

JULIANA MORENO DE PAIVA

**PREPARAÇÃO DE COACERVATOS E SUAS APLICAÇÕES  
COMO MATERIAIS MULTIFUNCIONAIS**

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Nalin  
Co-orientador: Prof. Dr. Hernane Barud

Araraquara

2022

P149p Paiva, Juliana Moreno de  
Preparação de coacervatos e suas aplicações  
como materiais multifuncionais / Juliana Moreno de  
Paiva. -- Araraquara, 2022  
72 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista  
(Unesp), Instituto de Química, Araraquara  
Orientador: Marcelo Nalin  
Coorientador: Hernane Barud

1. Colóides. 2. Polifosfatos. 3. Fármacos. 4.  
Cafeína. 5. Clorexidina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.  
Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo  
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA TESE: "Preparação de coacervatos e suas aplicações como materiais multifuncionais"


AUTORA: JULIANA MORENO DE PAIVA


ORIENTADOR: MARCELO NALIN


COORIENTADOR: HERNANE DA SILVA BARUD


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARCELO NALIN (Participação Virtual)   
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Profa.Dra. FERNANDA LOURENÇÃO BRIGHENTI (Participação Virtual)   
Departamento de Clínica Infantil / Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. RODRIGO FERNANDO COSTA MARQUES (Participação Virtual)   
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. GAEL YVES POIRIER (Participação Virtual)   
Instituto de Ciência e Tecnologia / Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - Alfenas

Drª. HÉLIDA GOMES DE OLIVEIRA BARUD (Participação Virtual)   
Biosmart Nanotechnology LTDA - Araraquara

Araraquara, 19 de abril de 2022

## DADOS CURRICULARES

### IDENTIFICAÇÃO

Nome: Juliana Moreno de Paiva

Nome em citações bibliográficas: Paiva, J.M.

### ENDEREÇO PROFISSIONAL

Rua Prof. Francisco Degni, 55 - Quitandinha - Araraquara/SP - CEP 14800-060

### FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

Licenciada em Química, concluído 2014 no Instituto de Química de Araraquara/UNESP.

Mestre em Química, concluído em 2017 no Instituto de Química de Araraquara/UNESP

### PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

#### Artigo publicado

- Paiva, J.M.; Barud, H.G.O.; Franco, D.F.; Meneguim, A.B.; Ribeiro, A.J.; H.S. Barud, H.S.; Nalin, M. **The impact of P/Ca molar ratio on physicochemical and release properties of calcium polyphosphate coacervates**, Mater. Chem. Phys. 264 (2021).

#### Apresentação de trabalhos

- **International Conference on Optical, Optoelectronic and Photonic Materials and Applications**, agosto/2018. Apresentação do trabalho em forma de poster: "Calcium phosphate coacervates functionalization with chlorhexidine for controlled drug release".
- **9th International Colloids Conference**, junho/2019. Apresentação do trabalho em forma de poster: "Calcium polyphosphate coacervates as a matrix for controlled drug caffeine release".

### **Demais produções técnicas**

- J.M. de Paiva, A.C. Massabini, Gadolínio: o lantanídeo que detecta tumores, Inf. CRQ-IV. 154 (2018) 12–13.

### **PARTICIPAÇÃO EM BANCA**

- Participação da Banca de Examinadora da Sessão de Defesa Pública da Monografia “Biocompostos de biocelulose/quitosana-polifosfato para aplicação biomédica” da Aluna Thayná de Assis Barcelos Correia para a obtenção do diploma de Bacharel em Biomedicina da Universidade de Araraquara (UNIARA)

### **PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS**

- **International Conference on Optical, Optoelectronic and Photonic Materials and Applications**, agosto/2018.
- **9th International Colloids Conference**, junho/2019.

Dedicado a todos que me ajudaram a  
não desistir e terminar essa tese,  
sem vocês ela não existiria

## AGRADECIMENTOS

Infelizmente no momento em que essa tese é publicada, os tempos são obscuros para a comunidade científica. Corte de verbas a ciência e educação, desmonte de instituições por falta de recursos financeiros, bolsas que não são reajustadas desde 2013, falta de investimento público, entre tantas outras dificuldades que fragilizam diversos alunos, professores e instituições, foram ainda mais dificultadas com a pandemia do COVID-19. Se estar dentro da pós-graduação já é algo para poucos no Brasil, terminar, ainda mais nesse momento, é uma vitória. Por isso mais que agradecer, quero demonstrar gratidão e reconhecimento a todos, que direta ou indiretamente, me auxiliaram na elaboração desta tese. Talvez não existam palavras suficientes e significativas pela ajuda e apoio dado por vocês em um dos períodos mais difíceis da minha vida, que várias vezes pensei em desistir.

Mãe e pai, vocês sempre priorizaram minha educação e me mostraram o quanto isso é importante. Além de me mostrarem o caminho sempre me enviavam mensagens de carinho e preocupação, muito obrigada por tudo, sempre.

Tiago, meu parceiro de vida e científico, você é meu maior apoio. Sem você essa tese não existiria. Me deu forças, acolheu minhas dores, tristezas, inseguranças, comemorou comigo mesmo os pequenos passos, vibrou em grandes conquistas, usou seu tempo de descanso para me ajudar e mais que isso me aguentou durante todo esse período.

A todos meus queridos amigos que, seja em uma conversa de bar, em casa ou por vídeo chamadas, me ouviram, procuraram soluções, revisaram meu texto e deixarem meus dias mais leves, me dando forças para que terminasse.

Professor Marcelo, obrigada por me aceitar como orientanda, acreditar em mim, me incentivar, apoiar sempre que foi preciso e orientar. Pela paciência em ouvir meus desabafos, choros, pela disponibilidade sempre que necessário e por todos os aprendizados.

Professor Hernane, obrigada por aceitar ser meu co-orientador, sempre preocupado, me incentivando, apoiando e motivando, procurando parceiros que

pudessem me auxiliar na pesquisa, na prontidão em qualquer problema que foi surgindo. Sou muito grata a toda sua disposição e disponibilidade.

Colegas de trabalho, o tempo que passei na companhia de vocês contribuiu imensamente para meu crescimento pessoal e profissional graças ao companheirismo e disposição de todos. Gostaria de agradecer em especial ao Douglas pelos ensinamentos, por ter me salvado em vários momentos e na colaboração durante minha pesquisa.

Além dele preciso agradecer imensamente a CNPq pela bolsa nº 141039/2017-5 concedida, pela CAPES pela bolsa nº 141039/2017-5 do doutorado sanduíche proveniente do programa institucional de internacionalização (PRINT), o Instituto de Química, cuja formação e apoio me possibilitaram a realização desse trabalho e a todos funcionários que direta ou indiretamente ajudaram.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”.

Simone de Beauvoir

## RESUMO

Os fosfatos ou ortofosfatos são íons que apresentam a capacidade de formar um polímero inorgânico comumente chamado de polifosfato. Dentre eles destaca-se o polifosfato de sódio por ter simplicidade química, alta solubilidade em água, com relativa estabilidade e degradação mínima, resultando em uma solução de cadeias inorgânicas de polifosfato. Com essa solução é possível formar os coacervatos de polifosfato (CPPs), uma substância amorfa insolúvel em água que pode ser obtida pela adição cátions metálicos, como  $\text{Ca}^{2+}$ , que permitem interações supramoleculares entre cadeias polifosfáticas adjacentes em solução. Nesse trabalho, é relatado a síntese e caracterização de coacervatos de polifosfato de cálcio com três diferentes razões  $[\text{P}]:[\text{Ca}]$  como novas matrizes para liberação de fármacos. Foram utilizados os fármacos clorexidina, que possui ação antibactericida, e a cafeína, que além de ser estimulante e analgésica é muito utilizada em formulações cosméticas. O estudo de incorporação e liberação do fármaco foi feito empregando a espectroscopia na região do Ultra-Violeta-Visível (UV-Vis). O aumento a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  nos coacervatos aumentou a eficiência de incorporação sendo de 95,4% para cafeína e 70,4% para clorexidina. Durante a liberação os fármacos apresentaram resultados diferentes. A cafeína seguiu um modelo de liberação similar ao de Weibull, enquanto a clorexidina associou-se melhor ao modelo de Korsmeyer-Peppas. A partir dos espectros na região do infravermelho (IV) e Raman foi possível observar ligações de hidrogênio do coacervato com clorexidina e interações de Van der Waals com a cafeína. Além disso, a diferença de tamanho entre as moléculas e as estruturas semelhantes a gaiolas formadas durante o processo de coacervação também foram responsáveis pelas diferenças. Por fim, e considerando o desempenho desses materiais, junto a suas propriedades biocompatíveis, bioabsorvíveis, de síntese fácil, baixo custo a temperatura ambiente, entende-se que estes Ca-CPPs são promissores para serem utilizados como sistemas de liberação de fármacos.

**Palavras-chave:** coacervato de polifosfato de cálcio, liberação de fármacos, cafeína, clorexidina, plataforma semelhante a gel

## ABSTRACT

Phosphates or orthophosphates are ions that have the ability to form an inorganic polymer commonly called polyphosphate. Among them, sodium polyphosphate stands out for its chemical simplicity, high water solubility, relative stability and minimal degradation, resulting in a solution of inorganic polyphosphate chains. With this solution, it is possible to form polyphosphate coacervates (PPCs), an amorphous substance insoluble in water that can be obtained by adding metal cations, such as  $\text{Ca}^{2+}$ , which allow supramolecular interactions between adjacent polyphosphate chains in solution. In this work, the synthesis and characterization of calcium polyphosphate coacervates with three different [P]:[Ca] ratios as novel matrices for drug delivery is reported. The drugs chlorhexidine, which has antibacterial action, and caffeine, which besides being a stimulant and analgesic, are widely used in cosmetic formulations were used. The study of drug incorporation and release was carried out using spectroscopy in the Ultra-Violet-Visible (UV-Vis) region. Increasing the concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  in coacervates increased the efficiency of incorporation being 95.4% for caffeine and 70.4% for chlorhexidine. During release, the drugs showed different results. Caffeine followed a release model similar to that of Weibull, while chlorhexidine was better associated with the Korsmeyer-Peppas model. From the infrared (IR) and Raman spectra, it was possible to observe hydrogen bonds between coacervate and chlorhexidine and Van der Waals interactions with caffeine. Furthermore, the size difference between the molecules and the cage-like structures formed during the coacervation process were also responsible for the differences. Finally, and considering the performance of these materials, together with their biocompatible, bioabsorbable, easily synthesized, low cost at room temperature properties, it is understood that these Ca-CPPs are promising to be used as drug delivery systems.

**Keywords:** calcium coacervate polyphosphate, drug delivery, caffeine, chlorhexidine, gel-like platform

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Representação esquemática da reação de condensação (polimerização) entre as espécies de fosfato. _____	16
<b>Figura 2:</b> Classificação dos fosfatos _____	17
<b>Figura 3:</b> Classificação das possibilidades de ligações do fosfato: $Q^3$ ultrafosfato, $Q^2$ metafosfato, $Q^1$ pirofosfato e $Q^0$ ortofosfato. _____	18
<b>Figura 4:</b> Primeira síntese de cafeína de acordo com Fischer _____	31
<b>Figura 5:</b> Estrutura química da molécula de cafeína. _____	32
<b>Figura 6:</b> Distribuição das micro espécies da cafeína de acordo com a variação de pH. _____	32
<b>Figura 7:</b> Solubilidade da cafeína com a variação do pH. _____	33
<b>Figura 8:</b> Fórmula estrutura do fármaco clorexidina _____	35
<b>Figura 9:</b> Distribuição das micro espécies da clorexidina de acordo com a variação de pH. _____	36
<b>Figura 10:</b> Solubilidade da clorexidina com a variação do pH. _____	36
<b>Figura 11:</b> Rota de preparo das (a) amostras de coacervato de polifosfato de cálcio puro (PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0) e (b) com amostras de cafeína e clorexidina (CAFPCa0.5, CAFPCa1.0, CAFPCa2.0, CHXPCa0.5, CHXPCa1.0 e CHXPCa2.0)	41
<b>Figura 12:</b> Dissolutor e aparelho USP tipo I com amostras _____	43
<b>Figura 13:</b> Foto das amostras de coacervato de polifosfato de cálcio puro a) PCa0.5, b) PCa1.0 e c) PCa2.0 _____	45
<b>Figura 14:</b> (a) Viscosidade e (b) Tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento para as amostras PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0. _____	46
<b>Figura 15:</b> Curva TG e DTA do coacervato de cálcio nas razões a) 0,5, b) 1 e c) 2.47	

**Figura 16:** Espectros Raman de coacervatos puros e com (a) CAF (cafeína) e (b) CHX (clorexidina), preparados com [P]: [Ca] de 0,5, 1,0 e 2,0, e (c) a razão entre as áreas sob bandas em 693 e 1161  $\text{cm}^{-1}$  para todas as amostras. \_\_\_\_\_ 49

**Figura 17:** a) Espectros FT-IR de cafeína (CAF), b) clorexidina (CHX), amostras de Ca-PPC puras (PCa0.5, Pca1.0 e Pca2.0) e com fármacos (CAFPCa0.5, CAFPCa1.0, CAFPCa2.0 e CHXPCa0.5, CHXPCa1.0, CHXPCa2.0). \_\_\_\_\_ 51

**Figura 18:** Representação esquemática da coordenação de íons alcalinos  $R^+$  em coacervatos de polifosfato na forma de gaiolas. \_\_\_\_\_ 54

**Figura 19:** Liberação cumulativa de (a) cafeína e (b) clorexidina de coacervatos para as razões de [P]:[Ca] de 0,5 (■); 1,0 (●) e 2,0 (▲). Os estudos de liberação foram realizados em solução tampão de acetato em pH 5,8 e 37 ° C. \_\_\_\_\_ 55

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Resumo dos modelos cinéticos de liberação de fármacos. ....	28
<b>Tabela 2:</b> Composição dos coacervatos de polifosfatos contendo cafeína e clorexidina. A quantidade inicial de fármacos antes da coacervação foi de 50 mg para ambos os fármacos. Os resultados resumidos na tabela representam a média de três determinações $\pm$ desvio padrão (DP). ....	53
<b>Tabela 3:</b> Liberação total (%) de cafeína e clorexidina Ca-PPCs .....	56
<b>Tabela 4:</b> Coeficientes de correlação obtidos através de diferentes modelos matemáticos para o meio acetato (pH 5,8).....	58

## SUMÁRIO

<b><u>1. INTRODUÇÃO</u></b>	<b>16</b>
<b>1.1. POLIFOSFATO</b>	<b>16</b>
<b>1.2. COACERVATO</b>	<b>20</b>
1.2.1. COACERVATOS DE POLIFOSFATO	22
1.2.2. COACERVATOS DE POLIFOSFATO DE CÁLCIO	23
<b>1.3. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS</b>	<b>25</b>
<b>1.4. FÁRMACOS MODELO</b>	<b>30</b>
1.4.1. CAFEÍNA	30
1.4.2. CLOREXIDINA	34
<b><u>2. OBJETIVOS</u></b>	<b>39</b>
<b>2.1. GERAL</b>	<b>39</b>
<b>2.2. ESPECÍFICOS</b>	<b>39</b>
<b><u>3. PARTE EXPERIMENTAL</u></b>	<b>40</b>
<b>3.1 MATERIAIS</b>	<b>40</b>
<b>3.2 SÍNTESE DE COACERVATOS DE POLIFOSFATO DE CÁLCIO PUROS E COM FÁRMACOS</b>	<b>40</b>
<b>3.3 EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO DOS FÁRMACOS</b>	<b>42</b>
<b>3.4 LIBERAÇÃO IN VITRO DE CAFEÍNA E CLOREXIDINA</b>	<b>42</b>
<b>3.5 ANÁLISE DO MECANISMO DE LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS IN VITRO</b>	<b>43</b>
<b>3.6 INSTRUMENTAÇÃO</b>	<b>44</b>
<b><u>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</u></b>	<b>45</b>
<b>4.1. CARACTERIZAÇÃO</b>	<b>45</b>

4.1.1. COACERVATOS DE POLIFOSFATO DE CÁLCIO	45
4.1.2. COACERVATOS DE POLIFOSFATO DE CÁLCIO CONTENDO FÁRMACOS	48
<b>4.2. EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO DE CAFÉINA E CLOREXIDINA EM COACERVATOS DE POLIFOSFATO</b>	<b>53</b>
<b>4.3. PERFIL DE LIBERAÇÃO DE CAFÉINA E CLOREXIDINA IN VITRO</b>	<b>55</b>
<b>4.4. ANÁLISE DO MECANISMO DE LIBERAÇÃO DO MEDICAMENTO IN VITRO</b>	<b>57</b>
<b><u>5. CONCLUSÕES</u></b>	<b>60</b>

---

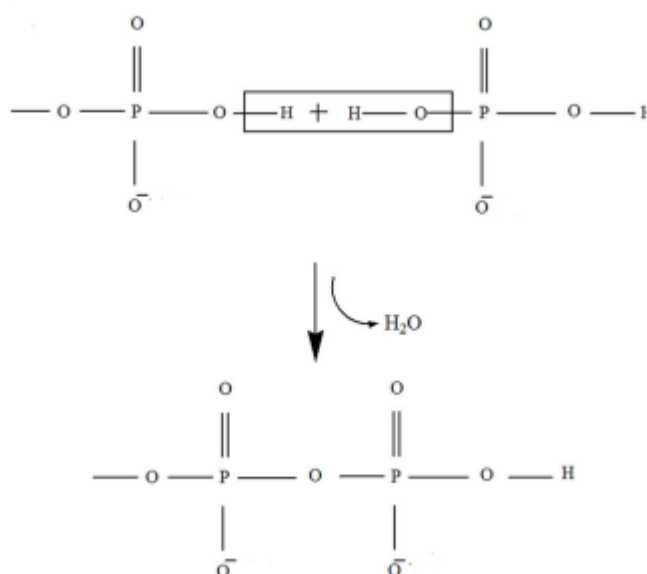
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Polifosfato

Íons fosfatos ou ortofosfatos, cuja fórmula molecular é  $\text{PO}_4^{3-}$ , são compostos inorgânicos que apresentam átomos de fósforo ligados a quatro átomos de oxigênio em uma conformação espacial tetraédrica. As ligações entre os átomos dessa molécula são covalentes, sendo três simples e uma dupla com tamanhos de 155 pm e 150 pm, respectivamente. A união de dois ou mais ortofosfatos, dá origem a um polímero inorgânico comumente chamado de polifosfato (THILO, 1962a; WAZER, 1950).

