UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CÂMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS HENRIQUE SANTILLO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS MOLECULARES

KÁRITA KARULINA DE SOUZA SILVA

HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES PARA A CO-ENTREGA DE AMOXICILINA E IBUPROFENO: ESTUDO DA ESTABILIDADE E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Anápolis – GO
Junho – 2020

KÁRITA KARULINA DE SOUZA SILVA

HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES PARA A CO-ENTREGA DE AMOXICILINA E IBUPROFENO: ESTUDO DA ESTABILIDADE E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.
Área de Concentração: Química

Orientador: Prof. Dr. Renato Rosseto

Anápolis – GO
Junho – 2020

RESUMO

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) são frequentemente descritos na literatura como uma alternativa viável para o encapsulamento e carreamento de fármacos, uma vez que a depender da composição química, os HDL são biocompatíveis, estáveis química e termicamente, além de exibirem acentuadas capacidades de adsorção e troca-iônica. Entretanto, apesar de serem potencialmente interessantes, há poucos trabalhos que relatam o emprego de HDL no carreamento simultâneo (co-entrega) de diferentes fármacos. A co-entrega de princípios ativos pode representar vantagens frente a terapia convencional, influenciando na biodisponibilidade, estabilidade, absorção e, eventual, sinergia entre os princípios ativos. O presente trabalho visou o estudo da estabilidade, atividade antimicrobiana e liberação modificada da amoxicilina (AMOX) e ibuprofeno (IBU) presentes simultaneamente em HDL. Os HDL de Zn/Al e Mg/Al e derivados de ferro (HO-Fe) foram preparados por coprecipitação em diferentes temperaturas (ambiente e a 75 ºC) e pH (7,4, e 9), e as incorporações da AMOX e IBU às matrizes inorgânicas foram realizadas por síntese direta ou por meio de dispersões sólidas entre os fármacos e matriz inorgânica na proporção 20 % m/m (massa fármaco/massa sólido inorgânico). Todos os compostos e dispersões foram caracterizados por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV), microscopia eletrônica de varredura acoplado ao espectrômetro de energia dispersiva (MEV-EED), análise termogravimétrica (ATG) e difração de raios X (DRX). As dosagens dos fármacos foram realizadas por espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-visível (UV-vis) e as atividades antimicrobianas das dispersões sólidas foram avaliadas pelas contagens de colônias através da inibição da bactéria *Staphylococcus aureus*. Estudos preliminares mostraram que a estabilidade da AMOX é fortemente influenciada pela temperatura e pH do meio, independente se em solução tamponada ou em dispersão sólida. Diferentemente foi constatado para o IBU, que se mostrou estável nas diversas condições estudadas. O modo de incorporação dos princípios ativos às matrizes inorgânicas, seja por síntese direta ou dispersão sólida, não influenciou o modo de liberação/solubilização dos fármacos em solução tampão a pH 7,4, exibindo dessorções superiores a 50% em até 5 minutos de cinética. Entretanto, as incorporações de AMOX e IBU por síntese direta não se mostraram reprodutíveis, além de exibirem acentuada contaminação por cloreto de sódio devido ao processo de preparação. As análises termogravimétricas das dispersões sugerem que as matrizes inorgânicas não afetam negativamente os fármacos, e que a co-presença IBU/AMOX não é deletéria quanto à estabilidade térmica da mistura. Nas condições estudadas, o HDL Zn/Al exibiu, ao se comparar aos outros sistemas, uma ação mais pronunciada na inibição do crescimento do microrganismo, independentemente da presença dos fármacos. Os resultados apresentados neste trabalho abrem perspectivas promissoras na compreensão e utilização de HDL e derivados como matrizes hospedeiras de princípios ativos em sistemas de co-entrega.

PALAVRAS-CHAVE: Argilas aniônicas. Antimicrobianos. Resistência antimicrobiana. Anti-inflamatórios não esteroidais.

ABSTRACT

Layered Double Hydroxides (LDH) are often described in the literature as a viable alternative for the encapsulation and carrying of drugs, since depending on the chemical composition, LDHs are biocompatible, chemically and thermally stable, in addition to exhibiting strong adsorption capabilities. and ion exchange. However, despite being potentially interesting, there are few studies that report the use of LDH in the simultaneous delivery (co-delivery) of different drugs. The co-delivery of active ingredients can represent advantages over conventional therapy, influencing bioavailability, stability, absorption and, eventually, synergy between the active ingredients. The present work aimed to study the stability, antimicrobial activity and modified release of amoxicillin (AMOX) and ibuprofen (IBU) present simultaneously in LDH. The LDHs of Zn/Al and Mg/Al and iron derivatives (HO-Fe) were prepared by coprecipitation at different temperatures (room and 75 ºC) and pH (7.4, and 9), and the incorporations of AMOX and IBU to inorganic matrices were carried out by direct synthesis or by means of solid dispersions between drugs and inorganic matrix in the proportion 20% w/w (drug mass / inorganic solid mass). All compounds and dispersions were characterized by infrared spectroscopy (IR), scanning electron microscopy coupled to the dispersive energy spectrometer (SEM-EDS), thermogravimetric analysis (TG) and X-ray diffraction (XRD). The dosages of the drugs were performed by UV-vis spectroscopy and the antimicrobial activities of the solid dispersions were evaluated by colony counts through the inhibition of the Staphylococcus aureus bacteria. Preliminary studies have shown that the stability of AMOX is strongly influenced by the temperature and pH of the medium, regardless of whether it is in buffered solution or in solid dispersion. Differently, it was found for the IBU, which proved to be stable in the various conditions studied. The mode of incorporation of the active ingredients into the inorganic matrices, whether by direct synthesis or solid dispersion, did not influence the mode of release / solubilization of the drugs in buffer solution at pH 7.4, exhibiting greater than 50% desorption in up to 5 minutes of kinetics . However, the incorporations of AMOX and IBU by direct synthesis were not reproducible, in addition to exhibiting marked contamination by sodium chloride due to the preparation process. Thermogravimetric analyzes of the dispersions suggest that the inorganic matrices do not negatively affect the drugs, and that the IBU / AMOX co-presence is not harmful in terms of the thermal stability of the mixture. Under the conditions studied, LDH Zn/Al exhibited, when compared to other systems, a more pronounced action in inhibiting the growth of the microorganism, regardless of the presence of drugs. The results presented in this work open promising perspectives in the understanding and use of LDH and derivatives as host matrices of active principles in co-delivery systems.

KEYWORDS: Anionic clays. Antimicrobials. Antimicrobial resistance. Non-steroidal anti-inflammatory drugs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exemplos de materiais inorgânicos para tratamentos em medicina 13
Figura 2 – Interação entre duas drogas para produzir um efeito sinérgico 15
Figura 3 – Representação esquemática da estrutura do HDL 17
Figura 4 – Moléculas de fármacos já incorporadas nas estruturas dos HDL 19
Figura 5 – Representação da estrutura química da amoxicilina 22
Figura 6 – Representação da estrutura química do ibuprofeno 25
Figura 7 – Regiões analisadas nos espectros eletrônicos no UV-vis da AMOX ao longo dos 105 dias 35
Figura 8 – Via de degradação da amoxicilina em meio aquoso 36
Figura 9 – Regiões analisadas nos espectros eletrônicos no UV-vis do IBU ao longo dos 105 dias 37
Figura 10 – Espectros vibracionais na região do IV da mistura de AMOX-IBU 1:1 (m/m) 39
Figura 11 – Difração de raios X do HDL Mg/Fe (pH 9,0 / 75°C) 39
Figura 12 – Espectros vibracionais na região do IV da mistura física HO-Fe (pH 7,4 / temperatura ambiente) AMOX-IBU após 1 e 60 dias 40
Figura 13 – Espectros vibracionais na região do IV da mistura física HDL Mg/Fe (pH 9 / 75°C) AMOX-IBU após 1 e 60 dias 41
Figura 14 – Espectros eletrônicos na região do UV-vis da mistura HO-Fe (pH 7,4 / temperatura ambiente) AMOX-IBU em tampão fosfato pH 7,4 após 1 e 60 dias 42
Figura 15 – Espectros eletrônicos na região do UV-vis da mistura HDL Mg/Fe (pH 9 / 75°C) AMOX-IBU em tampão fosfato pH 7,4 após 1 e 60 dias 42
Figura 16 – Difratogramas de raios X do HDL Zn/Al (A) e HDL Zn/Al AMOX-IBU (B)..... 44
Figura 17 – Espectros vibracionais na região do IV do HDL Zn/Al e HDL Zn/Al-AMOX-IBU 45
Figura 18 – Micrografias do HO-Fe (A), HO-Fe AMOX-IBU(B), HDL Zn/Al (C) e HDL Zn/Al AMOX-IBU (D) 46
Figura 19 – Difratogramas de raios X do HDL Zn/Al (A), DS HDL Zn/Al AMOX-IBU (B) e HDL Zn/Al da literatura (C) 50
Figura 20 – Difratogramas de raios X do HO-Fe (A), DS HO-Fe AMOX-IBU (B) e acaganeita (C) 51
Figura 21 – Espectros vibracionais na região do IV do HDL Zn/Al e DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU 52
Figura 22 – Espectros vibracionais na região do IV do HO-Fe e HO-Fe AMOX-IBU 52
Figura 23 – Espectro eletrônico na região do UV-vis da DS HDL Zn/Al AMOX-IBU após 110 dias 54
Figura 24 – Micrografias de MEV do HDL Zn/Al (A) e DS HDL Zn/Al AMOX-IBU (B) 55

Figura 25 – Micrografias de MEV do HO-Fe (A) e HO-Fe AMOX-IBU (B) 56

Figura 26 – Curvas de TG da mistura AMOX-IBU, HDL Zn/Al, DS HDL Zn/Al AMOX-IBU, AMOX pura e IBU puro. 57

Figura 27 – Curvas de TG da mistura AMOX-IBU, HO-Fe, DS HO-Fe AMOX-IBU, AMOX pura e IBU puro. 58

Figura 28 – Contagem de microorganismos viáveis nas amostras do controle (A), HDL Zn/Al (B) e HDL Zn/Al AMOX-IBU (C) 59

Figura 29 – Contagem de microorganismos viáveis nas amostras do controle (A), HDL Mg/Al (B) e HDL Mg/Al AMOX-IBU (C) 60

Figura 30 – Contagem de microorganismos viáveis nas amostras do controle (A), HO-Fe (B) e HO-Fe AMOX-IBU (C). 60

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Exemplos de carreadores para a co-entrega de princípios ativos 16
Quadro 2 – Principais trabalhos de HDL com amoxicilina 23
Quadro 3 – Absorbâncias da AMOX e IBU em diferentes pH por 105 dias 37
Quadro 4 – Absorbâncias da AMOX e IBU após 68 horas em pH 7,4 a 60°C 38
Quadro 5 – Principais bandas no infravermelho das misturas físicas do HO-Fe AMOX-IBU e HDL Mg/Fe AMOX-IBU após 1 e 60 dias 41
Quadro 6 – Bandas no infravermelho do HDL Zn/Al, HDL Zn/Al AMOX-IBU, AMOX pura e IBU puro 45
Quadro 7 – Composição elementar em massa de regiões dos compostos HO-Fe e HO-Fe AMOX-IBU 47
Quadro 8 – Porcentagem dessorvida de princípios ativos (AMOX e IBU) das matrizes em tampão fosfato pH 7,4 47
Quadro 9 – Absorbâncias das fases aquosas e orgânicas após cada extração 48
Quadro 10 – Porcentagem carreada de fármacos nas matrizes de HO-Fe, HDL Zn/Al e HDL Mg/Al 48
Quadro 11 – Porcentagem dessorvida de princípios ativos (AMOX e IBU) das matrizes em tampão fosfato pH 7,4 53
Quadro 12 – Composição elementar em massa das regiões dos compostos HDL Zn/Al e HDL Zn/Al AMOX-IBU 55
Quadro 13 – Composição elementar em massa das regiões dos compostos HO-Fe e HO-Fe AMOX-IBU 56
Quadro 14 – Colônias viáveis das amostras frente à *S. aureus* 61

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Etapas de padronização e plaqueamento do inóculo 34
Esquema 2 – Etapas de adição do inóculo nas amostras e plaqueamento 34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMOX	Amoxicilina
ATR	Refletância total atenuada
β-lactâmico	Beta-lactâmico
CMI	Concentração mínima inibitória
DRX	Difração de raios X
E. coli	*Escherichia coli*
HDL	Hidróxidos duplos lamelares
HO-Fe	Hidr(óxido) de ferro
IBU	Ibuprofeno
IV	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MMT	Montmorilonita
S. aureus	*Staphylococcus aureus*
TG	Análise termogravimétrica
UV-vis	Espectroscopia eletrônica na região do UV-vis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 13
2.1 MATRIZES PARA O CARREAMENTO DE PRINCÍPIOS ATIVOS 13
2.2 CO-ENTREGA DE PRINCÍPIOS ATIVOS EM TERAPIAS COMBINADAS 14
2.3 HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES 17
2.4 HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES PARA ENTREGA SIMULTÂNEA 19
2.5 ESPÉCIES ORGÂNICAS DE INTERESSE FARMACOLÓGICO 20
2.6 HDL E ANTIBIÓTICOS 20
2.6.1 Amoxicilina 21
2.7 HDL E ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIS 23
2.7.1 Ibuprofeno 24
3 OBJETIVOS 26
3.1 OBJETIVO GERAL 26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 26
4 METODOLOGIA 27
4.1 REAGENTES 27
4.2 ESTABILIDADE DA AMOXICILINA (AMOX) E IBUPROFENO (IBU) EM MEIOS TAMPONADOS 27
4.2.1 Estudo de estabilidade química da amoxicilina (AMOX) e ibuprofeno (IBU) em soluções tampão fosfato (pH 2,2; 7,4 e 8,5) 27
4.2.2 Estudo de estabilidade térmica de amoxicilina (AMOX) e ibuprofeno (IBU) em solução tampão fosfato (pH 7,4) a 60 °C 27
4.3 SÍNTESE DOS SÓLIDOS INORGÂNICOS DERIVADOS DE Mg/Fe (2:1) EM DIFERENTES CONDIÇÕES 28
4.3.1 Preparo das misturas de AMOX-IBU e dos sólidos derivados de Mg/Fe em diferentes condições com AMOX-IBU 28
4.4 SÍNTESE DOS SÓLIDOS INORGÂNICOS 28
4.4.1 Método de coprecipitação 29
4.4.2 Dispersões sólidas (DS) 29
4.5 CINÉTICA DE DESSORÇÃO DOS FÁRMACOS PRESENTE NOS SÓLIDOS INORGÂNICOS 30
4.6 QUANTIFICAÇÃO DOS FÁRMACOS POR ULTRAVIOLETA-VISÍVEL PARA OS COMPOSTOS DE CO-PRECIPITAÇÃO 30
4.7 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO 30
4.7.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho 31
4.7.2 Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta-visível (UV-vis) 31

4.7.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplado a espectrômetro de energia dispersiva de raios X (EDS) 31
4.7.4 Difração de Raios X pelo método do pó (DRX) 31
4.7.5 Análise Termogravimétrica (TG / DTG) 31
4.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA 32
4.8.1 Manutenção das cepas 32
4.8.2 Padronização do inóculo 32
4.8.3 Preparo das amostras de HDL e HDL AMOX-IBU e espalhamento em meio sólido ... 33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 35
5.1 ESTABILIDADE DA AMOXICILINA (AMOX) E IBUPROFENO (IBU) EM MEIOS TAMPONADOS 35
5.1.1 Estudo de estabilidade de amoxicilina (AMOX) e ibuprofeno (IBU) em soluções tampão fosfato (pH 2,2; 7,4 e 8,5) 35
5.2 ESTUDOS PRELIMINARES DE ESTABILIDADE DA MISTURA DE FÁRMACOS E MISTURAS FÍSICAS DE FÁRMACOS COM OS SÓLIDOS INORGÂNICOS.....38
5.3 SÓLIDOS INORGÂNICOS SINTETIZADOS PELO MÉTODO DE COPRECIPITAÇÃO EM pH 7,4 A TEMPERATURA AMBIENTE..... 43
5.4 SÓLIDOS INORGÂNICOS SINTETIZADOS PELO MÉTODO DE COPRECIPITAÇÃO EM pH 7,4 / 75°C E DISPERSÕES SÓLIDAS (DS) 49
5.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA 58
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS..... 62
7 REFERÊNCIAS 64
ANEXOS..... 70

1 INTRODUÇÃO

A terapia combinada emergiu para o surgimento da co-entrega de fármacos, uma vez que o tratamento com duas ou mais drogas ao mesmo tempo pode ter sucesso quando a terapêutica única falha. O uso de multidrogas com funções diferentes, mas com o mesmo objetivo terapêutico pode suprimir a resistência ao medicamento e manter o medicamento dentro da janela de concentração segura (OLOV; BAGHERI-KHOULENJANI; MIRZADEH, 2018). Na co-entrega são utilizados transportadores capazes de carrear e liberar simultaneamente múltiplos fármacos no local da doença, o que aumenta a biodisponibilidade dos agentes terapêuticos no local alvo, diminui a degradação do fármaco e reduz os efeitos colaterais sistêmicos. (GODSEY; SURYAPRAKASH; LEONG, 2013).

