtidos foi submetida à regressão linear, originando a equação da reta $y = 0,0059x + 0,0063$. O coeficiente de correlação linear da reta foi calculado ($r = 0,9998$), e mostra que a mesma pode ser utilizada na quantificação do fármaco presente no sobrenadante das reações de intercalação entre a RVT e MMT, pois é observada linearidade entre o aumento da concentração do fármaco e o valor da absorbância lida.

4.1.2 Curva de calibração de RVT em metanol – água (95:5)

Para preparar a curva de calibração da RVT utilizando como solvente 95 partes de metanol para cada cinco partes de água, foram utilizadas soluções nas concentrações de 6,25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 18,75 µg/mL, 25,00 µg/mL, 31,25 µg/mL e 62,50 µg/mL de RVT base. Os dados obtidos são mostrados na figura 18.

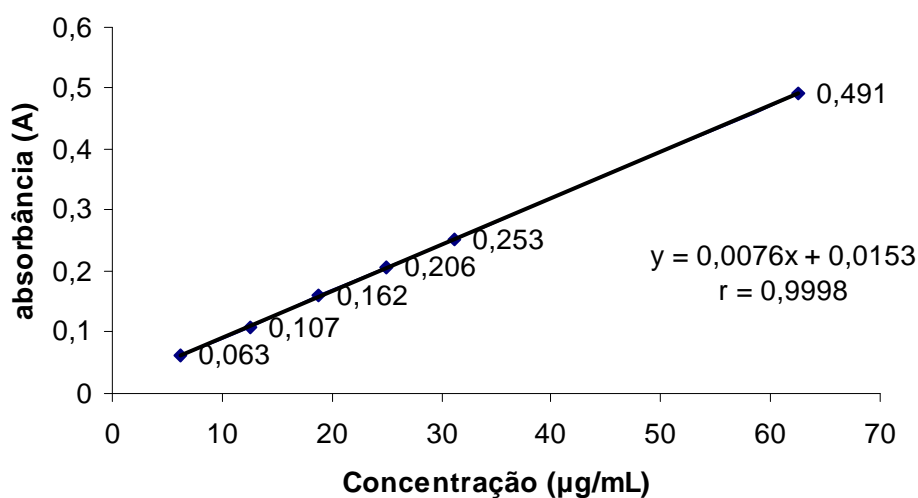


Figura 18: Curva de calibração da RVT em metanol – água (95:5)

As leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-visível no comprimento de onda de 225 nm. Com os dados obtidos foi traçada a curva de calibração da RVT no solvente utilizado, sendo esta submetida à regressão linear. A equação da reta obtida foi $y = 0,0076x + 0,0153$, com coeficiente de correlação linear com valor igual a **0,9998**. É observada uma linearidade entre a concentração do fármaco em solução com os valores de absorbância nesse comprimento de onda, o que mostra que a reta pode ser utilizada para quantificação da RVT no sobrenadante das reações de intercalação com as argilas organofílicas avaliadas.

4.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS RVT-MMT

O processo de intercalação RVT-MMT foi efetuado avaliando-se a influência do tempo reacional e da capacidade de troca catiônica da argila. Para se avaliar a influência do tempo reacional, foram realizadas reações de intercalação nos diferentes tempos reacionais: 30 minutos, 1 hora, 24 horas, 48 horas e 72 horas. A avaliação da capacidade de troca catiônica da MMT foi feita através da preparação dos nanocompósitos em diferentes concentrações do fármaco, em que foram testadas as concentrações de 60 mEq RVT / 100 g MMT, 100 mEq RVT / 100 g MMT e 120 mEq RVT / 100 g MMT. Os nanocompósitos obtidos foram caracterizados de acordo com o rendimento reacional (%), a proporção de RVT no material (mg RVT / g nanocompósito), o espaçamento interlamelar d_{001} (Å) e a variação de espaçamento interlamelar em relação ao espaçamento basal da MMT.

4.2.1 Rendimento

O rendimento reacional (%) foi calculado através da quantificação do fármaco pela leitura do sobrenadante em espectrofotômetro UV-visível no comprimento de onda de 225 nm, com base na curva de calibração da RVT em água (item 4.1.1). Com base nos valores de rendimento, foram calculadas as proporções de RVT nos materiais formados (mg RVT / g nanocompósito). O espaçamento interlamelar dos materiais foi calculado através da aplicação da Equação de Bragg. Com base nos valores do espaçamento interlamelar, foi calculada a variação de espaçamento interlamelar do material em relação ao espaçamento basal da MMT. Esses dados são apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Resultados de rendimento, proporção de RVT no nanocompósito (mg/g), espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar obtidos para os nanocompósitos RVT-MMT.

CTC (mEq RVT / 100 g MMT)	Tempo reacional	Rendimento (%)	mg RVT / g nanocompósito	Espaçamento interlamelar (Å)	Δd_{001} (Å)
MMT	-	-	-	13,40	-
60	30 min	65,2	89,2	15,24	+ 1,84
60	1 hora	64,9	88,8	15,64	+ 2,24
60	24 horas	65,1	89,1	15,92	+ 2,52
60	48 horas	61,9	85,1	16,06	+ 2,66
60	72 horas	65,3	89,3	15,50	+ 2,10
100	30 min	51,4	114,0	17,85	+ 4,45
100	1 hora	48,1	107,5	17,67	+ 4,27
100	24 horas	47,9	107,1	17,49	+ 4,09
100	48 horas	46,9	105,1	17,85	+ 4,45
100	72 horas	40,5	92,0	16,99	+ 3,59
120	30 min	41,2	110,1	17,49	+ 4,09
120	1 hora	40,7	108,9	17,67	+ 4,27
120	24 horas	44,5	117,9	17,85	+ 4,45
120	48 horas	42,0	112,0	18,21	+ 4,81
120	72 horas	39,7	106,6	18,03	+ 4,63

Pela análise da tabela 1, observa-se um aumento da quantidade de RVT intercalada em relação ao aumento da CTC de 60 mEq RVT / 100 g MMT para 100 mEq RVT / 100 g MMT. Esse aumento na quantidade de RVT no interior das lamelas não é observado entre os nanocompósitos produzidos com CTC de 100 a 120 mEq RVT / 100 g MMT. Isso mostra que o perfil de intercalação da RVT na MMT é concentração-dependente, observando-se o aumento da quantidade de RVT intercalada conforme aumenta a CTC, até que a quantidade de fármaco no interior da lamela atinja uma saturação. Neste caso, o equilíbrio é atingido numa proporção média de 110,0 mg RVT / g MMT, em que ocorre a inibição da entrada de novas moléculas de RVT pelo fechamento das lamelas. Este mesmo fenômeno foi observado por Kevadiya, Joshi e Bajaj (2010), ao estudarem o processo de intercalação da procainamida em MMT, no qual foi observado um equilíbrio na intercalação após a concentração de 244 mg de procainamida por grama de MMT.

4.2.2 Difração de Raios-X

Os padrões de difração dos nanocompósitos RVT-MMT foram agrupados com relação à capacidade de troca catiônica avaliada, e são mostrados nas figuras 19, 20 e 21. O padrão de difração da MMT foi mostrado nas figuras para que os padrões de difração dos nanocompósitos pudessem ser avaliados comparativamente em relação ao ângulo 2θ da MMT.

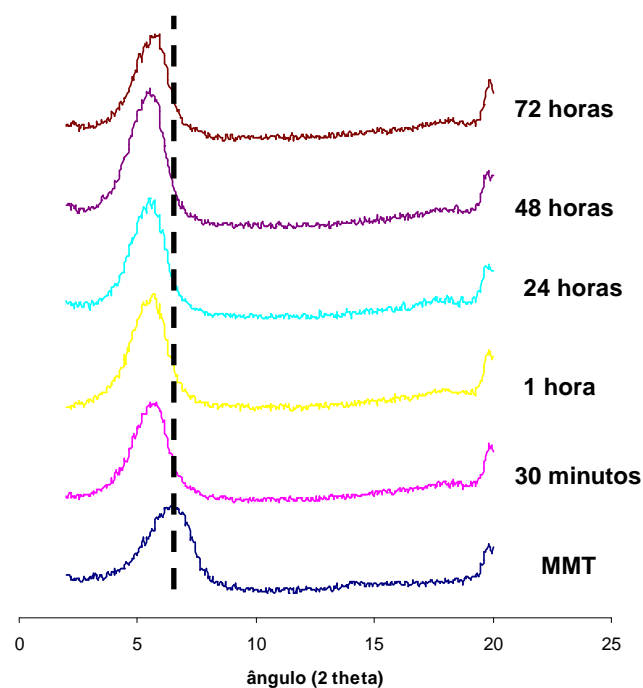


Figura 19: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-MMT com capacidade de troca catiônica de 60 mEq RVT / 100 g MMT.

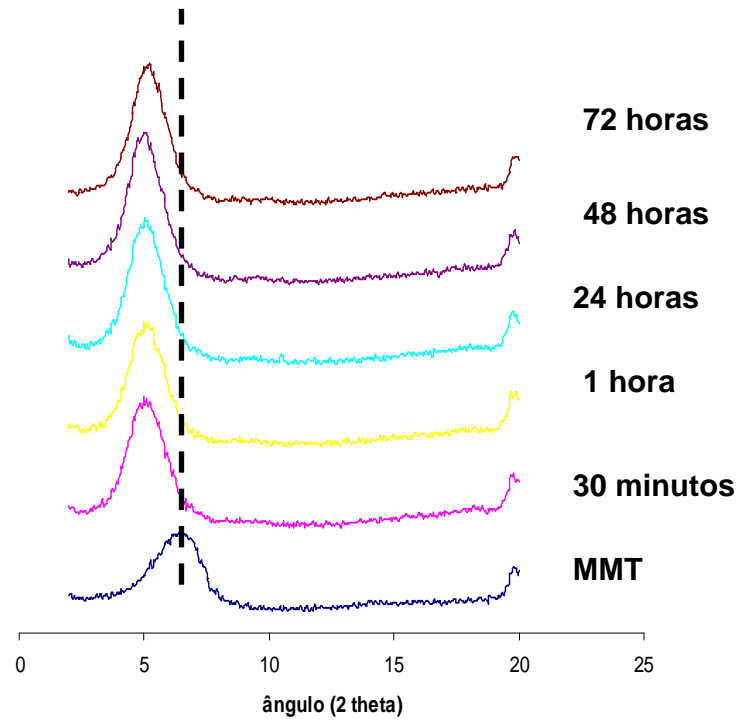


Figura 20: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-MMT com capacidade de troca catiônica de 100 mEq RVT / 100 g MMT.

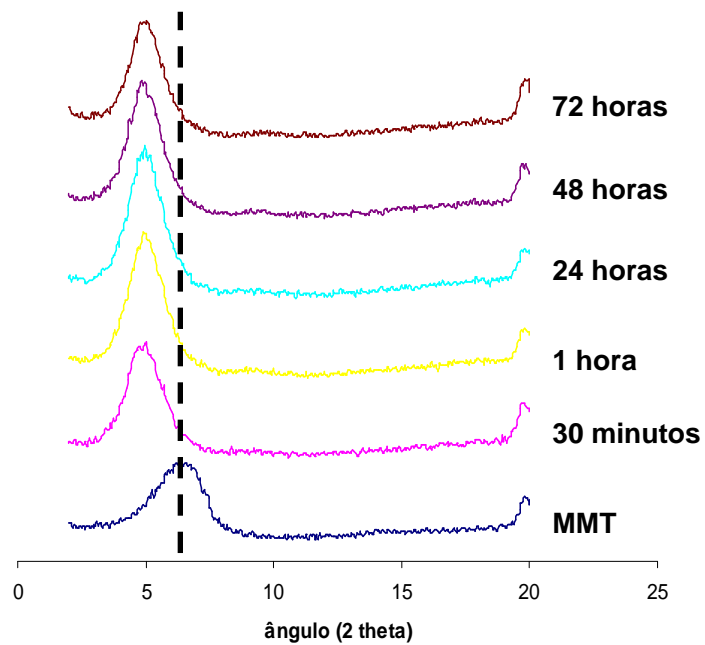


Figura 21: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-MMT com capacidade de troca catiônica de 120 mEq RVT / 100 g MMT.

Pode-se observar a diminuição evidente nos valores do ângulo 2θ dos picos de difração em todos os nanocompósitos produzidos em relação ao ângulo 2θ da MMT pura, o que indica claramente o aumento do espaçamento interlamelar em relação ao silicato puro e a consequente intercalação do fármaco no interior das lamelas da MMT.

Outra relação que pode ser observada pela análise dos dados da tabela 1 concomitantemente com a análise dos padrões de difração obtidos para as diferentes capacidades de troca catiônica analisadas, é a influência do fator tempo reacional no processo de produção dos nanocompósitos. Observa-se o aumento do espaçamento interlamelar conforme aumenta a capacidade de troca catiônica, o que provavelmente se deve a um melhor arranjo do fármaco no interior das lamelas da MMT.

O nanocompósito com CTC de 100 mEq RVT / 100 g MMT e tempo reacional de 30 minutos foi selecionado para caracterização por IV-TF e TGA, por possuir um aumento expressivo no espaçamento interlamelar (aumento de 4,45 Å em relação ao espaçamento interlamelar da MMT pura) associado ao rendimento reacional considerado efetivo (51,4%), que se traduz em uma elevada proporção de RVT no material (114 mg RVT / g nanocompósito), além de possuir o tempo reacional considerado otimizado (30 minutos) quando comparado aos nanocompósitos produzidos com tempos reacionais de 24, 48 e 72 horas.

4.2.3 Infravermelho por Transformada de Fourier

A técnica de IV-TF foi utilizada para tentar comprovar a formação do nanocompósito após a caracterização por DRX. Foram preparadas pastilhas de KBr a 1,0% com a MMT, com a RVT, com a mistura física contendo 114 mg RVT / g MMT e com o nanocompósito selecionado (100 mEq RVT / 100 g MMT com tempo reacional de 30 minutos).

Analisando-se os espectros obtidos (Figura 22) é possível caracterizar as bandas principais dos materiais analisados.

No espectro da MMT, podem ser observadas bandas características do material, que correspondem ao estiramento do grupo –OH nas ligações Al-OH e Si-OH nas regiões 3620 e 3698 cm^{-1} , ao estiramento do grupo –OH da água absorvida na região 3400 cm^{-1} , à banda de deformação das moléculas de água na região de 1640 cm^{-1} , ao estiramento do grupo Si-O-Si na região entre 1115 e 1035 cm^{-1} , à banda das vibrações Al-Al-OH na região de 915 cm^{-1} , das vibrações Al-Fe-OH na região em torno de 875 cm^{-1} e da vibração Al-Mg-OH na região em torno de 836 cm^{-1} (CAGLAR *et al*, 2009; DORNELAS, 2008; JOSHI, 2009b).

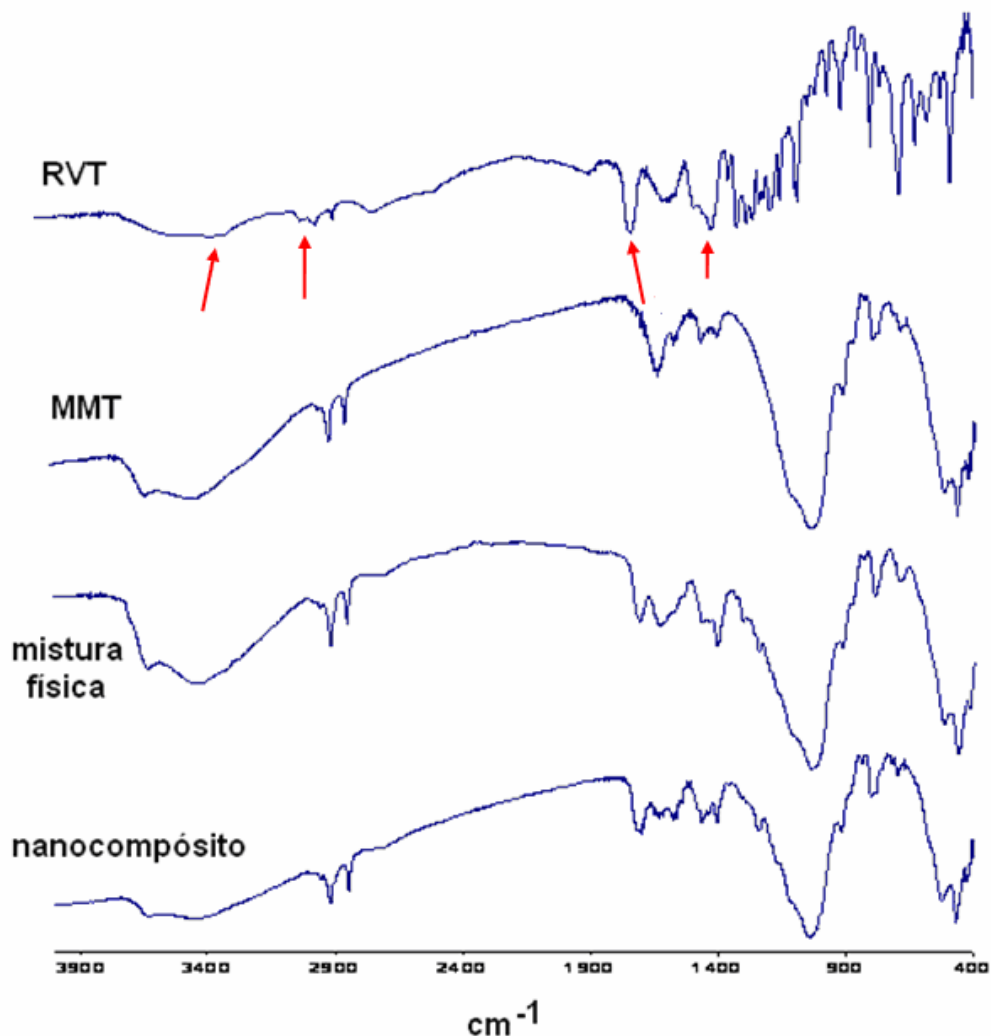


Figura 22: Espectros de IV-TF da RVT, MMT, mistura física (114 mg RVT / 1 g material) e do nanocompósito (100 mEq RVT / 100 g MMT – 30 minutos). As setas em vermelho representam as principais bandas do espectro da RVT.

As principais bandas de absorção da RVT estão sinalizadas no espectro, que correspondem à banda do modo vibracional da ligação N-H na região de número de onda igual a 3350 cm^{-1} , à banda referente à ligação C-H (anel aromático) na região 2950 cm^{-1} , à banda de modo vibracional da ligação C=O na região em torno de $1715 - 1730\text{ cm}^{-1}$ e à banda da ligação C=C na região entre $1400 - 1500\text{ cm}^{-1}$. Pode-se observar o alargamento da banda de vibração da ligação N-H devido à presença de água adsorvida na amostra.

Analisando-se o espectro da mistura física, é possível observar a sobreposição das principais bandas do espectro da RVT no espectro da MMT. Observa-se nitidamente a presença da banda da ligação C=C na região entre $1400 - 1500\text{ cm}^{-1}$ e da banda de modo vibracional da ligação C=O na região em torno de $1715 - 1730\text{ cm}^{-1}$. O aumento observado na banda referente ao estiramento do grupo -OH nas ligações Al-OH e Si-OH nas regiões 3620 e 3698 cm^{-1} da MMT se deve à vibração das hidroxilas da água presentes nas lamelas da argila (SOARES, 2003).

No espectro do nanocompósito selecionado, é possível notar a sobreposição das principais bandas do espectro da RVT com as principais bandas presentes no espectro MMT. Observa-se a banda referente à ligação C=O da RVT (em torno de 1715 cm^{-1}) e, além disso, nota-se a diminuição na intensidade das bandas em 3620 e 3698 cm^{-1} e da banda em 1640 cm^{-1} , que são bandas características da presença de água no interior das lamelas, pelo fato do fármaco ter deslocado as moléculas de água no espaço interlamelar. Através da análise do espectro do nanocompósito, pode-se dizer que a RVT está inserida no interior das lamelas da MMT através de interações intermoleculares fracas, pois não são observadas alterações bruscas no espectro do material produzido, que pode ser considerado como indicativo de intercalação do fármaco no silicato lamelar.