A síntese desse polímero inorgânico ocorre por meio de reações de condensação e, conseqüentemente, o compartilhamento de átomos de oxigênio de um ou dos dois lados do tetraedro fosfato (Figura 1).

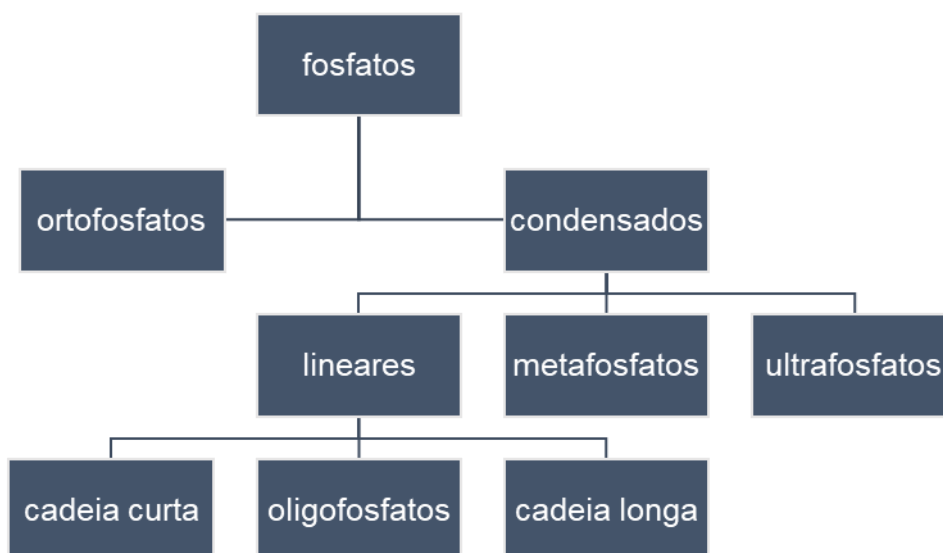
**Figura 1:** Representação esquemática da reação de condensação (polimerização) entre as espécies de fosfato.



**Fonte:** Adaptado de Franco e colaboradores 2020 (FRANCO, Douglas F. et al., 2020a).

Por meio dessa síntese e considerando os diferentes tamanhos de cadeia que podem ser formadas, bem como suas respectivas conformações, os polifosfatos são classificados por três formas distintas. A primeira é chamada de metafosfatos, cujos polímeros estão organizados de forma cíclica. A segunda denominação é conhecida por ultrafosfatos, ou seja, as estruturas estão dispostas de uma maneira em que formam arranjos tridimensionais, placas ou gaiolas. Por fim a terceira denominação, intitulada por cadeias lineares, visto que os polímeros de polifosfato também podem se ligar dessa maneira. Vale ressaltar que esta última denominação ainda pode ser classificada frente ao tamanho de cadeia. Neste sentido, polifosfatos com  $n$  monômeros, sendo  $n < 10$ , chama-se de polifosfato de cadeia curta. Com  $n$  entre 10 e 50, a denominação do polifosfato passa a ser oligofosfato. Já polifosfato com  $n$  monômeros superiores a 50, denomina-se polifosfatos de cadeia longa. (FRANCO, Douglas F. *et al.*, 2020a) (HAROLD, 1966). A Figura 2, ilustra as diferentes conformações poliméricas formadas por meio das reações de condensação.

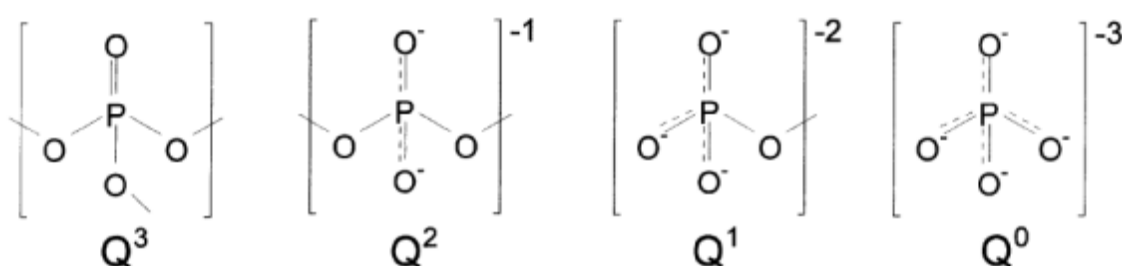
**Figura 2:** Classificação dos fosfatos



**Fonte:** autor

Dadas essas diferentes possibilidades de conformação, uma simples analogia dos silicatos ( $\text{SiO}_4$ ) pode ser feita com os polifosfatos. O silício pode ligar covalentemente à outros quatro átomos de oxigênio de maneira simples, ou seja, Si-O, já os fosfatos podem fazer somente três ligações com os oxigênios dos vértices do tetraedro (MIHAILOVA; MARINOV; KONSTANTINOV, 1994) (CASAS *et al.*, 2010). Essa diferença ocorre devido a uma ligação covalente dupla (P=O) que propicia a geometria tetraédrica e impede a quarta ligação simples entre o P-O. Considerando essas três possibilidades de ligações, uma classificação foi proposta para auxiliar o entendimento da conectividade dos tetraedros. Assim, emprega-se a terminologia  $Q_i$ , onde  $i$  representa o número de oxigênios em ponte com o tetraedro (CASAS *et al.*, 2010).  $Q^0$  é atribuído ao ortofosfato ou fosfato monomérico.  $Q^1$  é a nomenclatura da molécula que apresenta um único oxigênio ligado.  $Q^2$  por sua vez, representa as moléculas de fosfato que apresentam dois oxigênios ligados. Por fim,  $Q^3$  são moléculas de fosfato que possuem três átomos de oxigênio ligados (DE OLIVEIRA LIMA *et al.*, 2010). Ressalta-se que os oxigênios também apresentam uma nomenclatura, porém relativamente mais simples, sendo os oxigênios terminais,  $O_t$ , e oxigênios ligantes em ponte,  $O_b$ , quando faz a ligação P-O-P conectando os tetraedros  $\text{PO}_4$ . A Figura 3 ilustra uma representação esquemática das terminologias dos diferentes fosfatos.

**Figura 3:** Classificação das possibilidades de ligações do fosfato:  $Q^3$  ultrafosfato,  $Q^2$  metafosfato,  $Q^1$  pirofosfato e  $Q^0$  ortofosfato.

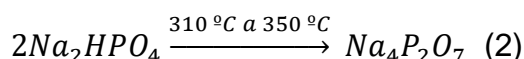
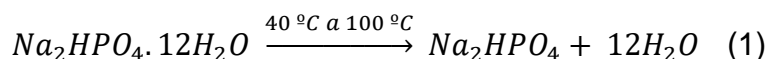


**Fonte:** Adaptado de Brow, 2000 (RICHARD K. BROW, 2000).

Dada a forma de síntese desse polímero bem como sua classificação frente as ligações P-O, é extremamente importante ressaltar que essas moléculas, independentemente de sua conformação, apresentam uma estabilidade relativamente

boa em soluções aquosas neutras até mesmo em altas temperaturas. Contudo, em soluções fortemente ácidas ou básicas, na presença ou não de altas temperaturas (> 100 C°), propiciam a sua degradação em fosfato de cadeias menores podendo chegar até ao monômero ortofosfato (DE JAGER; HEYNS, 1998; THILO, 1962a)

Em vista da formação dos fosfatos condensados bem com sua degradação, inúmeras pesquisas foram feitas com estes compostos. Tem-se que os estudos com essa molécula foram iniciados no início do século XIX com Thomas Clark. Este pesquisador sintetizou o pirofosfato de sódio por meio do aquecimento do fosfato de sódio hidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) a temperatura superior a 600 °C (THILO, 1962b). Abaixo estão apresentadas as equações químicas que governam essa síntese.



Mesmo com a sua síntese e seu devido reconhecimento, o maior impulsionamento científico desses fosfatos ocorreu com Thomas Graham, apenas em 1834. Por meio de seus estudos, Graham observou diferentes formações de fosfatos, devido ao comportamento do sal de partida ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) em temperatura suficiente para a remoção da molécula de água. Após a mencionada etapa de aquecimento, a síntese de Graham confirmou a proposta de Thomas Clark e obteve mais três formas de metafosfato de sódio. A primeira forma foi um material cristalizado extremamente fino e altamente solúvel em água, que atualmente é conhecido como trimetafosfato. A segunda forma apresentou-se insolúvel em água e que posteriormente obteve o nome de sal de Maddrell (CALLIS; VAN WAZER; ARVAN, 1954). Por fim, a terceira forma compreendeu em um composto vítreo obtido pelo resfriamento rápido  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  fundido. Este composto também apresentou solubilidade em água e atualmente é conhecido como sal de Graham (THILO, 1962b) (CALLIS; VAN WAZER; ARVAN, 1954).

Ainda no ponto de vista histórico desses metafosfatos propostos por Graham, inúmeros outros estudos foram feitos até que em meados da década de 50, sua natureza polieletrólítica foi reconhecida por meio de um estudo publicado por Davies

e Monk. Neste trabalho, os pesquisadores mediram a condutividade elétrica do sal de Graham, independentemente da sua conformação. Feito isso, concluíram que o ânion presente nas cadeias poliméricas influencia diretamente na condutividade do sal (CALLIS; VAN WAZER; ARVAN, 1954). Este fato ampliou ainda mais o interesse científico que, conseqüentemente, corroborou para uma maior aplicação desses condensados (CINI; BALL, 2014).

A natureza polieletrólítica dos metafosfatos é observada devido a presença de uma carga constante que ocasiona uma relativa estabilidade coloidal. Por sua vez, esta carga em presença de outras com natureza oposta é neutralizada e promove os processos de associação (CALLIS; VAN WAZER; ARVAN, 1954; DIAS, R.; LINDMAN, 2008). Assim, é possível afirmar que caso obtenha-se polieletrólitos fracos, a densidade de carga do polímero pode ser facilmente ajustada por meio de variações de pH e temperatura (LIMA, E. C DE O; ALCANTARA, G. C.; DAMASCENO, F. C.; MOITA NETO, J. M.; GALEMBECK, 2010). Em outras palavras, os citados polieletrólitos em condições experimentais determinadas, apresentam a capacidade de ligar-se a metais de transição ou alcalinos terrosos, promovendo um processo comumente chamado de coacervação. Dada essa versatilidade, ressalta-se que estes materiais veem sendo amplamente utilizado e estudado na ciência dos alimentos e principalmente na ciência dos materiais. Visto que, possibilita o desenvolvimento de materiais responsivos a estímulo, fato este de extrema relevância para sistemas de liberação de drogas.

## **1.2. Coacervato**

Segundo a União Internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC), coacervação é um processo, no qual a solução coloidal é separada em duas fases, sendo uma rica em coloide (coacervato) e a outra livre ou com baixa concentração de coloide (MCNAUGHT, A. D.; WILKINSON, 1997). A etimologia desse termo é dada pelo prefixo “co”, que significa união e sufixo “acerv” que se refere as moléculas coloidais.

O fenômeno foi observado pela primeira vez em 1911 por Tiebackx durante seus estudos entre misturas de goma arábica e gelatina, que resultaram em complexos insolúveis de gelatina-goma arábica (TIEBACKX, 1911). Contudo somente em 1929,

a literatura relata o primeiro emprego desse termo com o pesquisador holandês de Jong ao descrever fenômenos que ocorrem em coloides hidrófilos em solução aquosa (DE JONG, H.G.B.; KRUYT, 1930). Dentro da comunidade científica o termo alcançou popularidade em 1953 com o livro “The Origin of Life”, escrito pelo bioquímico russo Oparin. Nele é sugerido que a vida surgiu primeiramente em gotas de coacervatos contendo uma miríade de moléculas orgânicas diferentes, uma vez que pequenas gotículas de altas concentrações dessas moléculas, muitas vezes se formam de forma autônoma, mesmo em soluções diluídas (OPARIN *et al.*, 1977).

Além de serem encontrados em vários processos biológicos importantes, incluindo adesão à superfície, compartimentação celular, automontagem, formação de vesículas e replicação celular (ELBAUM-GARFINKLE; BRANGWYNNE, 2015)(GOMES; SHORTER, 2019)(BRANGWYNNE; TOMPA; PAPPU, 2015), os coacervatos ocupam uma posição importante na ciência moderna, desempenhando um papel importante em campos tão diversos quanto a biologia celular, biofísica, biomateriais, indústria de alimentos, agro-química, alimentícia, cosmética e principalmente farmacêutica (BLOCHER; PERRY, 2017)(THOMASIN *et al.*, 1998)(MIYAZAWA *et al.*, 2000)(TAY *et al.*, 1993). Isso se deve principalmente por poderem ser sintetizados de forma rápida e simples, em soluções aquosas à temperatura ambiente, possibilitando a incorporação de materiais passíveis de decomposição térmica.

De acordo com o tipo de espécies envolvidas no processo de formação dos coacervatos, a reação de coacervação pode ser dividida em duas classes distintas: complexa e simples. (SINGH, R.B.; WATANABE, S.; ISAZA, 2022)(KAYITMAZER, 2017).

A “coacervação complexa” que consiste na mistura de duas soluções de polieletrólitos diferentes de cargas opostas, que interagem entre si ocorrendo separação de fases devido a precipitação de polímeros complexos (ASTORICCHIO *et al.*, 2020). O estudo de Jong em 1949 é um exemplo desse tipo de coacervação. A gelatina, positivamente carregada (pH < 8,0), forma um coacervato complexo com a adição da goma arábica, carregada negativamente (DE JONG, H.G.B.; KRUYT, 1930).

Já na coacervação simples a separação de fases é proveniente da interação entre soluções de polieletrólito com solventes orgânicos ou sais multivalentes

(ASTORICCHIO *et al.*, 2020). Este trabalho é um exemplo deste tipo de coacervação em que os coacervatos obtidos são formados pela interação entre soluções concentradas de polifosfato de sódio  $(\text{NaPO}_3)_n$ , com a solução do sal metálico de cloreto de cálcio  $(\text{CaCl}_2)$ .

### 1.2.1. Coacervatos de polifosfato

O polifosfato de sódio  $(\text{Na}(\text{PO}_3)_n)$  é definido como um polímero de fosfato linear constituído de cadeias longas. Suas principais características são a alta solubilidade em água e a formação de coacervatos de polifosfato (CPPs), uma substância amorfa insolúvel em água obtida através da desestabilização de soluções de polifosfato coloidal por forças eletrostáticas e hidrofóbicas (FRANCO, D. F. *et al.*, 2016)(FRANCO, Douglas F. *et al.*, 2020)(MOMENI; FILIAGGI, 2013)(SILVA *et al.*, 2010a).

Os CPPs podem ser sintetizados por duas rotas diferentes: (I) adição de solvente de constante dielétrica mais baixa ou (II) adição de soluções de eletrólitos (FRANCO, D. F. *et al.*, 2016)(FRANCO, Douglas F. *et al.*, 2020b)(SILVA *et al.*, 2010a)(RESGES; PICHON; *et al.*, 2020).

Na primeira rota, a adição de solventes a uma solução de polifosfato de sódio diminui o valor da constante dielétrica, o que favorece a aproximação das cadeias de polifosfato em solução, levando a uma intensificação do processo de coacervação e consequente aumento dos valores de viscosidade dos CPPs (FRANCO, D. F. *et al.*, 2016).

Na segunda rota, a desestabilização do sistema coloidal ocorre devido à coordenação de diferentes cátions metálicos, como  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , que permitem interações supramoleculares entre cadeias polifosfáticas adjacentes em solução (DE OLIVEIRA *et al.*, 2005)

Apesar das diferenças entre as rotas, em ambos os casos a adição dos mesmos à solução de polifosfato de sódio induz a separação de fases e a consequente formação de CPPs.(MONTANARI *et al.*, 2002)(SING, 2017)

Esta síntese pode ser regulada por algumas condições experimentais ajustáveis, como o tratamento térmico controlado da solução de dihidrogenofosfato de sódio, pH ou pela variação da concentração do precursor (BHARGAVA; SRIVASTAVA; VARMA, 1974)(FRANCO, D. F. *et al.*, 2016)(MONTANARI *et al.*, 2002)

Além disso, quando os CPPs são secos à temperatura ambiente, até a total eliminação da água, forma um sólido com aspecto vítreo distinto do gel. Este fenômeno bem conhecido foi estudado nas últimas décadas (FRANCO, Douglas F. *et al.*, 2020b)(MENGER; SYKES, 1998)

Devido a essas características, os CPPs podem ser usados como precursores de materiais amorfos transparentes em uma ampla gama de aplicações, como materiais e dispositivos ópticos (filmes e vidros) (DIAS FILHO *et al.*, 2004)(RESGES; PICHON; *et al.*, 2020)(RESGES; RENATO; *et al.*, 2020)(SILVA; FRANCO; DE OLIVEIRA, 2008), remediação ambiental (MA *et al.*, 1994a), hospedeiro para compostos orgânicos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2005), biomaterial de substituição óssea (DING *et al.*, 2008a)(WANG *et al.*, 2008), bem como para sistemas de liberação de fármacos (BRAY *et al.*, 2012a)(DION *et al.*, 2005a)(GIBSON; MOMENI; FILIAGGI, 2019a)(PETRONE *et al.*, 2008)(PICKUP *et al.*, 2014b)(SCHOFIELD *et al.*, 2006).

Por serem sintetizados de forma fácil, rápida e reprodutível, à temperatura ambiente, sem o uso de solventes orgânicos, além da variação da natureza físico-química apenas alterando os cátions, os CPPs são de grande interesse nas áreas médica e farmacêutica. Além disso, existe a possibilidade de inclusão de fármacos, proteínas e células, sem a necessidade de controle de temperatura ou processos de purificação, abrindo um leque de opções em diferentes campos de aplicação (MOMENI *et al.*, 2016)(PICKUP *et al.*, 2014b).