Nanocarreadores com mais de um tipo de drogas têm sido procurados devido a efeitos sinérgicos combinando múltiplas funções (LEE; YEO, 2015b). Dentre os nanocarreadores utilizados em sistemas de co-entrega de fármacos estão as nanopartículas mesoporosas de sílica (CHEN; LIU, 2016), nanopartículas magnéticas de óxido de ferro (CHEN et al., 2011) e hidróxidos duplos lamelares (LI et al., 2014).

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL), também conhecidos como argilas aniônicas, são constituídos por lamelas compostas por cargas positivas de metais di e trivalentes, exibindo espaçamentos lamelares intercalados com moléculas de água e ânions de diferentes cargas, funções e massas molares (CUNHA et al., 2010; KURA et al., 2014; ZHANG et al., 2014). Devido a esses fatores é possível incorporar espécies negativas na região interlamelar do HDL neutralizando as cargas positivas das lamelas (ABELLÁN et al., 2015), o que consequentemente, irá proporcionar estabilidade ao composto inserido nos espaços interlamelares através de interações eletrostáticas (DEL HOYO, 2007).

Vários exemplos são descritos na literatura para o carreamento de fármacos em matrizes de hidróxidos duplos lamelares (GIL et al., 2016; BOUAZIZ et al., 2018; SALGUERO et al., 2020). Entretanto a combinação de mais de um fármaco nessas matrizes é um campo a ser explorado. O presente estudo foi motivado pela ausência de trabalhos na literatura que abordam a combinação de dois fármacos (um antibiótico e um anti-inflamatório) em hidróxidos duplos lamelares para a terapia combinada, visando aumentar a estabilidade de um antibiótico β-lactâmico bastante empregado (amoxicilina) e buscando o aumento da ação antimicrobiana após a combinação com um anti-inflamatório não esteroidal (ibuprofeno).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

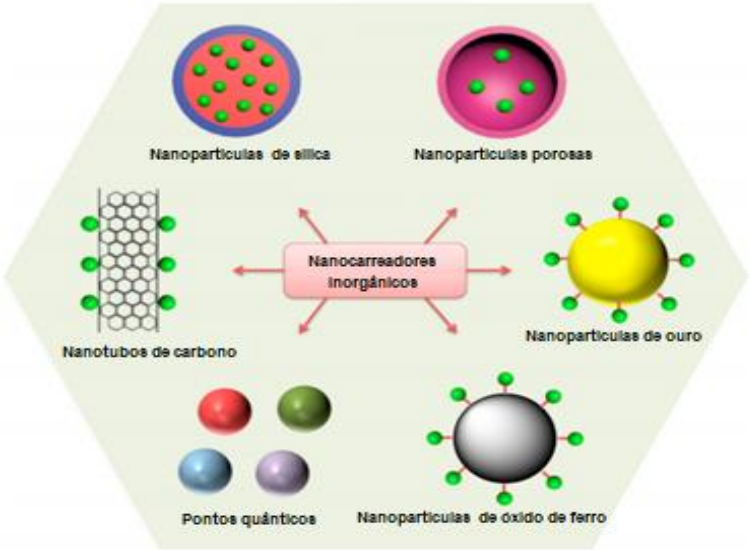
2.1 MATRIZES PARA O CARREAMENTO DE PRINCÍPIOS ATIVOS

O desenvolvimento de novos materiais tem se tornado um dos campos de pesquisa mais ativos nas áreas de química, biotecnologia e biomedicina (LEE; YEO, 2015). Muitas das propriedades únicas desses materiais fazem com que eles possam ser utilizados em aplicações potenciais, desde catálise até medicina (ASEFA; DUBOVOY, 2017). A nanomedicina tem como principais objetivos a obtenção de veículos de distribuição de drogas que possam carrear cargas de drogas suficientes, atravessar barreiras fisiológicas com eficiência para alcançar os locais-alvo e curar doenças de maneira segura e sustentável (TANG; CHENG, 2013).

Em comparação com as administrações convencionais de fármacos, a utilização de carreadores em sistemas de liberação de fármacos apresentam como vantagens: (1) melhora na eficiência de terapias farmacêuticas com o auxílio de sistema de liberação de medicamentos; (2) proteção do princípio ativo, evitando perdas desnecessárias de drogas; (3) boa solubilidade e estabilidade *in vivo*; (4) via favorável de administração e direcionamento, evitando danos a células e tecidos normais; (5) alta biocompatibilidade e biodegradabilidade, reduzindo efeitos colaterais indesejados (MAI; MENG, 2013).

Nesse contexto, as matrizes inorgânicas têm despertado bastante atenção em aplicações como bioimagem, terapias contra o câncer, liberação de drogas e agentes terapêuticos em locais direcionados (DYKMAN; KHLEBTSOV, 2012). Esses materiais incluem óxidos de ferro, compostos à base de sílica, nanotubos de carbono, pontos quânticos e hidróxidos duplos lamelares (Figura 1).

Figura 1 – Exemplos de materiais inorgânicos para tratamentos em medicina.



Fonte: (Adaptado de TANG; CHENG, 2013).

Os sistemas inorgânicos apresentam-se como melhor alternativa em relação aos sistemas orgânicos, pois eles promovem a liberação sustentada de princípios ativos e apresentam baixa toxicidade (SAO; VAISH; SINHA, 2014). Devido a facilidade de síntese e modificação, pode-se controlar o tamanho, a forma e a funcionalização da superfície dos carreadores inorgânicas (ZHANG; LI; YU, 2014).

É grande a variedade de compostos ativos que possuem uma eficiência terapêutica limitada, essas limitações são associadas a biodegradação rápida, instabilidade, baixa especificidade do tratamento, efeitos colaterais sistêmicos e toxicidades. Essas desvantagens resultam no desenvolvimento de resistência de múltiplas drogas em um tratamento a longo prazo, sendo portanto necessário o desenvolvimento de novos métodos para contornar esses efeitos indesejáveis.

2.2 CO-ENTREGA DE PRINCÍPIOS ATIVOS EM TERAPIAS COMBINADAS

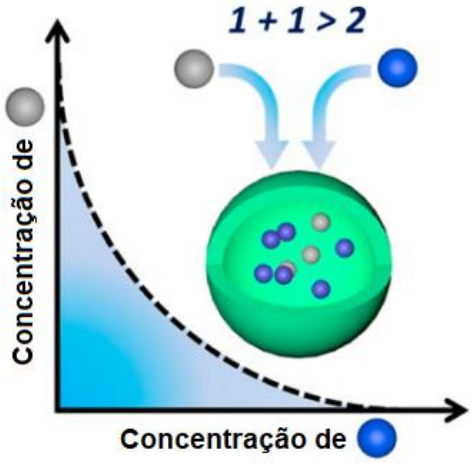
A co-entrega de medicamentos é um setor que vem tendo um rápido crescimento devido a busca por melhores eficácias terapêuticas através da entrega de fármacos com atividades sinérgicas (GODSEY; SURYAPRAKASH; LEONG, 2013). Nos últimos anos, matrizes capazes de carrear princípios ativos se tornaram uma classe promissora para a administração de múltiplas drogas em terapias combinadas, principalmente em tratamentos para diversos tipos de câncer e doenças infecciosas (WOODCOCK; GRIFFIN; BEHRMAN, 2011).

A terapia combinada é a administração simultânea de dois ou mais agentes farmacologicamente ativos para tratar uma única doença. A complexidade dos mecanismos de defesa do corpo e aos múltiplos fatores patogênicos de doenças limitam a utilização de medicamentos que atinjam um único alvo, principalmente durante o tratamento de doenças como tumores malignos, hipertensão, infecções, doenças cardiovasculares e distúrbios imunológicos. Desse modo, um melhor desempenho pode ser observado quando se combinam medicamentos terapêuticos que apresentam diferentes mecanismos de ação e toxicidades não sobrepostas. Além disso, a sinergia pode aumentar a eficácia terapêutica em doses mais baixas, o que consequentemente reduz a resistência ao medicamento e efeitos colaterais indesejáveis (ZHANG; WANG; YANG, 2011).

Diferenças na farmacocinética e na distribuição tecidual podem ser encontradas de acordo com as propriedades físico-químicas de cada droga. Após a combinação dos fármacos, a toxicidade do fármaco de cada droga pode aumentar, podendo causar graves efeitos colaterais. Devido essas desvantagens, tem-se acentuado as buscas em tecnologias capazes de se aumentar a eficácia terapêutica em terapias combinadas. Esses sistemas são projetados a fim de se alcançar a sinergia terapêutica, ou efeito medicinal que é maior

do que a soma de cada medicamento individual (Figura 2). As terapias com carreadores favorecem o aumento de solubilidade dos fármacos, apresentam menor toxicidade sistêmica, maior tempo de circulação no sangue, perfis de liberação controláveis e potencial de atingir tecido e células específicos (WANG; LANGER; FAROKHZAD, 2012).

Figura 2 – Interação entre duas drogas para produzir um efeito sinérgico.



Fonte: (Adaptado de MA; KOHLI; SMITH, 2013)**.**

Na medicina, as terapias combinadas com base em materiais têm se destacado principalmente em terapias contra o câncer, no Quadro 1 são apresentados trabalhos descritos na literatura que utilizam esses carreadores para co-entrega de compostos ativos.

Bazmi e colaboradores intercalaram dois medicamentos utilizados no tratamento de câncer (doxorrubicina e metotrexato) e um agente antimicrobiano (ciprofloxacino) em um nanocompósito de polímero-argila baseado em sílica catiônica. Foram realizados testes para avaliar a atividade antimicrobiana e o potencial antitumoral deste sistema em terapia combinada. A liberação cumulativa dos fármacos revelou que o fármaco individual pode ser de liberação controlada com capacidade para distinguir entre tecidos tumorais. Os testes de viabilidade celular confirmaram que a administração dupla dos dois anticancerígenos apresentaram uma maior citotoxicidade para as células cancerígenas. Esses resultados demostram o potencial de utilização desses nanocompósitos na terapia combinada contra o câncer (BAZMI et al., 2015).

Sun et al. reportaram a intercalação de acetato de clorexidina (anti-séptico) e cloridrato de terbinafina (antifúngico) em um tipo de aluminossilicato em camadas (montmorilonita – MMT). Os testes liberação *in vitro* revelaram que os fármacos foram liberados do MMT de forma constante, dependendo das interações eletrostáticas entre os medicamentos e o MMT. Também foram realizados ensaios de disco-difusão que mostram que os fármacos carreados em MMT apresentaram um efeito inibidor significativo contra *S.*

aureus, E. coli, P. aeruginosa e *C. albicans*. Esses resultados revelam que esse híbrido pode ser utilizado no tratamento de doenças induzidas por bactérias e fungos, como doença uretrite gonocócia. Essa doença é causada pela infecção por *S. aureus, E. coli e C. albicans*. O híbrido pode inibir esses três tipos de microorganismos ao mesmo tempo e prolongar o ciclo de tratamento através de liberação sustentada, tornando-se um potencial para a cura desta doença (SUN et al., 2018).

Rencentemente, Kankala e colaboladores realizaram a conjugação de complexos de cobre (II) – doxorrubicina na superfície de hidróxidos duplos lamelares intercalados com ácido ascórbico, a fim de demostrar os efeitos sinérgicos para alcançar a resistência a múltiplas drogas. A liberação de doxorrubicina sensível a pH e a liberação sustentada do ácido ascórbico são capazes de gerar grandes quantidades de peróxido de hidrogênio intracelularmente que resultam na conversão para radicais livres citotóxicos através da reação Fenton catalisada pelo cobre. Portanto, essa combinação pode emergir clinicamente como um sistema de entrega eficaz para aplicações medicinais (KANKALA et al., 2017).

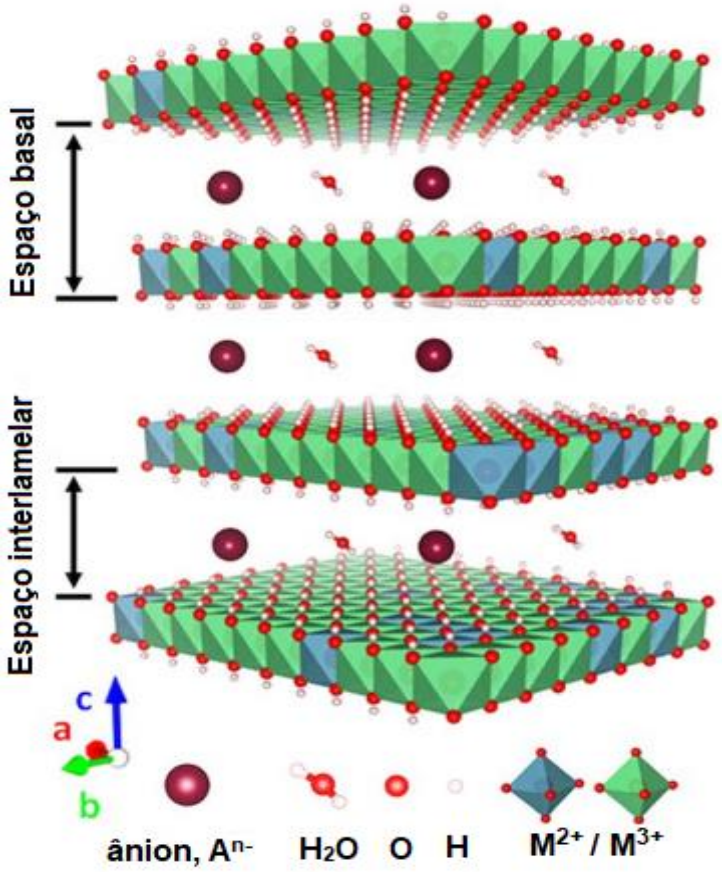
Quadro 1 – Exemplos de carreadores para a co-entrega de princípios ativos.