4.2.4 Análise Termogravimétrica

A ATG tem como finalidade avaliar a estabilidade térmica de um material através do monitoramento da perda de massa de produtos degradados em função do aumento da temperatura. Foram obtidas as curvas de decomposição térmica da MMT (Figura 23), RVT (Figura 24) e do nanocompósito selecionado (Figura 25), como forma de comprovação da formação do material.

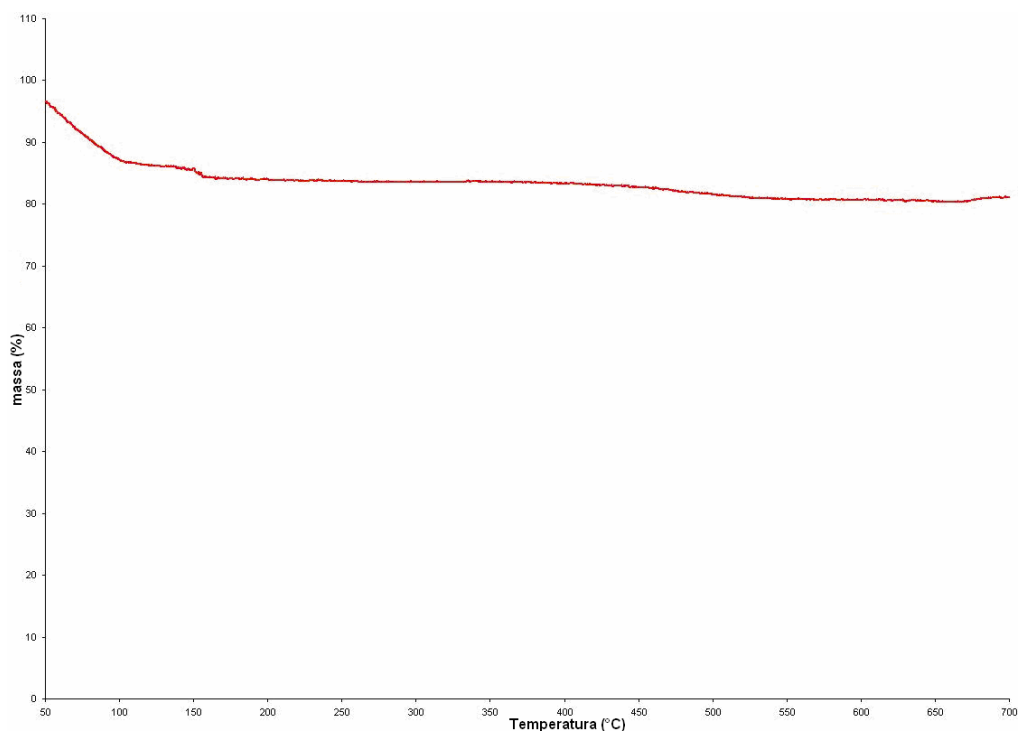


Figura 23: Curva de decomposição térmica da MMT.

Através da análise da curva de decomposição térmica da MMT (figura 23), é observada uma perda de massa na faixa de temperatura entre 50 e 150 °C de aproximadamente 15,0 % da amostra, referente à evaporação de água presente no interior das lamelas da MMT (CAGLAR *et al.*, 2009; JOSHI *et al.*, 2009a).

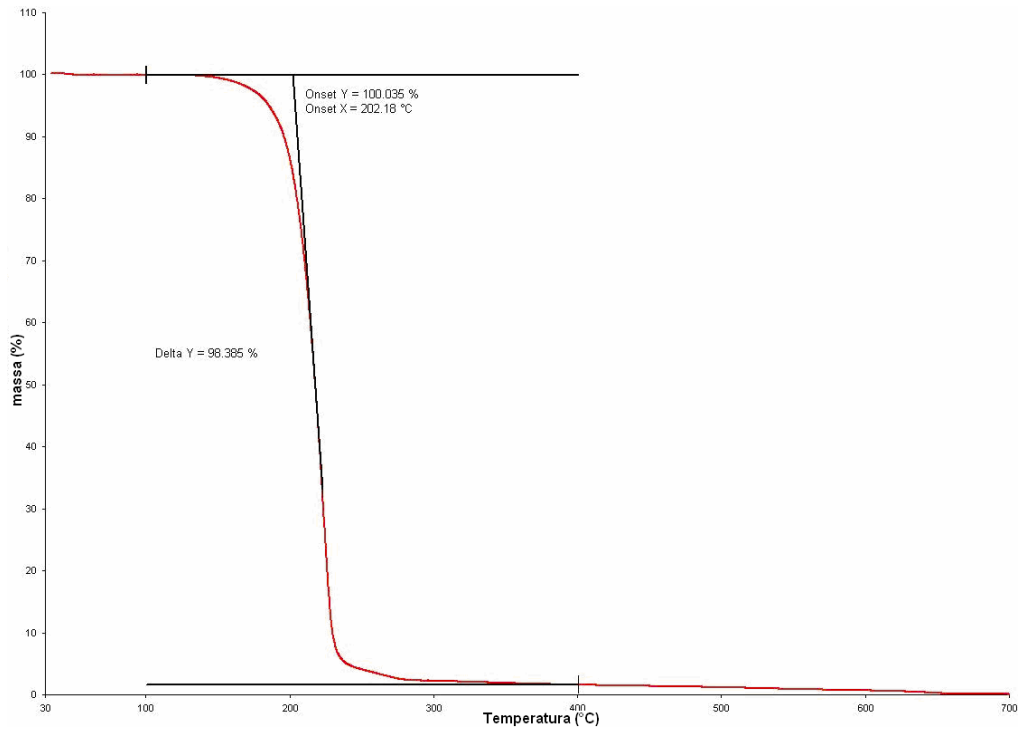


Figura 24: Curva de decomposição térmica da RVT.

Analisando-se a curva de decomposição térmica da RVT (Figura 24), pode-se observar um único evento de degradação, que ocorre na temperatura de 202,18 °C, que compreende a degradação total do fármaco.

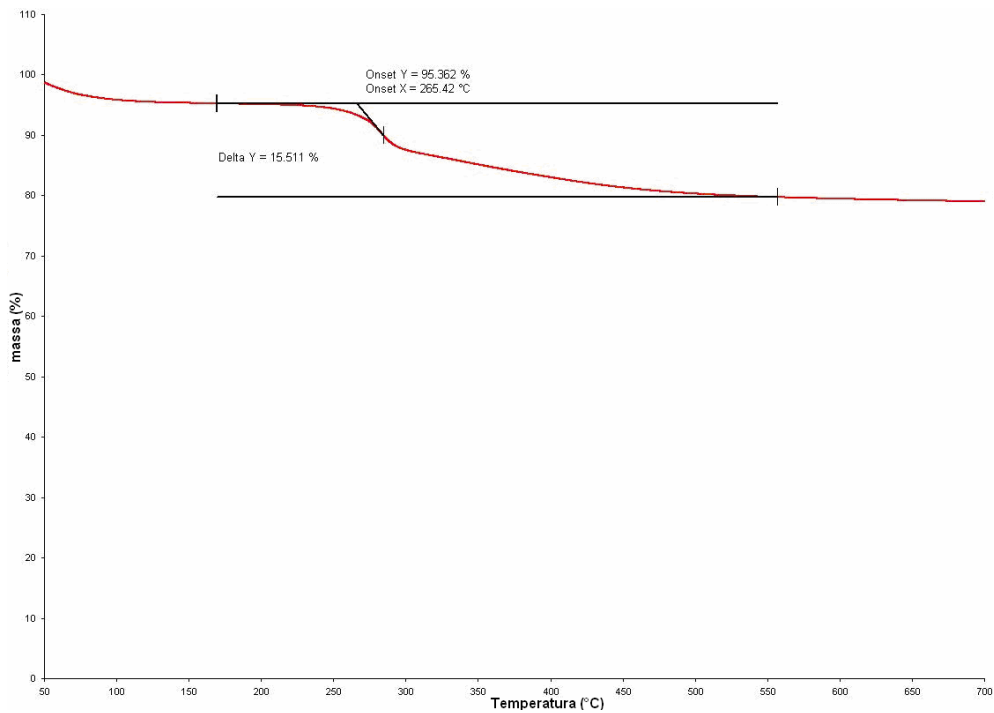


Figura 25: Curva de decomposição térmica do nanocompósito selecionado.

Analisando-se a curva de decomposição do nanocompósito (Figura 25), é observado um evento de degradação de 15,511% do material na faixa de temperatura que se estende de 265,0 até 550,0 °C, valor este mais elevado do que o observado para a degradação da RVT pura. Portanto, pode-se dizer que a RVT intercalada na MMT possui um ganho na estabilidade térmica, o que favorece a utilização do nanocompósito como sistema carreador para a RVT. Esse mesmo evento foi observado por Joshi e colaboradores (2009a) no processo de intercalação do maleato de timolol em MMT, sendo observada degradação do fármaco entre 250 e 800°C nos nanocompósitos produzidos com proporção intercalada de fármaco de 217 mg/g de MMT.

4.3 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS RVT-VS4

O processo de intercalação RVT-VS4 foi efetuado do mesmo modo do que o descrito anteriormente para a MMT, sendo avaliada a influência do tempo reacional e da capacidade de troca catiônica da argila no sucesso do processo. As reações de intercalação foram realizadas em 30 minutos, 1 hora, 24 horas, 48 horas e 72 horas para avaliar a influência do tempo reacional. A avaliação da capacidade de troca catiônica do fármaco foi feita através da preparação dos nanocompósitos em diferentes concentrações do fármaco, sendo que foram testadas as concentrações de 60 mEq RVT / 100g VS4, 100 mEq RVT / 100g VS4 e 120 mEq RVT / 100g VS4. Os nanocompósitos obtidos foram caracterizados de acordo com o rendimento reacional (%), a proporção de RVT no material (mg RVT / g nanocompósito), o espaçamento interlamelar d_{001} (Å) e a variação de espaçamento interlamelar em relação ao espaçamento basal da VS4.

4.3.1 Rendimento

O rendimento reacional (%) foi calculado através da quantificação do fármaco pela leitura do sobrenadante em espectrofotômetro UV-visível no comprimento de

onda de 225 nm, com base na curva de calibração da RVT em 95 partes de metanol para cada 5 partes de água (item 4.1.2).

Na tabela 2 são mostrados os valores de rendimento reacional, proporção de RVT em cada grama de material, espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar em relação ao silicato lamelar puro obtidos para os nanocompósitos de RVT-VS4.

Tabela 2: Resultados de rendimento, proporção de RVT no nanocompósito (mg/g), espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar obtidos para os nanocompósitos RVT-VS4 .

CTC (mg RVT / 100 g VS4)	Tempo reacional	Rendimento (%)	mg RVT / g nanocompósito	Espaçamento interlamelar (Å)	Δd_{001} (Å)
VS4	-	-	-	21,80	-
60	30 min	19,2	28,03	17,63	- 4,17
60	1 hora	23,8	34,51	20,08	- 1,72
60	24 horas	28,9	41,60	19,86	- 1,94
60	48 horas	25,6	37,03	19,00	- 2,80
60	72 horas	-	-	18,80	- 3,00
100	30 min	30,5	70,94	18,80	- 3,00
100	1 hora	26,2	61,55	18,03	- 3,77
100	24 horas	29,4	68,55	17,67	- 4,13
100	48 horas	34,7	79,92	18,80	- 3,00
100	72 horas	27,0	63,31	19,42	- 2,38
120	30 min	29,8	82,17	18,22	- 3,58
120	1 hora	25,6	71,41	15,92	- 5,88
120	24 horas	28,6	79,11	18,60	- 3,20
120	48 horas	27,5	76,31	18,21	- 3,59
120	72 horas	33,8	92,18	18,60	- 3,20

Analisando-se os dados da tabela 2, é possível notar que o perfil de intercalação do fármaco na argila, diferentemente do que ocorrem na intercalação da RVT em MMT, não se mostrou concentração-dependente, pois observa-se a intercalação de cerca de 25,0 – 30% da RVT adicionada independentemente da CTC analisada, embora seja possível observar o aumento da proporção de RVT no nanocompósito conforme o aumento da CTC do silicato lamelar, que possivelmente

ocorre pelo fato da organoargila ser pré-intercalada com íons alquilamônio. A análise de espaçamento interlamelar será realizada no item a seguir (4.3.2).

4.3.2 Difração de Raios-X

Os padrões de difração dos nanocompósitos RVT-VS4 foram agrupados com relação à capacidade de troca catiônica do silicato lamelar avaliado, e são mostrados nas figuras 26, 27 e 28. O padrão de difração da VS4 foi mostrado em todos os grupos de padrão de difração dos materiais, para que estes pudessem ser analisados comparativamente com o padrão de difração da VS4.

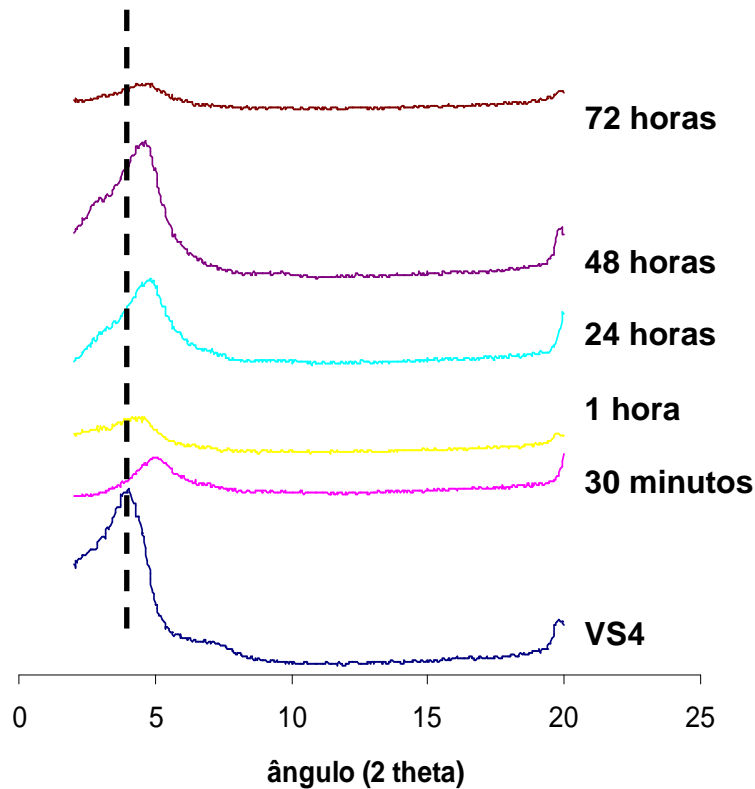


Figura 26: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS4 com capacidade de troca catiônica de 60 mEq RVT / 100 g VS4.

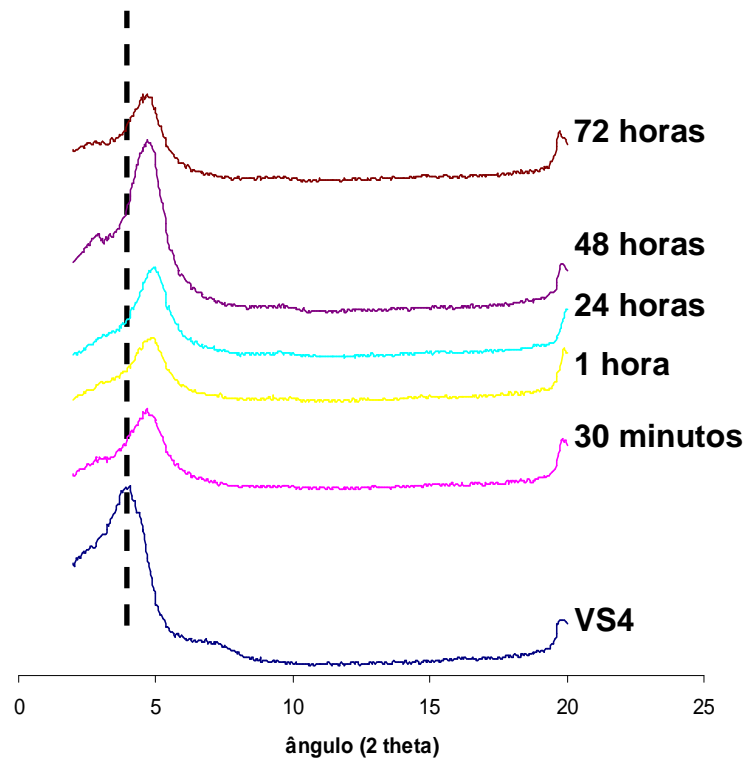


Figura 27: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS4 com capacidade de troca catiônica de 100 mEq RVT / 100 g VS4.

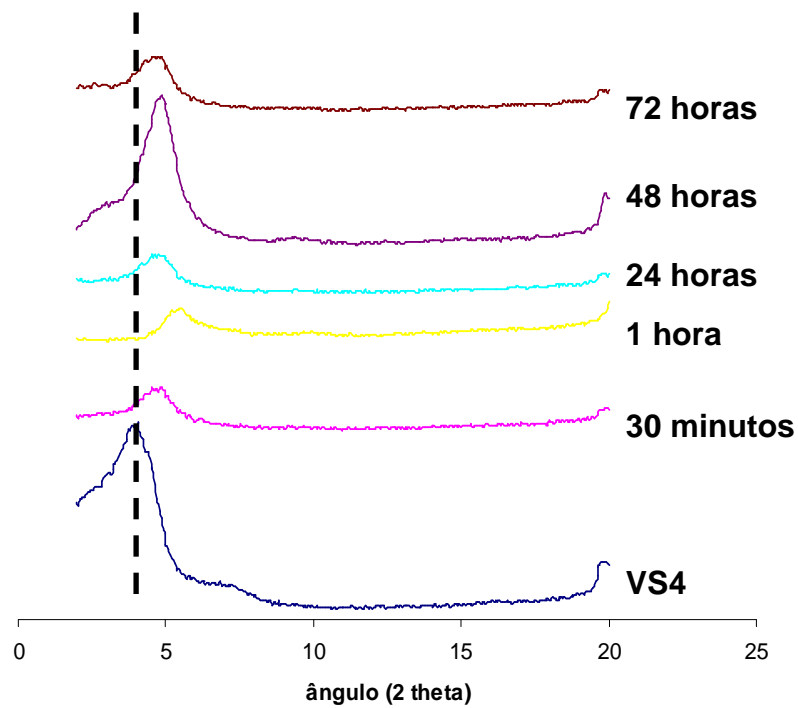


Figura 28: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS4 com capacidade de troca catiônica de 120 mEq RVT / 100 g VS4.

Pode-se observar o aumento evidente nos valores do ângulo 2θ dos picos de difração em todos os nanocompósitos produzidos em relação ao ângulo 2θ da VS4 pura, que indica claramente a diminuição do espaçamento interlamelar em relação ao silicato puro. Esses valores podem ser explicitamente observados pela análise da variação de espaçamento interlamelar dos materiais produzidos em relação ao silicato lamelar puro. Entretanto, não se pode obter nenhuma conclusão da possível correlação entre a quantidade de RVT presente no material e o espaçamento interlamelar observado.

Através da análise desses dados, supõe-se que houve o deslocamento dos íons alquilamônio da VS4 pela RVT, o que justificaria a diminuição do espaçamento interlamelar dos nanocompósitos produzidos. Para confirmar tal suposição, foram selecionados dois nanocompósitos RVT-VS4 para caracterização por IV-TF e DSC. O nanocompósito com CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS4 e tempo reacional de 24 horas, e o nanocompósito com CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS4 e tempo reacional de 30 minutos foram selecionados por possuírem uma maior proporção de RVT no material associada a uma maior diminuição na variação do espaçamento interlamelar em relação à argila pura.

4.3.3 Infravermelho por Transformada de Fourier

A análise de IV-TF foi utilizada para confirmar a suposição de que a RVT teria deslocado os íons dialquil dimetilamônio da VS4, o que justificaria a diminuição do espaçamento interlamelar desses materiais em comparação ao espaçamento interlamelar da argila pura. Foram preparadas pastilhas de KBr a 1,0% de VS4, RVT e dos nanocompósitos selecionados. Os espectros de IV-TF são mostrados na figura 29.