### 1.2.2. Coacervatos de polifosfato de cálcio

Dentre os CPPs, os coacervatos sintetizados com íons  $\text{Ca}^{2+}$  possuem grande notoriedade científica devido à sua similaridade química com os dentes e ossos, favorecendo suas propriedades de biocompatibilidade e bioabsortividade, além do baixo custo para síntese em larga escala (HABRAKEN *et al.*, 2016)(KOPP *et al.*, 2012).

À luz do conhecimento da literatura disponível, observa-se poucos artigos usando cálcio-CPPs (Ca-CPPs) para liberação de fármacos. A seguir, será apresentado e discutido brevemente, os referidos trabalhos.

Pickup e colaboradores, 2014 (PICKUP *et al.*, 2014a) sintetizaram Ca-CPPs com fórmula química de  $(\text{Na}_2\text{O})_x(\text{CaO})_{0,5-x}(\text{P}_2\text{O}_5)_{0,50}.\text{yH}_2\text{O}$ , a partir de sais de nitrato de cálcio e de cloreto de cálcio. Empregando diferentes técnicas para caracterização do material foi possível fazer algumas afirmações como, não houve diferenças estruturais significativa com a utilização de diferentes sais de cálcio, as moléculas de água estavam presentes na estrutura do coacervato de dois modos distintos, sendo um ligado fracamente na estrutura da molécula e a outra molécula fazendo parte da estrutura do fosfato e por fim, a caracterização estrutural também permitiu notar que esse Ca-CPPs têm estruturas semelhantes aos vidros preparados por fusão. Além dessas caracterizações, os autores ainda buscaram uma aplicação para esse material. Para tal, associaram os Ca-CPPs com  $\text{Ag}_2\text{O}$  para avaliar o potencial desse sistema como agente antibacteriano. Após o estudo sistemático, foi concluído que os coacervato de polifosfato de cálcio tem atividade antibacteriana significativa.

Ainda no contexto do emprego de Ca-CPPs como materiais com potencial antibacteriano, Gibson e colaboradores em 2019 (GIBSON; MOMENI; FILIAGGI, 2019b) desenvolveram um material composto por microesferas de polifosfato de cálcio e avaliou seu potencial para liberação *in vitro* da minociclina visando o emprego em tratamentos de periodontite. O Ca-CPPs foi sintetizado a partir da reação de precipitação de cloreto de cálcio e solução de fosfato de sódio e em seguida, adicionou-se o fármaco por meio de uma emulsão. A caracterização do material permitiu inferir que o Ca-CPPs apresentam microesferas com tamanhos variando de 22 a 195  $\mu\text{m}$ . Tendo em vista estes tamanhos, partículas com maiores diâmetros apresentaram incorporação média de fármaco de aproximadamente 81%, enquanto para partículas menores, os valores determinados foram de 51%. Por fim, os autores relataram que a liberação *in vitro* da minociclina foi pronunciada durante 7 dias, sendo que não houve diferença significativa de liberação entre partículas grandes e pequenas.

Além do trabalho citado anteriormente, Dion e colaboradores, 2004(DION *et al.*, 2005b), prepararam uma matriz de Ca-CPP de liberação controlada empregando o conceito de gelificação. Para tal, o Ca-CPP ficou exposto por uma alta umidade em

determinados tempos (0, 5, 24 ou 48 horas), com posterior secagem de no mínimo 24h. Nesse contexto, os autores sugerem que as condições brandas de síntese da matriz proporcionaram a incorporação do fármaco vancomicina sem maiores dificuldades. Visto que, os processos de gelificação e secagem contribuíram para a diminuição da resistência à tração da matriz e a formação de poros significativos perto da superfície das matrizes. Em relação a incorporação do fármaco, as caracterizações (análises de RMN e Raman) do Ca-CPPs revelaram que a presença da vancomicina não modificou o processo de formação da matriz. Por fim, os autores concluíram que a capacidade de incorporação associada a essa não modificação da matriz, faz com que o material se apresente como potencial para o desenvolvimento de um sistema de entrega localizada de fármaco para o tratamento de infecções de osteomielite.

### **1.3. Sistemas de liberação de fármacos**

Segundo a farmacopeia brasileira, fármaco, ou insumo farmacêutico ativo, é uma substância química ativa que tem propriedades farmacológicas com finalidade medicamentosa utilizada para diagnóstico, alívio ou tratamento, empregada para modificar ou explorar sistemas fisiológicos ou estados patológicos em benefício da pessoa na qual se administra (BRASILEIRA, 2019). Sua formulação pode ser convencional ou modificada, variando a forma de liberação.

Em formulações convencionais a liberação do fármaco ocorre imediatamente após a administração. Nelas, portanto, não há qualquer controle da liberação e especificidade do local de atuação (BORANDEH *et al.*, 2021; BRASILEIRA, 2019; DE LYRA *et al.*, 2007). Sendo assim, apenas uma pequena fração da dose atinge o tecido alvo e o restante é desperdiçado, tanto pela sua distribuição por outros tecidos, quanto por sua metabolização ou excreção antes de atingir o local de ação. Dessa forma, acaba sendo necessário a administração periódica do princípio ativo durante o período de tratamento podendo haver interrupção do tratamento pelo paciente ao negligenciar os intervalos entre as doses (BORANDEH *et al.*, 2021; DE LYRA *et al.*, 2007).

Nessas formulações, inicialmente o fármaco se apresenta no plasma sanguíneo abaixo do nível de ação terapêutica em um primeiro momento, mas rapidamente atinge o pico de concentração sendo então metabolizado e sua concentração no

organismo diminuída, necessitando uma nova administração até o fim do tratamento. Para que o fármaco seja eficaz, os picos de concentração devem estar dentro da faixa de nível terapêutico. Concentrações abaixo desse nível podem ocasionar ineficiência do tratamento e acima, efeitos tóxicos (BORANDEH *et al.*, 2021; DE LYRA *et al.*, 2007).

A fim de minimizar as adversidades da liberação convencional, foi necessário o desenvolvimento de outras formas terapêuticas capazes conduzir o fármaco até ao alvo, modular o perfil farmacocinético e a velocidade de liberação, além da duração da ação do fármaco. Estas formulações foram chamadas de modificadas. (K. JAIN, 2008; PAOLINO *et al.*, 2006). Nesses sistemas a liberação é controlada podendo, por exemplo, ser retardada, de forma que a liberação do fármaco ocorra após decorrido certo período da administração, ou prolongada, em que a liberação do fármaco se mantém por um período mais prolongado após a administração, reduzindo, assim, a frequência necessária.

Com eles a eficácia terapêutica de um fármaco pode ser melhorada, pois é possível manter os níveis plasmáticos de drogas em uma faixa terapêuticamente desejável e a administração de medicamentos com meia-vida curta *in vivo* pode ser bastante facilitada. Também se tornam mais seguros, uma vez que eliminam ou reduzem os efeitos colaterais prejudiciais da administração sistêmica por administração local. Além disso, o uso de sistemas de liberação pode resultar em um produto relativamente mais barato, já que há menor desperdício do fármaco (K. JAIN, 2008; PAOLINO *et al.*, 2006).

O controle pode ser feito desde métodos mecânicos, físico-químicos e químicos aplicados as formas farmacêuticas convencionais ou a sofisticados dispositivos, que funcionarão como uma interface entre paciente-fármaco. Cada fármaco, em virtude do tamanho, estabilidade ou necessidade de direcionamento, requer um sistema especializado de liberação que deve considerar simultaneamente vários fatores, como propriedade do fármaco, via de administração, natureza do veículo de liberação, mecanismo de liberação do fármaco, capacidade de direcionamento e biocompatibilidade. Entre estes sistemas estão incluídos os lipossomas, as bombas osmóticas, os revestimentos entéricos, os sistemas transdérmicos, os sistemas matriciais poliméricos, entre outros.

Nos sistemas farmacêuticos matriciais o fármaco está incluído num sistema formado por cadeias de uma ou várias substâncias químicas polimerizadas, que funcionam como agentes moduladores da liberação.

De maneira particular, a utilização de sistemas matriciais, que podem ser constituídos por diversos tipos de polímeros, é opção interessante, devido a sua versatilidade, eficácia, baixo custo e produção que recorre a equipamentos e técnicas convencionais.

Nesses sistemas os mecanismos para controlar a liberação das substâncias ativas são erosão, difusão e intumescimento. A predominância de um destes mecanismos depende invariavelmente das propriedades do polímero empregado no sistema. De um modo geral, quando as estruturas matriciais entram em contacto com o meio de dissolução, ou fluído biológico, podem manter a sua estrutura mais ou menos constante ao longo de todo o processo de dissolução ou podem sofrer um fenómeno de intumescimento e, posteriormente, de erosão.

Dada a variedade de formas e composições que os sistemas de entrega baseados em polímeros podem assumir, vários modelos cinéticos foram propostos para explicar quantitativamente o mecanismo de liberação. A Tabela 1 resume os modelos mais simples e mais utilizados para elucidação da liberação, onde  $k$  corresponde à constante cinética de liberação e o expoente refere-se ao mecanismo de liberação associado a cada modelo.

**Tabela 1:** Resumo dos modelos cinéticos de liberação de fármacos.

Modelo	Equação
Ordem zero	$\frac{M_t}{M_\infty} = k_0 t$
Primeira ordem	$\ln \left( \frac{M_t}{M_\infty} \right) = k_1 t$
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = k_H t^{\frac{1}{2}}$
Korsmeyer-Peppas	$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^n$
Weibull	$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - e^{(-at^b)}$

**Fonte:** (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002a)

No modelo de ordem zero, as plataformas que não se desintegram e liberam a mesma quantidade de fármaco por unidade de tempo. A razão de liberação do fármaco em função do tempo é linear sendo esse modelo é considerado ideal para amostras de ação prolongada, embora seja difícil de obter na prática. (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002a).

A cinética de primeira ordem tem um comportamento linear quando o logaritmo da fração de fármaco é plotado em função do tempo. Este modelo de liberação é característico de plataformas de matrizes porosas que liberam fármacos hidrossolúveis, isto é, liberam o fármaco proporcionalmente à quantidade remanescente no interior da plataforma. (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002a).

Higuchi desenvolveu equações para diversos sistemas baseado em formas sólidas e semissólidas, entretanto, a equação simplificada apresentada na Tabela 1 descreve a liberação partindo da premissa de que ela se dê por meio da difusão de partículas no meio que obedecem a lei difusional de Fick. (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002a).

A difusão de Fick consiste em processo no qual o fármaco dissolvido no interior da membrana a atravessa para equilibrar sua concentração no interior da matriz com o meio de dissolução, com velocidade proporcional de troca entre as soluções interna e externa. No entanto, o processo de difusão pode ser afetado pelas propriedades físico-químicas dos polímeros que constituem a plataforma de liberação, como as interações polímero-solvente e polímero-polímero, que alteram a taxa de difusão. Neste caso, dependendo do caráter hidrofílico ou hidrofóbico do polímero, a taxa de liberação do fármaco é influenciada pelo processo de relaxação das cadeias poliméricas em função da capacidade de solvatação do meio de dissolução. Esse comportamento é chamado de difusão não Fickiana e pode ser dividido em duas categorias: transporte anômalo e transporte caso II. A diferença entre os mecanismos não-Fickianos está baseada na velocidade de relaxação do polímero e difusão do solvente para o interior da matriz. As diferenças entre os mecanismos não-Fickianos são baseadas nas taxas de relaxação do polímero e na difusão do solvente na matriz. No mecanismo anômalo, a taxa de relaxamento do polímero e a taxa de difusão do solvente na membrana são da mesma ordem de grandeza, enquanto para o transporte do caso II, a taxa de liberação do fármaco é dominada pelo relaxamento das cadeias poliméricas. (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002b; RITGER; PEPPAS, 1987)

Por mais que esse modelo seja de grande utilidade em sistemas porosos e permitia descrever de maneira simples a velocidade de liberação de um fármaco a partir de um sistema matricial, seu uso em sistemas que intumescem, que são erodíveis ou ainda que possuem mais de um mecanismo de liberação pode tornar-se insuficiente. (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002a).

Nesses casos o modelo proposto por Kosmeyer e Peppas, que descreve exponencialmente a liberação do fármaco, se adequa melhor à descrição de sistemas de liberação de fármacos com essas características. Este modelo é amplamente aplicável em plataformas de entrega de polímeros precisamente porque pode prever se múltiplos mecanismos estão afetando a liberação do fármaco. (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002a).

Por fim temos o modelo de Weibull que parte de uma modelagem empírica geral para um processo de dissolução/liberação. Esta equação, por poder ser aplicada com sucesso a quase todos os tipos de curvas de dissolução e é normalmente usada nestes estudos. (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002a).

## 1.4. Fármacos modelo

Para estudos de sistemas de liberação são utilizados fármacos modelo a fim de avaliar a viabilidade do mesmo a uma determinada via de administração. A escolha desses fármacos pode ser feita devido ao vasto conhecimento sobre sua eficácia, segurança e qualidade, indicação terapêutica, propriedades físico-químicas, caráter hidrofílico ou hidrofóbico, possibilidade ou não de interação e ligação com as matrizes estudadas, pKa, disponibilidade, entre outros.

No presente trabalho os fármacos selecionados foram a cafeína e clorexidina por se tratar de substâncias já conhecidas na literatura, além de possuírem aplicações tópicas em diferentes áreas, sendo a primeira na cosmética e a segunda na farmacêutica.

### 1.4.1. *Cafeína*

A cafeína é um dos compostos alcalóides da metil xantina semelhante à purina mais consumido em todo o mundo. As maiores fontes de consumo são o café, guaraná, mate, cacau e noz de cola, embora tenha sido identificado em quantidades variadas nos grãos, folhas e frutos de mais de 60 espécies de plantas (DE, 2010)(WILLSON, 2018)

Embora o café e outras bebidas que contenham cafeína, como o chá, tenham sido consumidos pelo menos desde a Dinastia Han Ocidental, que governou de 207 aC a 9 aC, a molécula só foi isolada em 1819 pelo médico alemão Friedlieb Ferdinand Runge. A partir da cromatografia de papel, Runge conseguiu purificar um pó branco cristalino do extrato de grãos de café que ganhou de presente do poeta Johann Wolfgang Goethe que ele nomeou de “kaffebase”. (ANFT, 1955)(WILLSON, 2018)

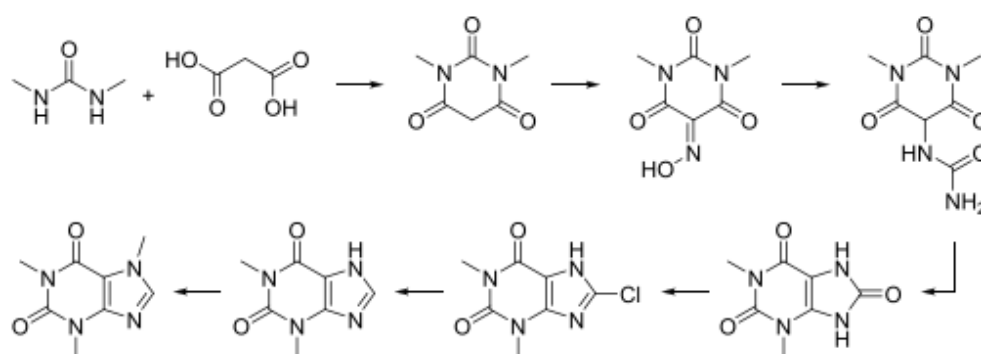
Pouco tempo depois, em 1821, os químicos Pierre Jean Robiquet e a dupla Pierre-Joseph Pelletier e Joseph Bienaimé Caventou, de nacionalidade francesa, isolaram o referido composto de forma autônoma e, aparentemente, sem o conhecimento do trabalho desenvolvido pelos seus pares. O termo *cafféine*

(designação francesa para cafeína) aparece escrito, pela primeira vez, no artigo de Pelletier sobre o assunto em causa. (WILLSON, 2018)

Em 1827 M. Oudry isolou a “teína” a partir do chá e até finais do séc. XIX acreditava-se que a “teína” era uma substância diferente da cafeína. Foi só no início do séc. XX, devido aos avanços científicos nos métodos laboratoriais, que Mulder e Carl Jobst demonstraram que eram a mesma substância. (WILLSON, 2018)

Em 1893-95 é a vez de mais um químico alemão, Hermann Emil Fischer, inscrever o seu nome na história da cafeína pela descoberta do seu processo de síntese total e determinação da sua fórmula de estrutura. Fischer, considerado o pai da Química Orgânica, foi laureado com o Prémio Nobel da Química em 1902. A Figura 4 ilustra a primeira síntese da cafeína. (WILLSON, 2018)

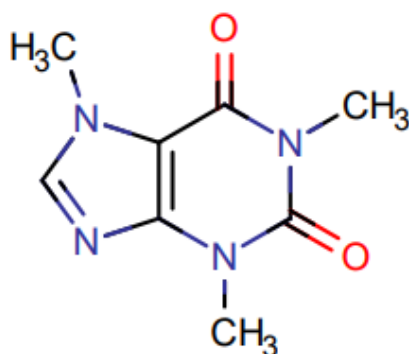
**Figura 4:** Primeira síntese de cafeína de acordo com Fischer



**Fonte:** adaptado de(GONZÁLEZ-CALDERÓN *et al.*, 2015)

Dado seu contexto histórico e considerando as informações retiradas do banco de dados químico da PubChem, a cafeína apresenta nome IUPAC 1,3,7-trimethyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purine-2,6-dione, fórmula C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> e massa molar de 194,194 g mol<sup>-1</sup>. A Figura 5 ilustra a fórmula química da molécula de cafeína.