Matriz carreadora	**Compostos encapsulados**	**Alvo**	**Referência**
Nanocápsula de sílica mesoporosa	Camptotecina (anticâncer) e Doxorrubicina (anticâncer)	Tratamento contra o câncer	(CHEN et al., 2012)
Alginato / $CaCO_3$	Doxorrubicina (anticâncer) e gene p53 (plasmídeo)	Tratamento contra o câncer	(ZHAO et al., 2012)
Nanopartículas de poliacrilamida	Doxorrubicina (anticâncer) e Verapamil (quimiossensibilizador)	Diminuição da resistência a múltiplas drogas em tumores	(QIN et al., 2014)
Nanopartículas de PLGA	Docetaxel e gencitabina	Quimioterapia para câncer de ovário	(LI et al., 2019c)
Nanopartículas de ouro	Nisina (peptídeo antimicrobiano) e Doxorrubicina (anticâncer)	Tratamento de câncer de pele	(PREET et al., 2019)
Transportador lipídico nanoestruturado	Buparvaquona (antiprotozoário) e Polimixina B (antibiótico)	Tratamento de leishmaniose	(MONTEIRO et al., 2019)
Nanopartículas poliméricas	Gentamicina (antibiótico) e óxido nítrico (gas)	Tratamento de infecções hospitalares	(NGUYEN et al., 2016)
Nanocarreador silicato-cálcio	Tetraciclina (antibiótico) e prata (antibacteriano)	Regeneração de tecidos infectados	(LEE et al., 2017)
Hidróxidos duplos lamelares	B16F10 (M27 e M30) (epítopos mutados) e Trp2 (antígeno)	Imunoterapia para melanoma	(ZHANG et al., 2018)
Hidróxidos duplos lamelares	DSCP (pró-fármaco anticâncer) e clorina e6 (fotossensibilizador)	Redução da resistência à cisplatina	(WANG et al., 2015)

2.3 HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES (HDL)

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) ou compostos do tipo hidrotalcita são uma classe de argilas aniônicas que podem ser encontrados naturalmente como minerais ou facilmente sintetizados em laboratório (GU; ATHERTON; XU, 2015). Sua estrutura é derivada da brucita ($Mg(OH)_2$), na qual uma fração dos cátions divalentes coordenados octaedricamente por grupos hidroxilas são substituídos isomorficamente por cátions trivalentes. Os HDL acomodam em seu espaço interlamelar ânions compensadores de cargas e moléculas de água (Figura 3) (BI; ZHANG; DOU, 2014).

Figura 3 – Representação esquemática da estrutura do HDL.



Fonte: (Adaptado de PRESTOPINO et al., 2019).

Os HDL são representados pela fórmula geral:

$$[M^{2+}_{1-x}M^{3+}_{x}(OH)_2]^{x+}(A^{n-})_{x/n}.yH_2O$$

Sendo:

M^{2+} cátions divalentes, como: Mg^{2+}, Zn^{2+} ou Ni^{2+};

M^{3+} cátions trivalentes, como Al^{3+}, Fe^{3+} ou Mn^{3+};

A^{n-} um ânion inorgânico ou orgânico, como CO_3^{2-}, NO_3^-, Cl^-, SO_4^{2-} ou RCO_2^-;

x a fração molar de M^{3+}.

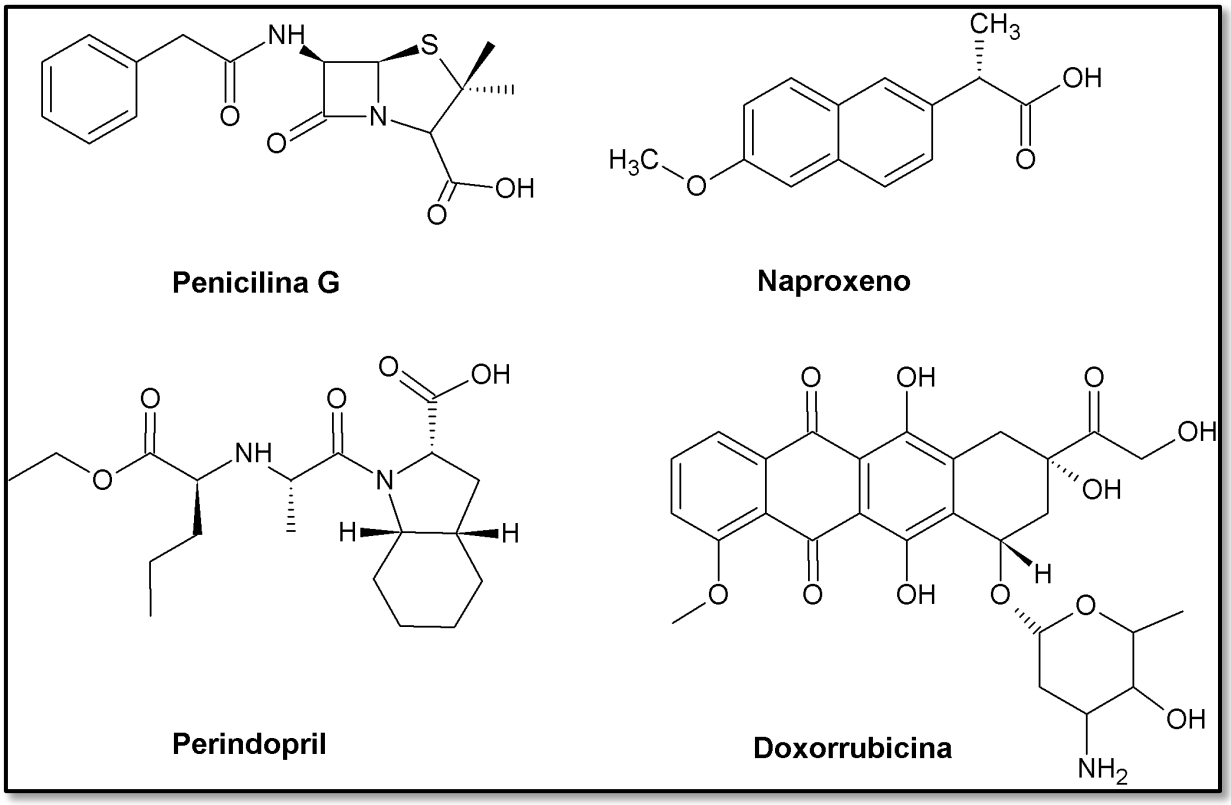
A estrutura dos HDL permitem que esses materiais sejam aplicados em diversas áreas, como precursores para a preparação de adsorventes (SEPEHR et al., 2017), catalisadores (YU et al., 2020), aditivos em polímeros (LIU et al., 2018), retardadores de chamas (GAO et al., 2020) e em aplicações médicas como sistemas para a entrega de medicamentos (YASAEI et al., 2019). São inúmeras as vantagens dos HDL em aplicações biomédicas, destacando-se a variedade de HDL formados a partir da combinação de cátions metálicos biocompatíveis, como Zn^{2+}, Mg^{2+} e Al^{3+}. A sua boa biodegradabilidade também é um fator crucial na melhora da biocompatibilidade e segurança. As estruturas de HDL apresentam cargas positivas, o que facilita consideravelmente a penetração desses materiais em membranas celulares. Por fim, devido as nanoestruturas dos HDL serem feitas de hidróxidos, sua sensibilidade se torna mais acentuada em ambientes ácidos, fazendo desses materiais sistemas interessantes para terapias do câncer, uma vez que os tecidos e células cancerígenas apresentam pH mais baixo (YAN et al., 2019).

Vários métodos de síntese de HDL-fármaco são descritos, porém o método de coprecipitação e troca iônica são os mais abordados. O método de coprecipitação consiste na adição de uma solução de cátions metálicos em outra contendo o ânion a ser intercalado, com adição de uma base para a precipitação do HDL (RIVES; DEL ARCO; MARTÍN, 2013). Esse método é o mais comumente utilizado, pois o risco de incorporação de CO_3^{2-} é significativamente menor (BI; ZHANG; DOU, 2014). A troca iônica consiste no carreamento de moléculas hospedeiras após a síntese do HDL. Outros métodos são descritos, porém menos utilizados. O método de reconstrução é baseado no “efeito memória”, onde o HDL é calcinado a 500 °C, ocorrendo a formação de óxidos mistos que são imersos numa solução de ânions a ser intercalado, tendo a sua estrutura em camadas originalmente regenerada. Os tratamentos hidrotermais e de micro-ondas são aplicados quando se busca melhora na cristalinidade e outras propriedades dos HDL (MASCOLO; MASCOLO, 2015).

Apesar do método de coprecipitação ser o mais abordado em trabalhos para a síntese de HDL com fármacos, outras técnicas poucos exploradas também são encontradas, como o preparo de dispersões sólidas a partir de HDL. As dispersões sólidas, em geral liberam o medicamento imediatamente para maximizar a sua absorção (“burst release”). Esses sistemas apresentam como vantagens o aumento da taxa de dissolução e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água (GIRI et al., 2012).Para a preparação das dispersões sólidas, o método de evaporação de solvente é o mais empregado, esse método visa dissolver o fármaco e o veículo em solvente comum, seguido da remoção por evaporação. A remoção do solvente pode ser feita pelo processo de secagem a vácuo, aquecimento da mistura, evaporação lenta do solvente a baixa temperatura, evaporadores rotativos e liofilização (HE; HO, 2015).

Devido a alta versatilidade e baixo custo, essas matrizes mostram-se promissoras no campo farmacêutico para encapsular biomoléculas funcionais, fármacos e outros biocompostos ativos (MISHRA; DASH; PANDEY, 2018). Buscas na literatura reportam a utilização de HDL no encapsulamento de fármacos (Figura 4), principalmente antibióticos (LI et al., 2019), anti-inflamatórios (NABIPOUR, 2019), anti-hipertensivos (HUSSEIN AL ALI et al., 2012), anticancerígenos (HAKEEM et al., 2018) e muitos outros.

Figura 4 - Moléculas de fármacos já incorporadas nas estruturas de HDL.



2.4 HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES PARA ENTREGA SIMULTÂNEA

Na literatura são encontrados trabalhos que utilizam HDL para a co-entrega de princípios ativos na terapia do câncer. Entretanto estudos que remetem à utilização simultânea de antibióticos e anti-inflamatórios na matriz de HDL ainda não foram explorados até a presente data.

Li et al. utilizaram nanopartículas de HDL como vetor para entrega do medicamento anticâncer 5-Fluorouracil (5-Fu) e siRNA para potencializar a terapia do câncer. Os resultados demonstraram que a quimioterapia combinada juntamente com a terapia genética aumentam a citotoxicidade do 5-Fu em três linhas celulares de câncer. Além disso, os HDL carrearam simultaneamente o pró-fármaco de Pt (IV) e um ativador de p53. A introdução da

proteína p53 ativa gerou vias apoptóticas iniciadas por drogas de platina, aumentando consideravelmente a eficácia do pró-fármaco da cisplatina (LI et al., 2014).

Wang et al. incorporaram pró-fármacos de Pt (IV) e o fotossensibilizador Clorina e6 (Ce6) em HDL para bloquear a resistência à droga da cisplatina. O fotossensibilzador Ce6 e os pró-fármacos de Pt (IV) carreados demonstraram um alto efeito sinérgico na morte de células cancerígenas e se mostraram altamente ativos para células resistentes à cisplatina, apresentando eficiência 189 vezes maior em relação à cisplatina isolada (WANG et al., 2015).

Em trabalho mais recente, Usman et al. utilizaram HDL como sistema de entrega teranóstica em tratamentos contra o câncer. Sistemas teranósticos englobam a combinação de um agente terapêutico e um ou mais agentes de diagnóstico. Foi sintetizado HDL Zn/Al como nanotransportador do agente terapêutico ácido clorogênico (AC) e gadolínio como diagnóstico de agente de contraste. O contraste de imagem de ressonância magnética foi aprimorado com nanopartículas de ouro, sendo revestidas na superfície do nano-híbrido. Através de resultados de cinética de liberação foi observada uma alta liberação terapêutica de até 90%. Outros estudos foram realizados para a confirmação dos híbridos teranósticos, destacando-se os testes de viabilidade celular em linhas celular normais (3T3) e linhas celulares de câncer de fígado (HepG2) que mostraram uma citotoxicidade relativa contra HepG2 e leve toxicidade contra 3T3. Também foram observados que os sinais de ressonância magnética apresentaram-se melhorados em relação ao Gadolínio puro. Os estudos preliminares sobre o nanohíbrido mostraram a sua potencialidade como agente teranóstico para funções diagnósticas e terapêuticas no tratamento do câncer (USMAN et al., 2020).

2.5 ESPÉCIES ORGÂNICAS DE INTERESSE FARMACOLÓGICO

Os fármacos escolhidos no presente estudo para serem associados com os sólidos inorgânicos foram a amoxicilina (antibiótico) e o ibuprofeno (anti-inflamatório não esteroidal). São vastos os trabalhos encontrados na literatura que aplicam, separadamente, o uso desses fármacos em matrizes de HDL. Contudo, são pouco abordadas a estabilidade desses fármacos durante a síntese dessas matrizes.

2.6 HDL E ANTIBIÓTICOS

O desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos contra bactérias multirresistentes é um grande desafio e causa preocupação global. A utilização dos agentes antibacterianos convencionais requer uma alta dose para ser capaz de combater infecções

de forma eficaz, o que pode ocasionar o desenvolvimento de cepas resistências e causar toxicidade (HAJIPOUR et al., 2012). Esses fatores levaram a motivação de pesquisas para a exploração de sistemas que melhoram os métodos convencionais. Os HDL surgem como uma estratégia interessante e bastante explorada para o carreamento de antimicrobianos, uma vez que as células bacterianas têm cargas negativas em sua superfície, o que facilita a interação das cargas positivas dessas matrizes para uma melhor adesão na superfície bacteriana (KUBO et al., 2018).