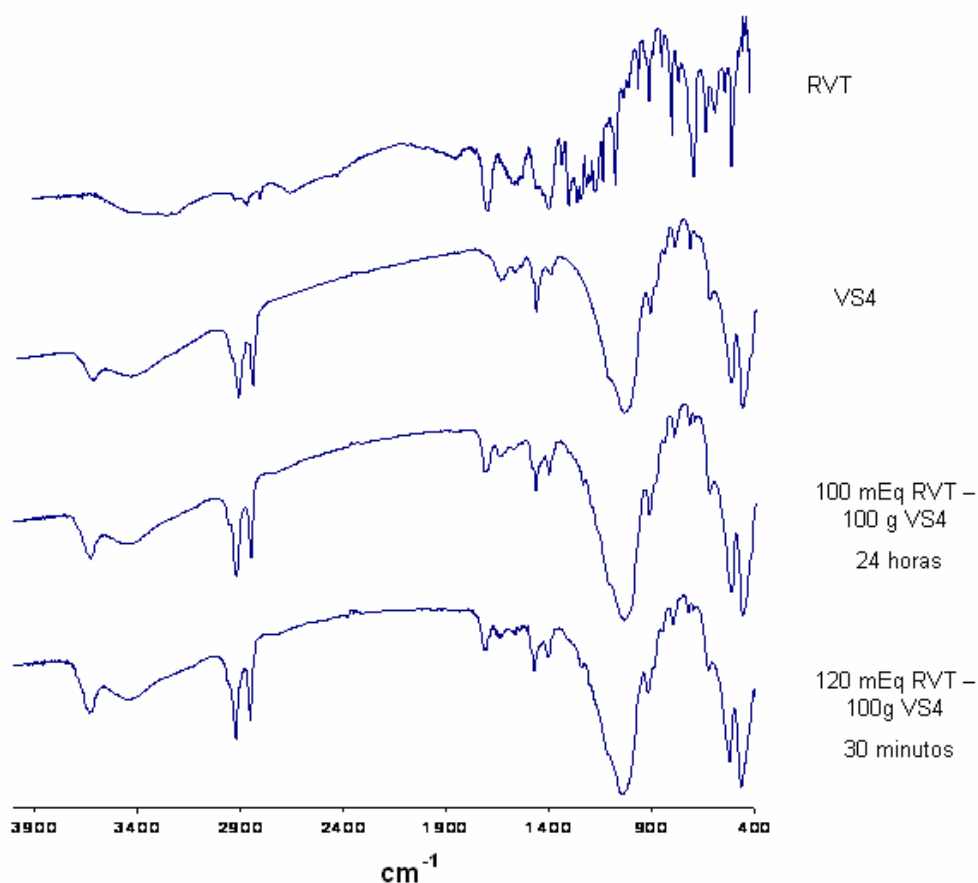


Figura 29: Espectros de IV-TF da RVT, VS4 e dos nanocompósitos selecionados.

Analisando-se o espectro da VS4 é possível observar a presença das principais bandas do material referentes à banda de deformação áxil da ligação Si-OH e Al-OH nas regiões de 3620 e 3698 cm^{-1} , ao estiramento da ligação -OH da água adsorvida no interior das lamelas na região 3235 cm^{-1} , às bandas de vibração simétrica e assimétrica das ligações C-H referentes aos grupos CH_2 e CH_3 nas regiões de 2913 e 2848 cm^{-1} , à banda de deformação angular da ligação N-H na região de 1650 cm^{-1} e à banda de vibração da ligação Si-O-Si na região 1053 cm^{-1} (FROST *et al.*, 2008; PAIVA, MORALES & DIAZ, 2008). As principais bandas da RVT são descritas no item 4.2.3.

Através da análise dos espectros dos nanocompósitos selecionados, é possível observar a sobreposição das bandas do espectro da RVT com as bandas do espectro da VS4. Nota-se a presença das bandas da RVT referentes ao modo

vibracional da ligação C=O na região em torno de $1715 - 1730 \text{ cm}^{-1}$ e a banda da ligação C=C na região entre $1400 - 1500 \text{ cm}^{-1}$. Nota-se ainda a diminuição na intensidade da banda na região de 1650 cm^{-1} referente à deformação angular da ligação N-H do íon alquilamônio, evidenciando que parte destes íons tenham sido trocados pela RVT no espaço interlamelar. Não foram observadas modificações na intensidade das bandas referentes à ligação C-H nas regiões 2913 e 2848 cm^{-1} entre o silicato lamelar e os nanocompósitos pelo fato de que a sobreposição das bandas da RVT com as bandas da VS4 dificulta a análise desta região do espectro para a confirmação da suposição da troca entre o íon alquilamônio e o fármaco no espaço interlamelar.

4.3.4 Calorimetria exploratória diferencial

A técnica de DSC foi utilizada na caracterização dos nanocompósitos produzidos com RVT e argilas organofílicas na tentativa de avaliar os eventos térmicos observados para cada amostra e, dessa forma, tentar elucidar o mecanismo de intercalação da RVT no silicato lamelar. Foram obtidas as curvas de DSC da RVT, da VS4, dos nanocompósitos selecionados e das misturas físicas referentes aos nanocompósitos selecionados (Figuras 30 e 31).

Pela análise da curva de DSC da RVT, é possível observar três eventos térmicos que ocorrem na faixa de temperatura entre 25 e 300°C . O primeiro evento térmico ocorre na temperatura de 100°C e corresponde a evaporação da água adsorvida da amostra. O segundo evento térmico observado ocorre na faixa de temperatura de $120 - 130^\circ\text{C}$ e corresponde à fusão da RVT. O terceiro evento observado é a degradação do fármaco, que ocorre na faixa de temperatura de 200 a 250°C .

Analisando-se a curva de DSC da VS4, dois eventos térmicos principais podem ser observados na faixa de temperatura de 25 a 300°C , que compreendem a dessorção de água e gases da amostra e ocorre na faixa de temperatura de $50 -$

100°C e a decomposição dos surfactantes presentes no espaço interlamelar na faixa de temperatura de 220 a 300 °C (HEDLEY, YUAN & THEN G, 2007; XI *et al*, 2007).

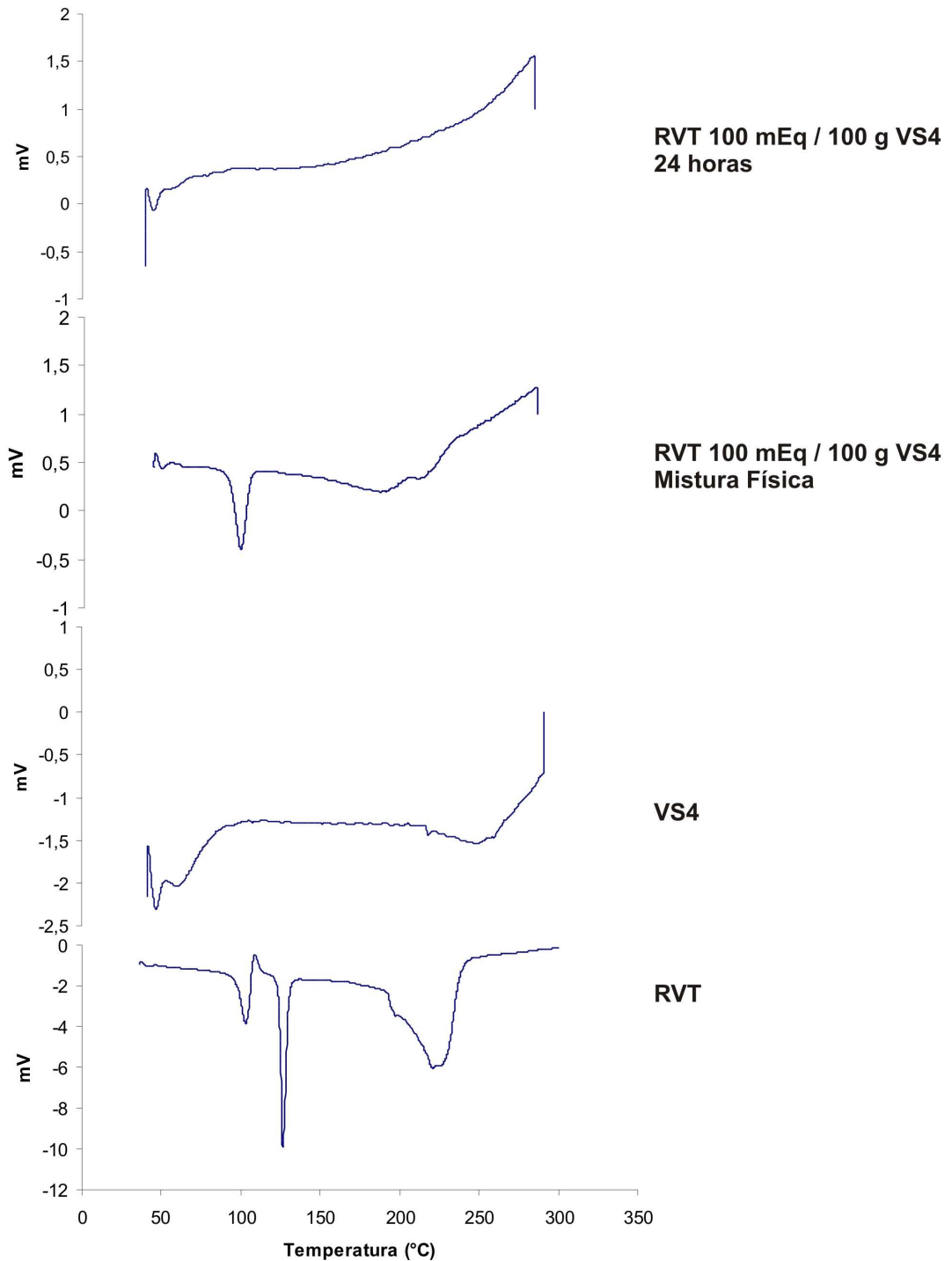


Figura 30: Curvas de DSC da RVT, VS4, da mistura física referente a CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS4 e do nanocompósito com CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS4 e tempo reacional de 24 horas.

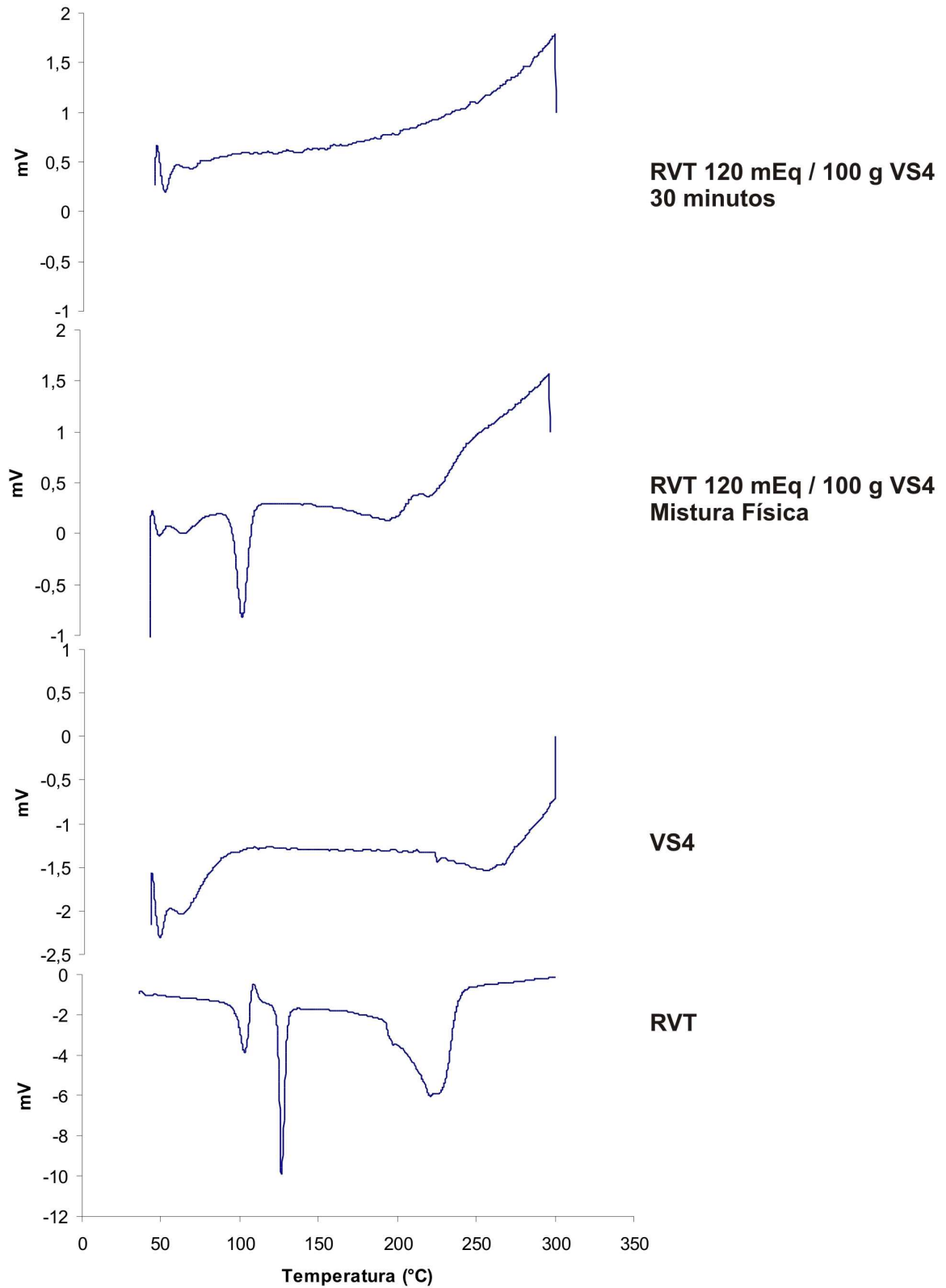


Figura 31: Curvas de DSC da RVT, VS4, da mistura física referente a CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS4 e do nanocompósito com CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS4 e tempo reacional de 30 minutos.

As curvas de DSC das misturas físicas exibem três eventos térmicos. O primeiro evento térmico que pode ser observado é a dessorção de gases e água na temperatura entre 50 e 80°C. O segundo evento térmico corresponde à fusão da RVT na temperatura de 105°C e o terceiro evento térmico que pode ser observado corresponde à sobreposição do evento de decomposição do fármaco concomitante com a decomposição dos íons dialquil dimetilamônio.

Através da análise das curvas de DSC dos nanocompósitos selecionados, pode-se observar o evento de dessorção dos gases e da água adsorvida que ocorre na faixa de temperatura entre 50 e 80 °C e nota-se a ausência do evento térmico referente à decomposição dos íons alquilamônio neste material, indicando a troca entre o fármaco e os íons alquilamônio. Além disso, a ausência de eventos térmicos relacionados ao fármaco na faixa de temperatura analisada confirma o ganho de estabilidade da RVT no material obtido.

4.4 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS RVT-VS7

O processo de intercalação dos nanocompósitos RVT-VS7 foi avaliado do mesmo modo que o descrito anteriormente para os nanocompósitos RVT-VS4. Foram preparados nanocompósitos utilizando as proporções de 60 mEq RVT / 100 g VS7, 100 mEq RVT / 100 g VS7 e 120 mEq RVT / 100 g VS7 nos tempos reacionais de 30 minutos, 1 hora, 24 horas, 48 horas e 72 horas. Os nanocompósitos obtidos foram caracterizados de acordo com o rendimento reacional (%), a proporção de RVT no material (mg RVT / g nanocompósito), o espaçamento interlamelar d_{001} (Å) e a variação de espaçamento interlamelar em relação ao espaçamento basal da VS7.

4.4.1 Rendimento

O rendimento reacional (%) foi calculado através da quantificação do fármaco pela leitura do sobrenadante em espectrofotômetro UV-visível no comprimento de onda de 225 nm, com base na curva de calibração da RVT em 95 partes de metanol para cada 5 partes de água (item 4.1.2).

Na tabela 3 são mostrados os valores de rendimento reacional, proporção de RVT em massa de material, espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar em relação ao silicato lamelar puro obtidos para os nanocompósitos de RVT-VS7.

Tabela 3: Resultados de rendimento, proporção de RVT no nanocompósito (mg/g), espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar obtidos para os nanocompósitos RVT-VS7.

CTC (mEq RVT / 100 g VS7)	Tempo reacional	Rendimento (%)	mg RVT / g nanocompósito	Espaçamento interlamelar (Å)	Δd_{001} (Å)
VS7	-	-	-	19,00	-
60	30 min	21,4	31,16	17,15	- 1,85
60	1 hora	23,8	34,54	18,03	- 0,97
60	24 horas	12,0	17,71	17,49	- 1,51
60	48 horas	37,7	53,63	17,67	- 1,33
60	72 horas	33,4	47,81	17,49	- 0,97
100	30 min	26,6	62,43	16,67	- 2,33
100	1 hora	28,4	66,38	18,03	- 0,97
100	24 horas	27,3	63,97	17,15	- 1,85
100	48 horas	30,9	71,80	17,32	- 1,68
100	72 horas	33,4	77,16	17,32	- 1,68
120	30 min	24,4	68,29	17,85	- 1,15
120	1 hora	19,9	56,41	18,40	- 0,60
120	24 horas	37,9	102,21	17,50	- 1,50
120	48 horas	30,5	83,93	17,50	- 1,50
120	72 horas	32,9	89,94	16,36	- 2,64

Analisando-se os dados da tabela 3, é possível notar que o perfil de intercalação do fármaco na argila não é concentração-dependente, assim como para a organoargila VS4. Observa-se ainda que os nanocompósitos produzidos foram constituídos por uma média de 28,03% da RVT adicionada. A análise de espaçamento interlamelar será realizada no item a seguir (4.4.2).

4.4.2 Difração de Raios-X

Os padrões de difração dos nanocompósitos produzidos também foram agrupados de acordo com a CTC do silicato lamelar e são mostrados nas figuras 32, 33 e 34, junto com o padrão de difração do silicato lamelar puro.

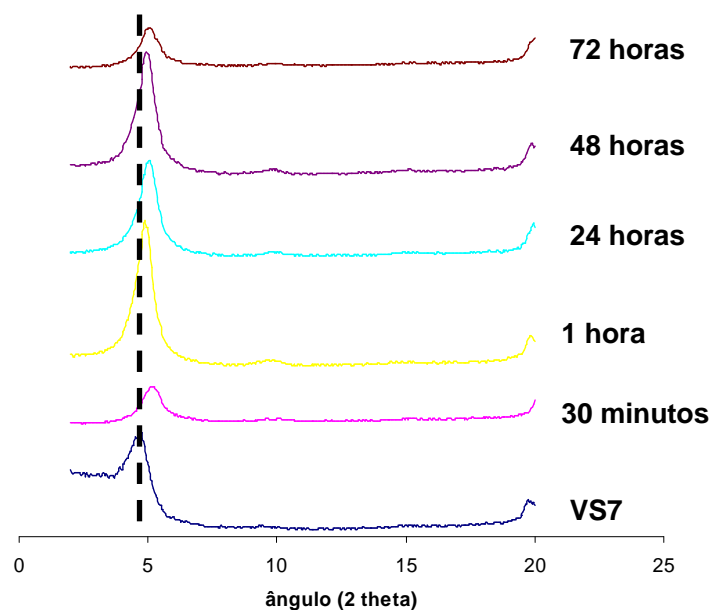


Figura 32: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS7 com capacidade de troca catiônica de 60 mEq RVT / 100 g VS7.