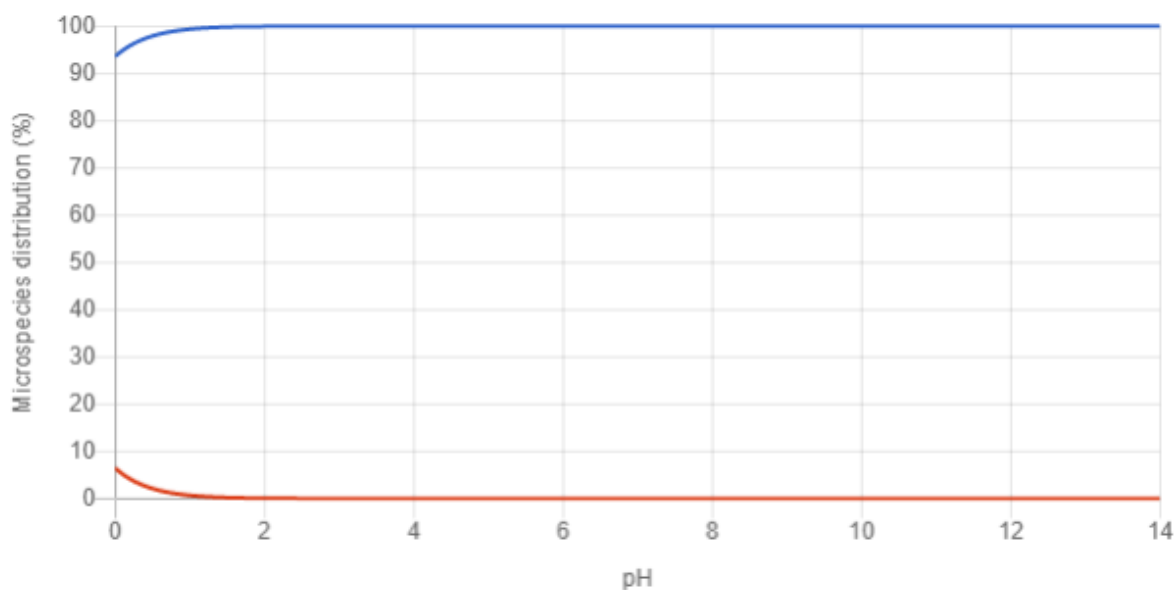
**Figura 5:** Estrutura química da molécula de cafeína.



**Fonte:** Adaptado PubChem, 2022 (PUBCHEM, 2022a)

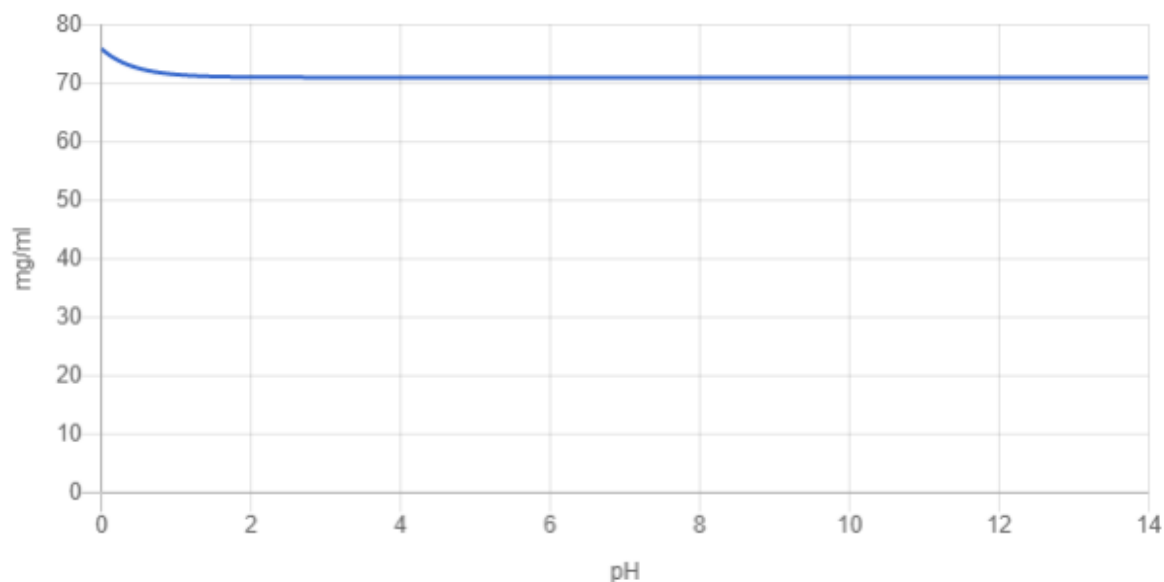
Além dessas informações sobre o nome e as estruturas da molécula, o banco de dados da PubChem destaca algumas características físico-químicas que são relevantes para este estudo. Dessa maneira, as Figuras 6 e 7 ilustram a distribuição das micro espécies e a solubilidade da cafeína.

**Figura 6:** Distribuição das micro espécies da cafeína de acordo com a variação de pH sendo a linha azul correspondente a molécula não ionizada e a vermelha sua micro espécie ionizada.



**Fonte:** Adaptado PubChem, 2022 (PUBCHEM, 2022a)

**Figura 7:** Solubilidade da cafeína com a variação do pH.



**Fonte:** Adaptado PubChem, 2022 (PUBCHEM, 2022a)

Em relação a distribuição das micro espécies, a cafeína apresenta duas possibilidades. A primeira e mais provável é dada pela linha azul na Figura 6. Observa-se que esta micro espécie é praticamente estável com a variação do pH, com uma pequena variação e pH extremamente ácidos, onde é favorecido sua ionização e consequentemente proporciona a formação de uma segunda micro espécie. Ainda assim, vale destacar que essa espécie ionizada representa uma pequena porção, isto é, a forma não ionizada ainda é preponderante.

Em relação a solubilidade, a cafeína apresenta comportamento relativamente interessante, dado que a solubilidade é praticamente constante com diferentes pHs. Neste sentido, a faixa de pH fisiológico é atendida e torna essa molécula atraente para ser avaliada por liberação controlada.

A principal utilização da cafeína é para estimular o sistema nervoso central aumentando a vigília e a atividade mental, pois inibe a fosfodiesterase e tem efeito antagônico nos receptores centrais de adenosina. (Parfitt e Martindale, 1999). Além disso também possui ação antinociceptiva intrínseca, ou seja, sua capacidade de inibir a sensação de dor. Essa ação é feita pela cafeína anidra por meio do bloqueio dos

receptores de adenosina, um neurotransmissor que possui efeitos antagônicos aos da cafeína é comumente usada como analgésico. Contudo cada vez mais utilizados para a produção de muitos cosméticos. Suas principais vantagens para essa utilização são: estimular o metabolismo, ajudar a remover os depósitos de toxinas do corpo, reduzir os olhos inchados, acelerar a drenagem do sistema linfático do tecido adiposo, melhorar a microcirculação sanguínea nos capilares, possuir propriedades anticelulite, ativando a lipólise e liberando o excesso de gordura dos adipócitos. Também é usada em produtos capilares, pois reduz e retarda o processo de calvície e estimula o crescimento do cabelo. (HERMAN; HERMAN, 2012)

A cafeína também é empregada como um composto hidrofílico modelo na toxicologia da pele; a absorção dérmica de tais compostos marcadores é usada para avaliação de risco de exposição a substâncias perigosas no homem (OECD, 2004). A cafeína é recomendada como substância de teste pela OCDE porque foi extensivamente estudada *in vitro* e *in vivo*.

Quando associada ao polifosfato de cálcio grande parte dos trabalhos na literatura estão relacionados a aplicações médicas em sistemas de liberação de fármacos, como o trabalho de Tanzawa e colaboradores (TANZAWA *et al.*, 2011). Neste trabalho foi investigado se as matrizes de cimento de polifosfato de cálcio contendo fármaco anticancerígeno, cisplatina, e cafeína, que aumentam o efeito citocida das drogas anticancerígenas, amplificariam os efeitos antitumorais em osteossarcomas de ratos. A partir de testes *in-vitro* de liberação e inibição das células osteossarcomas e *in-vivo* com o transplante da matriz contendo fármacos no local em que o tumor foi extirpado, foi possível observar que a inibição do crescimento tumoral com ambos os fármacos cafeína foi maior se comparado ao que continha apenas cisplatina.

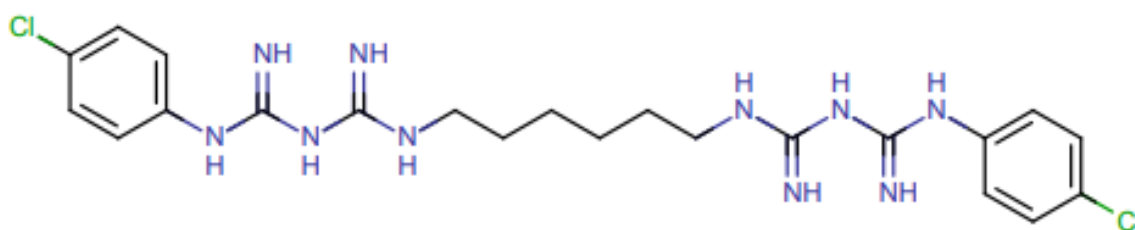
#### 1.4.2. Clorexidina

A clorexidina é uma molécula que foi sintetizada em meados dos anos de 1954 e atualmente é amplamente empregada para tratamento de gengivite e periodontite, devido ao seu grande potencial antisséptico (MYANEH *et al.*, 2022).

Segundo a PubChem, que é um banco de dados químico aberto da *National Institutes of Health* (NIH), a clorexidina apresenta o nome IUPAC em inglês como de

2-[6-[[amino-[[amino-(4-chloroanilino)methylidene]amino]methylidene]amino]hexyl]-1-[amino-(4-chloroanilino)methylidene]guanidine. Além disso, apresenta fórmula estrutural e massa molar de  $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$  e  $505,45 \text{ g mol}^{-1}$ . A Figura 8 ilustra a estrutura química da clorexidina.

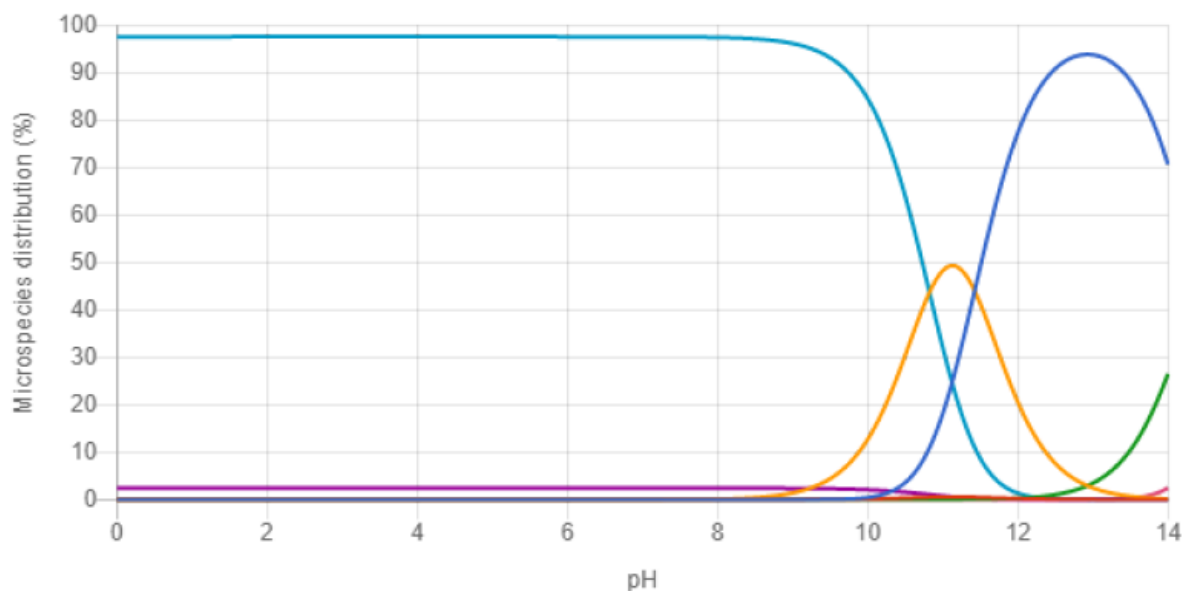
**Figura 8:** Fórmula estrutura do fármaco clorexidina



**Fonte:** Adaptado de PubChem(PUBCHEM, 2022b).

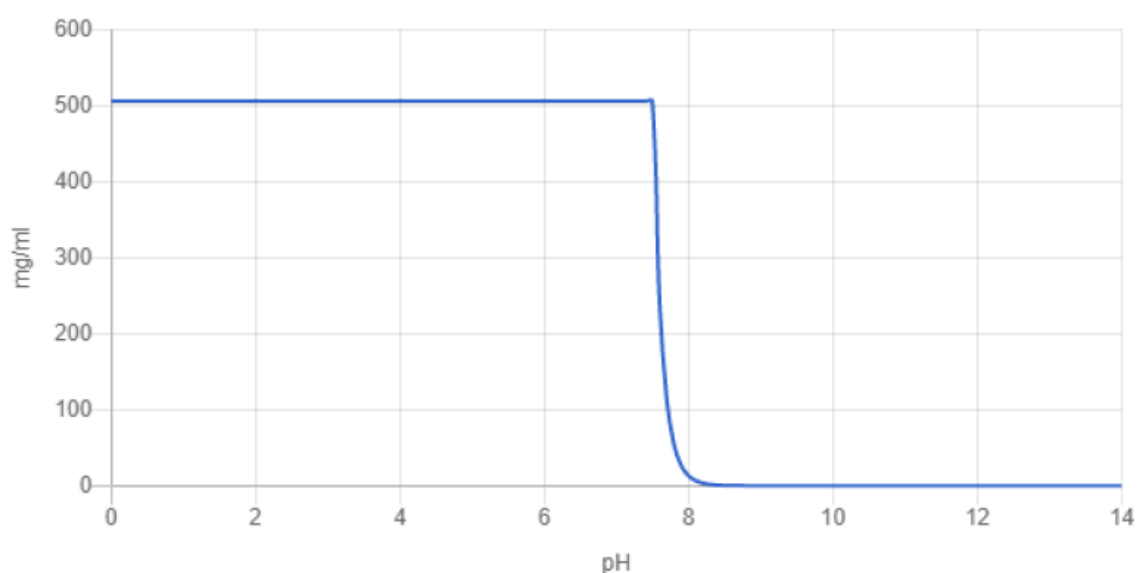
O banco de dados internacional também apresenta características físico-químicas relevantes, como a distribuição das micro espécies em relação ao aumento do pH, bem com sua solubilidade em água. Estas referidas informações estão ilustradas nas Figuras 9 e 10, respectivamente.

**Figura 9:** Distribuição das micro espécies da clorexidina de acordo com a variação de pH sendo a linha azul clara a molécula não ionizada e as outras linhas as protonações em seus nitrogênios.



**Fonte:** Adaptado de PubChem(PUBCHEM, 2022b).

**Figura 10:** Solubilidade da clorexidina com a variação do pH.



**Fonte:** Adaptado de PubChem(PUBCHEM, 2022b).

A molécula de clorexidina apresenta 7 micro espécies, sendo cada uma delas denotadas pelas diferentes cores na Figura 9. A micro espécie principal é

predominante até pH próximo a 10 (linha azul claro) e não apresenta protonação em seus nitrogênios, sendo que seu pKa de 11,43 a 25 °C. Dentre as demais micro espécies, apenas uma é ionizada com mais facilidade, a partir de pH superior a 10 (linha azul escuro).

Em relação a solubilidade, a Figura 10 ilustra que este fármaco é solúvel em até pH 7,0, contemplado a faixa de pH fisiológico. A partir deste valor de pH, a solubilidade diminui drasticamente sendo que a partir de pH 8,0, a molécula tende a ser praticamente insolúvel.

As características físico-químicas elencadas evidenciam o potencial dessa molécula para aplicações médicas. Neste sentido, alguns trabalhos da literatura foram selecionados para demonstrar esse potencial principalmente quando associado a material para liberação como os polifosfatos de cálcio.

Jayasree e colaboradores 2018 (JAYASREE *et al.*, 2018), propuseram o desenvolvimento de um cimento a base de polifosfato de cálcio para a liberação de íons  $Sr^{2+}$  e ornidazol. O material foi preparado pelo método de reações no estado sólido e promoveu uma incorporação ornidazol e  $Sr^{2+}$  em diferentes proporções equimolares tais como 1, 3, 5, 8 e 10, respectivamente. Os materiais foram caracterizados por difratometria de raios X e por microscopia de varredura eletrônica. Por sua vez, os íons  $Ca^{2+}$  e  $Sr^{2+}$  foram analisados e quantificados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP – OES). Avaliados os diferentes materiais, os autores concluíram a proporção equimolar de 8 foi que apresentou os resultados mais satisfatório, considerando também a liberação do fármaco. Além dessa conclusão, os autores sugerem que a mudança do fármaco para clorexidina é relevante e que o material apresenta também um bom potencial para tal.

Considerando apenas a clorexidina, a literatura relata um trabalho desenvolvido por Young e colaboradores 2008 (YOUNG *et al.*, 2008). Neste trabalho, os autores avaliaram o encapsulamento e a cinética de liberação da clorexidina em um cimento de fosfato de b-tricálcio/fosfato monocálcico monohidratado (b-TCP/MCPM) formador de brucita. O material ótimo sintetizado apresentou 12% em massa de clorexidina (CHX), sua caracterização foi avaliada juntamente com a liberação empregando espectroscopia Raman e Ultra-violeta (UV). No ponto de vista da caracterização, o CHX pode ser observado como grandes partículas sólidas e discretas, contudo em algumas partes do material de cimento, o fármaco estava parcialmente disperso pelos

poros. A liberação do CHX seguiu o modelo descrito por Fick, sendo independente da concentração inicial. Além disso, observou-se que em 24 h, aproximadamente 60% do CHX foi liberado e que a perda de massa da composição do cimento não foi significativa.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Geral

Preparar e caracterizar os coacervatos de polifosfato com diferentes proporções de fósforo e cálcio, avaliando-os como potenciais matrizes na forma de gel para liberação controlada de fármacos, por meio de sua eficiência e comportamento de incorporação e liberação usando a cafeína e a clorexidina como fármacos modelos.