Li et al. estudaram o efeito de diversas concentrações de Penicilina G (PNG) em HDL Zn/Al. Os HDL Zn/Al-PNG foram preparados pelo método de coprecipitação a partir da adição de PNG em solução de cátions metálicos, após o pH da mistura foi ajustado para 7,0 ± 0,2 e deixado sob agitação constante por 18 horas a temperatura ambiente. Os perfis de liberação de PNG demostraram um liberação rápida “burst release” no momento inicial, liberando 50% do princípio ativo nas primeiras 5 horas, seguida por uma liberação lenta de até 48 horas. Foram realizados testes antibacterianos contra *Escherichia coli.* Os resultados mostraram que a partir de um composição adequada de HDL-PNG é possível a obtenção de um efeito sinérgico, que mantém a inibição bacteriana por até 10 dias em relação a penicilina na forma livre que é de 1 dia. A inibição bacteriana a longo prazo é atribuída a uma combinação sinérgica de PNG e as matrizes de HDL, favorecendo o desenvolvimento de formulações com antibióticos que apresentam um maior custo-benefício para contornar a resistência bacteriana (LI et al., 2019b).

Rebitski et al. intercalaram amoxicilina (AMOX) em HDL Zn/Al pelo método de reconstrução e estudaram a liberação do fármaco. Para melhorar o desempenho do composto de intercalação em meio ácido (fluido estomacal) o híbrido argila-amoxicilina foi incorporado em uma matriz de polissacarídeo de carboximetilcelulose e proteína zeína (CMC-Z). Esses compostos apresentaram melhor compatibilidade e liberação mais controlada da amoxicilina em comparação ao seu respectivo híbrido. O HDL puro liberou mais de 90% do princípio ativo nos 30 minutos de teste, atingindo 100% após 90 minutos. Quando o híbrido é incorporado na mistura de CMC-Z o fármaco passa a ser liberado mais lentamente, apenas 15% é liberado em 30 minutos. Esses resultados demostram que a mistura de biopolímeros é eficiente na proteção do HDL-fármaco, promovendo uma liberação lenta da droga durante a passagem pelo trato gastrointestinal (REBITSKI et al., 2019).

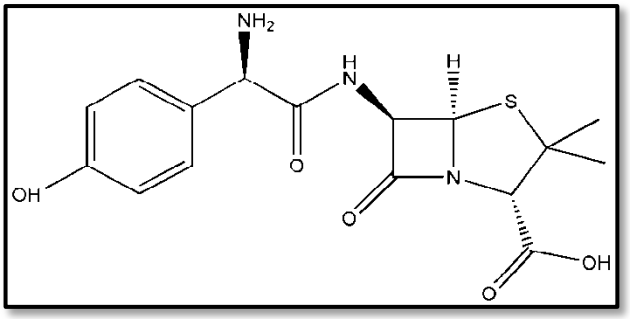
2.6.1 Amoxicilina

Os antibióticos β-lactâmicos são uma classe de antibióticos que possuem em comum na sua estrutura a presença do anel β-lactâmico (ácido 6-aminopenicilânico) (Figura 5). A manipulação das cadeias laterais desse núcleo permitiu o desenvolvimento de

inúmeras penicilinas semissintéticas, destacando-se a amoxicilina (AMOX). As penicilinas são muito instáveis, ocorrendo degradação espontânea desses medicamentos. O grupo β-lactâmico é o principal responsável por essa instabilidade, pois pode ocorrer a abertura do anel β-lactâmico em diversas condições (temperatura, pH e degradação enzimática). Um dos grandes desafios ao determinar a farmacocinética desses medicamentos é como manter sua estabilidade sob diversas condições de armazenamento (ROBERTS et al., 2014).

A amoxicilina (AMOX), também conhecida como alfa-amino-p-hidroxibenzil penicilina (Figura X) é um antibiótico que foi introduzido em 1970. A AMOX se assemelha com a ampicilina, possuindo ambas um amplo espectro de atividade antimicrobiana, diferenciando-se pela maior absorção da AMOX quando administrada por via oral. Ela é empregada no tratamento de infecções do trato respiratório, como otite média, bronquite e sinusite bacteriana, sendo também utilizada em tratamentos de infecções do trato urinário (WRIGHT, 1999).

Figura 5 – Representação da estrutura química da amoxicilina.



Poucos estudos que abordam a estabilidade da amoxicilina estão disponíveis na literatura e os resultados de estabilidade à longo prazo têm sido inconsistentes. Os tratamentos de doenças infecciosas graves exigem a administração de altas doses de amoxicilina, porém a estabilidade química do medicamento, pouco abordada em trabalhos científicos pode afetar sua eficácia.

Portanto, a incorporação de AMOX em matrizes carreadoras é um desafio, uma vez que a depender da metodologia utilizada pode ocorrer a degradação da AMOX através da abertura do anel beta-lactâmico. Várias metodologias de síntese são empregadas em trabalhos presentes na literatura para incorporação de amoxicilina em hidróxidos duplos lamelares, destacando-se o método por coprecipitação e reconstrução. Apesar de serem encontrados estudos abrangentes sobre a incorporação de amoxicilina em hidróxidos duplos lamelares, ainda são escassos os trabalhos que estudam a atividade antimicrobiana desse antibiótico quando presentes nas matrizes de HDL, conforme apresentado no Quadro 2.

Wang et al. sintetizaram o HDL Zn/Al pelo método de coprecipitação a pH 10, após foi feita a incorporação de amoxicilina através do método de reconstrução, sendo o HDL calcinado a 400 °C e adicionado a solução de amoxicilina sódica. Estudos de liberação em solução tampão fosfato pH 7,4 revelaram uma taxa de liberação de 85% de amoxicilina após 30 minutos. Essa liberação imediata “burst release” ocorreu devido à adsorção física das moléculas de amoxicilina na superfície dos HDL (WANG et al., 2009b).

Valazero et al. incorporou amoxicilina em HDL Zn/Al pelo método de coprecipitação direta. Uma solução de cátions metálicos foi adicionada em uma solução de amoxicilina sódica sob agitação e fluxo de nitrogênio. Após 4 horas, o pH foi ajustado para 7,5 com solução de hidróxido de sódio. O HDL-AMOX foi encapsulado com várias concentrações de poli (ε-caprolactona) (PCL) pela técnica de eletrofiação. Estudos de liberação foram realizado em solução fisiológica salina, demonstrando uma liberação rápida “burst release” no primeiro estágio do teste para todas as concentrações, seguido por uma etapa de liberação lenta. Esse “burst” é encontrado em muitos sistemas de liberação controlada para AMOX. Para a administração de antibióticos a liberação imediata é um ponto muito positivo, uma vez que a as bactérias invasoras são eliminadas antes da sua proliferação (VALAREZO et al., 2013).

Quadro 2 – Principais trabalhos de HDL com amoxicilina.

Método de síntese	M^{2+}/M^{3+}	Estudo de liberação	Atividade microbiológica	Caracterizações	Referência
Reconstrução	Zn/Al	pH 1,2; 6,8 e 7,4 / 37°C	NA*	DRX, TG, IV, CHN e MEV	(REBITSKI et al., 2019)
Coprecipitação	Zn/Al	Solução salina fisiológica / temp amb.	NA	DRX, DSC, MEV, TG,	(VALAREZO et al., 2013)
Reconstrução	Zn/Al	pH 7,4 / 37°C	NA	DRX, DSC, TG, IV, VSM	(WANG et al., 2009b)

*NA: não aplicável

2.7 HDL E ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIS

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) representam uma das classes de medicamentos mais prescritos mundialmente (BJARNASON et al., 2018). Esses fármacos são utilizados por apresentarem efeitos anti-inflamatórios e analgésicos, sendo empregados em tratamentos que buscam a redução de dor aguda ou crônica, febre e condições inflamatórias, como doenças reumáticas (SOSTRES et al., 2010). Contudo, a sua aplicação está associada a efeitos gastrointestinais graves, como perfurações de úlcera péptica, obstruções e sangramentos. Isso ocorre porque os AINEs tradicionais agem inibindo as duas isoformas da enzima ciclooxigenase (COX). A COX-1 é a responsável pela redução

dos níveis de produção gastroprotetora de prostaglandinas, ocasionando danos gástricos e intestinais. Já a COX-2 é induzida na maioria dos tecidos em resposta a estímulos inflamatórios (RAFANIELLO et al., 2016).

A incorporação de anti-inflamatórios em hidróxidos duplos lamelares pode contribuir para diminuir a irritabilidade gástrica e aumento da solubilidade desses medicamentos, uma vez que eles possuem solubilidade limitada. Os AINEs são compostos orgânicos aromáticos que possuem grupamentos carboxílicos de fácil ionização, o que facilita a intercalação desses ânions nas matrizes de HDL.

Mondal et al. realizaram a incorporação de salicitato de sódio em HDL Mg/Al pelo método de coprecipitação. As mudanças e aumentos nos planos basais nos gráficos de DRX confirmaram a presença do salicilato no espaço interlamelar do HDL. Estudos de análise térmica indicam para uma maior estabilidade do fármaco na forma intercalada em comparação com o se estado livre. Cinéticas de liberação foram realizadas em solução tamponada com fostato em pH 7,4, os resultados mostraram uma liberação sustentada do medicamento por até 72 horas, sendo liberados 80% de todo o fármaco em 24 horas a 37°C. Testes de citotoxicidade revelaram que o híbrido apresenta ação tóxica menor do que o fármaco na forma pura, sendo potencial candidato para a minimização de danos às células renais (MONDAL; DASGUPTA; MAJI, 2016).

Rojas et al. sintetizaram um complexo de HDL com ibuprofeno com alto teor da droga (54% m/m) intercalado na estrutura lamelar e adsorvido na superfície com o objetivo de estudar o efeito da liberação do ibuprofeno em meios simulando fluido gástrico (cloreto), intestinal (fosfato) e lipossômico (acetato). A taxa de liberação do IBU se mostrou dependente da condição do fluido (pH e concentração dos ânions). No fluido instestinal o fármaco foi liberado pelo mecanismo de troca aniônica atingindo liberação máxima em menos de 5 horas. Em meio ácido foi obtida uma cinética de liberação controlada devido reações na superfície do HDL (dissolução do IBU) (ROJAS et al., 2012).

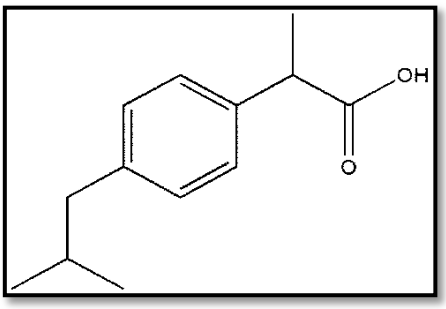
A combinação de dois ou mais agentes terapêuticos, como amoxicilina e ibuprofeno em nanomateriais é uma estratégia eficiente para o armazenamento, carreamento e liberação de princípios ativos em terapias combinadas (ROJAS; ARENAS-VIVO; HORCAJADA, 2019).

2.7.1 Ibuprofeno

O ibuprofeno (Figura 6) é um dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) mais vendidos no mundo com ação analgésica, antipirética e anti-inflamatória utilizado no tratamento de artrite, tensão muscular, cefaleia e outros (AHMADI et al., 2014; BAUMANN, BAXENDALE, 2016). O ibuprofeno foi descoberto em 1961 e em 1969 começou a ser

vendido com prescrição médica no Reino Unido para tratar doenças reumáticas. Em 1970, diversos ensaios foram realizados em condições dolorosas não reumáticas, tendo aprovação para a comercialização deste fármaco sem receita (HALFORD et al., 2012).

Figura 6 – Representação da estrutura química do ibuprofeno.



O ibuprofeno é considerado pelo Biopharmaceutics Classification System (BCS), Sistema de Classificação Biofarmacêutica), como uma droga da classe II, ou seja, possui baixa solubilidade, em torno de 21 mg L^{-1} de ibuprofeno em água, e alta permeabilidade (BHADRA et al., 2017; SINTRA et al., 2018).

Djaballah et al. preparam o HDL Zn/Ti com o menor espaçamento entre camadas (6,6-6,8 Å) para a liberação de ibuprofeno (IBU). A liberação do fármaco foi realizada em meio intestinal simulado (pH 6,8) a 37° C. Os estudos de cinética mostraram que 2/3 da droga carreada foi rapidamente liberada na primeira fase, seguida por uma liberação lenta de até 24 h, o que pode ser atribuído à curta distância entre as camadas do HDL ou a forte interação entre os ânions e as lamelas do HDL. Esses resultados levam a hipótese de que o sistema de administração de HDL Zn/Ti-IBU é controlado pela difusão dos íons ibuprofeno em solução aquosa por meio de mecanismo de troca com ânions fosfato. Esses sistemas são indicados para possíveis usos para evitar efeitos de overdose de drogas e sua adaptabilidade para terapia medicamentosa em baixas doses (DJABALLAH et al., 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho visou a prepararação de hidróxidos duplos lamelares (HDL) derivados de Zn/Al, Mg/Al e Mg/Fe contendo, simultaneamente, amoxicilina (AMOX) e ibuprofeno (IBU).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

✓ Estudar a estabilidade físico-química e térmica dos fármacos em diferentes meios tamponados e na ausência / presença de aquecimento; a fim de se estabelecer a melhor estratégia de síntese dos híbridos;

✓ Sintetizar os diferentes sólidos inorgânicos em diferentes condições de pH e ausência / presença de aquecimento.

✓ Preparar misturas de sólidos com os fármacos (AMOX e IBU) e avaliar a estabilidade em meio sólido por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV) e espectroscopia eletrônica na região do UV-vis;

✓ Preparar os sólidos deriviados de Zn/Al, Mg/Al e Mg/Fe contendo AMOX e IBU pelo método de coprecipitação direta e através do preparo de dispersões sólidas (DS);

✓ Estudar a dessorção dos fármacos presentes nos sólidos por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis;

✓ Determinar a quantidade incorporada de cada fármaco presente nos compostos sintetizados por coprecipitação direta através de espectroscopia eletrônica na região do UV-vis;

✓ Caracterizar os sólidos puros e com fármacos por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV), microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios X pelo método do pó (DRX) e análise termogravimétrica (TG).

✓ Estudar a atividade antimicrobiana dos sólidos preparados nas condições de pH 7,4 / 75°C e suas DS pelo método de contagem de colônias frente a uma bactéria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*).

4 METODOLOGIA

4.1 REAGENTES

Os sais inorgânicos para a síntese dos hidróxidos duplos lamelares (HDL), a amoxicilina e ibuprofeno foram utilizados sem nenhum tratamento prévio. A relação de todos os reagentes utilizados, suas fórmulas moleculares, fornecedores e grau de pureza são descritos no ANEXO A.

4.2 ESTABILIDADE DA AMOXICILINA (AMOX) E IBUPROFENO (IBU) EM MEIOS TAMPONADOS

Os testes de estabilidade dos fármacos foram realizados em tampão ácido, neutro e básico. Inicialmente foram preparadas três soluções tampão fosfato (pH 2,2; 7,4 e 8,5), todas as soluções foram preparadas de acordo com metodologias descritas na quinta edição da farmacopeia brasileira (“Farmacopeia Brasileira Agência Nacional de Vigilância Sanitária”, 2010).