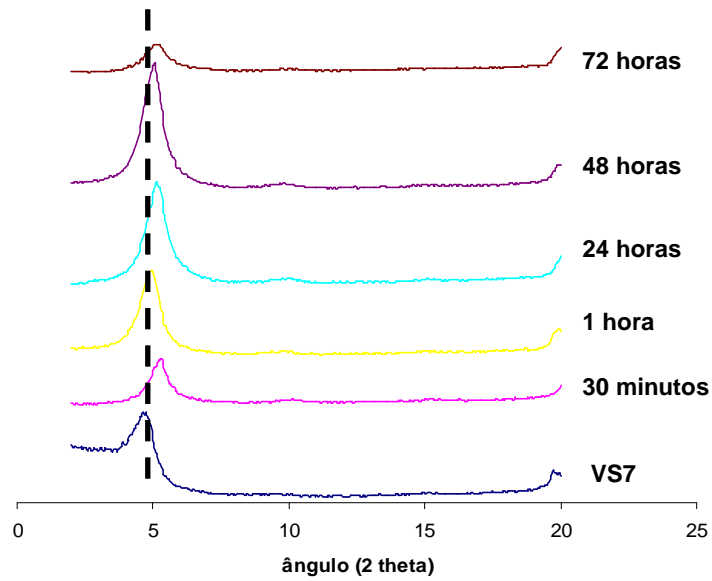


Figura 33: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS7 com capacidade de troca catiônica de 100 mEq RVT / 100 g VS7.

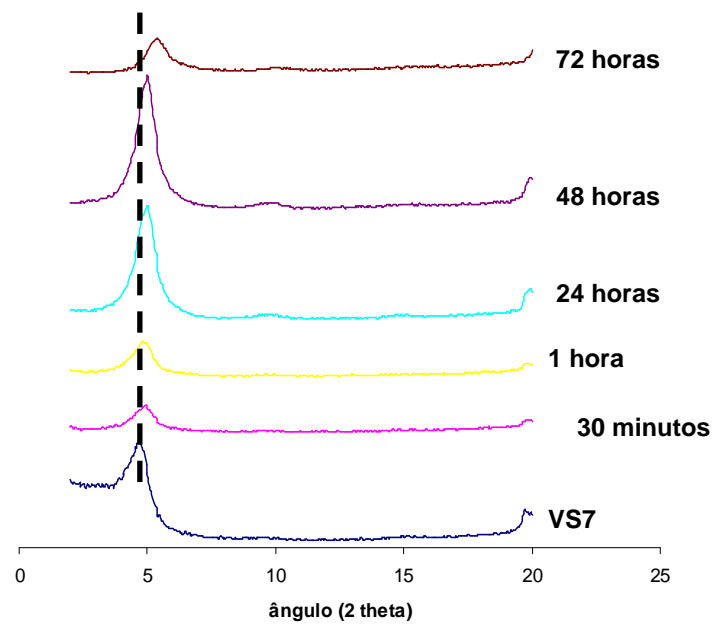


Figura 34: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VS7 com capacidade de troca catiônica de 120 mEq RVT / 100 g VS7.

O espaçamento interlamelar dos nanocompósitos foi calculado com base nos padrões de difração obtidos através da aplicação da equação de Bragg. Pode-se observar o aumento nos valores de ângulo 2θ referente aos picos dos padrões de difração dos nanocompósitos em comparação ao ângulo 2θ da VS7 pura, que indica claramente a diminuição dos valores de espaçamento interlamelar dos materiais.

Foram selecionados os nanocompósitos produzidos com CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS7 e tempo reacional de 30 minutos e CTC de 120 mEq RVT / 100 mEq VS7 e tempo reacional de 72 horas para caracterização por IV-TF e DSC. Esses nanocompósitos foram selecionados por possuírem proporções de fármaco em massa de nanomaterial consideradas efetivas e, também, por possuírem os maiores valores de redução do espaçamento interlamelar com relação ao espaçamento interlamelar da organoargila pura na tentativa de confirmar a suposição proposta para o mecanismo de intercalação da RVT em organoargilas.

4.4.3 Infravermelho por Transformada de Fourier

A análise de IV-TF foi utilizada para caracterização dos nanocompósitos RVT-VS7 selecionados para que as principais bandas de absorção no IV dos materiais fossem analisadas. Foram preparadas pastilhas de KBr a 1,0% com VS7, RVT e com os nanocompósitos selecionados. Os espectros de IV-TF são mostrados na figura 35.

As principais bandas de absorção no IV da argila correspondem à banda de deformação axial da hidroxila estrutural (das ligações Al-OH e Si-OH) na região 3650 cm^{-1} , às bandas de vibração simétrica e assimétrica das ligações C-H referentes aos radicais CH_2 e CH_3 nas regiões de 2913 e 2848 cm^{-1} , à banda de deformação angular da ligação N-H na região de 1650 cm^{-1} , ao estiramento do grupo CH_2 na região 1469 cm^{-1} e à banda de vibração da ligação Si-O-Si na região 1053 cm^{-1} . As principais bandas da RVT foram descritas no item 4.2.3.

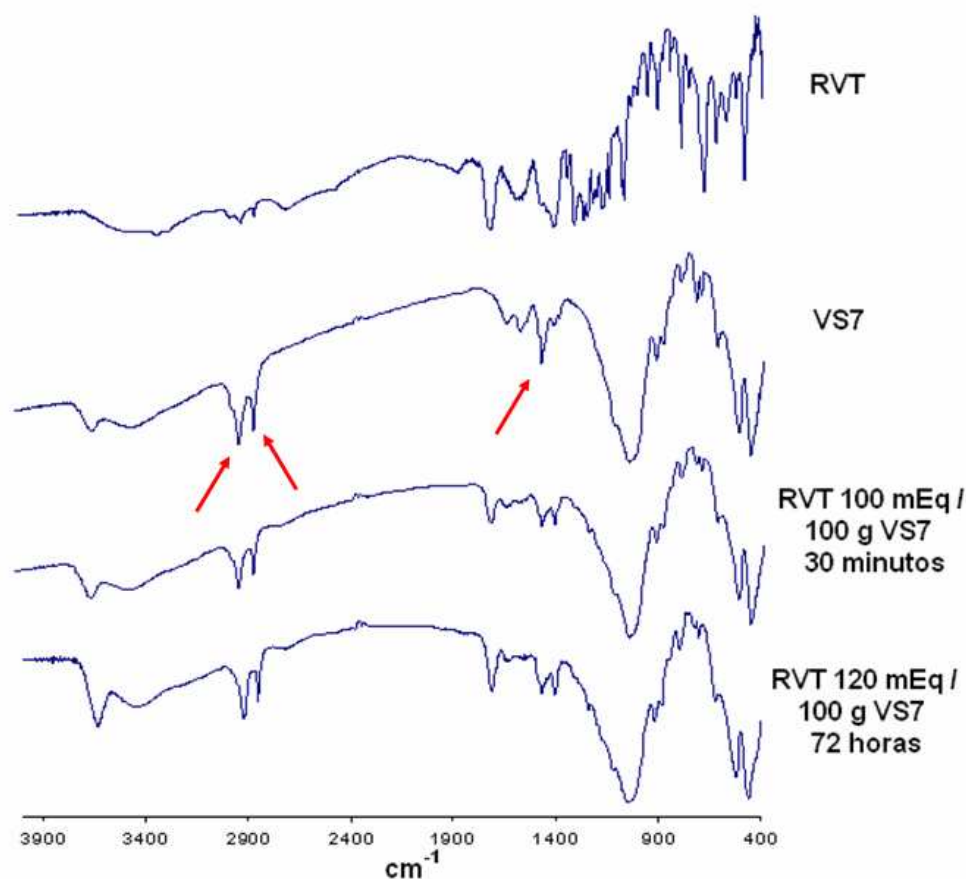


Figura 35: Espectros de IV-TF da argila organofílica VS7 e dos nanocompósitos RVT-VS7 selecionados.

Analisando-se os espectros dos nanocompósitos selecionados, pode-se observar claramente a sobreposição das principais bandas presentes no espectro da RVT com as principais bandas do espectro da VS7. A principal evidência de que a RVT estaria intercalada na organoargila é a presença da banda referente ao modo vibracional da ligação C=O da RVT na região em torno de $1715 - 1730 \text{ cm}^{-1}$. Além disso, é possível notar a diminuição da intensidade das bandas de vibração simétrica e assimétrica das ligações C-H referentes aos grupos CH_2 e CH_3 nas regiões de 2913 e 2848 cm^{-1} e ao estiramento do grupo CH_2 na região 1469 cm^{-1} . Essas bandas são características dos íons alquil dimetil benzilamônio presentes no espaço interlamelar e a diminuição da intensidade dessas bandas corrobora a hipótese do deslocamento dos íons alquilamônio pelo fármaco.

4.4.4 Calorimetria exploratória diferencial

A caracterização por DSC foi utilizada como técnica confirmatória do mecanismo de intercalação da RVT no espaço interlamelar da organoargila, através da análise dos eventos térmicos que ocorrem na faixa de temperatura entre 25 e 300°C. Foram obtidas as curvas de DSC da RVT, da VS7, dos nanocompósitos selecionados e das misturas físicas referentes aos nanocompósitos selecionados (Figuras 36 e 37).

Os eventos térmicos da RVT foram analisados no item 4.3.4. Os eventos térmicos que podem ser observados para a VS7 compreendem a dessorção de gases e água adsorvidas no interior das lamelas da argila, evento que ocorre na faixa de temperatura inicial até 70°C, e a decomposição dos íons alquil dimetil benzilamônio que ocorre na temperatura média de 225°C.

Analisando-se as curvas de DSC das misturas físicas produzidas, pode-se observar os eventos térmicos relacionados com a RVT e também com a argila organofílica. É possível notar a sobreposição do evento de decomposição da RVT e dos íons alquilamônio, pois ambos ocorrem na mesma faixa de temperatura (200 – 250°C).

Ao analisar as curvas de DSC dos nanocompósitos, nota-se a ausência dos eventos relacionados aos íons alquilamônio da argila nos materiais analisados, que confirma a hipótese de que o fármaco no espaço interlamelar do material ocasiona o deslocamento desses íons, expulsando-os da lamela da argila. Além disso, a ausência de eventos térmicos relacionados com o fármaco confirma a melhoria na estabilidade térmica da RVT, provavelmente inclusa em nanocompósitos.

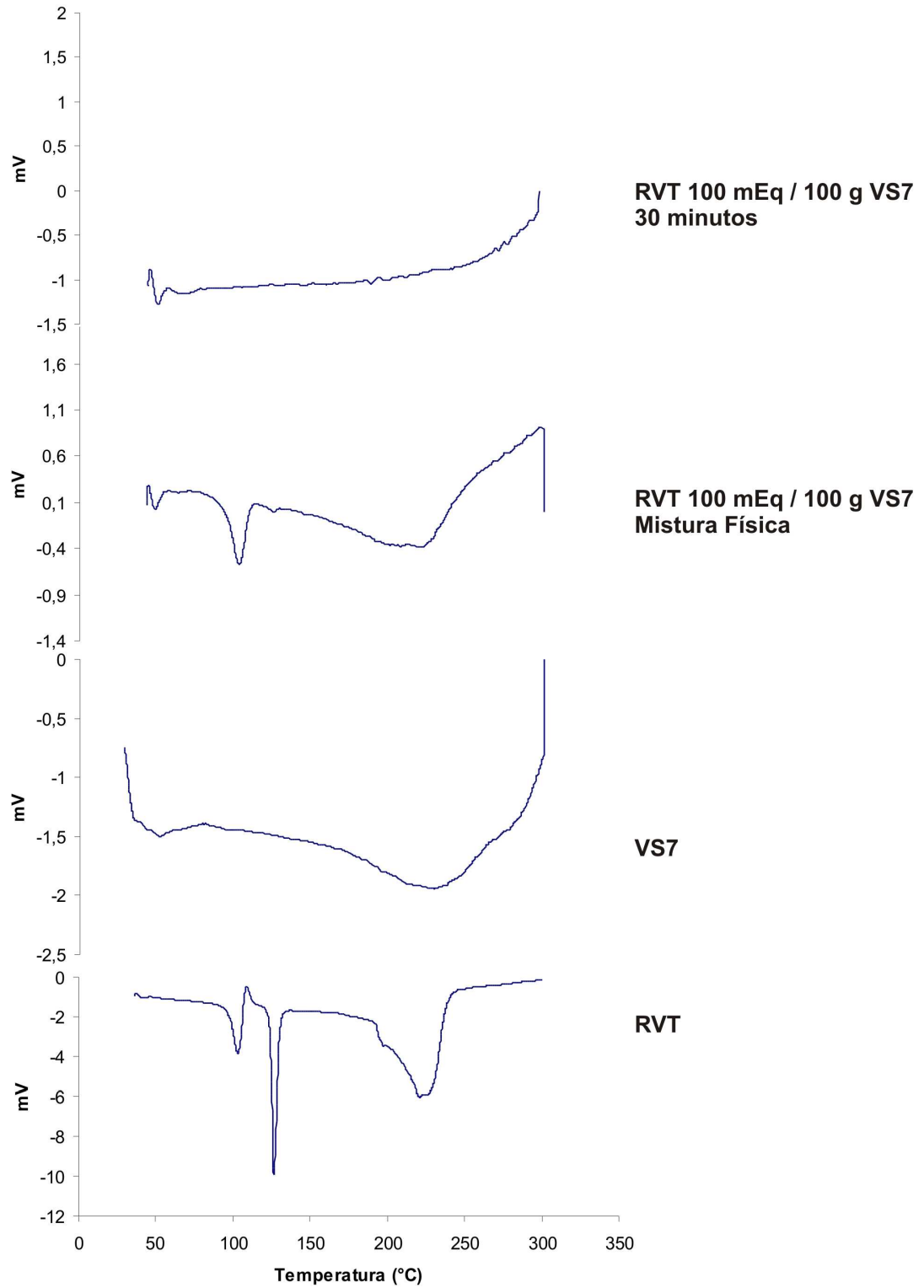


Figura 36: Curvas de DSC da organoargila VS7, da mistura física referente a CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS7 e do nanocompósito com CTC de 100 mEq RVT / 100 g VS7 e tempo reacional de 30 minutos.

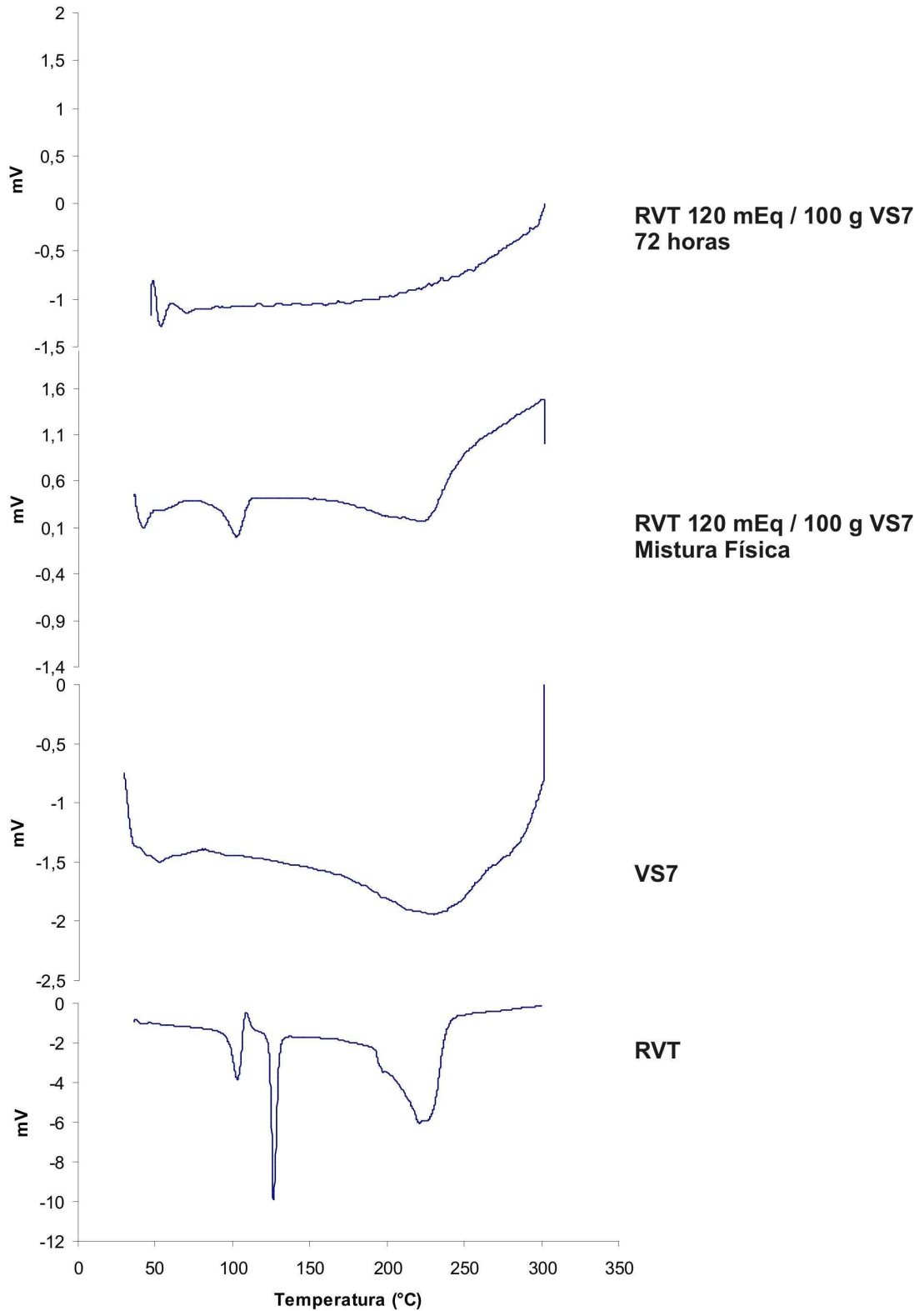


Figura 37: Curvas de DSC da organoargila VS7, da mistura física referente a CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS7 e do nanocompósito com CTC de 120 mEq RVT / 100 g VS7 e tempo reacional de 72 horas.

4.5 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÕES DOS NANOCOMPÓSITOS RVT-VB8

O processo de intercalação dos nanocompósitos RVT-VB8 foi avaliado do mesmo modo que os descritos anteriormente para os nanocompósitos produzidos com as argilas organofílicas estudadas. Foram preparados nanocompósitos utilizando as proporções de 60 mEq RVT / 100 g VB8, 100 mEq RVT / 100 g VB8 e 120 mEq RVT / 100 g VB8 nos tempos reacionais de 30 minutos, 1 hora, 24 horas, 48 horas e 72 horas. Os nanocompósitos obtidos foram caracterizados de acordo com o rendimento reacional (%), a proporção de RVT no material (mg RVT / g nanocompósito), o espaçamento interlamelar d_{001} (Å) e a variação de espaçamento interlamelar em relação ao espaçamento basal da VB8.

4.5.1 Rendimento

Os valores de rendimento reacional, proporção de RVT em cada grama de material, espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar em relação ao silicato lamelar puro obtidos para os nanocompósitos de RVT-VB8 são demonstrados na tabela 4.

O rendimento reacional (%) foi calculado através da quantificação do fármaco pela leitura do sobrenadante em espectrofotômetro UV-visível no comprimento de onda de 225 nm, com base na curva de calibração da RVT em 95 partes de metanol para cada 5 partes de água (item 4.1.2). Apesar do solvente ideal para VB8 ser o tolueno (RODRIGUES, 2010), foi utilizada a mistura de metanol e água em virtude da solubilidade do fármaco neste meio. É possível observar, através da análise dos dados da tabela, o aumento dos valores de proporção da RVT nos materiais produzidos de acordo com o aumento da CTC avaliada. Nota-se ainda, que os valores de espaçamento interlamelar diminuem com o aumento da CTC. Entretanto, não se pode obter nenhuma relação entre o parâmetro tempo reacional e os valores de rendimento e de espaçamento interlamelar.

Tabela 4: Resultados de rendimento, proporção de RVT no nanocompósito (mg/g), espaçamento interlamelar e variação de espaçamento interlamelar obtidos para os nanocompósitos RVT-VB8.