### 2.2. Específicos

- Sintetizar os coacervatos de polifosfato de cálcio nas razões molares de P:Ca 0.5, 1.0 e 2.0;
- Caracterizar as amostras obtidas na síntese;
- Sintetizar os coacervatos de polifosfato de cálcio contendo os fármacos modelos;
- Caracterizar as amostras obtidas contendo os fármacos
- Fazer ensaios de incorporação e liberação dos fármacos.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Materiais

Os reagentes usados para sintetizar os coacervatos foram: hexametáfosfato de sódio 65-70% e cloreto de cálcio desidratado 98 +%. Os medicamentos usados para os estudos de incorporação e liberação foram diacetato de clorexidina (dimensão molecular  $34 \times 7 \times 6 \text{ \AA}$ , massa molecular de  $625,5 \text{ g mol}^{-1}$  e  $pK_a$  igual a 10,8) e cafeína (dimensão molecular de cerca de  $7,8 \times 6,1 \times 2,1 \text{ \AA}$ , massa molecular de  $194,19 \text{ g mol}^{-1}$  e  $pK_a$  igual a 14,0). Todos os produtos foram adquiridos da Sigma Aldrich.

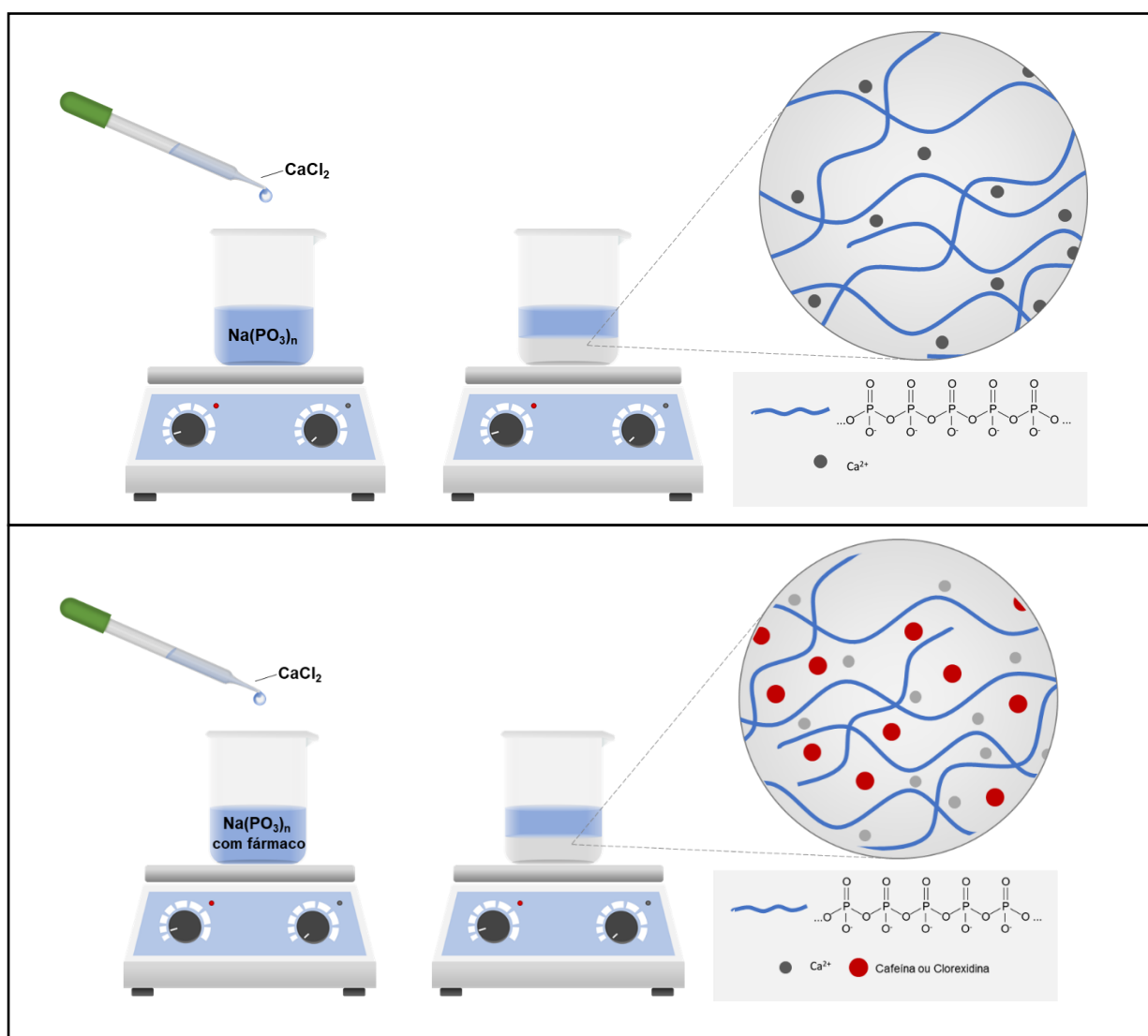
#### 3.2 Síntese de Coacervatos de Polifosfato de Cálcio puros e com fármacos

Com o objetivo de estudar a interação entre cálcio e polifosfato em coacervatos, os CPPs foram sintetizados seguindo a metodologia proposta anteriormente por Umegaki e colaboradores (UMEGAKI; NAKAYAMA; KANAZAWA, 1976) , porém utilizando razões molares de fosfato de cálcio (P:Ca) diferentes (de 0,5 a 2,0), mantendo o volume total do sistema. Uma solução de cloreto de cálcio (8, 4 ou 2 mol  $L^{-1}$  dependendo da razão final desejada [P]:[Ca]) foi adicionada lentamente sob agitação magnética à solução contendo 4 mol  $L^{-1}$  de polifosfato de sódio à temperatura ambiente a fim de produzir Ca-CPP (Figura 11a). Após a sedimentação do material o sobrenadante foi removido usando uma pipeta Pasteur. Em seguida, 2,0 mL de água destilada foram adicionados lentamente usando uma micropipeta. Este procedimento foi repetido várias vezes para remover o excesso de íons  $Ca^{2+}$ , que poderiam estar adsorvidos na superfície do coacervato. Essas amostras descarregadas foram inicialmente identificadas como PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0.

Para a síntese de Ca-CPP contendo fármacos, 50 mg de cafeína ou clorexidina foram inicialmente adicionados a solução contendo 4 mol  $L^{-1}$  de polifosfato de sódio e misturados sob agitação magnética até que a mistura se tornasse homogênea (Figura 11b). As demais etapas foram similares ao procedimento anterior em que não há o fármaco. Essas amostras contendo os fármacos foram identificadas como

CAFPCa0.5, CAFPCa1.0 e CAFPCa2.0 para cafeína e CHXPCa0.5, CHXPCa1.0 e CHXPCa2.0 para clorexidina. Ao final da síntese, o sobrenadante e as lavagens foram armazenados a 25 °C para quantificação dos fármacos não incorporados.

**Figura 11:** Rota de preparo das (a) amostras de coacervato de polifosfato de cálcio puro (PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0) e (b) com amostras de cafeína e clorexidina (CAFPCa0.5, CAFPCa1.0, CAFPCa2.0, CHXPCa0.5, CHXPCa1.0 e CHXPCa2.0)



Fonte: autor

### 3.3 Eficiência de incorporação dos fármacos

Para determinar a quantidade de fármaco incorporada na fase de coacervato, soluções contendo fármacos livres foram quantificadas por espectroscopia UV-Vis. Duas curvas de calibração diferentes (uma para clorexidina e outra para cafeína) com a mesma faixa de concentração (0,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 35,0, 40,0, 45,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) foram preparadas em solução tampão de acetato em pH igual a 5,8. A quantificação de clorexidina e cafeína foi feita por meio de medidas de absorbâncias nos comprimentos de onda 272 e 230 nm respectivamente. O teor do fármaco incorporado ( $C_f$ ) foi determinado pela diferença do teor inicial do fármaco ( $C_i$ ) e do teor do fármaco livre ( $C_l$ ) quantificado no sobrenadante conforme a Equação 1 abaixo.

$$C_f = C_i - C_l \quad \text{Equação 1}$$

A partir dos dados de teor foi calculada a eficiência de incorporação dos fármacos nas amostras segundo a Equação 2.

$$\%_i = \frac{C_f}{C_i} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

### 3.4 Liberação in vitro de cafeína e clorexidina

O perfil de liberação in vitro de cafeína e clorexidina de 2,0 g de amostras de coacervato CAFPCa0.5, CAFPCa1.0, CAFPCa2.0, CHXPCa0.5, CHXPCa1.0 e CHXPCa2.0 foi realizado usando um aparelho USP tipo I (cesta) em um dissolutor de acordo com as condições sink (Figura 12). Os meios de dissolução foram preparados de acordo com USP 31 (2008), com solução tampão de acetato em pH 5,8.

**Figura 12:** Dissolutor e aparelho USP tipo I com amostras



**Fonte:** Autor

O conjunto foi agitado a 50 rpm e equilibrado a 37 °C. Alíquotas de 2 mL foram retiradas em intervalos pré-determinados e substituídas por meio fresco na mesma temperatura. As amostras foram filtradas usando um filtro de 0,45 µm antes da análise. As concentrações de cafeína e clorexidina foram quantificadas pela medição da absorbância em 272 e 230 nm, respectivamente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

A liberação cumulativa dos fármacos foi calculada de acordo com a Equação 3, no qual  $m_f$  corresponde a massa de fármaco presente nos Ca-CPPs,  $V_0$  é o volume total do meio de liberação ( $V_0=500,0$  mL),  $V_t$  é o volume de alíquotas removida no tempo  $t$  ( $V_t=1,00$  mL) e  $C_f$  é a concentração de fármaco na amostra.

$$\text{Liberação (\%)} = \frac{V_t \sum_{i=1}^{n-1} C_i + V_0 C_f}{m_f} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

### 3.5 Análise do mecanismo de liberação dos fármacos in vitro

O estudo do mecanismo de liberação dos fármacos modelo in vitro foram realizados por meio de modelos matemáticos como Korsmeyer-Peppas e Weibull utilizando o software SigmaPlot 10.0. Modelos matemáticos foram ajustados apenas até 60 e 63,2% dos dados, respectivamente.

### 3.6 Instrumentação

Para os estudos de incorporação e liberação de fármacos, foi empregado o Ethik Dissolutor Mod. 299 equipado com aparelho de dissolução USP tipo I (cesto), fornecido com recipiente de volume de 500 mL, respeitando as condições sink e o espectrômetro Perkin Elmer Lambda 1050 UV / VIS / NIR operando na faixa espectral de 200 a 800 nm em modo de absorbância, usando cubetas de quartzo.

As amostras PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0 foram estudadas por análise térmica usando o Sistema METTLER TOLEDO SC STA-Re em atmosfera de N<sub>2</sub> com uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> de 30 a 800 °C. As análises reológicas foram estudadas utilizando um reômetro AR2000 de instrumentos TA a 20 °C, com geometria cone-placa 1°, para cada amostra, as curvas de fluxo foram medidas aumentando a taxa de cisalhamento, de 0 a 100 s<sup>-1</sup>, e diminuindo, de 100 a 0 s<sup>-1</sup>, com 50 pontos cada, respectivamente.

Mudanças estruturais de Ca-PPC impulsionadas pela adição de fármacos foram estudadas. Para isso, após o preparo, as amostras foram secas em dessecador por 7 dias e maceradas em almofariz com pistilo. O pó foi analisado por espectroscopia de infravermelho usando pastilhas de KBr 1% (m/m) em um espectrômetro PerkinElmer Frontier FT-IR no modo de reflectância difusa, FTIR-DRIFT, na faixa de 500 a 4000 cm<sup>-1</sup> usando 50 varreduras e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>. As amostras também foram estudadas usando espectroscopia Raman (usando apenas uma pequena quantidade de pó em uma lâmina de microscópio) usando um espectrômetro HORIBA Jobin Yvon modelo LabRAM HR micro aparelho Raman, equipado com um laser de 632,8 nm em temperatura ambiente na faixa de 400 a 1400 cm<sup>-1</sup>.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

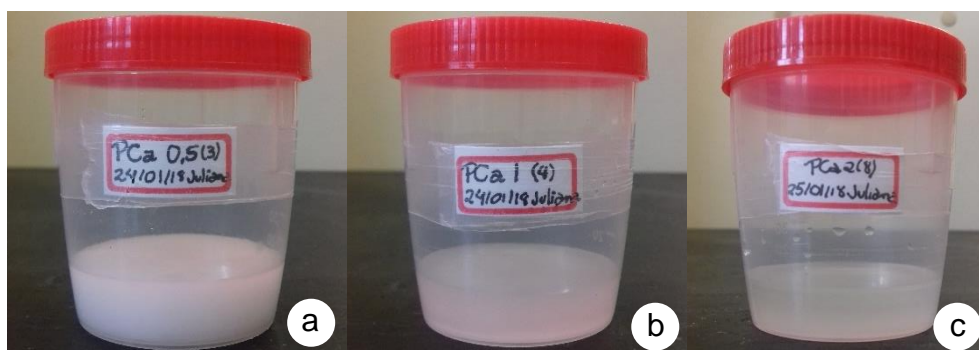
Ca-PPC contendo cafeína e clorexidina como fármacos modelo foram sintetizados com sucesso em temperatura ambiente. Além disso, a influência da razão [P]:[Ca] na síntese de Ca-PPCs e seu uso como sistemas de liberação de fármacos não foi divulgada até o momento na literatura. Assim, diferentes proporções (0,5, 1,0 e 2,0) de [P]:[Ca] foram usadas para investigar seu impacto nas propriedades físico-químicas de Ca-PPCs contendo cafeína e clorexidina, bem como qualquer influência no comportamento de liberação de fármacos do Ca-PPC.

### 4.1. Caracterização

#### 4.1.1. Coacervatos de polifosfato de cálcio

As amostras PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0 foram obtidas a partir das razões [P]:[Ca] 4:8, 4:4 e 4:2, respectivamente e apresentaram diferentes níveis de opacidade e viscosidade.

**Figura 13:** Foto das amostras de coacervato de polifosfato de cálcio puro a) PCa0.5, b) PCa1.0 e c) PCa2.0

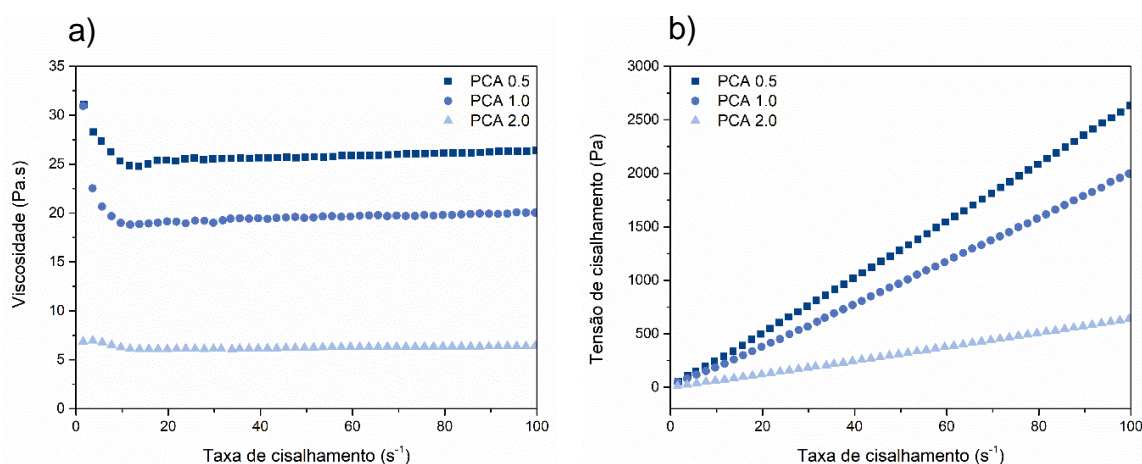


Fonte: autor

A amostra de PCa0,5, com maior concentração de Ca, foi a mais viscosa e opaca. Por outro lado, a amostra de PCa2.0, que possui a menor concentração de Ca, foi menos viscosa e menos opaca. Por fim, a amostra PCa1.0 apresentou características entre as outras duas amostras. Esses resultados indicam fortemente que tanto a viscosidade quanto a opacidade diminuem conforme a proporção molar de  $\text{Ca}^{2+}$  diminui.

A fim de obter resultados mais precisos em relação ao impacto da razão  $[\text{P}]:[\text{Ca}]$  nos coacervatos, estudos reológicos foram realizados e os resultados estão plotados na Figura 14

**Figura 14:** (a) Viscosidade e (b) Tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento para as amostras PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0.