4.2.1 Estudo de estabilidade química de amoxicilina (AMOX) e ibuprofeno (IBU) em soluções tampão fosfato (pH 2,2; 7,4 e 8,5)

Em seis béqueres adicionou-se, individualmente, 0,025 g de AMOX e IBU. Em cada béquer contendo AMOX e IBU foi adicionado 35 mL de tampão fosfato (pH 2,2; 7,4 e 8,5), os béqueres com as soluções foram colocados em banho ultrassônico por 1 hora e 30 minutos. Após transferiu-se as soluções para balões volumétricos de 50 mL e completou-se com os seus respectivos tampões. As soluções foram transferidas para tubos Falcons de 50 mL e centrifugadas por 5 minutos a 4000 rpm. As soluções foram transferidas para novos tubos e armazenadas à temperatura ambiente. Apenas os tubos de IBU com tampão fosfato pH 7,4 e 8,5 não apresentaram corpo de fundo. Foram retiradas alíquotas de 1 mL de cada tubo com 1, 2, 3, 4, 8, 15, 45 e 105 dias e realizou-se a leitura por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis, a fim de avaliar a estabilidade e s

olubilidade de cada fármaco em diferentes pH.

4.2.2 Estudo de estabilidade térmica da amoxicilina (AMOX), ibuprofeno (IBU) e AMOX-IBU em solução tampão fosfato (pH 7,4) a 60°C

Em dois erlenmeyers adicionou-se, individualmente, 12,5 mg de AMOX e IBU. Em cada erlenmeyer foi adicionado 50 mL de solução tampão fosfato pH 7,4. Os erlenmeyers foram completamente recobertos com papel alumínio para evitar a passagem de luz e em seguida submetidos a banho termostatizado a 60°C sob agitação constante. Retirou-se alíquotas de 2 mL de cada erlenmeyer para centrifugação em tempos de 18, 24, 44 e 68

horas. Após cada retirada realizou-se as leituras por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis.

4.3 SÍNTESE DOS SÓLIDOS INORGÂNICOS DERIVADOS DE Mg/Fe (2:1) EM DIFERENTES CONDIÇÕES

Foram preparados quatro sólidos inorgânicos derivados de Mg/Fe variando temperatura (ambiente e 75°C) e pH (pH 7,4 e 9,0). As sínteses foram realizadas de maneiras análogas. Todas as sínteses foram realizadas pelo método de coprecipitação.

Para a síntese dos sólidos foram preparadas soluções dos sais de cátions metálicos contendo 0,0750 mol de $MgCl_2.6H_2O$ e 0,0375 mol de $FeCl_3.6H_2O$. Essa solução foi transferida para um balão de fundo chato e colocada sob agitação constante, sendo gotejada com o auxílio de uma bureta, solução de NaOH 1,0 mol L^{-1} até o pH desejado (7,4 ou 9,0). Então, as misturas foram submetidas a agitação constante por cerca de 24 h. Os sólidos foram separados por centrifugação a 4000 rpm e lavados quatro vezes com água deionizada. Por fim, foram secos em estufa a 100°C por 6 horas, posteriormente os sólidos foram triturados em almofariz de vidro, transferidos para frascos e armazenados à temperatura ambiente.

4.3.1 Preparo de misturas físicas de AMOX-IBU e dos sólidos derivados de Mg/Fe em diferentes condições com AMOX-IBU

Foram macerados, juntamente, 0,1 g de AMOX e 0,1 g de IBU. Em seguida, essa mistura foi armazenada em microtubos tipo *Eppendorf* e foram realizadas leituras por espectroscopia vibracional na região do infravermelho por refletância total atenuada (ATR) após 1 e 30 dias de armazenamento.

Com o auxílio de um almofariz foram realizadas misturas com 0,4 g dos compostos sintetizados anteriormente, 0,1 g de AMOX e 0,1 g de IBU. As quatro misturas de HDL e fármacos foram transferidas para microtubos tipo *Eppendorf*, rotulados e armazenados à temperatura ambiente. Após 1 e 60 dias foram realizadas leituras por espectroscopia vibracional na região do infravermelho por refletância total atenuada (ATR). Nesse mesmo período também foram dispersos 50 mg de cada mistura em 30 mL de tampão fosfato pH 7,4 e agitados por um minuto no vórtex, as soluções foram centrifugas e alíquotas foram retiradas para a realização das leituras por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis.

4.4 SÍNTESE DOS SÓLIDOS INORGÂNICOS

Para a síntese de todos dos compostos contendo Zn/Al, Mg/Al e Mg/Fe foi utilizado o método de coprecipitação, analogamente a procedimentos descritos na literatura (ROSSETO; SANTOS; GALEMBECK, 2006; KHAN et al., 2009). Incialmente foram

preparados HDL em pH 7,4 e à temperatura ambiente e seus respectivos híbridos contendo AMOX e IBU foram preparados nas mesmas condições. Posteriormente foram sintetizados HDL em pH 7,4 à 75°C e foram realizadas **dispersões sólidas** dos HDL com os fármacos.

4.4.1 Método de coprecipitação

Todas as sínteses foram realizadas de maneira análogas, variando apenas os sais utilizados para a síntese de cada composto, em todos os casos foram utilizados sais de cloreto dos respectivos metais. Para a incorporação dos fármacos, foram preparadas soluções contendo 0,3 g de AMOX e 0,3 g de IBU (equivalente a cerca de 10 % em massa de cada fármaco) e a ela adicionada NaOH 0,5 mol L^{-1} até pH 10.

Para a síntese do HDL Zn/Al-AMOX-IBU foi preparada uma solução contendo 0,0750 mol de $ZnCl_2$ e 0,0375 mol de $AlCl_3.6H_2O$ em 100 mL de água deionizada. Essa solução foi transferida para um balão de fundo chato e a ela foi gotejada, lentamente, uma solução de hidróxido de sódio 1,0 mol L^{-1} até pH próximo a 6,5. Após, gotejou-se toda a solução de fármacos, previamente preparada e adicionou-se, novamente NaOH até que se atingisse pH 7,4. Após, o sistema foi deixado em agitação constante por aproximadamente 24h à temperatura ambiente. Após esse período, o composto foi separado por centrifugação a 4000 rpm e lavado duas vezes com água deionizada. O sólido foi seco a 55 °C por 18 horas. Para a síntese do HDL Zn/Al sem fármacos, a mesma metologia foi empregada, porém sem a adição da solução de AMOX e IBU.

4.4.2 Dispersões sólidas (DS)

Os HDL foram preparados de maneira análoga aos descritos anteriormente, alterando apenas a temperatura de síntese (75°C). Foram utilizados 0,3 g de cada composto previamente sintetizados e a cada um deles foi adicionado 15 mL de etanol, os sistemas foram colocados em refluxo a 65°C com agitação constante durante 3 dias. Após esse período desligou-se o aquecimento, deixando-os atingir a temperatura ambiente por mais 2 horas. Foram preparadas dispersões contendo 0,03 g de AMOX e 0,03 g de IBU em 25 mL de etanol e submetidas a banho ultrassônico por 20 minutos. Essas misturas foram adicionadas gota à gota nas dispersões de HDL em temperatura ambiente e colocadas em agitação constante por mais 1 hora. Após, as dispersões foram rotaevaporadas até a completa eliminação do solvente (40°C / 50 rpm) e colocadas em dessecador com vácuo por 72 horas. Após os sólidos foram retirados dos balões, pesados e armazenados em microtubos tipo *Eppendorf*.

4.5 CINÉTICA DE DESSORÇÃO DOS FÁRMACOS PRESENTE NOS SÓLIDOS INORGÂNICOS

As cinéticas de dessorção dos fármacos foram realizadas à temperatura ambiente em solução tampão fosfato (pH 7,4). Para os compostos sintetizados pelo método de coprecipitação foram necessárias a adição de 50 mg do sólido-fármaco / 50 mL de tampão. Para as dispersões de sólido-fármacos foram necessários 25 mg / 50 mL de tampão fosfato. Os sistemas foram colocados sob agitação constante e alíquotas de 2 mL eram retiradas e centrifugadas em tempos pré-determinados, após, 1 mL era armazenado para a leitura no UV-vis e ao outro 1 mL da amostra era adicionado 1 mL de tampão fosfato pH 7,4, sendo posteriormente retornado de volta a cinética. Os tempos selecionados para realizar as leituras foram: 5, 15, 30, 60 e 120 minutos.

4.6 QUANTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS POR ULTRAVIOLETA-VISÍVEL PARA OS COMPOSTOS DE CO-PRECIPITAÇÃO

A concentração dos dois fármacos (AMOX e IBU) presentes nos sobrenadantes, resultantes dos experimentos de cinética de dessorção, foi determinada por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis. O sobrenadante foi centrifugado para a separação do sólido e 30 mL deste líquido foi transferido para um funil de separação. Foram realizadas cinco extrações com alíquotas de 10 mL de diclorometano para remoção do IBU. Após a adição do diclorometano em cada lavagem todo diclorometano era retirado e separava-se uma fração da fase orgânica (diclorometano) e 0,5 mL da fase aquosa (tampão fosfato) para leitura no UV-vis. A partir da quantidade de AMOX restante no tampão ao final das extrações e da soma das absorbâncias de cada extração de IBU foram determinadas as concentrações dos fármacos. Curvas de calibração externa foram obtidas com soluções padrões entre 0,1-0,5 mg mL^{-1} para a AMOX em tampão fosfato e entre 0,5-0,9 mg mL^{-1} para o IBU em diclorometano.

4.7 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

A maioria das caracterizações dos compostos sintetizados foram realizadas na Universidade Estadual de Goiás – Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas (UEG – CCET), exceto as Difrações de Raios X e Análise Termogravimétrica (TGA), sendo realizadas no Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação da UFG (CRTI – UFG).

4.7.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os sólidos inorgânicos sintetizados pelo método de coprecipitação (pH 7,4 / temperatura ambiente), misturas e sólido-fármacos por coprecipitação direta foram analisados por espectroscopial vibracional na região do infravermelho por refletância total atenuada (IV-ATR) na região de 4000 a 700 cm^{-1}. Os sólidos inorgânicos sintetizados por coprecipitação nas condições de pH 7,4 / 75°C e suas dispersões sólidas foram caracterizados através do preparo de pastilhas contendo cada material e KBr em uma faixa de 4000 a 400 cm^{-1}. Todos os espectros foram obtidos com 32 varrreduras e registrados em um aparelho *Perkin Elmer Frontier.*

4.7.2 Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta-vísivel

Os espectros eletrônicos das soluções de AMOX e IBU para avaliação de estabilidade e cinética de dessorção dos fármacos presentes nos compostos foram registrados em um espectrofotômetro Ultravioleta-Visível *Perkin Elmer Lambda 25* na faixa de 200 a 800 nm.

4.7.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplado a espectrômetro de energia dispersiva de raios X (EDS)

Os sólidos obtidos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura com acoplamento do EDS no equipamento *TM3030 Plus,* através da deposição das amostras em adesivos de carbono. Anteriormente, as amostras foram pulverizadas para a obtenção de um pó fino.

4.7.4 Difração de Raios X pelo método do pó (DRX)

As medidas de difração de raios X (DRX) foram realizadas em um difratômetro *Bruker D8 Discover*. Utilizou-se a radiação monocromática de um tubo com anodo de cobre acoplado a um monocromador Johansson para $K\alpha_1$ operando em 40 kV e 40 mA, configuração Bragg-Brentano θ-2θ, detector unidimensional Lynxeye. Intervalo de 2θ de 5° a 80°, com passo de 0,02°.

4.7.5 Análise Termogravimétrica (TG / DTG)

Os termogramas dos sólidos sintetizados em pH 7,4 / 75°C, suas dispersões sólidas, mistura de AMOX-IBU, AMOX pura e IBU puro foram obtidos pela técnica de Análise Térmica Diferencial e Termogravimétrica, usando um equipamento *Shimadzu DTG-60H*. As medidas foram realizadas no intervalo de temperaturas de 28 a 950°C, com taxa de

aquecimento de 10°C/min, fluxo de nitrogênio de 100 mL/min, em cadinhos de platina de 70 µL.

Para a análise térmica da mistura de fármacos, procedeu-se com a mistura de AMOX e IBU na proporção 1:1 com adição de 25 mL de etanol. Essa dispersão foi colocada em agitação constante por 1 hora e rotaevoparada a 40°C.

4.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os compostos sintetizados em pH 7,4 / 75°C e suas dispersões sólidas foram submetidas a ensaios microbiológicos frente a uma bactéria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) utilizando o método de contagem de colônias. As cepas de S. aureus (ATCC 25923) foram gentilmente cedidas pelo Prof. Dr. Plínio Naves do Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Goiás.

4.8.1 Manutenção das cepas

Inicialmente, as alíquotas dos microorganismos foram replicadas em ágar nutriente utilizando a técnica de esgotamento por estrias e as placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24 horas. Após a incubação, foram transferidas de 3 a 5 colônias isoladas para um tubo com 18 mL de caldo Muller-Hinton suplementado com 20% de glicerol, que após homogeneização em vórtex por 15 segundos foram incubados por 12 horas a 35 °C. Em seguida, alíquotas de 0,8 mL foram transferidas para microtubos tipo *Eppendorf* previamente esterilizados e devidamente identificados. Posteriormente, os microtubos foram mantidos em refrigerador a 8 °C por 7 dias e, após esse período foram congelados para a realização de ensaios posteriores.