CTC (mEq RVT / 100 g VB8)	Tempo reacional	Rendimento (%)	mg RVT / g nanocompósito	Espaçamento interlamelar (Å)	Δd_{001} (Å)
VB8	-	-	-	27,60	-
60	30 min	17,1	25,06	23,25	- 4,35
60	1 hora	26,2	37,89	22,94	- 4,66
60	24 horas	22,6	32,86	23,88	- 3,72
60	48 horas	20,3	29,61	23,56	- 4,04
60	72 horas	21,3	31,02	22,08	- 5,52
100	30 min	20,8	49,49	24,54	- 3,06
100	1 hora	23,6	55,78	22,94	- 4,66
100	24 horas	18,2	43,58	19,85	-7,75
100	48 horas	24,1	56,90	22,36	- 5,24
100	72 horas	22,5	53,32	21,82	- 5,78
120	30 min	20,5	58,01	23,56	- 4,04
120	1 hora	30,4	83,68	19,64	- 7,96
120	24 horas	18,8	53,46	19,00	- 8,60
120	48 horas	25,4	70,89	20,08	- 7,52
120	72 horas	22,4	63,05	19,63	- 7,79

4.5.2 Difração de Raios-X

Os padrões de difração dos nanocompósitos de RVT-VB8 produzidos a partir da técnica de DRX foram agrupados de acordo com a CTC avaliada. Os dados são expostos nas figuras 38, 39 e 40.

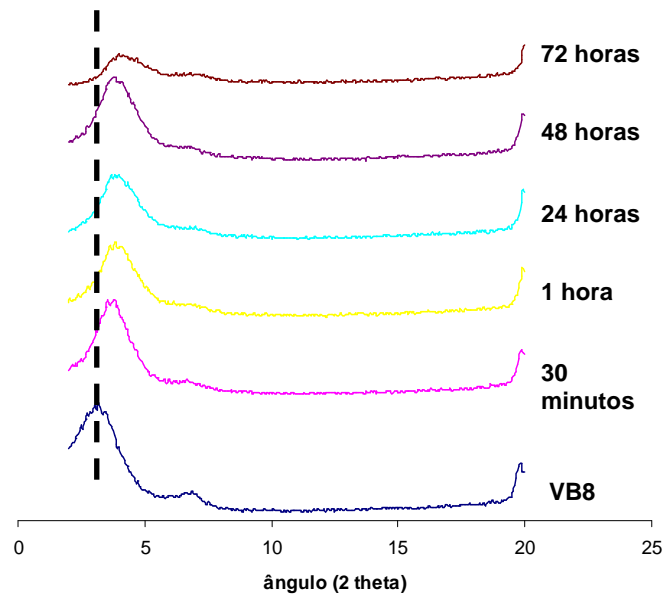


Figura 38: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VB8 com capacidade de troca catiônica de 60 mEq RVT / 100 g VB8.

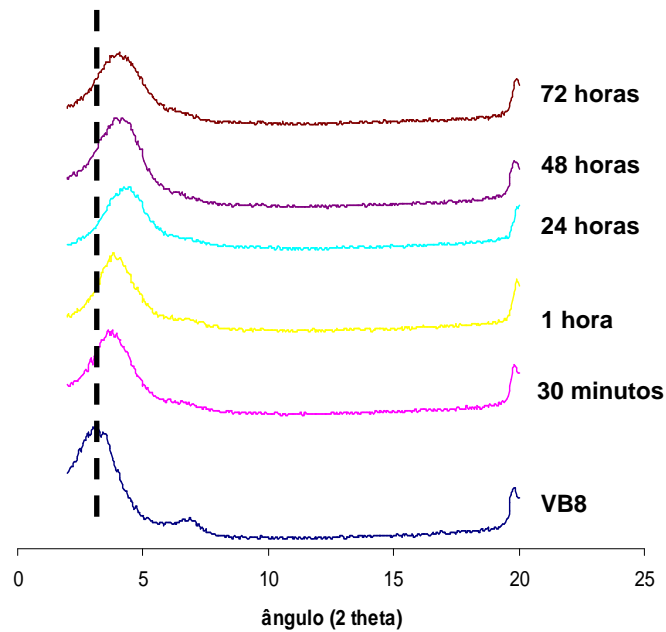


Figura 39: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VB8 com capacidade de troca catiônica de 100 mEq RVT / 100 g VB8.

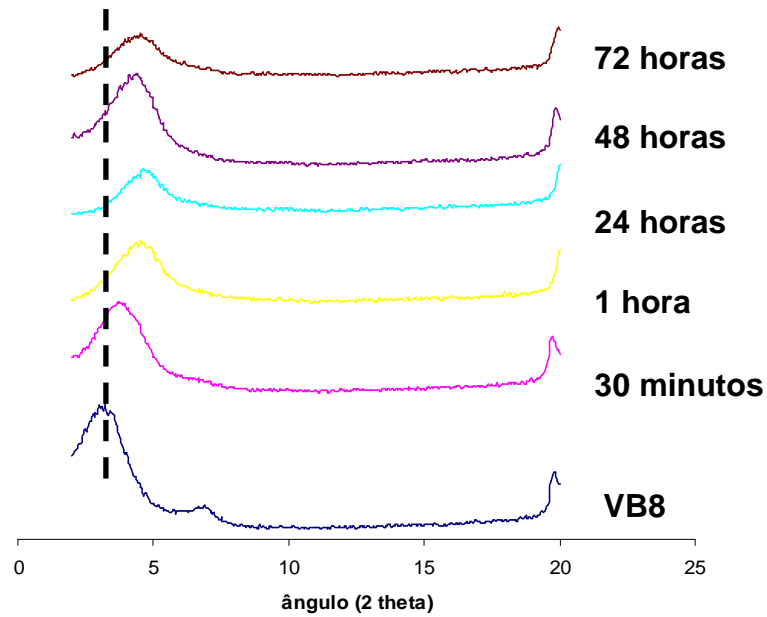


Figura 40: Padrões de difração obtidos para os nanocompósitos RVT-VB8 com capacidade de troca catiônica de 120 mEq RVT / 100 g VB8.

Através da análise dos padrões de difração dos nanocompósitos RVT-VB8, observa-se o aumento nos valores do ângulo 2θ em comparação ao valor do ângulo 2θ da argila pura, que indica claramente a redução dos valores de espaçamento interlamelar dos nanocompósitos de RVT-VB8 em relação ao silicato lamelar. Os valores nominais de espaçamento interlamelar podem ser analisados na tabela 4.

Com base nos resultados de rendimento e espaçamento interlamelar, foram selecionados dois nanocompósitos produzidos para caracterização por IV-TF e DSC. Os nanocompósitos com CTC de 120 mEq RVT / 100 g VB8 e tempos reacionais de 1 e 48 horas foram selecionados por apresentarem os maiores rendimentos reacionais, as proporções de RVT por grama de nanocompósito mais elevadas associados a valores considerados efetivos na redução do espaçamento interlamelar.

4.5.3 Infravermelho por Transformada de Fourier

Foram preparadas pastilhas de KBr a 1,0% com a organoargila VB8, a RVT e com os nanocompósitos selecionados. Os espectros de IV-TF são mostrados na figura 41.

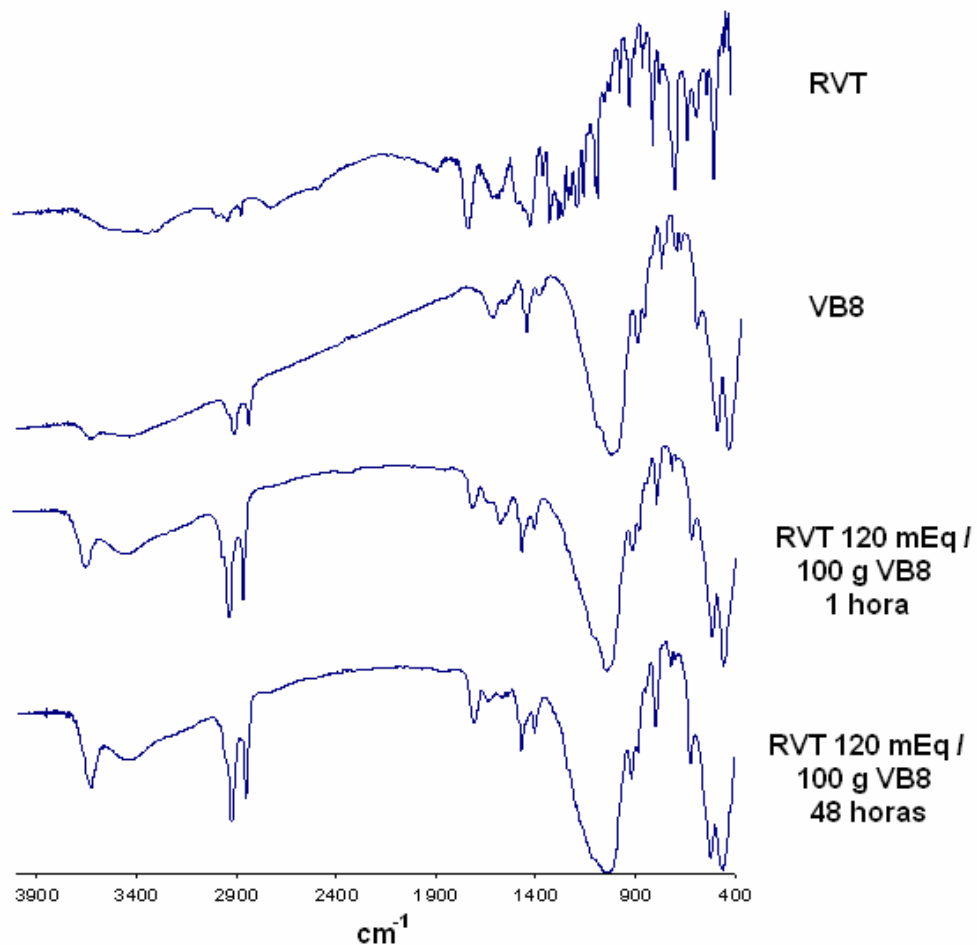


Figura 41: Espectros de IV-TF da organoargila VB8 e dos nanocompósitos RVT-VB8 selecionados.

As principais bandas de absorção da RVT foram analisadas no item 4.2.3. As principais bandas de absorção da VB8 correspondem à banda de deformação áxil da ligação Si-OH e Al-OH nas regiões de 3620 e 3698 cm^{-1} , às bandas de vibração simétrica e assimétrica das ligações C-H referentes aos grupos CH_2 e CH_3 nas

regiões de 2913 e 2848 cm^{-1} , à banda de deformação angular da ligação N-H na região de 1650 cm^{-1} e à banda de vibração da ligação Si-O-Si na região 1053 cm^{-1} .

Através da análise dos espectros de IV-TF dos nanocompósitos nota-se a sobreposição de bandas da RVT com as bandas da VB8. As principais alterações que podem ser observadas e que evidenciam a formação dos nanocompósitos são a presença das bandas referentes à ligação C=O da RVT na região em torno de 1715 cm^{-1} e a diminuição da intensidade da banda de deformação angular da ligação N-H na região de 1650 cm^{-1} , banda característica dos íons dialquil dimetilamônio – 2-propanol. Nota-se ainda o aumento da intensidade das bandas presentes nas regiões de 3620 e 3698 cm^{-1} e das bandas referentes à ligação C-H alifática nas regiões 2820 e 2970 cm^{-1} , evidenciando a saída dos íons alquilamônio do interior das lamelas da organoargila VB8 com a entrada do fármaco.

4.5.4 Calorimetria exploratória diferencial

Os nanocompósitos selecionados foram caracterizados por DSC com a finalidade de se observar o possível mecanismo de intercalação do fármaco no espaço interlamelar da organoargila. Foram obtidas as curvas de DSC na faixa de 25 a 300°C para a VB8 e os nanocompósitos selecionados (Figura 42).

Os eventos térmicos da RVT foram analisados conforme descrito no item 4.3.4. Os eventos térmicos que podem ser observados para a VB8 compreendem a dessorção de gases e água adsorvidas no interior das lamelas da argila, evento que ocorre na faixa de temperatura inicial até 70°C, e a decomposição dos íons dialquil dimetilamônio – 2-propanol que ocorre em ampla faixa de temperatura (entre 120 e 300°C).

Analisando-se as curvas de DSC das misturas físicas produzidas, pode-se observar os eventos térmicos relacionados com a RVT e também com a argila organofílica, eventos estes que também foram observados nas misturas físicas produzidas com todas as argilas organofílicas avaliadas anteriormente.

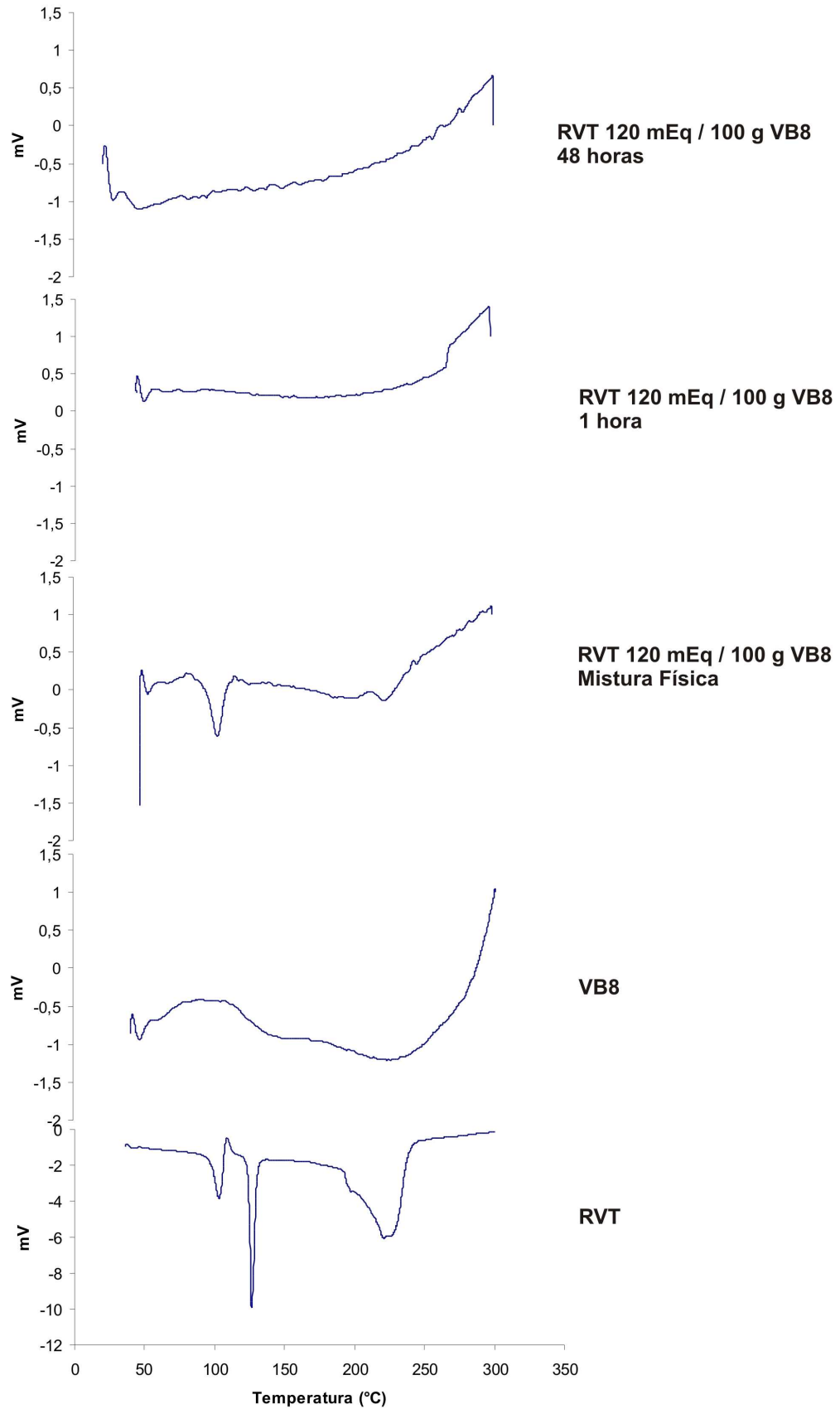


Figura 42: Curvas de DSC da argila organoargila VB8, da mistura física referente a CTC de 120 mEq RVT / 100 g VB8 e dos nanocompósito com CTC de 120 mEq RVT / 100 g VB8 e tempos reacionais de 1 hora e 48 horas.

Ao analisar as curvas de DSC dos nanocompósitos, nota-se a ausência dos eventos relacionados aos íons alquilamônio da argila nos materiais analisados, que confirma a hipótese de que o fármaco no espaço interlamelar do material ocasiona o deslocamento desses íons, expulsando-os da lamela da argila. Além disso, a ausência de eventos térmicos relacionados com o fármaco confirma o ganho na estabilidade térmica da RVT inclusa em nanocompósitos. Estes dados foram observados em todas as organoargilas avaliadas.

4.6 ESTUDO MECANÍSTICO DE INTERCALAÇÃO DA RVT NAS ORGANOARGILAS

Através da caracterização dos nanocompósitos de RVT e organoargila, foi possível inferir a presença do fármaco nos materiais obtidos através da visualização de bandas de absorção no infravermelho características da RVT. Também foi possível notar a diminuição na intensidade das bandas características dos íons alquilamônio nos nanocompósitos produzidos, que sugere o possível mecanismo de intercalação da RVT através do deslocamento dos íons alquilamônio no interior das lamelas da argila. Esse fato pode ser confirmado pela redução nos valores de espaçamento interlamelar dos nanocompósitos comparados aos valores de espaçamento interlamelar dos silicatos lamelares puros e pela ausência de eventos térmicos relacionados aos íons alquilamônio nas curvas de DSC dos nanocompósitos. Em estudo realizado por Dornelas e colaboradores (2008) foi observada uma diminuição de 4,1 Å referente ao efeito do solvente sobre a organoargila VB8 pura, evidenciando uma modificação no rearranjo dos íons alquilamônio no interior das lamelas (LEBARON; WANG & PINNAVAIA, 1999). Em estudos de intercalação de aciclovir e VB8 realizados por Carmo e colaboradores (2008) foi observado um aumento de 10,3 Å no valor do espaçamento interlamelar do nanocompósito em relação ao silicato lamelar puro e também foi possível observar o aumento das intensidades nas bandas de absorção no IV-TF referentes aos íons alquilamônio no material, sugerindo a presença dos íons alquilamônio no nanocompósito. Em estudos de intercalação de octildimetil PABA e metilantranilato em VB8 realizados por Soares (2003), também foram observados aumentos no

espaçamento interlamelar dos nanocompósitos produzidos em relação ao silicato lamelar puro, evidenciando-se, novamente, a permanência dos íons alquilamônio no espaço interlamelar dos nanocompósitos.

O mecanismo de intercalação da RVT nas argilas organofílicas pode ser explicado em função das características estruturais da molécula e também em relação a sua característica anfipática (GROSSBERG, SADOWSKY & OLIN, 2010). Sabe-se que o processo de intercalação da RVT ocorre através de interações intermoleculares da amina terciária do fármaco com a superfície de carga negativa presente nas lamelas. Pelo fato da amina terciária da RVT não estar diretamente ligada ao anel aromático presente na estrutura, conseqüentemente a carga positiva da amina não sofre deslocalização pelo anel aromático, o que facilita a interação com as lamelas da argila. Pode-se propor, ainda, a formação de complexo através de uma quelação entre o fármaco e os possíveis íons presentes, que seria responsável pela saída dos íons alquilamônio e pela formação de uma estrutura estável com o fármaco. Esse evento já foi relatado por alguns pesquisadores, envolvendo intercalação de sais de amina poliméricos (LIN, HSU & WEI, 2006) e poli (óxido propileno) segmentado com ácido carboxílico (LIN, CHANG & CHENG, 2004). São necessários estudos envolvendo modelagem molecular para uma melhor elucidação do mecanismo de intercalação proposto da formação de nanocompósitos de RVT e argilas organofílicas.