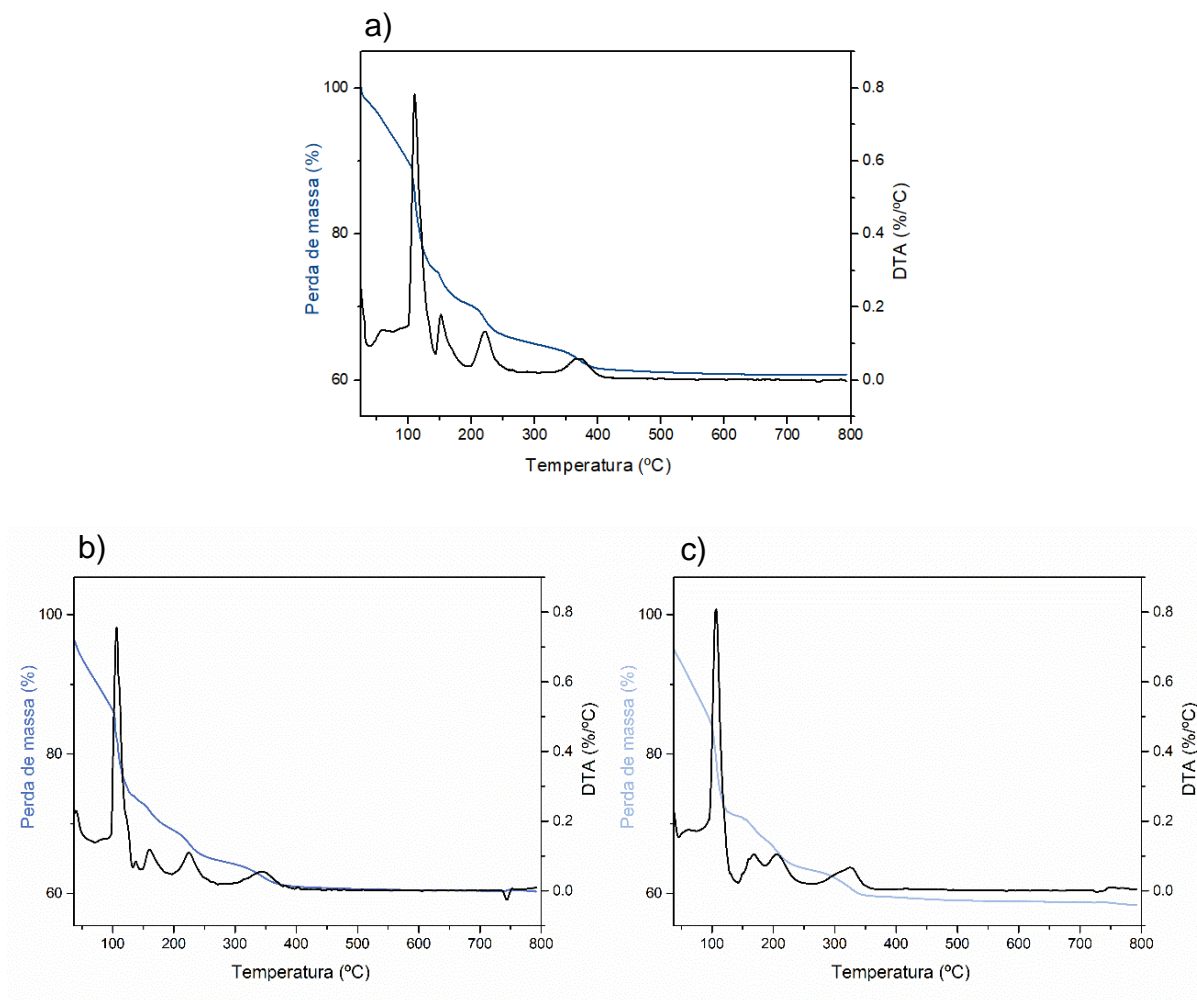
**Fonte:** autor

As curvas de viscosidade em função do cisalhamento são mostradas na Figura 14a. Uma lei de potência foi usada para modelar a tensão de cisalhamento versus os dados da taxa de cisalhamento das amostras e os resultados são mostrados na Figura 14b. Conforme observado, a viscosidade aumenta em função do teor de  $\text{Ca}^{2+}$ , ou seja, todas as amostras exibiram comportamento newtoniano ( $n = 1$ ). Em termos estruturais, Dias Filho et al. e Silva et al. propuseram modelos estruturais para descrever em detalhes o papel dos íons metálicos ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Co}^{2+}/\text{Ni}^{2+}$ ) no processo de coacervação de solução de polifosfato, respectivamente. Em ambos os trabalhos, o aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  promove a conectividade entre cadeias

polifosfáticas adjacentes em solução, o que leva a interação supramolecular mais efetivas no sistema CaP e, conseqüentemente, maior viscosidade.

A análise termogravimétrica (TG) foi usada para avaliar a decomposição térmica de coacervatos polifosfatos.

**Figura 15:** Curva TG e DTA do coacervato de cálcio nas razões a) 0,5, b) 1 e c) 2.



**Fonte:** autor

As Figura 15a, b e c mostram as curvas TG das amostras PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0. Antes de 100 °C, foram observadas perdas de aproximadamente 10, 15 e 16% para as amostras de PCa0,5, PCa1.0 e PCa2.0, respectivamente. Segundo Gomez e colaboradores (GOMEZ *et al.*, 1997), acredita-se que nem todas as moléculas de água são capazes de evaporar em baixas temperaturas, pois a cinética

é muito lenta. A 100 °C ainda existem moléculas de água, responsáveis pela reação de hidrólise termicamente acelerada do polifosfato formando orto e pirofosfatos. Por sua vez, essas cadeias de fosfato mais curtas podem formar hidratos estáveis com a água residual. Esses hidratos liberam água em temperaturas superiores a 100 °C por decomposição. Por volta de 200 °C, a quebra das ligações P-OH pode liberar mais moléculas de água do sistema. Na temperatura de aproximadamente, 750 °C, ocorre um evento endotérmico atribuído à fusão do coacervato de polifosfato de cálcio.

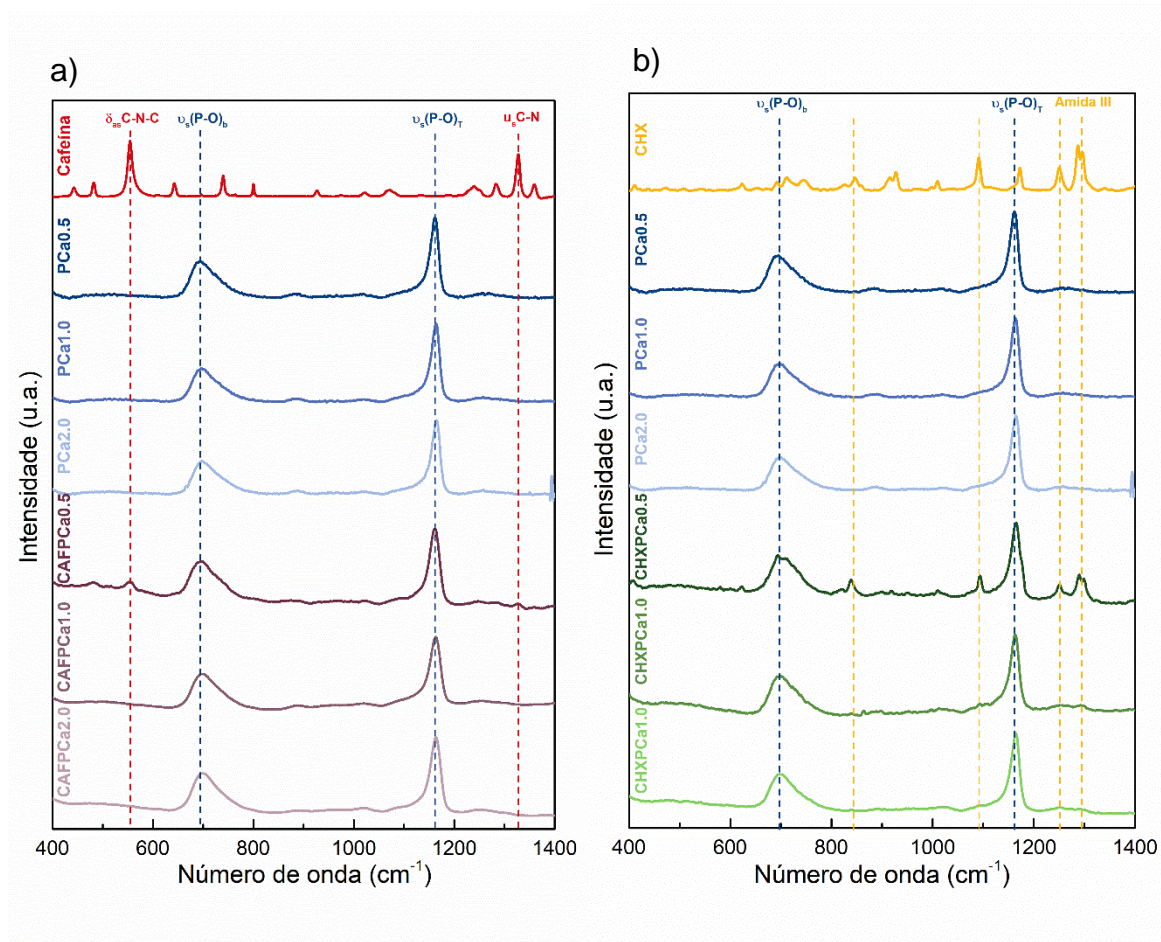
Considerando que a síntese dos coacervatos de polifosfato de cálcio foi realizada à temperatura ambiente e que não ocorreu decomposição térmica até 100 °C, os fármacos cafeína e clorexidina foram selecionados para o estudo de incorporação e liberação. Vale ressaltar que a cafeína e a clorexidina possuem estabilidade térmica de até 175 °C e 70 °C, respectivamente (SCHNITZLER *et al.*, 2004) (VERRAEDT *et al.*, 2010).

#### 4.1.2. Coacervatos de polifosfato de cálcio contendo fármacos

A fim de entender a influência do  $\text{Ca}^{2+}$  e dos fármacos nas estruturas dos Ca-CPPs, as amostras PCa0.5, PCa1.0, PCa2.0, CAFPCa0.5, CAFPCa1.0, CAFPCa2.0, CHXPCa0.5, CHXPCa1.0 e CHXPCa2.0 foram caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho e Raman. Ambas as técnicas possibilitam obter informações diretas acerca da estrutura do material, pois são governadas pelas massas dos átomos constituintes e as constantes de força entre eles: os modos vibracionais. Por estarem baseadas em princípios físicos diferentes, essas duas técnicas espectroscópicas podem fornecer informações distintas que, se somadas, proporcionariam um conhecimento fundamentado acerca do material de interesse.

As Figura 16 (a-b) e 17 (a-b) mostram os espectros Raman e FT-IR para cafeína, clorexidina e Ca-PPCs secos descarregados e carregados com fármacos em diferentes proporções, respectivamente.

**Figura 16:** Espectros Raman de coacervatos puros e com (a) CAF (cafeína) e (b) CHX (clorexidina), preparados com [P]: [Ca] de 0,5, 1,0 e 2,0, e (c) a razão entre as áreas sob bandas em 693 e 1161  $\text{cm}^{-1}$  para todas as amostras.



Fonte: autor

Na Figura 16a, os espectros Raman das amostras de PCa, CAFPCa e CHXPCa apresentam duas bandas principais em torno de 693 e 1161  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas às frequências de estiramento simétrico do  $\text{P-O}_b$  (em ponte) e à vibração de estiramento simétrico para o  $\text{P-O}_t$  (terminal) das cadeias de polifosfato, respectivamente (FRANCO, Douglas F. *et al.*, 2020a; MA *et al.*, 1994b; SILVA *et al.*, 2010b). Nas amostras de CaP, nenhuma diferença relevante entre os espectros Raman foi observada, pois a única diferença entre os coacervatos é apenas a concentração de íons  $\text{Ca}^{2+}$  na matriz Ca-PPC, o que não altera significativamente a polarização da molécula.

Os resultados da incorporação de cafeína e clorexidina nas amostras de CAFPCa<sub>0,5</sub> e CHXPCa<sub>0,5</sub> mostram a presença dos fármacos, Figura 16 (a-b). A amostra CAFPCa<sub>0,5</sub> apresenta os principais modos vibracionais de cafeína em 483  $\text{cm}^{-1}$  atribuídos à deformação assimétrica (C – N – C) e vibrações de alongamento simétrico (CN) em 1327, 1283, 1251 e 1072  $\text{cm}^{-1}$ , Figura 16(a) (KANG *et al.*, 2011). A amostra CHXPCa<sub>0,5</sub> apresenta a banda principal da clorexidina em 1270  $\text{cm}^{-1}$ , que é atribuída à amida III (PASCON *et al.*, 2012). Nas amostras PCa1.0 e PCa 2.0, não é possível detectar a presença dos fármacos, pois elas podem estar hospedadas em baixa concentração nas cadeias polifosfato.

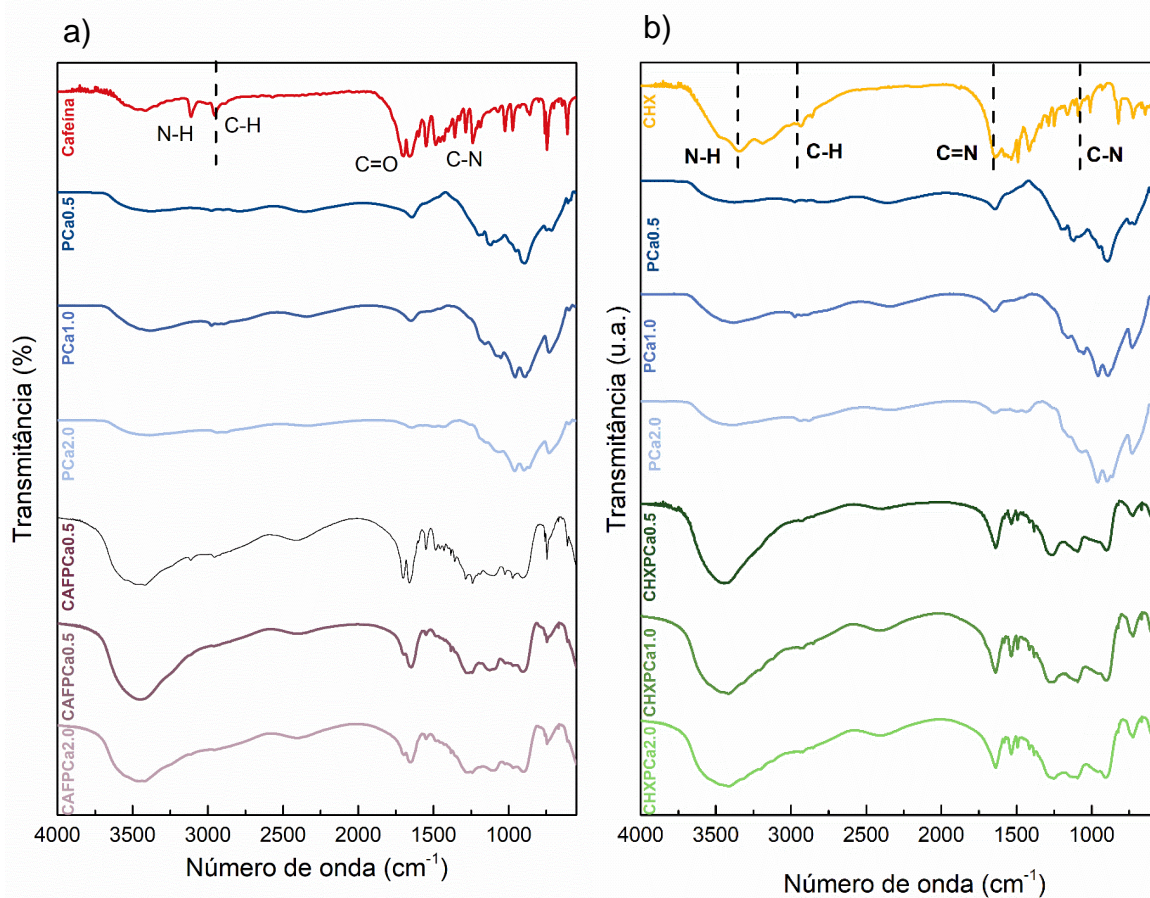
A partir da primeira análise dos perfis espectrais das amostras contendo fármacos, não é possível observar mudanças significativas na estrutura vibracional das cadeias polifosfáticas, apenas o aparecimento de bandas relacionadas à inserção de cafeína e clorexidina nas amostras CAFPCa<sub>0,5</sub> e CHXPCa<sub>0,5</sub>. Esse comportamento indica que, mesmo após a incorporação, a matriz de Ca-PPC não sofreu um rearranjo estrutural (com quebras nas cadeias), assim como nenhum produto de degradação foi formado durante a síntese.

Contudo, na Figura 16, é possível observar que a incorporação de fármacos nos coacervatos alterou as áreas das bandas relacionadas ao fosfato. Tanto a cafeína quanto a clorexidina contendo Ca-PPC apresentam proporções mais elevadas entre as bandas de polifosfato do que as observadas no coacervato puro. Isso é uma indicação de uma mudança na polarizabilidade das ligações polifosfato ( $\text{P-O}_t$ ) em relação ao ( $\text{P-O}_b$ ) e pode ser atribuído à presença de forças intermoleculares. Em amostras contendo clorexidina, os hidrogênios nas aminas acumulam uma carga positiva parcial e podem facilmente formar ligações de hidrogênio com os átomos de

oxigênio na cadeia de polifosfato. É importante mencionar que a clorexidina tem uma cadeia linear com vários grupos amino distribuídos, portanto, as interações intermoleculares são mais prováveis de ocorrer sem maiores impedimentos estéricos. Em amostras contendo cafeína, entretanto, os hidrogênios presentes têm carga parcial negativa e, conseqüentemente, as interações de Van der Waals predominam.

Para confirmar a presença dos fármacos nas amostras CAFPCa1.0, CAFPCa2.0, CHXPCa1.0 e CHXPCa2.0 e para certificar as interações entre a matriz Ca-PPC com os fármacos estudados por ligações de hidrogênio, a espectroscopia FT-IR foi utilizada como uma técnica complementar.

**Figura 17:** a) Espectros FT-IR de cafeína (CAF), b) clorexidina (CHX), amostras de Ca-PPC puras (PCa0.5, Pca1.0 e Pca2.0) e com fármacos (CAFPCa0.5, CAFPCa1.0, CAFPCa2.0 e CHXPCa0.5, CHXPCa1.0, CHXPCa2.0).



Fonte: autor

As Figura 17a e b mostram os espectros infravermelhos obtidos para cafeína, clorexidina, Ca-PPC em diferentes proporções. PCa0.5, PCa1.0 e PCa2.0 onde é possível observar comportamento vibracional semelhante. As bandas em 1272 e 1154  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas, respectivamente, ao alongamento assimétrico e simétrico das unidades ( $\text{PO}_2$ ) contendo átomos de oxigênio não ligados no meio da cadeia de fosfato. A banda a 1090  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao alongamento dos grupos terminais P – O– e aquela em 1028  $\text{cm}^{-1}$  aos grupos terminais  $\text{PO}_3$ . A banda que aparece em 882  $\text{cm}^{-1}$  é fortemente influenciada pela condensação das unidades de fosfato que constroem as cadeias e pode ser atribuída aos modos de alongamento assimétrico dos grupos P – O – P no meio da cadeia. O alongamento simétrico dos grupos P – O – P são refletidos pelas bandas na faixa de 722 e 783  $\text{cm}^{-1}$ , e a banda em 520  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída aos modos de deformação P–O nos grupos  $(\text{PO}_4)_3$ . Além disso, os espectros vibracionais dos coacervatos apresentam duas bandas em torno de 1650 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas aos modos de deformação e alongamento das moléculas de água adsorvidas.