4.8.2 Padronização do inóculo

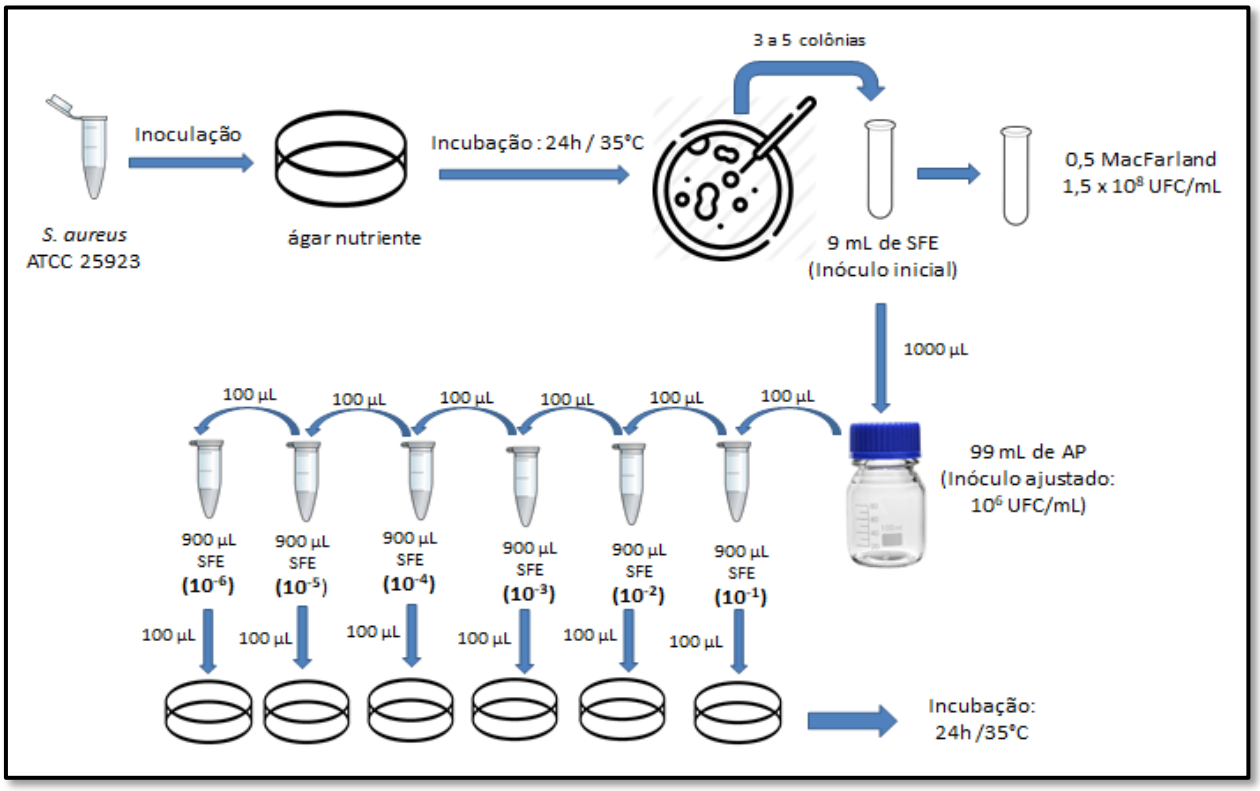
As cepas de *S. aureus* foram mantidas a temperatura ambiente para descongelamento. Após, as cepas foram inoculadas em ágar nutritivo pela técnica de esgotamento por estrias e incubadas em estufa a 35 °C por 24 horas. Em seguida, foram transferidas de 3 a 5 colônias isoladas para um tubo contendo solução fisiólogica estéril 0,9 % (SFE) até a obtenção da turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland (1,5 x 10^8 UFC/mL). Posteriormente, transferiu-se 1 mL da suspensão microbiana para um frasco contendo 99 mL de água peptonada, obtendo uma suspensão com 10^6 UFC/mL (inóculo ajustado)

4.8.3 Preparo das amostras de HDL e HDL-AMOX-IBU e espalhamento em meio sólido

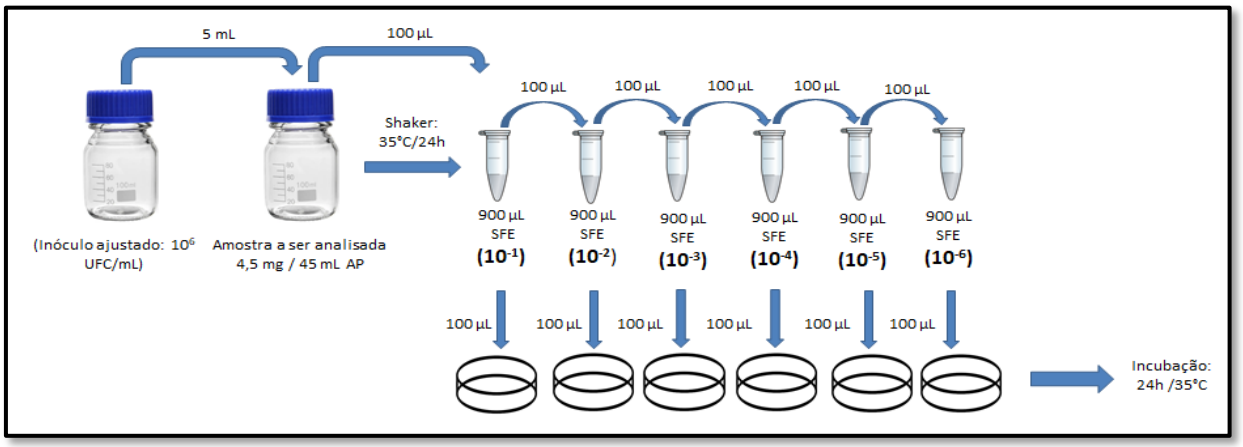
Foram transferidos 4,5 mg de cada sólido inorgânico e das suas dispersões sólidas contendo fármacos para frascos estéreis. A cada frasco foi adicionado 45 mL de solução peptonada estéril e 5 mL do inóculo ajustado. Para o controle de viabilidade foi adicionado 45 mL de solução peptonada estéril e 5 mL do inóculo ajustado em um frasco estéril. Todos os frascos foram recobertos com papel alumínio e colocados no shaker a 35 °C por 24 horas. Posteriormente, os frascos foram retirados do shaker a observou-se a turvação das soluções. Após, foram transferidos 0,1 mL da solução de cada frasco para microtubos tipo Eppendorf estéreis contendo 0,9 mL de SFE e foram realizadas diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} UFC/mL. Em seguida, foi feito o plaqueamento de cada diluição espalhando 0,1 mL na superfície de placas de ágar nutritivo com uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas. Posteriormente, foi realizada a contagem das placas que haviam entre 30 a 300 colônias isoladas para determinar a quantidade de UFC/mL.

Para a determinação da concentração inicial do inóculo foram necessários a transferência de 0,1 mL da solução de inóculo ajustado para um microtubo tipo Eppendorf contendo 0,9 mL de SFE 0,9% e posterior realização de diluições seriadas até 10^{-6}. Foram realizados o plaqueamento das diluições em ágar nutritivo utilizando 0,1 mL e espalhando na superfície do ágar com uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 35°C por 24 ‘horas e, em seguida foi feita a contagem na placa que havia entre 30 a 300 colônias isoladas para determinação do número de UFC/mL.

Esquema 1 - Etapas de padronização e plaqueamento do inóculo.



Esquema 2 – Etapa de adição do inóculo nas amostras e plaqueamento



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

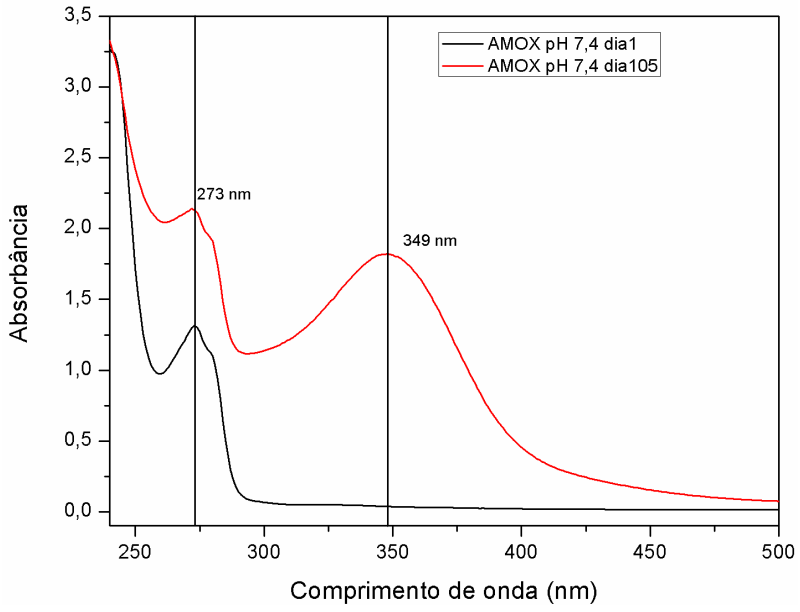
5.1 ESTABILIDADE DA AMOXICILINA (AMOX) E IBUPROFENO (IBU) EM MEIOS TAMPONADOS

Foram realizados ensaios de estabilidade da amoxicilina e do ibuprofeno em soluções aquosas e em meios sólidos, a fim de se identificar as melhores condições de síntese para a preparação dos sólidos inorgânicos contendo os fármacos. Em meio aquoso, foram testadas a estabilidade dos fármacos em tampões com pH 2,2; 7,4 e 8,5 e na presença / ausência de aquecimento. No estado sólido, foram testadas a estabilidade da mistura física de fármacos e misturas físicas de AMOX, IBU com os sólidos derivados de Mg/Fe sintetizados em diferentes condições. Os resultados obtidos foram decisivos para a metodologia de síntese empregada.

5.1.1 Estudo de estabilidade de amoxicilina (AMOX) e ibuprofeno (IBU) em soluções tampão fosfato (pH = 2,2; 7,4 e 8,5)

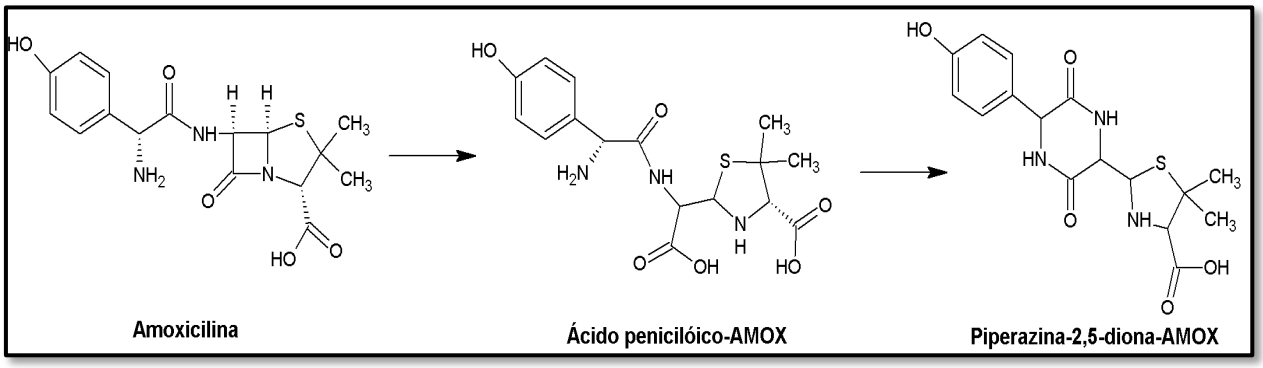
A estabilidade da AMOX e do IBU foram estudadas em três diferentes meios a temperatura ambiente, utilizando espectroscopia eletrônica na região do UV-vis. Nos espectros da AMOX, foram detectadas bandas no comprimento de onda de 273 nm e 350 nm (Figura 7), a banda próxima a 350 nm é atribuída a um produto de degradação da amoxicilina, conhecido como piperazina-2,5-diona-AMOX (SOFOKLEOUS; STRIDE; EDIRISINGHE, 2013).

Figura 7 – Regiões analisadas nos espectros eletrônicos no UV-vis da AMOX ao longo dos 105 dias.



Nagele identificou e confirmou os produtos de degradação da amoxicilina obtida sob condições de estresse. Essa elucidação foi realizada utilizando cromatrografia líquida e espectrometria de massas. A via de degradação proposta para a AMOX em meio aquoso é iniciada pela hidrólise do anel β-lactâmico de quatro membros, formando o intermediário ácido penicilóico amoxicílico que contém um grupo de ácido carboxílico extra. Em seguida, forma-se a piperazina-2,5-diona-AMOX, um composto com anel de seis membros estável (NÄGELE; MORITZ, 2005). Os compostos formados estão apresentados na Figura 8.

Figura 8 – Via de degradação da amoxicilina em meio aquoso.



Fonte: (Adaptado de LAMM et al., 2009).

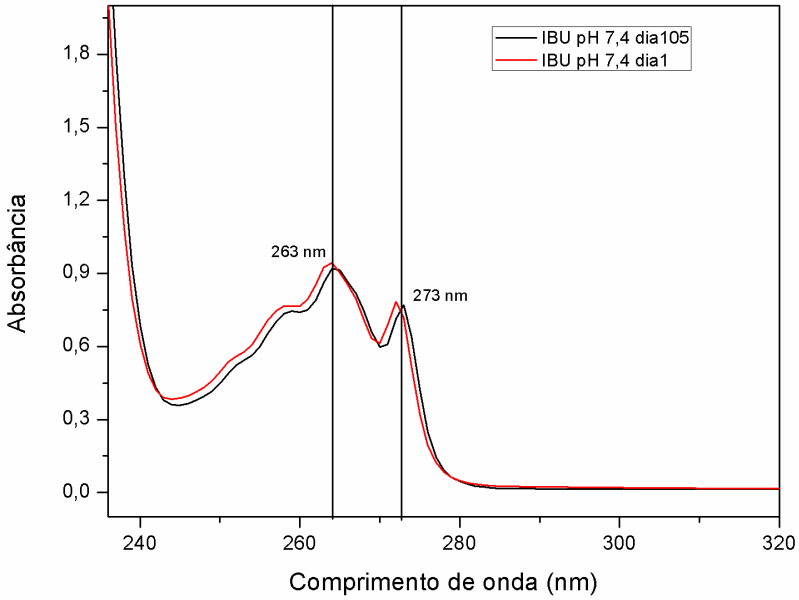
A partir dos valores de absorbância obtidos para a AMOX e representados no Quadro 3 é possível observar que em pH 2,2 após 4 dias a taxa de concentração da banda em 273 e em 350 nm aumentam de maneira considerável. Em pH 7,4 esse brusco aumento é observado apenas após 15 dias. Em pH 8,5 é observado um aumento significativo das bandas apenas após 8 dias. Esses resultados sugerem que a AMOX apresenta maior taxa de degradação em pHs muito baixos ou muito altos, encontrando-se relativamente estáveis em pHs próximos a 7,0. Conforme a taxa de degradação da AMOX aumentava, as soluções ficavam fortemente amareladas ao longo dos dias.

Esses resultados foram confirmados por Binson et al. que realizou um estudo abrangente sobre a estabilidade química da amoxicilina em altas doses para a administração intravenosa. Os resultados obtidos são semelhantes aos aqui apresentados. BINSON et al. prepararam diversas soluções de amoxicilina em diferentes concentrações que foram armazenadas em diferentes condições, a fim de investigar a influência da concentração e da temperatura na estabilidade química da amoxicilina. A estabilidade foi avaliada utilizando HPLC-UV e os produtos de degradação foram determinados por espectrometria de massa. Esses resultados confirmam que a degradação da amoxicilina é dependente do tempo, da temperatura e da concentração, o que resulta em estabilidade a curto prazo. Foram identificados quatro produtos de degradação, entre eles ácido

amoxiciólico e a dicetopiperazina que podem causar alergias e acumulação em pacientes (BINSON et al., 2019).

Os espectros de UV do IBU nos diferentes pH não apresentaram diferenças significativas das absorbâncias ao longo dos dias, sendo detectadas bandas em 263 e 273 nm (Figura 9) para os pHs de 7,4 e 8,5. No pH de 2,2 foi identificada uma banda próxima a 220 nm e baixos valores de absorbância nesse pH, o que demostra uma baixa solubilidade do IBU em pH baixos. Os espectros de estabilidade da AMOX e IBU em diferentes pH encontram-se nos ANEXOS B, C, D, E, F e G.

Figura 9 – Regiões analisadas nos espectros eletrônicos no UV-vis do IBU ao longo dos 105 dias.



Quadro 3 – Absorbâncias da AMOX e IBU em diferentes pH por 105 dias.