4.7 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES ORAIS DE RVT

4.7.1 Linearidade do método de quantificação por espectrofotometria de fluorescência

A metodologia de quantificação da RVT por espectrofotometria UV-vísivel foi testada empregando-se os mesmos parâmetros utilizados para quantificação do fármaco nos experimentos de intercalação (Itens 3.2.2.1 e 3.2.2.2). Esta metodologia não se mostrou eficiente para quantificação do ativo nas formulações, pois alguns dos excipientes utilizados no desenvolvimento das formulações absorviam no

mesmo comprimento de onda (225 nm) do ativo. Sendo assim, foi proposta a utilização da espectrofotometria de fluorescência para quantificação da RVT nos ensaios de dissolução.

A linearidade do método de quantificação da RVT por espectrofotometria de fluorescência foi obtida com base no valor do coeficiente de correlação linear entre as concentrações das soluções do fármaco nos meios de dissolução SGS e SES e as respectivas intensidades de fluorescência obtidas.

A figura 43 mostra o espectro de fluorescência da RVT no meio de SGS no comprimento de onda de excitação a 223,0 nm e comprimentos de onda de emissão entre 220,0 a 350,0 nm das soluções de concentração 2,5 µg/mL, 5,0 µg/mL, 10,0 µg/mL, 15,0 µg/mL, 20,0 µg/mL e 25,0 µg/mL.

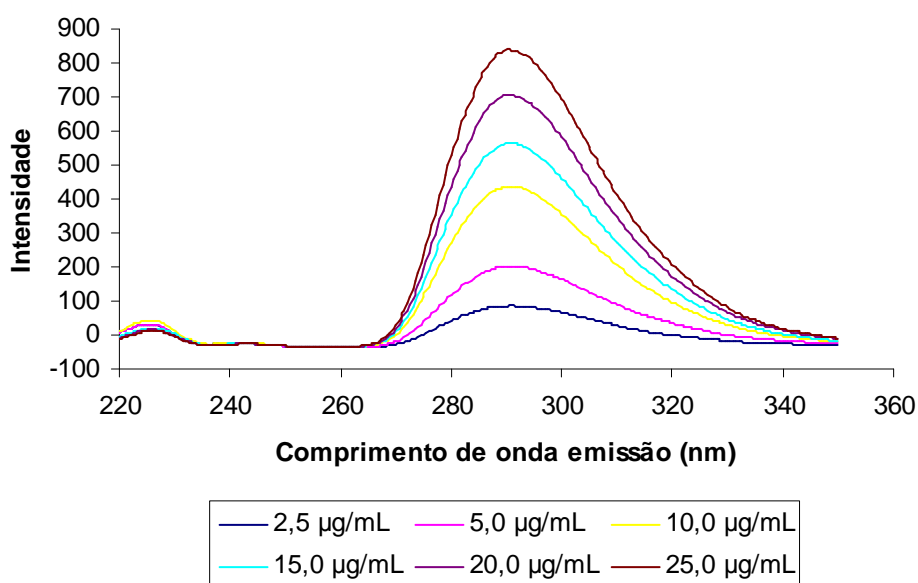


Figura 43: Espectros de fluorescência da RVT no meio de SGS.

Com base nos espectros foi traçada a curva de calibração da RVT no meio de SGS (Figura 44) utilizando o comprimento de onda de emissão máximo observado (290 nm) nos espectros das soluções.

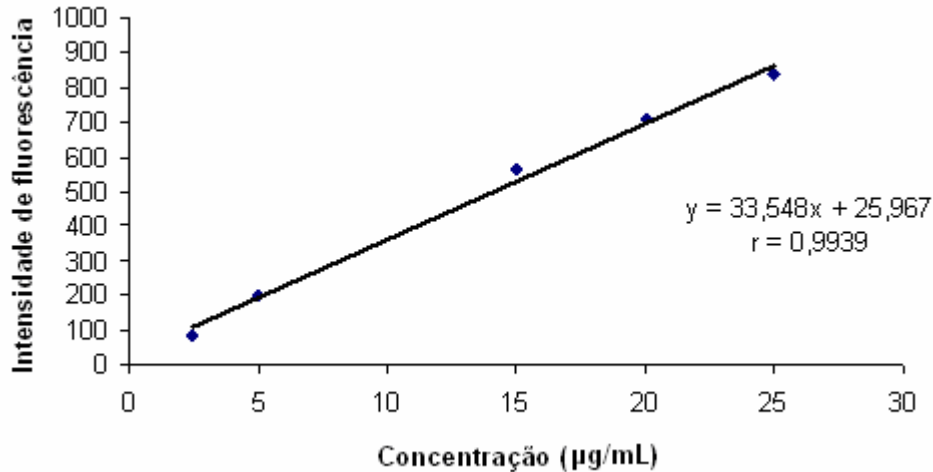


Figura 44: Curva de calibração da RVT em SGS.

A equação da reta originada é definida como $y = 33,548x + 25,967$ com valor de coeficiente de correlação linear $r = 0,9939$. A RE 899 de 2003 preconiza que o valor de r seja maior do que 0,99 como critério de aceitação do método.

Foi obtida também a curva de calibração da RVT no meio de SES (Figura 45) através das leituras em espectrofotômetro de fluorescência das soluções com concentrações de 0,1 µg/mL, 0,2 µg/mL, 2,5 µg/mL, 5,0 µg/mL, 10 µg/mL e 15 µg/mL.

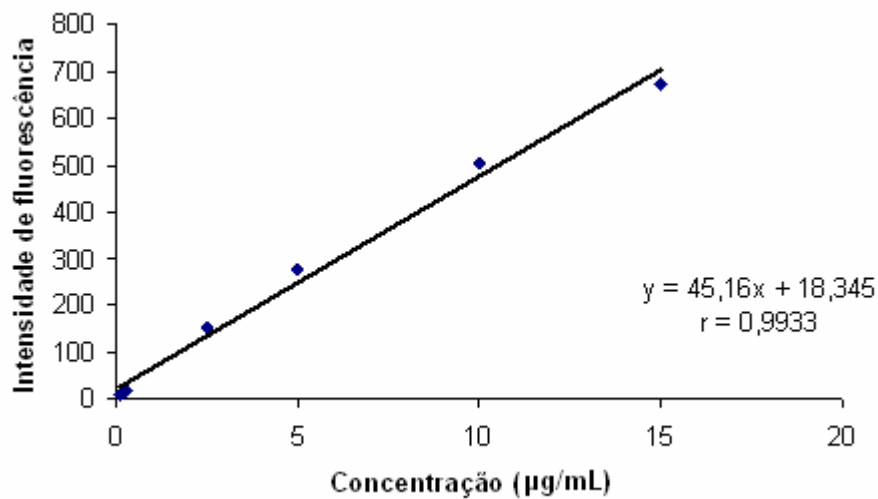


Figura 45: Curva de calibração da RVT em SES.

A equação da reta originada é definida como $y = 45,16x + 18,345$, com valor de coeficiente de correlação linear $r = 0,9933$. O método mostrou-se linear para a determinação da concentração da RVT nos ensaios de dissolução utilizando o meio de SES.

Foi observada, portanto, a linearidade dos métodos para detecção e quantificação do fármaco. Foram preparadas soluções em meios de SGS e SES contendo uma amostra placebo, para que fossem avaliadas as possíveis interferências dos excipientes nas leituras. Entretanto, as soluções não emitiram fluorescência nos comprimentos de onda avaliados, mostrando a adequabilidade do método nos ensaios realizados.

4.7.2 Preparação e caracterização da formulação de liberação imediata de RVT

As formulações de liberação imediata e de liberação prolongada de RVT foram produzidas com a dose diária máxima de 12,0 mg de fármaco recomendada (WILLIAMS, NAZARIANS & GILL, 2003), e possuindo como base a formulação do medicamento de referência Exelon®, visto que a formulação de referência possui em sua composição os excipientes gel de sílica coloidal anidra, hipromelose, estearato de magnésio, celulose microcristalina, óxido de ferro amarelo, óxido de ferro vermelho dióxido de titânio e gelatina (NOVARTIS PHARMA). A formulação A produzida é descrita na tabela 5, em que são apresentados os volumes aparentes de cada componente da formulação, utilizados na avaliação da quantidade de celulose microcristalina empregada e, também, na determinação do tamanho proposto da cápsula.

Tabela 5: Formulação A obtida para as cápsulas de liberação imediata de RVT.

Matéria-prima	Massa (mg)	Volume aparente (mL/g)	Volume (mL)
Rivastigmina tartarato (equivalente a 12,0 mg de RVT base)	19,2 mg	3,2	0,06144
Celulose microcristalina M102	100,3 mg	2,3	0,23076
Sódio amido glicolato	3,2 mg	1,3	0,00416
Estearato de magnésio	1,07 mg	3,4	0,003638
Aerosil	0,53 mg	-	-
Cápsula gelatinosa n°3		-	-
Peso Médio Teórico	124,3 mg	-	0,30000

O peso médio da formulação foi calculado, com valor nominal de 118,3 mg, com desvio-padrão de 4,1 mg e desvio-padrão relativo de 3,44%. Estes valores estão em conformidade com a descrição da Farmacopéia Brasileira Edição IV.

Os dados obtidos no ensaio de dissolução em SGS são expressos na tabela 6 e na figura 46.

Tabela 5: Dados de liberação da formulação A de liberação imediata de RVT em meio de SGS.

Tempo (minutos)	Liberação 1 (%)	Liberação 2 (%)	Liberação 3 (%)	Liberação média (%)	DP	DPR
10	60,13965	66,92316	60,61104	62,557	3,78772	6,05483
20	68,5834	70,06411	67,2915	68,646	1,387376	2,021059
30	70,5689	71,66393	68,66665	70,229	1,516646	2,159572
40	70,19454	72,56746	68,68753	70,482	1,956002	2,775179
50	71,86185	74,53199	72,4157	72,936	1,409201	1,932107
60	71,99035	74,05515	71,97898	71,341	1,195408	1,675626
70	73,46153	75,51873	72,8922	73,957	1,38172	1,868275
80	73,23811	75,13133	74,30802	74,226	0,94928	1,278904
90	74,52383	73,81462	74,0683	74,135	0,359357	0,484734
100	76,2537	73,81809	74,59821	74,89	1,243749	1,660767
110	75,00399	74,21477	74,63991	74,619	0,395006	0,529364
120	75,15985	73,75782	73,80327	74,24	0,796663	1,073091

DP = Desvio-padrão; DPR = Desvio-padrão relativo

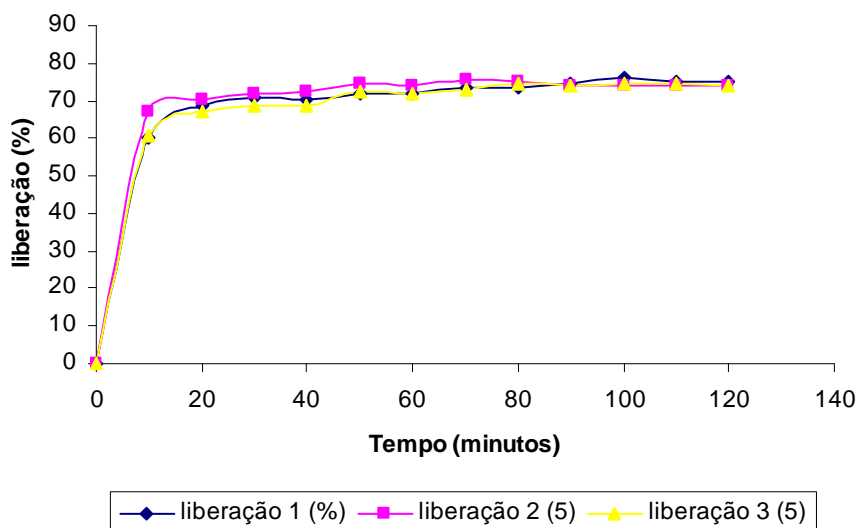


Figura 46: Perfil de liberação da formulação A de liberação imediata de RVT em meio de SGS.

Analisando-se os dados de liberação da RVT na formulação de liberação imediata, pode-se observar a liberação de 60,0% da RVT nos primeiros 10 minutos de tempo decorrido do ensaio. É possível notar também que a liberação média da RVT no intervalo de tempo de duas horas foi de 74,2%. A liberação incompleta do ativo pela formulação ocorreu, provavelmente, em função da escolha dos excipientes, devendo-se acrescentar um desintegrante não-iônico na fórmula. O ativo, por ser de classificação biofarmacêutica tipo I (AMIDON *et al.*, 1995), deveria ter liberação da formulação de 85,0% em menos de 15 minutos. Todavia, a formulação se mostrou efetiva em termos comparativos como de liberação imediata.

Considerando o insucesso da formulação oral de liberação imediata de RVT, foi proposta a formulação E, descrita na tabela 7, utilizando cápsulas gelatinosas duras nº3, para que o problema de liberação do ativo fosse solucionado.

Tabela 7: Formulação E de liberação imediata de RVT.

	Matéria-prima	Massa (mg)
Fase Interna	Tartarato de rivastigmina	23,16
	Celulose Microcristalina M 102	78,50
	Dióxido de silício coloidal	0,51
	HPMC 3 cps	0,51
Fase Externa	Estearato de magnésio	0,84
	Celulose Microcristalina M 102	24,09
	Dióxido de silício coloidal	0,27
Peso Médio		130,44

Foram realizados os ensaios de doseamento e dissolução com a formulação. O teor de ativo presente na formulação calculado foi de 101,2% com valor de desvio-padrão relativo igual a 0,87%. O ensaio de dissolução mostrou uma liberação de 86,4% de RVT em minutos e 101,3%, com valor de desvio-padrão relativo de 5,87% ao final do ensaio. Também foram realizados testes de estabilidade acelerada em 3 e 6 meses com a formulação proposta na condições de armazenamento de $40,0 \pm 2,0$ °C de temperatura e $75,0 \pm 5,0\%$ de umidade relativa conforme descrito na Resolução nº 01 de 2005. O teor da formulação no terceiro mês de estabilidade analisado foi de 99,8% com desvio-padrão relativo de 0,47%. O ensaio de dissolução mostrou uma liberação de 100,1%, com valor de desvio-padrão relativo de 4,92%. No sexto mês do teste de estabilidade, a formulação apresentou valor de teor igual a 98,4%, com desvio-padrão relativo de 0,73%. O ensaio de dissolução mostrou liberação de 98,4% de ativo com desvio-padrão relativo igual a 5,77%.

4.7.3 Preparação e caracterização das formulações de liberação prolongada de nanocompósitos RVT-MMT

O desenvolvimento de uma formulação oral de liberação prolongada da RVT possui diversas vantagens, como por exemplo, a redução de efeitos adversos, a manutenção dos níveis ótimos do fármaco em circulação e a diminuição da necessidade da administração de múltiplas doses diárias (LEFÈVRE *et al.*, 2008), além de uma melhor aderência dos pacientes ao tratamento (BASSIL & GROSSBERG, 2009). A princípio, foi proposta uma formulação oral contendo os

nanocompósitos RVT-MMT que foram selecionados como ideais e devidamente caracterizados, além dos excipientes propostos, para que fossem avaliadas as propriedades de liberação da RVT pelo nanocompósito. A formulação B obtida é descrita na tabela 8. Com base nos valores de volume aparente dos componentes da formulação, foi calculada a quantidade de celulose microcristalina M102 utilizada, assim como o tamanho da cápsula proposto.

Tabela 8: Formulação B obtida para as cápsulas contendo nanocompósitos de RVT-MMT.

Matéria-prima	Massa (mg)	Volume aparente (mL/g)	Volume (mL)
Nanocompósito RVT-MMT (equivalente a 12,0 mg de RVT base)	91,9 mg	1,5	0,1378
Celulose microcristalina M102	67,1 mg	2,3	0,1544
Sódio amido glicolato	3,2 mg	1,3	0,00416
Estearato de magnésio	1,07 mg	3,4	0,003638
Aerosil	0,53 mg	-	-
Cápsula gelatinosa n°3		-	-
Peso Médio Teórico	163,8 mg	-	0,3000

O peso médio calculado da formulação B foi de 165,8 mg, com desvio-padrão de 4,6 mg e desvio-padrão relativo de 2,726%. O perfil de liberação da formulação em SGS é demonstrado na tabela 9 e na figura 47.

Tabela 9: Dados de liberação da formulação B contendo nanocompósitos RVT-MMT.

Tempo (minutos)	Liberação 1 (%)	Liberação 2 (%)	Liberação 3 (%)	Liberação média	DP	DPR
10	13,280	21,855	17,862	17,666	4,29087	24,28886
20	31,302	47,258	37,409	38,656	8,050799	20,82678
30	45,941	56,602	45,161	49,235	6,392206	12,98314
40	52,205	59,433	51,525	54,388	4,382595	8,058068
50	57,619	62,700	52,179	57,499	5,261521	9,150577
60	57,867	64,739	57,34	59,982	4,128101	6,882233
70	62,116	68,490	60,919	63,842	4,069822	6,374869
80	62,805	72,362	65,203	66,790	4,972222	7,44456
90	66,533	72,341	70,505	69,793	2,968741	4,253637
100	70,765	76,483	73,316	73,521	2,864525	3,896182
110	72,326	66,828	74,714	71,289	4,043916	5,67254
120	69,940	77,812	77,888	75,213	4,566999	6,07206

DP = Desvio-padrão; DPR = Desvio-padrão relativo

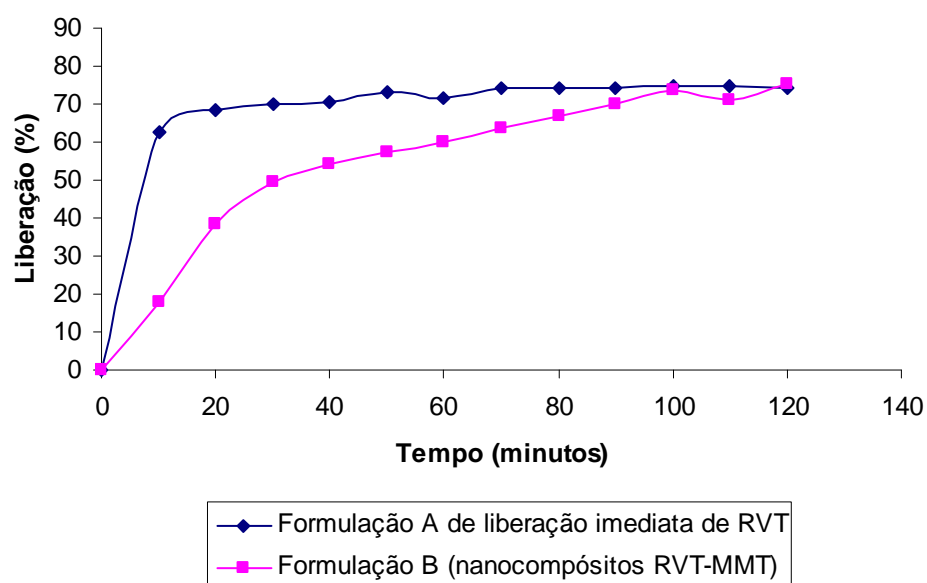


Figura 47: Perfil de liberação da formulação B de nanocompósitos de RVT-MMT em SGS.

Os dados de liberação da formulação B mostram que a intercalação da RVT na MMT gera a liberação do fármaco de maneira gradual quando comparado ao perfil de liberação da formulação de liberação imediata. No entanto, esse perfil não se

adequa ao perfil esperado de liberação prolongada para a formulação de RVT, pois no intervalo de tempo de 100 minutos, a porcentagem de liberação do fármaco se iguala a porcentagem de fármaco liberada pela formulação de liberação imediata de RVT, atingindo o *plateau*. O mecanismo de liberação do fármaco nos fluidos biológicos baseia-se na troca iônica entre os íons presentes nos fluidos biológicos e o fármaco em questão presente na argila, fazendo com que o fármaco seja liberado aos poucos para ser absorvido (AGUZZI *et al.*, 2007). Entretanto, esse mecanismo de liberação da RVT inclusa nos nanocompósitos de MMT ocorre rapidamente. Em estudos realizados por Carmo e colaboradores (2008) com nanocompósitos de aciclovir, fármaco de classe II, foi observada a liberação de somente de 10,0% do ativo intercalado em MMT no intervalo de tempo de 2 horas e de apenas 2,0% do ativo incluso em VB8 no mesmo intervalo de tempo. Isto ocorre pelo fato do aciclovir interagir fortemente com as lamelas da argila, dificultando não só a remoção dos íons alquilamônio da organoargila, como a liberação do ativo do espaço interlamelar. De toda a forma, a inclusão da RVT no silicato lamelar gerou um retardo na dissolução.