As amostras CAFPCa0.5, CAFPCa1.0 e CAFPCa2.0 (Figura 17a) apresentam bandas relacionadas tanto à matriz Ca-PPC quanto à cafeína. No entanto, as bandas relacionadas à cafeína em 699, 860, 925 e 1189  $\text{cm}^{-1}$  relacionadas às vibrações  $\text{d}^{\text{T}}\text{C}-\text{C}$ ,  $\text{d}^{\omega}\text{CH}_3$ ,  $\text{d}^{\rho}\text{CH}_3$  e  $\text{nCH}_3$ , respectivamente, não estão presentes. Nas amostras CHXPCa0.5, CHXPCa1.0 e CHXPCa2.0 (Figura 17b), assim como nas anteriores, também foi possível observar a presença da matriz e do fármaco, neste caso a clorexidina. A principal diferença entre o espectro da clorexidina e as amostras é um deslocamento da banda em 1630  $\text{cm}^{-1}$  das vibrações dos grupos amino apresentados.

Esses resultados elucidam o que foi observado na espectroscopia Raman. As interações intermoleculares entre a matriz de polifosfato e os fármacos ocorrem nos hidrogênios dos grupos metila da cafeína e nas amins presentes na clorexidina como esperado.

#### 4.2. Eficiência de incorporação de cafeína e clorexidina em coacervatos de polifosfato

Os resultados da eficiência de incorporação de fármacos em coacervatos em diferentes razões [P]:[Ca] são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Composição dos coacervatos de polifosfatos contendo cafeína e clorexidina. A quantidade inicial de fármacos antes da coacervação foi de 50 mg para ambos os fármacos. Os resultados resumidos na tabela representam a média de três determinações  $\pm$  desvio padrão (DP).

P/Ca	Cafeína(mg)			Clorexidina(mg)		
	média	DP	DPR (%)	média	DP	DPR (%)
0,5	47,72	0,63	1,3	35,21	1,85	5,3
1,0	24,60	0,39	1,6	23,85	3,83	16,1
2,0	18,34	0,43	2,4	21,56	5,57	25,8

**Fonte:** autor

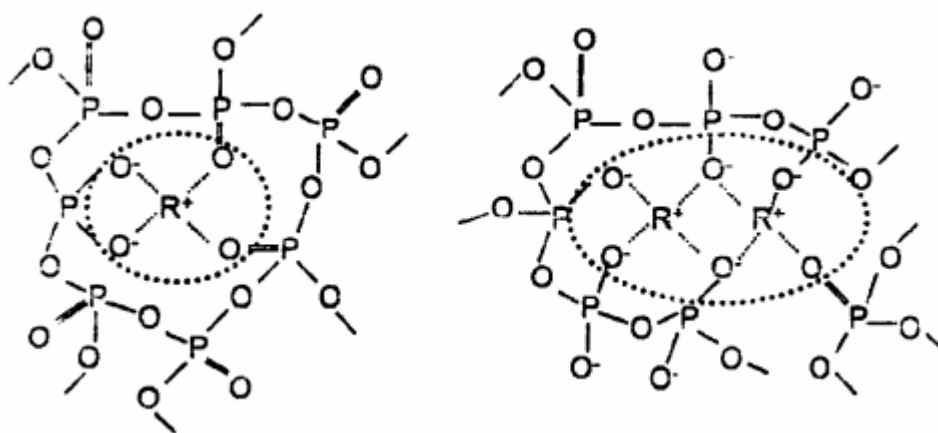
Amostras com menor relação [P]:[Ca] levam à maior porcentagem de incorporação de medicamentos. Para cafeína, os valores variaram de 18,34 (36,68%) a 47,72 mg (95,44%), enquanto para clorexidina, os valores variaram de 21,56 (43,12%) a 35,21 mg (70,42%) revelando um efeito menos pronunciado de [P]:[Ca] sobre a incorporação do fármaco à medida que a razão [P]:[Ca] aumentou.

Para a relação 0,5 [P]:[Ca], a cafeína apresentou eficiência de incorporação superior quando comparada à clorexidina contida, 95,44% e 70,42%, respectivamente. Porém, para a relação 2,0 [P]: [Ca] não foi possível observar diferenças significativas entre os dois fármacos. Esses resultados indicam que as propriedades moleculares individuais do fármaco e a conectividade às cadeias

polifosfáticas adjacentes em solução, promovidas pelos íons  $\text{Ca}^{2+}$ , parecem regular sua incorporação aos coacervatos.

Verificou-se que uma das contribuições mais importantes para a incorporação de fármacos na matriz polifosfato pode ser atribuída às interações intermoleculares observadas ligando-os, de acordo com a análise de espectroscopia de infravermelho e Raman. Porém, conforme relatado por Dias Filho et al., durante o processo de síntese dos coacervatos podem ser formadas estruturas semelhantes a gaiolas (Figura 18).

**Figura 18:** Representação esquemática da coordenação de íons alcalinos  $\text{R}^+$  em coacervatos de polifosfato na forma de gaiolas.



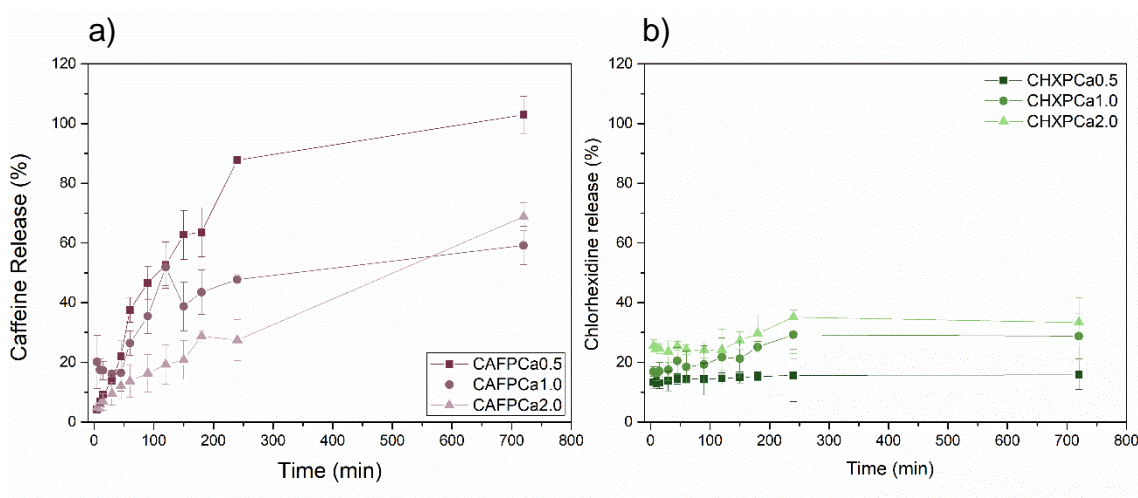
**Fonte:** adaptado de Dias Filho, 2003

Essas estruturas criam impedimentos estéricos que também contribuem para a incorporação dos fármacos. Concentrações mais altas de  $\text{Ca}^{2+}$  formam ambientes semelhantes a gaiolas com espaços menores e/ou grades mais próximas, o que permite uma melhor incorporação do fármaco durante a síntese e evita que seja removida durante o processo de lavagem. Em concentrações mais baixas de  $\text{Ca}^{2+}$ , esses ambientes podem ser maiores e/ou com grades mais espaçadas. Em consequência, durante o processo de lavagem, o medicamento pode ser facilmente removido desses locais. A última contribuição vem das diferenças entre os tamanhos das moléculas de cafeína e clorexidina. A clorexidina tem comprimento molecular (34 Å) 4,3 vezes maior que a cafeína (7,8 Å). Em concentrações mais altas de  $\text{Ca}^{2+}$ , é

mais fácil acomodar a cafeína em ambientes semelhantes a gaiolas porque são moléculas menores do que a clorexidina.

#### 4.3. Perfil de liberação de cafeína e clorexidina in vitro

**Figura 19:** Liberação cumulativa de (a) cafeína e (b) clorexidina de coacervatos para as razões de [P]:[Ca] de 0,5 (■); 1,0 (●) e 2,0 (▲). Os estudos de liberação foram realizados em solução tampão de acetato em pH 5,8 e 37 ° C.



**Fonte:** autor

Os perfis de liberação de cafeína e clorexidina são diferentes, indicando diferentes mecanismos de liberação. A cafeína tem uma liberação total maior, sendo liberada, aproximadamente, 100,0, 59,2 e 68,8% para as amostras CAFPCa0.5, CAFPCa1.0 e CAFPCa2.0, respectivamente após 720 min de tempo de liberação. A clorexidina, por sua vez, apresentou menor liberação total com 15,8, 28,8 e 33,4% para as amostras CHXPCa0,5, CHXPCa1.0 e CHXPCa2.0, respectivamente após o mesmo tempo de liberação.

**Tabela 3:** Liberação total (%) de cafeína e clorexidina Ca-PPCs

<b>Amostra</b>	<b>Liberação após 720 min (%)</b>
CAFPCa0.5	100.0
CAFPCa1.0	59.2
CAFPCa2.0	68.8
CHXPCa0.5	15.8
CHXPCa1.0	28.8
CHXPCa2.0	33.4

**Fonte:** autor

As matrizes de Ca-PPC, quando em contato com o meio de dissolução, passam a sofrer três processos principais: intumescimento, erosão e hidrólise da cadeia do polifosfato (BRAY *et al.*, 2012b; FILIAGGI; HALL, 2002; KASUGA *et al.*, 2001; PILLIAR *et al.*, 2001). Além disso, as propriedades do fármaco incorporadas (interações intermoleculares, formação de estruturas semelhantes a gaiolas e tamanhos dos fármacos) também são preponderantes para liberação. A cafeína é 4,3 vezes menor em comparação com a clorexidina e suas interações com a matriz são mais fracas, como discutido anteriormente, de modo que sua liberação dos coacervatos ocorre mais rapidamente. Como a clorexidina é maior e suas interações com a matriz são mais fortes, um maior efeito de retenção do fármaco resulta em uma taxa de liberação mais lenta de coacervatos.

Para a cafeína, conforme a proporção [P]:[Ca] diminui, há um efeito crescente em sua taxa de liberação, sugerindo que a conectividade da cafeína às cadeias de polifosfato promovidas por íons  $\text{Ca}^{2+}$  tornou-se mais fraca, não permitindo a retenção de cafeína em estruturas semelhantes a gaiolas. Por outro lado, para a clorexidina, a diminuição da [P]:[Ca] leva à diminuição de sua liberação de Ca-PPCs, pois as interações de hidrogênio entre o fármaco e os polifosfatos são mais resistentes ao efeito de eluição do fármaco promovido pelo meio de dissolução.

#### 4.4. Análise do mecanismo de liberação do medicamento in vitro

Baseado nos valores dos coeficientes de correlação ajustado ( $r^2$ ) (Tabela 4), verificou-se que as amostras carregadas com CAF e CLX se correlacionaram melhor com os modelos de Weibull e Korsmeyer-Peppas, respectivamente. O modelo matemático de Weibull relaciona exponencialmente a fração do fármaco liberado,  $M_t/M_\infty$ , em função do tempo  $t$  (Eq. 1) e deve ser aplicado aos dados dos primeiros 63,2% de liberação do fármaco (SAMAHA; SHEHAYEB; KYRIACOS, 2009).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \exp(-at^b) \quad (1)$$

Onde  $a$  é o parâmetro de escala e  $b$  é o parâmetro de forma.

O valor de  $b$  também é um indicador do mecanismo de transporte do fármaco através da matriz polimérica, sendo que para valores de  $b \leq 0,75$  a liberação ocorre através de difusão Fickiana. Quando  $0,75 < b < 1$  têm-se difusão Fickiana associada ao Caso-II e para  $b > 1$ , um mecanismo de liberação complexo (PAPADOPOULOU *et al.*, 2006). Como o valor de  $b$  para as amostras contendo CAF foi maior que 1, concluiu-se que a liberação ocorreu através de um mecanismo complexo, envolvendo simultaneamente difusão, intumescimento e/ou erosão durante a liberação do fármaco (GUPTA; CHAURASIA; CHAKRABORTY, 2014).

Já o modelo de Korsmeyer-Peppas se baseia na Lei das Potências e relaciona exponencialmente a liberação do fármaco com o tempo (Eq. 2).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (2)$$

Onde  $M_t$  representa a quantidade de fármaco liberada no tempo  $t$ ,  $M_\infty$  é a quantidade total de fármaco liberado num tempo infinito,  $K$  é uma constante cinética e  $n$  é o expoente de liberação.

De acordo com o expoente  $n$ , o mecanismo de liberação pode ser caracterizado como:

- $n = 0,43$ : Difusão Fickiana (caso-I);
- $0,43 < n < 0,85$ : transporte não Fickiano (anômalo);
- $n = 0,85$ : transporte caso-II;
- $n > 0,85$ : transporte super caso-II

**Tabela 4:** Coeficientes de correlação obtidos através de diferentes modelos matemáticos para o meio acetato (pH 5,8).

MODELOS DE LIBERAÇÃO		AMOSTRAS					
		CAFPCa0.5	CAFPCa1.0	CAFPCa2.0	CHXPCa0.5	CHXPCa1.0	CHXPCa2.0
<b>Baker-Lonsdale</b>	<i>K</i>	0,0005	0,0002	0,8979	2,1243	5,7060	9,0988
	<i>r</i> <sup>2</sup>	0,9105	0,7870	0,8974	0,0000	0,0000	0,0000
<b>Higuchi</b>	<i>K</i>	4,4101	2,9191	2,1455	1,0552	1,6663	2,0331
	<i>r</i> <sup>2</sup>	0,9203	0,6779	0,9334	0,0000	0,0000	0,0000
<b>Korsmeyer-Peppas</b>				0,8040	<b>12,0855</b>	<b>11,5879</b>	<b>19,7515</b>
	<i>K</i>	1,0343	8,4535				
	<i>r</i> <sup>2</sup>	0,9603	0,8417	0,9733	<b>0,9954</b>	<b>0,9254</b>	<b>0,8899</b>
	<i>n</i>	0,8329	0,3064	0,6727	<b>0,0423</b>	<b>0,1396</b>	<b>0,0731</b>
<b>Primeira ordem</b>	<i>K</i>	0,0066	0,0034	0,0017	0,0005	0,0010	0,0014
	<i>r</i> <sup>2</sup>	0,9765	0,3592	0,9561	0,0000	0,0000	0,0000
<b>Hixson- Crowell</b>	<i>K</i>	0,0019	0,0010	0,0005	0,0002	0,0003	0,0004
	<i>r</i> <sup>2</sup>	0,9682	0,1867	0,9423	0,0000	0,0000	0,0000
<b>Weibull</b>	<i>K</i>	<b>75,48</b>	<b>55,19</b>	<b>81,91</b>	14,33	2,8380	33,23
	<i>r</i> <sup>2</sup>	<b>0,9887</b>	<b>0,8677</b>	<b>0,9839</b>	0,9620	0,6539	0,4242
	<i>b</i>	<b>54,18</b>	<b>76,14</b>	<b>16,81</b>	33,70	10,05	74,62

De acordo com o expoente de liberação das amostras obtidas com CLX, o qual foi menor que 0,43, o mecanismo que governou a liberação pode ser classificado como difusão quasi-Fickiana, indicando que o fármaco sofre difusão através de uma matriz intumescida e, parcialmente, através de poros preenchidos com água em hidrogéis (VIDAL-ROMERO *et al.*, 2019).

## 5. CONCLUSÕES

Neste trabalho, amostras de Ca-PPCs foram preparadas com cafeína e clorexidina como fármacos modelo em diferentes razões [P]:[Ca]. Embora todas as amostras tenham sido capazes de incorporar e liberar os medicamentos modelo, as amostras contendo cafeína apresentaram taxas de incorporação e perfis de liberação diferentes daquelas com clorexidina. Ao relacionar esses resultados às estruturas formadas durante a síntese observada por espectroscopia de infravermelho e Raman, essas diferenças se devem principalmente à interação intermolecular com a matriz e ao tamanho das moléculas. As razões [P]:[Ca] também foram prevalentes. Concentrações mais altas de cálcio criam estruturas como gaiolas menores e mais apertadas. Levando a uma maior incorporação de cafeína e clorexidina.

Além disso, vale ressaltar que além dos Ca-PPCs possuem similaridade química com dentes e ossos, sendo biocompatíveis e bioabsorvíveis, sua síntese pode ser realizada em larga escala, à temperatura ambiente, com custo relativamente baixo. Durante a síntese não foram observadas alterações nas cadeias de polifosfato nem na formação de produtos de degradação. Assim, o coacervato de polifosfato de cálcio contendo fármacos propostas pode ser competitivo e promissor como sistema para liberação controlada de fármacos.

A limitada literatura somada aos resultados apresentados nesta tese apontam o potencial desse material tão pouco explorado para liberação de fármacos. Esta tese é apenas os primeiros passos de uma longa pesquisa que pode ser construída a fim de viabilizar a aplicação dos Ca-CPPs.

Uma gama de estudos pode ser direcionada a estas matérias, desde estabilidade e degradação do material com o tempo, inserção de outros íons e/ou outras substâncias que possam agregar novas propriedades ao material, estudos de dissolução em outras faixas de pH, até estudos *in vivo*.

## REFERÊNCIAS

ANFT, Berthold. Friedlieb Ferdinand Runge: a forgotten chemist of the nineteenth century. **Journal of Chemical Education**, v. 32, n. 11, p. 566-574, 1955.

ASTORICCHIO, E.; ALFANO, C.; RAJENDRAN, L.; TEMUSSI, P. A.; PASTORE, A. The Wide World of Coacervates: From the Sea to Neurodegeneration. **Trends in Biochemical Sciences**, vol. 45, no. 8, p. 706–717, 2020.

BHARGAVA, H. N.; SRIVASTAVA, D. C.; VARMA, B. K. Molecular - weight distribution in Graham's salt: Dependence on conditions of formation. **Colloid and Polymer Science Kolloid Zeitschrift & Zeitschrift für Polymere**, vol. 252, no. 1, p. 20–25, 1974.