Fármaco	**AMOX / tampão fosfato**						**IBU / tampão fosfato**					
pH	**2,2**		**7,4**		**8,5**		**2,2**		**7,4**		**8,5**	
λ(nm) / **Dia**	**273**	**>300**	**273**	**>300**	**273**	**>300**	**263**	**273**	**263**	**273**	**263**	**273**
1	1,20	-	1,32	-	1,40	-	0,10	-	0,92	0,77	0,91	0,76
2	1,21	-	1,35	-	1,42	-	0,08	1,28	0,91	0,76	0,91	0,76
3	1,23	0,07	1,37	0,11	1,43	0,06	0,09	1,35	0,96	0,79	0,92	0,76
4	1,24	0,11	1,40	0,14	1,43	0,07	0,09	1,30	0,99	0,83	0,92	0,77
8	1,39	0,66	1,48	0,24	1,50	0,21	0,09	1,38	0,94	0,79	0,92	0,77
15	1,77	2,43	1,58	0,42	1,59	0,51	0,09	1,35	0,93	0,78	0,96	0,80
45	2,74	2,06*	1,78	0,98	1,87	1,68	0,07	1,43	0,94	0,77	0,93	0,77
105	2,71	2,48*	2,14	2,14	2,21	2,56	0,11	1,18	0,94	0,78	0,94	0,78

*Para a leitura das amostras no UV-vis foram realizadas diluições 1:2 no dia 44 e 104 em pH 2,2.

O estudo da estabilidade térmica dos fármacos (60°C) foram realizados para os fármacos individualmente (AMOX e IBU) e avaliados em até 68 horas. Pode-se observar (Quadro 4) que a AMOX apresentou uma alta taxa de degradação após 24 horas em aquecimento. O IBU manteve-se estável durante todo o período de avaliado, variando pouco a banda em 263 nm. Esses resultados convergem para a ausência de aquecimento durante a combinação dos fármacos, uma vez que ela favorecia para a aceleração do processo de degradação química da amoxicilina. Os espectros da estabilidade dos fármacos a 60°C encontram-se no ANEXO H e I.

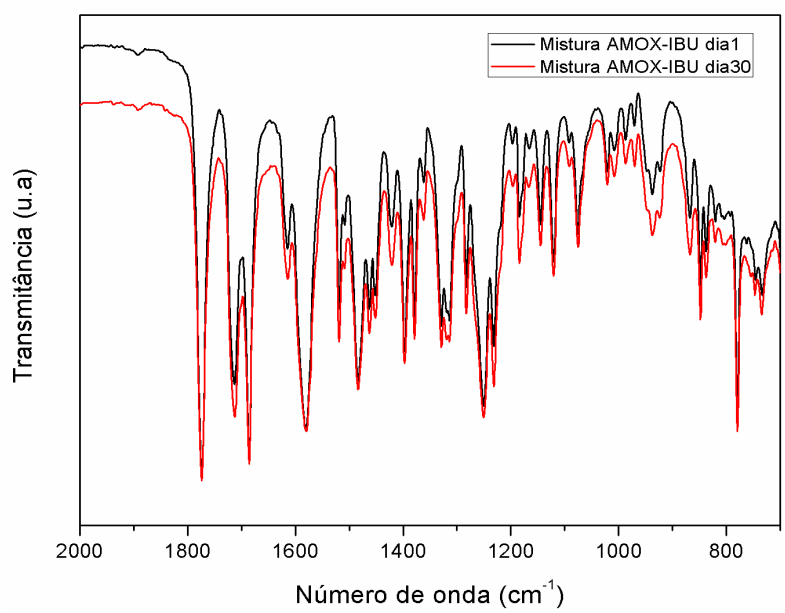
Quadro 4 – Absorbâncias da AMOX e IBU após 68 horas em pH 7,4 a 60°C.

Fármacos	**AMOX / tampão fosfato pH 7,4**				**IBU / tampão fosfato pH 7,4**			
λ(nm)	**Tempo (h)**							
	18	**24**	**44**	**68**	**18**	**24**	**44**	**68**
263	-	-	-	-	0,49	0,52	0,51	0,59
273	0,99	1,12	1,86	2,42	0,41	0,44	0,42	0,49
345	0,45	0,77	2,06	2,56	-	-	-	-

5.2 ESTUDOS PRELIMINARES DE ESTABILIDADE DA MISTURA DE FÁRMACOS E MISTURAS FÍSICAS DE FÁRMACOS COM OS SÓLIDOS INORGÂNICOS

A estabilidade da mistura fármaco-fármaco foi monitorada por espectroscopia vibracional na região do infravermelho após o primeiro e trigésimo dia do preparo da mistura, conforme mostrado na Figura 10. Observa-se que não houve alterações espectroscópicas significativas de bandas nos espectros ao longo dos dias analisados. Esses resultados demonstram que a AMOX e o IBU são compatíveis e não reativos entre si nas condições empregadas, uma vez que a formação de novos produtos a partir das misturas dos dois princípios ativos não seria interessante.

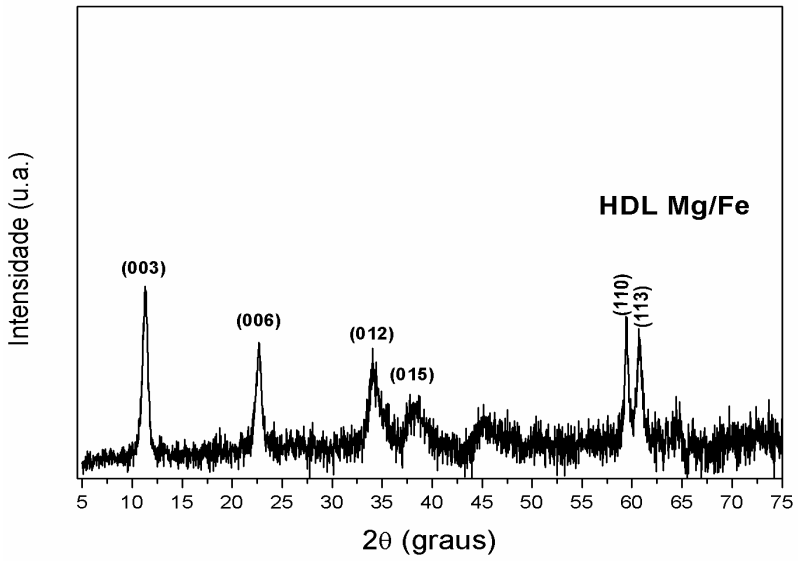
Figura 10 – Espectros vibracionais na região do IV da mistura de AMOX e IBU 1:1 (m/m).



Paralelamente aos ensaios de estabilidade dos fármacos realizados conforme os itens citados acima, foram preparados sólidos derivados de Mg/Fe em diferentes pH (7,4 e 9,0) e temperaturas (ambiente e a 75 °C) por coprecipitação. Foram realizadas misturas físicas dos compostos com os fármacos (AMOX e IBU) para avaliar a reatividade em meio sólido das matrizes inorgânica com os fármacos.

O difratograma de raios X mostrado na Figura 11 indicam para a formação do HDL Mg/Fe nas condições de síntese de pH 9,0 a 75°C, apresentando perfis semelhantes aos de matrizes lamelares. A presença de reflexões basais em ângulos baixos, como (003), (006), (012) e (015) e ângulos altos (110) e (113) são típicas de hidróxidos duplos lamelares.

Figura 11 – Difratograma de raios X do HDL Mg/Fe (pH 9,0/75°C).

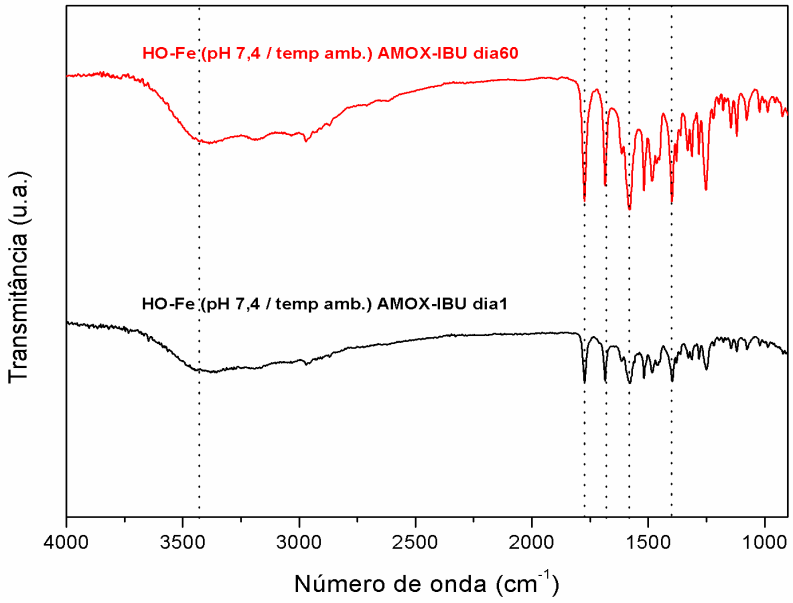


Diferentemente dos resultados de difração obtidos para o HDL citado acima, o sólido derivado de Mg/Fe nas condições de síntese de pH 7,4 a temperatura ambiente não apresentou perfil de difração concordante com a formação do HDL. Quando comparado com padrões de banco de dados foi possível atribuir que o composto formado apresenta picos de referências semelhantes ao de hidróxidos e óxidos de ferro, sendo denominado de hidr(óxido) de ferro (HO-Fe).

Os resultados de espectroscopia vibracional na região do IV obtidos após 60 dias mostram que a mistura realizada com o HO-Fe e os fármacos nas condições de síntese de pH 7,4 e a temperatura ambiente (Figura 12) não apresentou influência na decomposição dos fármacos, o que confirma a compatibilidade da matriz / fármacos nessas condições. Já o HDL Mg/Fe sintetizado a pH 9 e a 75 °C (Figura 13) apresentou modificação das bandas de infravermelho dos fármacos, após 60 dias. Esses resultados confirmam que em pH mais altos e na presença de temperatura os fármacos tendem a sofrer modificações.

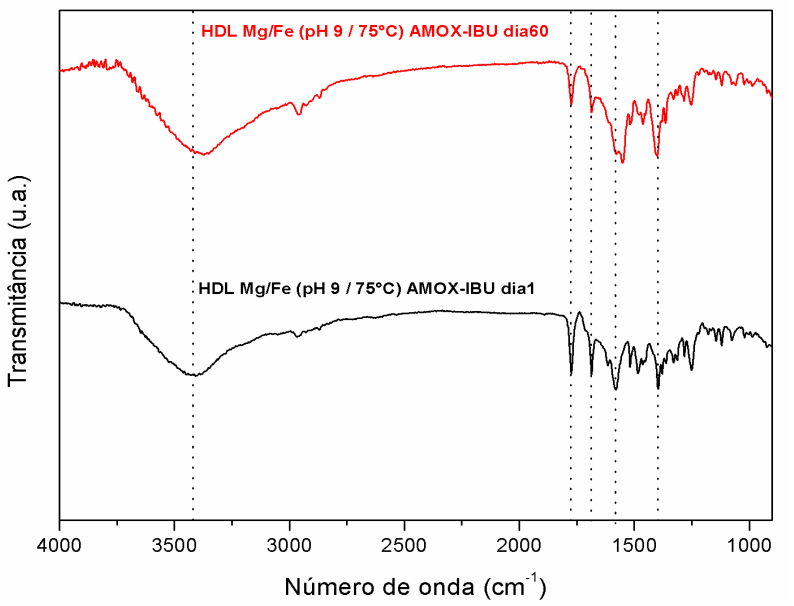
Os valores de bandas da mistura HO-Fe (pH 7,4 / temperatura ambiente) AMOX-IBU da mistura inicial e após 60 dias, mantiveram-se constantes (Quadro 5). Foram observadas a presença de bandas largas referente ao estiramento de O-H em 3385 e 3386 cm^{-1}, no dia inicial e após 60 dias, respectivamente. As bandas referentes aos fármacos foram observadas, principalmente na região próxima a 1773 cm^{-1} (banda forte, referente ao estiramento C=O do anel β-lactâmico da AMOX), ~1685 cm^{-1} (estiramento C=O da amida da AMOX) e as duas bandas próximas a 1400 e 1578 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento simétrico e assimétrico de COO^-, respectivamente, tanto da AMOX quanto do IBU.

Figura 12 – Espectros vibracionais na região do IV da mistura física HO-Fe (pH 7,4 / temperatura ambiente) AMOX-IBU após 1 e 60 dias.



Nos espectros da mistura de HDL Mg/Fe AMOX-IBU (pH 9 / 75°C) após 1 e 60 dias é possível observar diferenças espectrais nas regiões referentes ao estiramento O-H das lamelas de HDL, sendo detectada essa banda em 3409 cm^{-1} no primeiro dia e em 3372 cm^{-1} após 60 dias. Também ocorreram o surgimento de novas bandas e o desaparecimento de outras. A banda em 1580 cm^{-1} atribuída ao estiramento assimétrico de COO^- foi deslocada para 1551 cm^{-1} após 60 dias.

Figura 13 – Espectros vibracionais na região do IV da mistura física HDL Mg/Fe (pH 9 / 75°C) AMOX-IBU após 1 e 60 dias.



Quadro 5 – Principais bandas no infravermelho das misturas físicas do HO-Fe AMOX-IBU e HDL Mg/Fe AMOX-IBU após 1 e 60 dias.

Atribuições	**υ * (cm^{-1})**			
	HO-Fe AMOX-IBU (pH 7,4 / temp amb.)		**HDL Mg/Fe AMOX-IBU (pH 9 / 75°C)**	
	Dia1	**Dia60**	**Dia1**	**Dia60**
υ(O-H)	3385	3386	3409	3372
υ(C=O) anel β-lactâmico	1773	1774	1774	1774
υ(C=O)amida	1685	1685	1686	1685
$\upsilon(COO^-_{sim.})$**	1397	1398	1399	1400
$\upsilon(COO^-_{assim.})$***	1578	1579	1580	1551

*v: estiramento; **$\nu(COO^-_{sim})$: estiramento simétrico do grupamento COO^-; ***$\nu(COO^-_{assim})$: estiramento assimétrico do grupamento COO^-.

Os resultados obtidos por UV-vis também confirmam essa instabilidade nas condições citadas, pois não foi observado o surgimento da banda em 350 nm na mistura

com o HO-Fe sintetizado em pH 7,4 a temperatura ambiente (Figura 14). Enquanto na mistura de HDL Mg/Fe sintetizados a pH 9 a 75°C (Figura 15) houve um aumento na concentração inicial dos fármacos devido o surgimento da banda de degradação próxima a 350 nm. A presença dessa banda confirma que a degradação da amoxicilina no estado sólido leva a formação da piperazina-2,5-diona-AMOX, revelando a suscetibilidade de degradação dos fármacos em matrizes sintetizadas em pH mais altos e na presença de temperatura. As demais misturas (compostos de Mg/Fe pH 7,4 / 75°C e Mg/Fe pH 9 / temperatura ambiente com fármacos) também apresentaram diferenças espectroscópicas.

Figura 14 – Espectros eletrônicos na região do UV-vis da mistura HO-Fe (pH 7,4 / temperatura ambiente) AMOX-IBU em tampão fosfato pH 7,4 após 1 e 60 dias.