Com base nos resultados de liberação obtidos para a formulação B, foi proposta uma nova formulação contendo nanocompósitos RVT-MMT sob a forma de grânulos matriciais. Os grânulos foram produzidos por via úmida, utilizando monoestearato de glicerila como aglutinante e que tem como função na formulação a formação de matriz de liberação de fármacos, e solução granulante de HPMC a 0,5% p/v em água. O HPMC é um derivado semi-sintético da celulose, solúvel e parcialmente metilado e hidroxilado, utilizado no desenvolvimento de formulações de liberação prolongada em virtude da sua capacidade geleificante. A formação do gel de HPMC no meio de dissolução retarda a difusão do fármaco para o meio, que ocorre devido ao processo conhecido como erosão (TAJAROBI *et al.*, 2009; GHIMIRE *et al.*, 2010). O processo de liberação de fármacos solúveis em matrizes hidrossolúveis ocorre através dos seguintes estágios (Figura 48): Intumescimento da matriz pela passagem de meio com hidratação; dissolução do fármaco; e difusão do fármaco para o meio de dissolução (MANADAS, PINA & VEIGA, 2002).

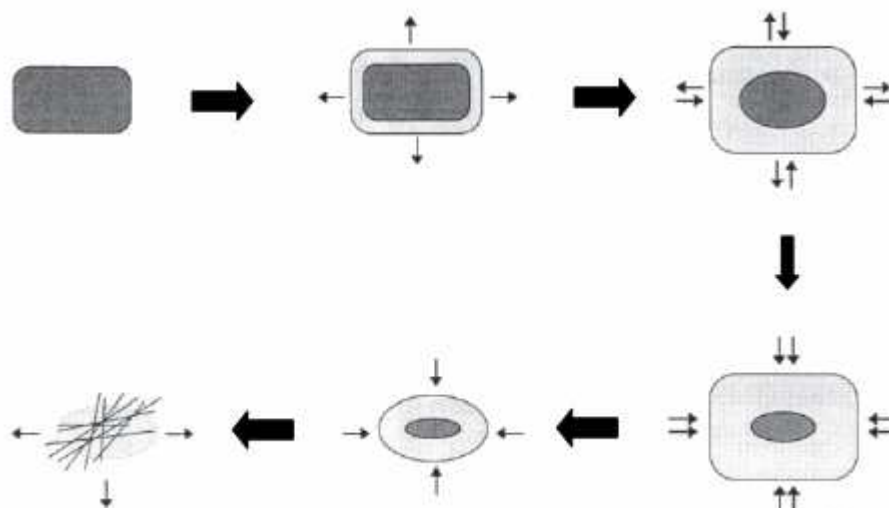


Figura 48: Estágios do processo de erosão de matriz hidrossolúvel de liberação de fármacos. (Modificado de MANADAS, PINA & VEIGA, 2002)

A formulação C contendo nanocompósitos RVT-MMT é descrita na tabela 10. A quantidade de celulose microcristalina presente na fase externa foi determinada através do volume aparente nos grânulos produzidos, tendo como base o volume de 0,30 mL da cápsula 3.

Tabela 10: Formulação C contendo nanocompósitos RVT-MMT.

	Matéria-prima	Massa (mg)	Volume aparente (mL/g)	Volume (mL)
Fase Interna	Nanocompósito RVT-MMT (equivalente a 12,0 mg de RVT)	91,9		
	Monoestearato de glicerila	67,1	1,7	0,2784
	Sódio amido glicolato	3,2		
	Estearato de Magnésio	1,07		
	Aerosil	0,53		
	Solução HPMC 0,5%	qs		
Fase Externa	Celulose Microcristalina M 102	9,4	2,3	0,0216
	Cápsula gelatinosa nº3	-	-	-
	Peso Médio	173,2 mg	-	0,3000

O peso médio calculado da formulação C foi de 169,4 mg, com valor de desvio-padrão de 1,9 mg e desvio-padrão relativo de 1,157%. Os dados de liberação da formulação no meio de SGS são mostrados na tabela 11 e na figura 49.

Tabela 11: Dados de liberação da formulação C contendo nanocompósitos RVT-MMT em meio de SGS.

Tempo (minutos)	Liberação 1 (%)	Liberação 2 (%)	Liberação 3 (%)	Liberação média	Desvio-padrão	DPR
10	15,00444	10,9213	9,64986	11,858	2,797622	23,59269
20	24,84457	24,12267	21,27309	23,413	1,888414	8,065664
30	29,68306	29,32883	26,81795	28,609	1,561991	5,459788
40	36,78507	33,71737	31,88037	34,127	2,477948	7,260961
50	39,46453	37,01556	33,74563	36,741	2,869256	7,809411
60	44,31128	38,03434	36,63876	39,661	4,086871	10,30451
70	47,54915	39,30667	38,59828	41,817	4,975911	11,89925
80	48,60671	41,36833	41,12283	43,698	4,251724	9,729792
90	51,71478	44,64847	43,08495	46,482	4,598029	9,892064
100	53,77044	45,97953	45,04969	48,266	4,789126	9,922359
110	55,23586	49,16979	46,43356	50,279	4,504897	8,959799
120	56,55351	51,55863	49,49085	52,534	3,631017	6,911746

DP = Desvio-padrão; DPR = Desvio-padrão relativo

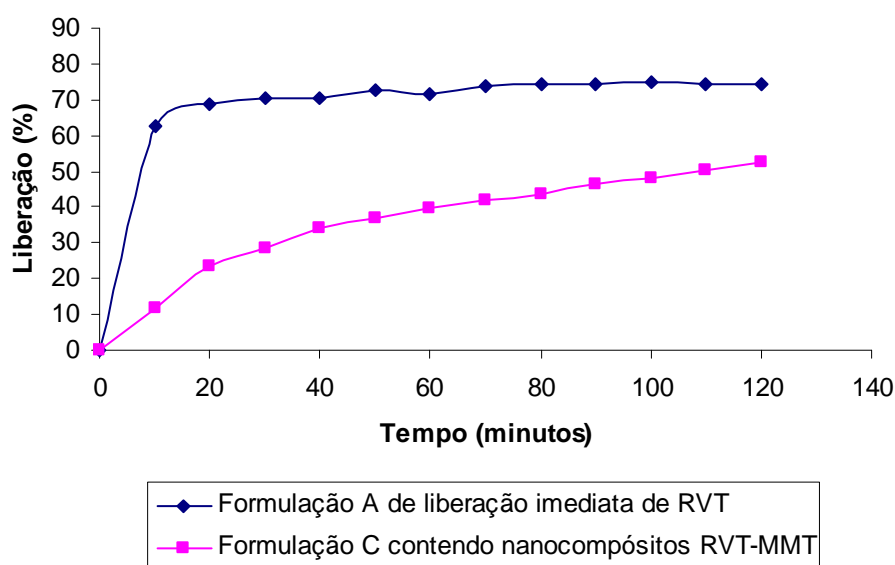


Figura 49: Perfil de liberação da formulação C de nanocompósitos de RVT-MMT em SGS.

O perfil de liberação em SGS para a formulação C mostrou uma liberação média de 52,0% ao final de 120 minutos de ensaio, que corresponde a cerca de 6,2 mg de ativo. Considerando a necessidade da liberação de 12,0 mg de ativo no intervalo de tempo de 24 horas, de modo que a concentração plasmática do fármaco seja mantida constante ao longo do dia, foi proposta uma nova formulação contendo HPMC 100.000 cps na fase externa. Sabe-se que a concentração de HPMC na formulação influencia diretamente a liberação de ativos solúveis e insolúveis, pela formação de redes geleificadas de polímero que controlam a difusão do fármaco para o meio de dissolução (GHIMIRE *et al.*, 2010).

A formulação D contendo nanocompósitos de RVT-MMT foi produzida contendo uma maior quantidade de MEG na fase interna, de modo a retardar a liberação do fármaco, juntamente com a solução granulante de HPMC 0,7% p/v em água e contendo ainda HPMC na fase externa, para que a formulação seja modulada a liberar 12,0 mg de ativo no intervalo de tempo de 24 horas. A tabela 12 mostra os dados da formulação D.

Tabela 12: Formulação D contendo nanocompósitos RVT-MMT.

	Matéria-prima	Massa (mg)	Volume aparente (mL/g)	Volume (mL)
Fase Interna	Nanocompósito RVT-MMT (equivalente a 12,0 mg de RVT)	75,3		
	Monoestearato de glicerila	80,0	2,2	0,3522
	Sódio amido glicolato	3,2		
	Estearato de Magnésio	1,07		
	Aerosil	0,53		
	Solução HPMC 0,7%	qs		
Fase Externa	HPMC 100.000 cps	19,1	2,5	0,0478
	Cápsula gelatinosa n°2	-	-	-
	Peso Médio	179,2 mg	-	0,4000

O peso médio calculado da formulação foi de 193,87 mg, com desvio-padrão de 6,0 mg e desvio-padrão relativo de 3,12%. Os dados do ensaio de liberação da formulação no meio de SGS são descritos na tabela 13 e na figura 50.

Tabela 13: Dados de liberação da formulação D contendo nanocompósitos RVT-MMT em meio de SGS.

Tempo (minutos)	Liberação 1 (%)	Liberação 2 (%)	Liberação 3 (%)	Liberação média	DP	DPR
10	0,871945968	0,521147734	0,593002414	0,662032	0,185307	27,99063
20	1,748967334	1,877634293	1,455748374	1,694117	0,216225	12,76331
30	2,467887975	2,87415497	2,535971285	2,626005	0,217584	8,285737
40	3,18681313	4,001255702	3,270023691	3,486031	0,448133	12,85512
50	4,257322838	5,404737814	4,674837401	4,778966	0,580752	12,15224
60	4,862881965	5,958710179	6,575781361	5,799125	0,867529	14,95966
70	5,607596548	6,886163717	6,642965676	6,378909	0,678954	10,64373
80	6,022128374	7,586638805	7,488097421	7,032288	0,87621	12,45982
90	6,757071722	8,188223748	8,198484316	7,714593	0,829254	10,74916
100	7,703131807	9,400455497	8,59631571	8,566634	0,849051	9,911139
110	8,164700889	9,688256654	9,384100187	9,079019	0,806295	8,880858
120	8,686655045	10,433014	10,45871184	9,85946	1,01576	10,30239

DP = Desvio-padrão; DPR = Desvio-padrão relativo

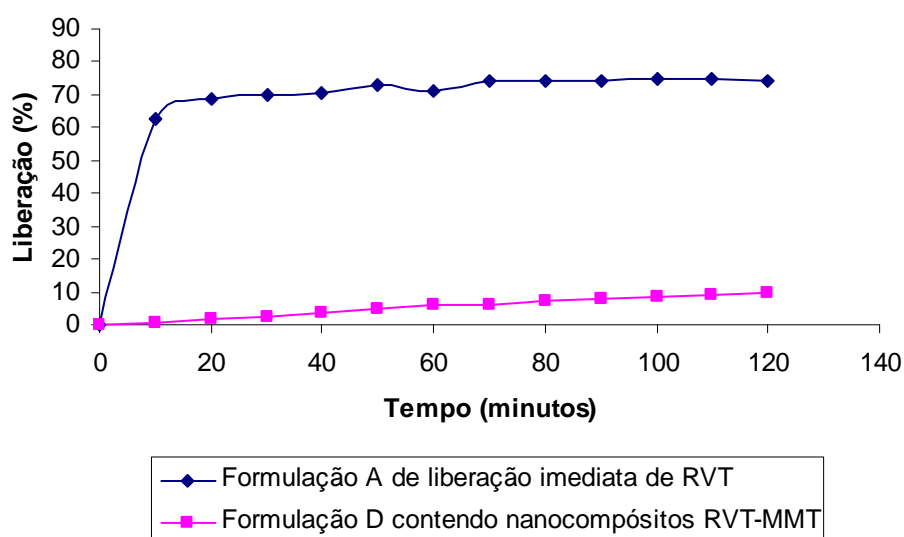


Figura 50: Perfil de liberação em meio de SGS da formulação D de nanocompósitos de RVT-MMT.

Analisando-se os dados do perfil de liberação no meio de SGS da formulação D, pode-se observar a liberação de cerca de 10,0% da quantidade total de ativo no tempo de 120 minutos, que mostra claramente a redução da quantidade de ativo liberado conforme o aumento da quantidade de HPMC na formulação. Foi realizado o ensaio de dissolução em meio de SES utilizando a formulação D. Os dados de liberação são mostrados na tabela 14 e na figura 51.

Tabela 14: Dados de liberação da formulação D contendo nanocompósitos RVT-MMT em meio de SES.

Tempo (minutos)	Liberação 1 (%)	Liberação 2 (%)	Liberação 3 (%)	Liberação média	DP	DPR
20	6,330865	1,348821	0,366823	2,682	3,197783	119,2237
40	8,148955	4,506075	2,692642	5,116	2,778803	54,31709
60	10,26552	8,747191	6,259839	8,424	2,022281	24,00566
80	12,81111	12,7811	9,359827	11,650	1,983995	17,02901
100	15,64316	14,97058	11,52689	14,047	2,208131	15,71973
120	16,96397	18,11495	14,36082	16,480	1,923305	11,6706
140	18,35654	20,21322	16,61376	18,394	1,800031	9,785698
160	22,62759	22,69918	18,63554	21,321	2,325752	10,90839
180	22,47462	24,82752	20,42411	22,575	2,203437	9,760339
200	25,01645	26,17707	22,57539	24,589	1,838384	7,476256
220	25,96504	27,50644	23,77456	25,749	1,875321	7,283172
240	27,26048	29,4177	25,60112	27,426	1,913695	6,977554
260	28,81501	30,09978	26,96332	28,626	1,576744	5,508077
280	29,18468	30,80939	27,65649	29,219	1,576698	5,396535
300	30,16574	32,10101	28,86193	30,376	1,629763	5,365258
320	31,43128	32,13153	29,70738	31,090	1,247576	4,01278
340	32,7909	34,33277	31,04605	32,723	1,644405	5,025189
360	33,40015	34,43021	32,19295	33,341	1,119801	3,358621
380	34,33242	35,18511	32,81119	34,109	1,202544	3,525532
400	34,80748	36,18632	34,38237	35,125	0,94306	2,684838
420	34,12975	36,56969	35,19007	35,296	1,223448	3,466202

DP = Desvio-padrão; DPR = Desvio-padrão relativo

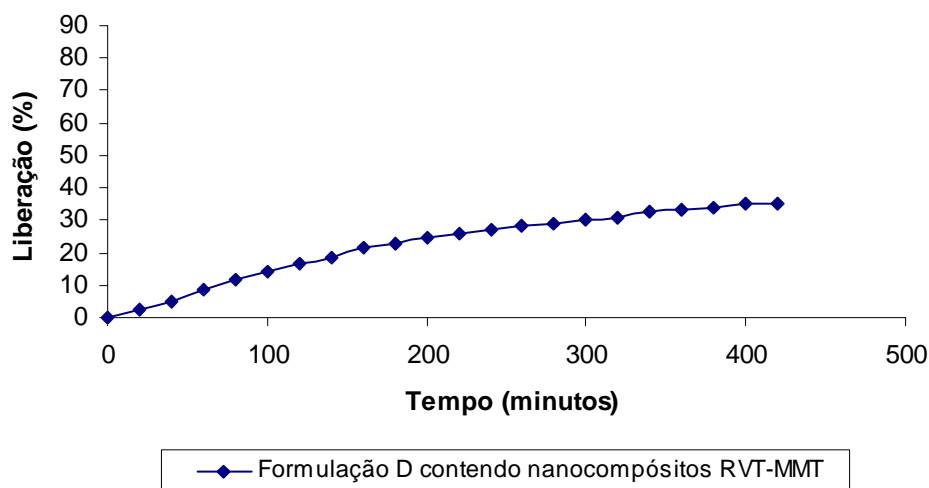


Figura 51: Perfil de dissolução em meio de SES da formulação D contendo nanocompósitos RVT-MMT.

O ensaio de dissolução em SES mostrou a liberação de cerca de 35,0% no tempo total do ensaio, que evidencia o perfil de liberação prolongada que a formulação possui. É possível ainda notar através da comparação dos dados de liberação entre as formulações C e D que através da regulação da quantidade de HPMC na formulação, pode-se modular a liberação do fármaco incluso nos nanocompósitos de MMT, de modo a obter uma formulação de liberação prolongada.

O doseamento realizado com a formulação D mostrou liberação de 19,7% de ativo, o que indica que o método de extração da RVT da formulação através do uso de sonicação não é eficaz. Foi realizado o ensaio de dissolução da formulação D em SES no tempo total de 20 horas, sendo retiradas alíquotas nos tempos de 12, 16 e 20 horas do teste. Os dados obtidos são descritos na tabela 15.

Tabela 15: Dissolução da formulação D nos tempos de 12, 16 e 20 horas.

Tempo (h)	Liberação 1 (%)	Liberação 2 (%)	Liberação 3 (%)	Liberação média (%)	DP	DPR
12	73,6466	73,6989	53,1102	66,8186	11,8718	17,7672
16	66,4548	68,1492	54,457	63,0205	7,464219	11,84412
20	64,8303	67,2013	56,5668	62,8662	5,582726	8,880337

DP = Desvio-padrão; DPR = Desvio-padrão relativo

Os dados mostram a liberação média de 66,8% de ativo da formulação D no intervalo de tempo de 12 horas e uma liberação média de 62,8% ao final de 20 horas de ensaio. Comparando-se os resultados obtidos com a formulação transdérmica de liberação prolongada de RVT disponível no mercado (Exelon®, Novartis Pharma), produzida de forma a liberar cerca de 45,0 – 50,0% da quantidade de ativo (LEFEVRE *et al.*, 2008), pode-se notar a similaridade entre a liberação das duas formulações.

4.8 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DA FORMULAÇÃO D

Pelo fato da formulação D ter demonstrado o melhor perfil de liberação do fármaco nos meios de SGS e SES foi feita a cinética de liberação da formulação através da aplicação dos resultados de liberação do fármaco ao longo do tempo em modelos matemáticos que descrevem as cinéticas de liberação. Os dados são mostrados na tabela 16.

Tabela 16: Cinéticas de liberação para a formulação D nos meios de SGS e SES.

Modelo matemático	Meio de dissolução	r
Ordem Zero	SGS	0,9895
	SES	0,9453
Primeira Ordem	SGS	0,8278
	SES	0,7454
Higuchi	SGS	0,9924
	SES	0,9926

O modelo de cinética de liberação de Higuchi foi o que apresentou melhor correlação com os dados apresentados de acordo com os valores do coeficiente de correlação linear obtidos. De acordo com este modelo, a liberação do ativo é alterada pelos componentes da formulação, e a taxa de liberação do fármaco é relacionada com a raiz quadrada do tempo (LOPES, LOBO & COSTA, 2005).

A determinação do fluxo de liberação J foi obtida pelo valor de inclinação da reta. O tempo de latência também foi determinado através da equação da reta obtida. O valor do fluxo de liberação da RVT em meio de SGS foi de 0,1565 mg/minuto e o tempo de latência foi de 3,07 minutos. Em meio de SES, o fluxo de liberação calculado foi de 0,2778 mg/minuto e o tempo de latência de 3,32 minutos.

Os resultados obtidos mostram a viabilidade da produção e caracterização de formulações de liberação imediata e de liberação prolongada de RVT.

5. CONCLUSÕES

Foi possível preparar nanocompósitos de rivastigmina utilizando diferentes tipos de silicatos lamelares, utilizados como matrizes de liberação de fármacos. Também foi possível propor, através de técnicas de caracterização adequadas, o possível mecanismo de intercalação da rivastigmina em argilas organofílicas.