BLOCHER, Whitney C.; PERRY, Sarah L. Complex coacervate-based materials for biomedicine. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 9, n. 4, p. 76–78, 2017.

BORANDEH, S.; VAN BOCHOVE, B.; TEOTIA, A.; SEPPÄLÄ, J. Polymeric drug delivery systems by additive manufacturing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 173, p. 349–373, 2021.

BRANGWYNNE, C. P.; TOMPA, P.; PAPPU, R. V. Polymer physics of intracellular phase transitions. **Nature Physics**, v. 11, n. 11, p. 899–904, 2015.

Brasilia,2010b. ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada- RDC nº 17, d2010.

BRAY, J. M.; FILIAGGI, M. J.; BOWEN, C. v.; BEYEA, S. D. Degradation and drug release in calcium polyphosphate bioceramics: An MRI-based characterization. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 10, p. 3821–3831, 2012b

CALLIS, C. F.; VAN WAZER, J. R.; ARVAN, P. G. The inorganic phosphates as polyelectrolytes. **Chemical Reviews**, v. 54, n. 5, p. 777–796, 1954.

CASAS, J. M.; GARCÍA, M. P.; SANZ, M.; CACHO, F.; PÉREZ, J. <sup>31</sup>P NMR spectroscopic studies of the influence of the environment in the degradation process of the Graham's salt. **Ceramics International**, v. 36, n. 1, p. 39–46, 2010.

CINI, N.; BALL, V. Polyphosphates as inorganic polyelectrolytes interacting with oppositely charged ions, polymers and deposited on surfaces: Fundamentals and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 209, p. 84–97, 2014.

DE JAGER, H. J.; HEYNS, A. M. Kinetics of acid-catalyzed hydrolysis of a polyphosphate in water. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 102, n. 17, p. 2838–2841, 1998.

DE JONG, H. G. B.; KRUYT, H. R. Coazervation (separation of colloidal systems into two liquid phases). **Kolloid Z.**, vol. 50, p. 39–48, 1930.

DE LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M.T.; DE LA ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas matriciais hidrofílicos e muco adesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 784–793, 2007.

DE OLIVEIRA, C. I. R; DE OLIVEIRA, L. F. C; DIAS FILHO, F. A.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Spectroscopic investigation of a new hybrid glass formed by the interaction between croconate ion and calcium polyphosphate. **Spectrochimica Acta**

- **Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 61, n. 9, p. 2023–2028, 2005.

LIMA, E. C. O.; ALCANTARA, G. B.; DAMASCENO, F. C.; NETO, J. M. M.; GALEMBECK, F. Fracionamento de polifosfato de sódio e caracterização por RMN de  $^{31}\text{P}$ : Um experimento para aulas de físico-química. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1991–1995, 2010.

DIAS FILHO, F. A.; RIBEIRO, S. J.L.; GONÇALVES, R. R.; MESSADDEQ, Y.; CARLOS, L. D.; DE ZEA BERMUDEZ, V.; ROCHA, J.  $\text{Eu}^{3+}$  doped polyphosphate-aminosilane organic-inorganic hybrids. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 374, n. 1–2, p. 74–78, 2004.

DIAS, R.; LINDMAN, B. **The inorganic phosphates as polyelectrolytes**. I. New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd, 2008.

DING, Y. L.; CHEN, Y. W.; QIN, Y. J.; SHI, G. Q.; YU, X. X.; WAN, C. X. Effect of polymerization degree of calcium polyphosphate on its microstructure and in vitro degradation performance. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, n. 3, p. 1291–1295, 2008b.

DION, A.; BERNO, B.; HALL, G.; FILIAGGI, M. J. The effect of processing on the structural characteristics of vancomycin-loaded amorphous calcium phosphate matrices. **Biomaterials**, v. 26, n. 21, p. 4486–4494, 2005a.

ELBAUM-GARFINKLE, S.; BRANGWYNNE, C. P. L. Fibers, and Gels: The Many Phases of Neurodegeneration. **Developmental Cell**, v. 35, n. 5, p. 531–532, 2015.

FILIAGGI, M.; HALL, G. A compaction route for low temperature processing of porous calcium polyphosphate matrices. 218–220., 2002. **Key Engineering Materials** Trans Tech Publications Ltd, 2002. v. 218–220, p. 43–46.

FRANCO, D. F.; BARUD, H. S.; SANTAGNELI, S.; LAMARCA, R. S.; SANTOS, B. F.; SILVA, M. A.P.; DE OLIVEIRA, L. F.C.; RIBEIRO, S. J.L.; NALIN, M. Preparation and structural characterization of sodium polyphosphate coacervate as a precursor for optical materials. **Materials Chemistry and Physics**, v. 180, p. 114–121, 2016.

FRANCO, D. F.; DE OLIVEIRA BARUD, H. G.; BARUD, H. S.; OLIVEIRA JÚNIOR, O. B.; MENEGUIN, A. B.; DE OLIVEIRA, L. F. C.; SILVA, M. A.P.; RIBEIRO, S. J. L.; NALIN, M. A review on polyphosphate coacervates—structural properties and bioapplications. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 94, p. 531–543, 2020

GIBSON, I.; MOMENI, A.; FILIAGGI, M. Minocycline-loaded calcium polyphosphate glass microspheres as a potential drug-delivery agent for the treatment of periodontitis. **Journal of Applied Biomaterials and Functional Materials**, v. 17, n. 3, 2019

GOMES, E.; SHORTER, J. The molecular language of membraneless organelles. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 18, p. 7115–7127, 2019.

GOMEZ, F.; VAST, P.; LLEWELLYN, P.; ROUQUEROL, F. Characterization of polyphosphate glasses preparation using CRTA. **Journal of Thermal Analysis**, v. 49, p. 1171-1178, 1997.

GONZÁLEZ-CALDERÓN, D.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, C. A.; FUENTES-BENÍTES, A.; GONZÁLEZ-ROMERO, C. Síntesis de la cafeína a partir de la teobromina: Retomando un experimento remoto bajo una nueva perspectiva. **Educacion Quimica**, v. 26, n. 1, p. 9–12, 2015.

GUPTA, B.; CHAURASIA, U.; CHAKRABORTY, P. Design and Development of Oral Transmucosal Film for Delivery of Salbutamol Sulphate. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, p. 118–129, 2014

HABRAKEN, W.; HABIBOVIC, P.; EPPLE, M.; BOHNER, M. Calcium phosphates in biomedical applications: Materials for the future? **Materials Today**, v. 19, n. 2, p. 69–87, 2016.

HAROLD, F. M. Inorganic polyphosphates in biology: structure, metabolism, and function. **Bacteriological reviews**, v. 30, n. 4, p. 772–794, 1966.

HERMAN, A.; HERMAN, A. P. Caffeine's mechanisms of action and its cosmetic use. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 26, n. 1, p. 8–14, 2012.

JAYASREE, R.; SAMPATH KUMAR, T. S.; PERUMAL, G.; DOBLE, M. Drug and ion releasing tetracalcium phosphate based dual action cement for regenerative treatment of infected bone defects. **Ceramics International**, v. 44, n. 8, p. 9227–9235, 2018.

JAIN, K. Drug Delivery Systems - An Overview. **Methods in Molecular Biology**, v. 437, p. 1–50, 2008.

KANG, J.; GU, H.; ZHONG, L.; HU, Y.; LIU, F. The pH dependent Raman spectroscopic study of caffeine. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 78, n. 2, p. 757–762, Feb. 2011.

KASUGA, T.; WAKITA, T.; NOGAMI, M.; SAKURAI, M.; WATANABE, M.; ABE, Y. Hydrogelation of Calcium Metaphosphate Glass, *Chemistry Letters* 2001, v. 30, n. 8, p. 820–821, 2001

KAYITMAZER, A. B. Thermodynamics of complex coacervation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 239, p. 169–177, 2017.

KOPP, W.; BARUD, H. S.; PAZ, M. F.; BUENO, L. A.; GIORDANO, R. L. C.; RIBEIRO, S. J. L. Calcium polyphosphate coacervates: Effects of thermal treatment. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 219–223, 2012.

LIMA, E. C DE O; ALCANTARA, G. C.; DAMASCENO, F. C.; MOITA NETO, J. M.; GALEMBECK, F. Fracionamento de polifosfato de sódio e caracterização por rnm de  $^{31}\text{p}$ : um experimento para aulas de físico-química. **Química Nova**, v. 33, p. 1991–1995, 2010.

MA, Q. Y.; TRALNA, S. J.; LOGAN, T. J.; RYAN, J. A. Effects of Aqueous Al, Cd, Cu, Fe(II), Ni, and Zn on Pb Immobilization by Hydroxyapatite. **Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 7, p. 1219–1228, 1994..

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**, v. 38, n. 4, p. 375–399, 2002.

MCNAUGHT, A. D.; WILKINSON, A. IUPAC - Compendium of Chemical Terminology, (1997).

MENGER, F. M.; SYKES, B. M. Anatomy of a coacervate. **Langmuir**, v. 14, n. 15, p. 4131–4137, 1998.

MIHAILOVA, B. D.; MARINOV, M. S.; KONSTANTINOV, L. L. Infrared absorption spectra of rings of SiO<sub>4</sub> tetrahedra with imposed boundary conditions. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 176, n. 2–3, p. 127–132, 1994.

MIYAZAWA, K.; YAJIMA, I.; KANEDA, I.; YANAKI, T. Preparation of a new soft capsule for cosmetics. **Journal of Cosmetic Science**, v. 51, n. 4, p. 239–252, 2000.

MOMENI, A.; FILIAGGI, M. J. Synthesis and characterization of different chain length sodium polyphosphates. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 382, p. 11–17, 2013.

MOMENI, A.; MAE, E.; BRENNAN-PIERCE, E. P.; JAI, J.; SHANKAR, S.; ABRAHAM, R.; COLP, P.; JOSEPH, M. Developing an in situ forming polyphosphate coacervate as a new liquid embolic agent: From experimental design to pilot animal study. **Acta Biomaterialia**, v. 32, p. 286–297, 2016..

MONTANARI, B.; VAST, P.; MARTINES, M. A. U.; RIBEIRO, S. J. L.; MESSADDEQ, Y. Influência do pH na estabilidade dos coacervatos de prata como precursores vítreos. **Eclética Química**, v. 27, p. 305–314, 2002..

MYANEH, Z. T.; ABDOLLAHI, F.; SOGHRA, S.; HARIKANDEIE, T.; KAMIPOOR, Z. Chlorhexidine or povidone-iodine and alcohol: A pilot study for evaluating the incidence of phlebitis in neonates. **Journal of Neonatal Nursing**, v. 1, p. 150–153, 2022.

OPARIN, A. I. **Origin of life**. 2nd ed. Nova Yourk: Dover Publications, 1953

PAOLINO, D.; FRESTA, M.; SINHA, P.; FERRARI, M. Principles of Controlled Drug Delivery. **Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation**, p. 437–495, 2006.

PAPADOPOULOU, V.; KOSMIDIS, K.; VLACHOU, M.; MACHERAS, P.. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 309, n. 1–2, p. 44–50, 2006.

PASCON, F. M.; KANTOVITZ, K. R.; SOARES, L. E. S.; SANTO, A. M. E.; MARTIN, A. A.; PUPPIN-RONTANI, R. M. Morphological and chemical changes in dentin after using endodontic agents: Fourier transform Raman spectroscopy, energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry, and scanning electron microscopy study. **Journal of Biomedical Optics**, v. 17, n. 7, p. 0750081, 2012.

PETRONE, C.; HALL, G.; LANGMAN, M.; FILIAGGI, M. J. Compaction strategies for modifying the drug delivery capabilities of gelled calcium polyphosphate matrices. **Acta Biomaterialia**, v. 4, n. 2, p. 403–413, 2008.

PICKUP, D. M.; NEWPORT, R. J.; BARNEY, E. R.; KIM, J. Y.; VALAPPIL, S. P.; KNOWLES, J. C. Characterisation of phosphate coacervates for potential biomedical applications. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 28, n. 8, p. 1226–1234, 2014.

PILLIAR, R. M.; FILIAGGI, M. J.; WELLS, J. D.; KANDEL, R. A. Porous calcium polyphosphate scaffolds for bone substitute applications - in vitro characterization. **Biomaterials**, v. 22, p. 963-972, 2001.

PUBCHEM. Caffeine. 2022a. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Caffeine>. Accessed on: 18 Mar. 2022.

PUBCHEM. Chlorhexidine acetate. 2022b. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9562059>. Accessed on: 14 Mar. 2022.

RESGES, J.; PICHON, B. P.; MERTZ, D.; SARTORI, K.; BEGIN-COLIN, S.; RENATO, W.; LIMA, S. J.; NALIN, M. Phosphate glasses containing monodisperse  $\text{Fe}_{3-\delta}\text{O}$

<sup>4</sup>@SiO<sub>2</sub> stellate nanoparticles obtained by melt-quenching process. **Ceramics International**, v. 46, n. 8, p. 12120–12127, 2020.

RESGES, J.; RENATO, W.; BENEDITO, F.; RIBEIRO, S. J. L.; NALIN, M.; Embedding CoPt magnetic nanoparticles within a phosphate glass matrix. **Journal Alloys and Compounds**, v. 848, p. 1–8, 2020.

BROW, R. K. Review: the structure of simple phosphate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 263–264, p. 1–28, 2000.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A Simple Equation for Description of Solute Release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, p. 23–36, 1987.

SAMAHA, D.; SHEHAYEB, R.; KYRIACOS, S. Modeling and comparison of dissolution profiles of diltiazem modified-release formulations. **Dissolution Technologies**, v. 16, n. 2, p. 41–46, 2009.

SCHNITZLER, E; KOBELNIK, M; C SOTELO, G F; BANNACH, G; IONASHIRO, M. Thermoanalytical study of purine derivatives compounds. **Eclética**, v. 29, n.1, p. 71-78, 2004.

SCHOFIELD, S. C.; BERNO, B.; LONGMAN, M.; HALL, G.; FILIAGGI, M. J. Gelled calcium polyphosphate matrices delay antibiotic release. **Journal of Dental Research**, v. 85, n. 7, p. 643–647, 2006.

SILVA, M. A. P.; FRANCO, D. F.; BRANDÃO, A. R.; BARUD, H.; DIAS FILHO, F. A.; RIBEIRO, S. J. L.; MESSADDEQ, Y.; DE OLIVEIRA, L. F.C. Spectroscopic studies on glassy Ni(II) and Co(II) polyphosphate coacervates. **Materials Chemistry and Physics**, v. 124, n. 1, p. 547–551, 2010.

SILVA, M. A.P.; FRANCO, D. F.; DE OLIVEIRA, L. F. C. New insight on the structural trends of polyphosphate coacervation processes. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 112, n. 24, p. 5385–5389, 2008.

SING, C. E. Development of the modern theory of polymeric complex coacervation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 239, p. 2–16, 2017.

SINGH, R.B.; WATANABE, S.; ISAZA, A. A. **Functional Foods and Nutraceuticals in Metabolic and Non-Communicable Diseases**. London: Elsevier, 2022.

TANZAWA, Y.; TSUCHIYA, H.; SHIRAI, T.; NISHIDA, H.; HAYASHI, K.; TAKEUCHI, A.; KAWAHARA, M.; TOMITA, K.. Potentiation of the antitumor effect of calcium phosphate cement containing anticancer drug and caffeine on rat osteosarcoma. **Journal of Orthopedic Science**, v. 16, n. 1, p. 77–84, 2011.

TAY, L. F.; KHOH, L. K.; LOH, C. S.; KHOR, E. Alginate–chitosan coacervation in production of artificial seeds. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 42, n. 4, p. 449–454, 1993.

THILO, E. Condensed Phosphates and Arsenates. **Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry**, v. 4, p. 1–75, 1962.

THOMASIN, C.; NAM-TRÂN, H.; MERKLE, H. P.; GANDER, B. Drug microencapsulation by PLA/PLGA coacervation in the light of thermodynamics. 1. Overview and theoretical considerations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, n. 3, p. 259–268, 1998.

TIEBACKX, V. F. W. Gleichzeitige ausflockung zweier kolloide. **Colloid and Polymer Science**, v. 8, p. 198–201, 1911.

UMEGAKI, T.; NAKAYAMA, Y.; KANAZAWA, T. Thermal Change of Magnesium Highpolyphosphate Coacervates. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 49, n. 8, p. 2105–2107, 1976.

VERRAEDT, E.; PENDELA, M.; ADAMS, E.; HOOGMARTENS, J.; MARTENS, J. A. Controlled release of chlorhexidine from amorphous microporous silica. **Journal of Controlled Release**, v. 142, n. 1, p. 47–52, 2010.

VIDAL-ROMERO, G.; ZAMBRANO-ZARAGOZA, M. L.; MARTÍNEZ-ACEVEDO, L.; LEYVA-GÓMEZ, G.; MENDOZA-ELVIRA, S. E.; QUINTANAR-GUERRERO, D. Design and evaluation of pH-dependent nanosystems based on cellulose acetate phthalate, nanoparticles loaded with chlorhexidine for periodontal treatment. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 11, 2019.

WANG, K.; CHEN, F.; LIU, C.; RÜSSEL, C. The effect of polymeric chain-like structure on the degradation and cellular biocompatibility of calcium polyphosphate. **Materials Science and Engineering C**, v. 28, n. 8, p. 1572–1578, 2008.

WAZER, J.R.V. Structure and Properties of the Condensed Phosphates. II. A Theory of the Molecular Structure of Sodium Phosphate Glasses. **Journal of the American Chemical Society**, v. 72, n. 2, p. 644–647, 1950.

WILLSON, C. The Clinical Toxicology of Caffeine: A Review and Case Study Cyril. **Toxicology Reports**, v. 5, p. 1140–1152, 2018.

YOUNG, A. M.; NG, P. Y. J.; GBURECK, U.; NAZHAT, S. N.; BARRALET, J. E.; HOFMANN, M. P. Characterization of chlorhexidine-releasing, fast-setting, brushite bone cements. **Acta Biomaterialia**, v. 4, n. 4, p. 1081–1088, 2008.