Foram preparadas cápsulas de liberação imediata de rivastigmina. No entanto, a formulação A não se mostrou eficiente com relação a liberação total do fármaco por questões de seleção de excipientes, sendo proposta a formulação E como uma alternativa para a solução do problema de liberação do ativo.

Foram propostas três formulações utilizando nanocompósitos de rivastigmina-montmorilonita, para que fossem avaliadas as propriedades da utilização dos nanocompósitos como matrizes de liberação de fármacos. A formulação D apresentou perfis de liberação do fármaco em meio de suco gástrico e entérico simulados considerados adequados, sendo proposta a cinética de liberação de Higuchi para a formulação.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Estudos envolvendo modelagem molecular a fim de analisar o mecanismo de intercalação da rivastigmina e outras substâncias orgânicas aminadas nas argilas organofílicas estudadas;
- Estudos envolvendo a liberação do fármaco nos nanocompósitos produzidos com as argilas organofílicas;
- Avaliação da utilização dos nanocompósitos de rivastigmina-montmorilonita como matrizes de liberação transdérmica para o fármaco, através da preparação e caracterização destas formulações em relação

a liberação e permeabilidade *in vitro* e, também, a verificação da estabilidade das formulações e;

- Estudos de bioequivalência da formulação oral de liberação prolongada produzida com os nanocompósitos com a formulação de liberação prolongada de referência (Exelon *Patch*®).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUZZI, C; CERZO, P.; VISERAS, C.; CARAMELLA, C.; **Use of clays as drug delivery systems: Possibilities and limitations.** *Applied Clay Science*, 36, p. 22 – 36, 2007.

ALBANEZ, N. E. F. K., **Preparação e caracterização de nanocompósitos preparados com argilas esmectitas (bentonita), amido e sacarose.** Tese (doutorado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. São Paulo, 2008.

ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. **Polymer-layered silicate nanocomposites: Preparation, properties and uses of a new class of materials.** *Material Science Engineering R: Reports* 28 (1), p. 1-63, 2000.

ALLAN C. L., SEXTON C. E., WELCHEW D., EBMEIER K. P. **Imaging and biomarkers for alzheimer´s disease.** *Maturitas* 65, p. 138-142, 2010.

AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION; **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**, 4th Ed, Washington, 1994.

AMIDON, G.L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R. **A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability.** *Pharm. Res.*, 12 (3) p. 413-420, 1995.

APRAHAMIAN, i; MARTINELLI, J. E.; YASSUDA, M. S.; **Doença de Alzheimer: Revisão da Epidemiologia e Diagnóstico.** *Revista Brasileira de Clínica Médica* 7, p. 27-35, 2009.

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas.** Tradução de George G. Ortega *et al.* 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

AYDOGMUS, Z. **Simple and sensitive spectrofluorimetric method for the determination of oseltamivir phosphate in capsules through derivatization with flourescamine.** *Journal of fluorescence* 19, p. 673 – 679, 2009.

BASSIL, N.; GROSSBERG, G. T.; **Novel regimens and delivery systems in the pharmacological treatment of alzheimers disease.** *CNS Drugs*; 23 (4); p. 293 – 307, 2009.

BERGAYA, F., LAGALY, G. **Surface modification of clay minerals**. Applied Clay Science, 19, p. 1-3, 2001.

BONINA, F. P.; GIANNOSSI, M. L.; MEDICI, L.; PUGLIA, C.; SUMMA, V.; TAREO, F. **Adsorption of salicylic acid on bentonite and kaolin and release experiments**. Applied Clay Science, 36, P. 77-85, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da demência por doença de Alzheimer**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2002.

_____. **Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determinar a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos” anexo**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2 jun.2003.

_____. **Resolução RE nº 01 de 29 de julho de 2005. Guia par a a realização de estudos de estabilidade**. Diário da República Federativa do Brasil, Brasília, 01 de agosto de 2005.

CAGLAR, B., AFSIN, B., TABAK, A., EREN, E. **Characterization of the cation-exchanged bentonites by XRPD, ATR, DTA/TG analyses and BET measurement**. Chemical Engineering Journal 149, p. 242–248, 2009.

CARAMELLI, P., BARBOSA, M. T. **Como diagnosticar as quatro causas mais freqüentes de demência?** Revista Brasileira de Psiquiatria, 24 (1), p. 7-10, 2002.

CARMO, F. A.; CABRAL, L. M.; DORNELAS, C. B.; VILLARDI, M.; **Preparação e Avaliação de Novos Nanosistemas Terapêuticos de Liberação Prolongada de Bentonita - Aciclovir**. Revista Processos Químicos, 2, p. 52-58, 2008.

CHAN A. L. F., CHIEN Y. W., LIN S. J. **Transdermal delivery of treatment for Alzheimer´s disease – Development, clinical performance and future prospects**. Drugs aging, 25 (9), p. 761-775, 2008.

COELHO, G. L. N. ; DORNELAS, C. B. ; SOARES, K. C. C.; SANTOS, E. P.; VERGNANINI, A. L.; SANTOS, T. C.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C.; DIAS, L. R. S.; CABRAL, L. M. **Preparation and Evaluation of Inclusion Complexes of**

Commercial Sunscreens in Cyclodextrins and Montmorillonites: Performance and Substantivity Studies. Drug Development and Industrial Pharmacy, 34 (5), p. 536-546, 2008.

CREED M. C., MILGRAM N. W., **Amiloyd-modifying therapies for Alzheimer's disease: therapeutic progress and its implications.** AGE p. 1 – 20, 2010.

DEJAEGHER, B., BLOOMFIELD, M. S., SMEYERS-VERBEKE, J., VANDER HEYDEN, Y., **Validation of a fluorimetric assay for 4-aminophenol in paracetamol formulations.** Talanta 75, p. 258 - 265, 2008.

DORNELAS C. B. **Estudo do processo de intercalação via solução pvp – bentonita e de sua viabilidade como promotor de dissolução em formulações farmacêuticas.** Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano – IMA, 2008.

DORNELAS, C. B.; RESENDE, D. K.; TAVARES, M. I. B.; GOMES, A. S.; CABRAL, L. M.; **Preparação e avaliação reacional de nanocompósitos de PVP K-30 – montmorilonita (natural e organicamente modificada) por difração de raios X.** Polímeros; 18 (2); p. 187 – 192; 2008.

DRITS, V. A. **Structural and chemical heterogeneity of layer silicates and clay minerals** Clay Minerals, 38, (4) p. 403-432, 2003.

DRUGBANK; **Estruturas químicas do donepezil e da galantamina.** Disponível em: <http://www.drugbank.ca/structure_viewer>. Acesso em 15 de agosto de 2010.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. IV edição; São Paulo: Editora Atheneu, 1988.

FINKEL, S. I.; **Effects of Rivastigmine on Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia in Alzheimer's Disease.** Clinical Therapeutics, 26 (7) p. 980-990, 2004.

FORLENZA O. V. **Transtornos depressivos na doença de Alzheimer: diagnóstico e tratamento.** Revista Brasileira de Psiquiatria. 22 (2) p. 87-95, 2000.

FRANCO, L.V., SANCHEZ, F.V., PEREZ, E.J. **Efecto de la administracion de adsorbentes sobre la flora bacteriana del intestino de la rata.** Boletín Médico del Hospital Infantil de México, 39 (4), p. 259-263, 1982.

FROST, R. L.; ZHOU, Q.; HE, H.; XI, Y.; **An infrared study of adsorption of *para*-nitrophenol on mono-, di- and tri-alkyl surfactant intercalated organoclays.** Spectrochimica Acta Part A; 69, p. 239-244, 2008.

GALWEY, A. K., CRAIG, D. Q. M.; **Thermogravimetric Analysis: Basic principles.** In: **Thermal Analysis of Pharmaceuticals.** 1 Ed. CRC Press.; p. 139 – 193; 2007.

GHIMIRE, M., HODGES, L. A., BAND, J., O'MAHONY, B., MCINNES, F. J. MULLEN, A. B., STEVENS, H. N. E.; **In-vitro and in-vivo erosion profiles of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) matrix tablets.** Journal of Controlled Release; 147 (1); p. 70 – 75; 2010.

GIANNELIS E. In: Interrante, L. V. et al. **Materials chemistry: an emerging discipline.** Washington: American Chemical Society p. 259-281, 1995.

GROßMANN, J. **New Generation of Nanocomposites for Thermoplastic Polymers.** Süd-Chemie AG, 2004. Disponível em: <<http://www.sud-chemie.com>>. Acesso em: 01 set. 2008.

GROSSBERG, G. T. **Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: getting on and staying on.** Current Therapeutic Research. 64 (4), p. 216-35, 2003.

GROSSBERG, G. T.; SADOWSKY, C.; OLIN, J. T. **Rivastigmine transdermal system for the treatment of mild to moderate Alzheimer's disease.** The International Journal of Clinical Practice, 64, p. 651 – 660, 2010.

HAMDAN A. C., **Avaliação neuropsicológica na doença de alzheimer e no comprometimento cognitivo leve,** Psicol. Argum. 26 (54), 183-192, 2008.

HARDY J, SELKOE D.J. **The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics.** Science. 297 (5580) p. 353-356, 2002.

HEDLEY, C. B.; YUAN, G.; THENG, B. K. G.; **Thermal analysis of montmorillonites modified with quaternary phosphonium and ammonium surfactants.** Applied Clay Science, 35 p. 180–188, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA; **Dinâmica demográfica e a mortalidade no Brasil no período 1998-2008**; 2009. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/tabuadevida/2008/notastecnicas.pdf>. Acesso em 01 de agosto de 2010.

JOSHI, G.V.; KEVADIYA, B.D.; PATEL, H.A.; BAJAJ, H.C.; JASRA, R.V. **Montmorillonite as a drug delivery system: Intercalation and in vitro release of timolol maleate**. *International Journal of Pharmaceutics*, 374, p. 53–57, 2009a.

JOSHI G. V., PATEL H. A., KEVADIYA B. D., BAJAJ H. C. **Montmorillonite intercalated with vitamin B₁ as drug carrier**. *Applied Clay Science*, 45, p. 248-253, 2009b.

KALARIA, R. N.; ARIZAGA, R.; FRIEDLAND, R. P.; GALASKO, D.; HALL, K.; LUCHSINGER, J. A.; OGUNNIYI, A.; PERRY, E. K.; POTOČNIK, F.; PRINCE, M.; STEWART, R.; WIMO, A.; ZHANG, Z.; ANTUONO, P.; **Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors**. *The Lancet Neurology*, 7; p. 812 – 826, 2008.

KEVADIYA, B. D.; JOSHI, G. V.; BAJAJ, H. C. **Layered bionanocomposites as carrier for procainamide**. *International Journal of Pharmaceutics*, 388, p. 280 – 286, 2010.

KOO, J. H.; **Polymer nanocomposites: Processing, characterization and applications**. 1 ed. McGraw-Hill, 2006.

KOO, O. M.; RUBINSTEIN, I.; ONYUKSEL, H.; **Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review**. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 1, p. 193–212, 2005.

KORCZYN, A. D., HALPERIN, I. **Depression and dementia**. *Journal of the Neurological Sciences*, 283 (1-3) p. 139-142, 2009.

KORNMAN, X. (2001) Disponível em: http://www.mb.luth.se/a_mpp/mpp_staff/Xavier.Kornmann/introduction.pdf. Acesso em: 07/10/2009.

KUMAR A. P., DEPAN D., TOMER N. S., SINGH R. P.; **Nanoscale particles for polymer degradation and stabilization – Trends and futures perspectives.** Progress in polymer science, 34, p. 479 – 515, 2009.

LAKOVICZ, J. R.; **Principles of Fluorescence spectroscopy;** Edição 3. Springer Science + Business Media, LLC. , 2006.

LEBARON, P.C., WANG, Z., PINNAVAIA, T.J. **Polymer-layered silicate nanocomposites: an overview.** Applied Clay Science, 15 (1-2); p. 11-29; 1999.

LEE, S. S; KIM J. **Surface modification of clay and its effect on the intercalation behavior of the polymer/clay nanocomposites.** Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 42 (12) p. 2367-2372, 2004.

LEFRÈVE G.; POMMIER, F.; SEDEK. G.; ALLISON M., HUANG, H. A.; KIESE, B.; HO. Y. **Pharmacokinetics and bioavailability of the novel rivastigmine transdermal patch versus rivastigmine oral solution in healthy elderly subjects.** The Journal of Clinical Pharmacology, 48, p. 246-252, 2008.

LEROUX F. **Organo-modified anionic clays into polymer compared to smectite-type nanofiller: Potential applications of the nanocomposites.** Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 6, (2) p. 303-315, 2006.

LIN, J.; CHANG, Y.; CHENG, I.; **Novel mechanism for layered silicate clay intercalation by poly(propylene oxide) – segmented carboxylic acid.** Macromolecular rapid communications; 25; p. 508 – 512; 2004.

LIN, J.; HSU, Y.; WEY, K.; **Mechanistic aspects of clay intercalation with amphiphilic poly(styrene-co-maleic anhydride) – grafting polyamine salts.** Macromolecules; 40 (5); p. 1579 – 1584, 2007.

LINDEBOOM J, WEINSTEIN H. **Neuropsychology of cognitive ageing, minimal cognitive impairment, Alzheimer's disease, and vascular cognitive impairment.** European Journal of Pharmacology. 490 (1-3) p. 83-86, 2004.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P.; **Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 41 (2), p. 143 – 154, 2005.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. **A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 38 (4), p. 375 – 399, 2002.

MCLAUCHLIN A. R., THOMAS N. L. **Preparation and characterization of organoclays based on an amphoteric surfactant.** Journal of Colloid and Interface Science, 321 (1), p. 39-43, 2008.

MENG N., ZHOU N., ZHANG S., SHEN J.; **Controlled release and antibacterial activity chlorhexidine acetate (CA) intercalated in montmorillonite.** International Journal of Pharmaceutics, 382 (1-2), p. 45-49, 2009.

MORELLI F. C., RUVOLLO FILHO, A. **Nanocompósitos de Polipropileno e Argila Organofílica: Difração de Raio X, Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho e Permeação ao Vapor D'água.** Polímeros, vol. 20 (2), p. 121-125, 2010.

MURRAY, H. H. **Traditional and new applications for kaolin, smectite, and palygorskite: a general overview.** Applied Clay Science, 17 (5-6), p. 207-221, nov. 2000.

NOVARTIS PHARMA; **Exelon**; Bula de medicamento. Disponível em <http://www.portal.novartis.com.br/UPLOAD/ImgConteudos/1169.pdf>. Acesso em 19/09/2010.

NUCLEUS MEDICAL MEDIA. **Ilustração do cérebro com degeneração tecidual;** <http://catalog.nucleusinc.com/imagescooked/27634W.jpg>. Acesso em 02 de agosto de 2010.

NUNES, C. D.; VAZ, P. D.; FERNANDES, A. C.; Ferreira, P.; ROMÃO, C. C.; CALHORDA, M. J.; **Loading and delivery of sertraline using inorganic micro and mesoporous materials.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 66, p. 357–365, 2007.

PAIVA, L. B., MORALES, A. R., DÍAZ, F. R. V. **Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização.** Cerâmica, v. 54 (330), p. 213-226, abr./jun., 2008.
PAUL D. R., ROBESON L. M. **Polymer nanotechnology : Nanocomposites.** Polymer, 49, p. 3187 – 3204, 2008.

PIMPLIKAR, S. W., **Reassessing de amyloid cascade hypothesis oh Alzheimer's disease**. The International journal of Biochemistry & Cell Biology, 41, p. 1261 – 1268, 2009.

PONTES, I.F., ALMEIDA, S.L.M. **Talco**. In: **Rochas & Minerais Industriais: Usos e Especificações**. Comunicação técnica, CETEM – Centro de Tecnologia Mineral – Ministério da Ciência e Tecnologia, cap 29, p. 607-628, 2005.

RAY S. S., OKAMOTO M. **Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing**. Progress in Polymer Science, 28, p. 1539-1641, 2003.

READING, M.; CRAIG, D. Q. M.; **Principles os Differential Scanning Calorimetry; In: Thermal Analysis of Pharmaceuticals**. 1 Ed. CRC Press.; p.1 -22; 2007.

RODRIGUES, A. P. O. **Estudo do processo de esfoliação via solução para a obtenção de nanocompósitos e sua viabilidade como excipientes em formulações farmacêuticas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano – IMA, 2010.

SANTOS, D. I. V., GIL, E. S., **Fluorimetria na análise farmacêutica: uma revisão**. Revista eletrônica de Farmácia, 7 (1), p. 12-26, 2010.

SANTOS, P. S., HANNA, R. A., COELHO, A. C. V., SANTOS, H. S. **Argilas e argilominerais em produtos cosméticos: Talco**. Cosmetics & Toiletries – Brasil, 20 (6), p. 78-84, nov./dez. 2008.

SCARPINI E., SCHELTENS P., FELDMAN H., **Treatment of Alzheimer's Disease: Current status and new perspectives**. The Lancet Neurology, 2, p. 539-547, 2003.

SERENIKI, A.; VITAL, M. A. B. F.; **A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos**. Revista Psiquiatria RS; 30 (1 Supl), 2008.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Tradução de Ricardo Bicca de Alencastro. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2006.

SOARES, K. C. C.; **Avaliação do uso de bentonita na preparação de nanosistemas com atividade biológica**. Dissertação (Mestrado em Ciências

Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

SOUZA, M. A.; PESSAN, L. A.; RODOLFO-JR, A.; **Nanocompósitos de poli (cloreto de vinila) (PVC) / argilas organofílicas**. Polímeros: Ciência e tecnologia, 16 (4), p. 257-262, 2006.

TAJAROBI, F.; ABRAHMSÉN-ALAMI, S.; HANSEN, M.; LARSSON, A.; **The Impact of Dose and Solubility of Additives on the Release from HPMC Matrix Tablets—Identifying Critical Conditions**. Pharmaceutical Research, 26 (6), 2009.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). 30 ed. Rockivalle: U.S.P. Convention, 2007.

VALADARES, C.P.; SILVA, R.A.P.; TAVARES, W.C.J.; DUARTE, M.A. **Apresentação da técnica de estudo do tempo de esvaziamento gástrico por meio da ultra-sonografia**. Radiol. Bras., 39 (1), p. 15-18, 2006.

VAN MARUM, R. J., **Current and future therapy in Alzheimer´s disease**. Fundamental and clinical pharmacology, 22, p. 265-274, 2008

VARUM, F.O.; BASIT, A.W.; SOUSA, J.; VEIGA, F. **Estudos de mucoadesão no trato gastrointestinal para o aumento da biodisponibilidade oral de fármacos**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 44 (4), p. 535 – 548, 2008.

VOISIN T., VELLAS B., **Diagnosis and treatment and patients with severe Alzheimer´s disease**. Drugs Aging, 26 (2), p. 135 – 144, 2009.

WANG, W. **Polymer characterization techniques**. In: **Polymers in drug delivery**; 1 Ed., Taylor & Francis Group, LLC. p. 23 – 34; 2006.

WHITE J. L, HEM S. L **Pharmaceuticals Aspects of Clay Organic Interactions**. Industrial and Engineering Chemistry Product Research and Development, 22, p. 665-671, 1983.

WILLIAMS, B. R.; NAZARIANS, A.; GILL, M. A. **A review of rivastigmine: A reversible cholinesterase Inhibitor**. Clinical Therapeutics, 25 (6), p. 1634-1653, 2003.

WOODRUFF-PAK, D. **The neuropsychology of aging**. Oxford: Blackwell, 1997.

WRAGG R. E, JESTE D. V. **Overview of depression and psychosis in Alzheimer's disease**. American Journal of Psychiatry. 146 (5) p. 577-587, 1989.

XI, Y.; ZHOU, Q.; FROST, R. L. ; He, H. ; **Thermal stability of octadecyltrimethylammonium bromide modified montmorillonite organoclay**. Journal of Colloid and Interface Science, 311, p. 347–353, 2007.

ZHAO Q, TANG X. C. **Effects of huperzine A on acetylcholinesterase isoforms in vitro: comparison with tacrine, donepezil, rivastigmine and physostigmine**. European Journal of Pharmacology; 455 (2-3) p. 101-107, 2002.