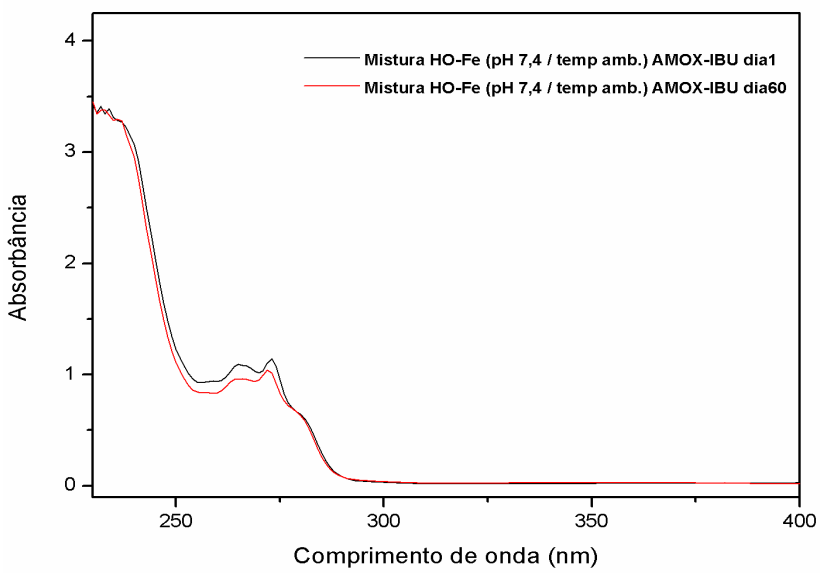
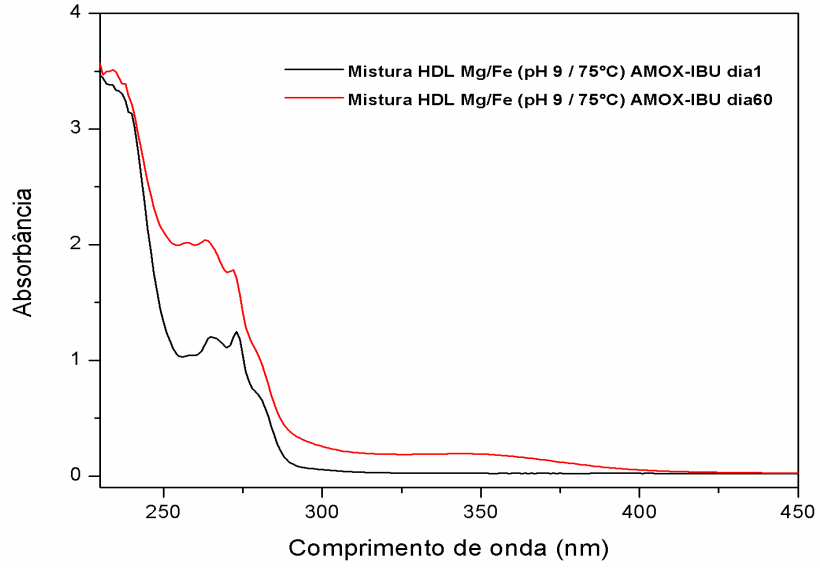


Figura 15 – Espectros eletrônicos na região do UV-vis da mistura HDL Mg/Fe (pH 9 / 75°C) AMOX-IBU em tampão fosfato pH 7,4 após 1 e 60 dias.



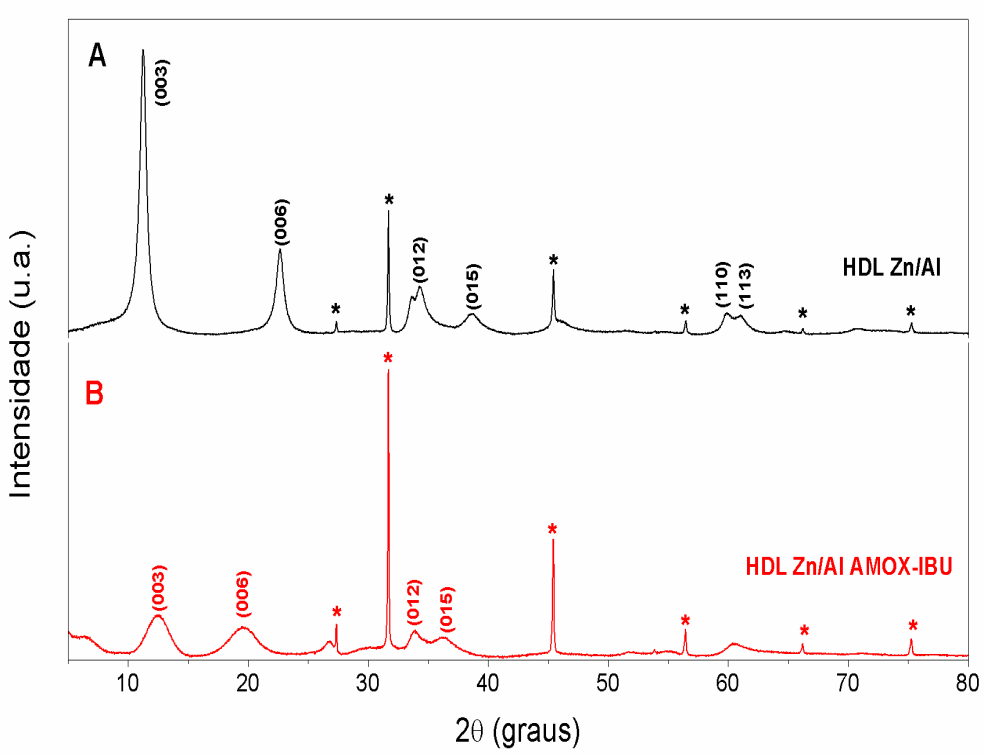
5.3 SÓLIDOS INORGÂNICOS PREPARADOS PELO MÉTODO DE COPRECIPITAÇÃO EM pH 7,4 a TEMPERATURA AMBIENTE

A partir dos resultados obtidos do estudo de estabilidade da AMOX e IBU em meios aquosos e sólidos, foi possível definir a metodologia de síntese dos HDLs e híbridos pelo método de coprecipitação nas condições em que apresentaram maior estabilidade (pH 7,4 e à temperatura ambiente).

Os difratogramas de raios X dos HDL Zn/Al e Zn/Al AMOX-IBU são representados na Figura 16. Os resultados obtidos evidenciam a formação de composto lamelar para o HDL Zn/Al, devido aos padrões de difração correspondentes aos compostos lamelares, como por exemplo, as distâncias interplanares (REBITSKI et al., 2019). O difratograma do HDL Zn/Al apresentou duas reflexões basais nítidas em ângulos baixos que foram indexados (003) e (006) e dois picos de difração bem separados (110) e (113) e0m ângulos mais altos. A estrutura lamelar pode ser caracterizada como cristalina, evidenciada pela presença de picos intensos e finos (WANG et al., 2009a). O difratograma do HDL Zn/Al AMOX-IBU apresentou ângulos de difração próximos do HDL Zn/Al, porém com uma estrutura amorfizada. Essa amorfização indica a presença dos fármacos na estrutura do HDL. Foi observado um discreto deslocamento do pico (003) para ângulos de difração mais altos, o que sugere uma desorganização da matriz lamelar.

Também foram identificados a presença de sinais referentes a fase halita – cloreto de sódio (NaCl) nos difratogramas analisados, sendo identificados com (*). Essa contaminação com cloreto de sódio é ocasionada pela formação do sal durante o processo de síntese dos HDL, a lavagem excessiva e a utilização de outra base para precipitar os sólidos são maneiras eficazes de eliminar essa impureza, contudo, a depender da quantidade de água utilizada na etapa de lavagem os fármacos podem ser retirados das matrizes lamelares.

Figura 16 – Difratogramas de raios X do HDL Zn/Al (A) e HDL Zn/Al AMOX-IBU (B).



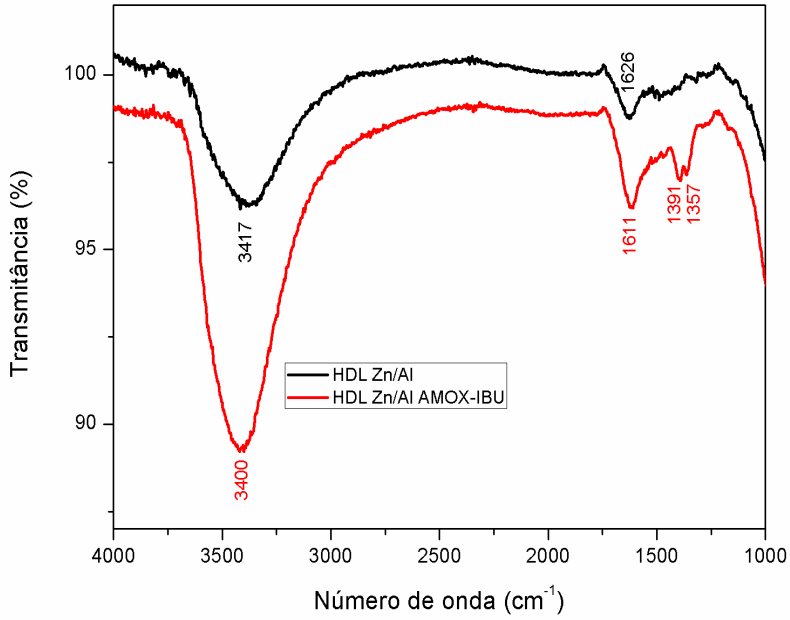
Os difratogramas do HDL Mg/Al e Mg/Al AMOX-IBU representados no ANEXO J apresentam baixa cristalinidade, sendo observado apenas uma reflexão do plano basal (003) com predominância de picos da fase halita. Esses resultados demonstram uma baixa reatividade do metal magnésio para a formação do HDL e uma alta contaminação do material com NaCl, o que pode ter prejudicado no aparecimento dos sinais referentes aos HDL.

Como mencionado no item 5.2, não foi identificada através dos difratogramas a formação de hidróxidos duplos lamelares nos compostos derivados de Mg/Fe nas condições de síntese empregada. Um dos fatores que podem estar relacionados com a não formação do material lamelar é o pH, pois o pH pode não ter sido suficiente para precipitá-lo como HDL, ocorrendo a formação de óxidos de ferro que são mais estáveis. Os difratogramas do HO-Fe e HO-Fe-AMOX-IBU encontram-se disponíveis no ANEXO K.

Os HDL e híbridos foram submetidos a análise por espectroscopia vibracional na região do Infravermelho. A partir dos espectros do HDL Zn/Al e HDL Zn/Al-AMOX-IBU representados na Figura 17 foi possível identificar a presença de bandas largas características de estiramentos de O-H das hidroxilas presente nas lamelas dos HDL em 3417 e 3400 cm-1 para o HDL Zn/Al e HDL Zn/Al-AMOX-IBU, respectivamente. A banda fraca em torno de 1600 cm-1 para o HDL Zn/Al e seu híbrido são atribuídas a deformação de água interlamelar. As duas bandas próximas a 1391 e 1357 cm-1 no HDL Zn/Al-AMOX-

IBU podem ser atribuídas ao estiramento assimétrico e simétrico do grupamento COO- dos fármacos, respectivamente. Quando comparada com as bandas dos fármacos livre descritas na literatura (Quadro 6) é observado que no HDL essas bandas se deslocam para números de ondas mais baixo (BHARTI et al., 2018; REBITSKI et al., 2019). No híbrido as bandas referentes ao HDL também se deslocaram para números de ondas mais baixos, o que sugere uma forte interação entre os fármacos e as camadas do HDL, indicando que a estrutura de camadas do HDL não foi alterada durante o processo de intercalação.

Figura 17 – Espectros de IV do HDL Zn/Al e HDL Zn/Al AMOX-IBU.



Quadro 6 – Bandas no infravermelho do HDL Zn/Al, HDL Zn/Al-AMOX-IBU, AMOX pura e IBU puro.

Atribuições	υ * / δ** (cm^{-1})			
	HDL Zn/Al	HDL Zn/Al AMOX-IBU	Amoxicilina pura	Ibuprofeno puro
υ(O-H)	3417	3400	-	-
δ(H-O-H)	1626	1611	-	-
$\upsilon(COO^-_{sim.})$***	-	1357	1480	1421
$\upsilon(COO^-_{assim.})$****	-	1391	1517	1508

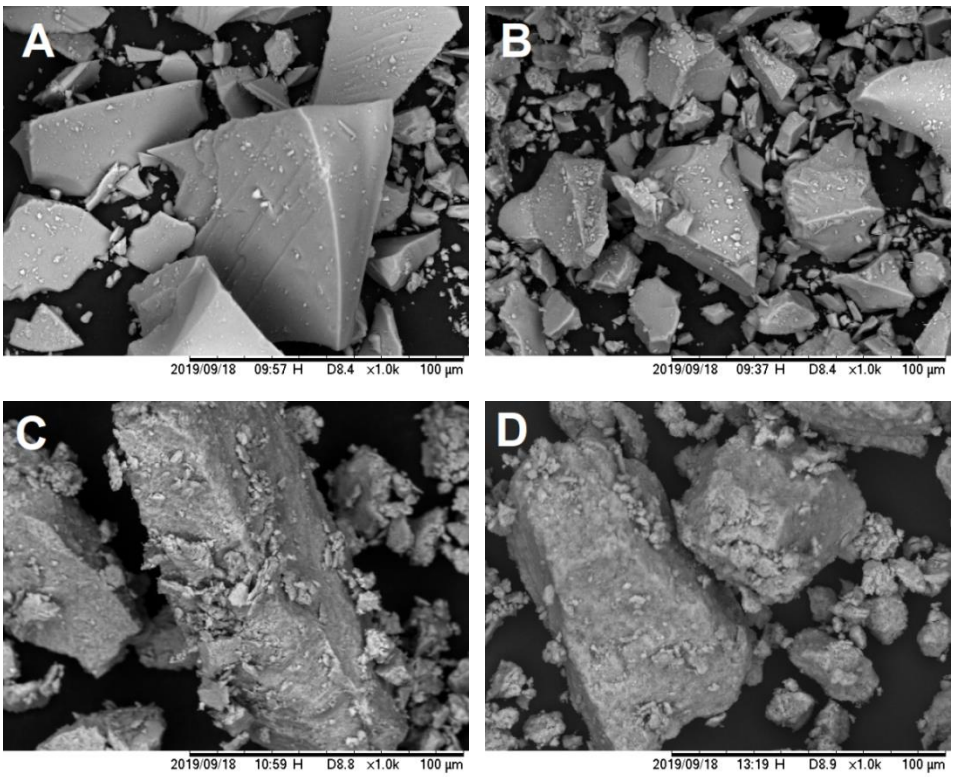
*v: estiramento; **δ: deformação angular; ***$v(COO^-_{sim})$: estiramento simétrico do grupamento COO^-; ****$v(COO^-_{assim})$: estiramento assimétrico do grupamento COO^-.

Nos espectros de IV do HO-Fe, HO-Fe AMOX-IBU, HDL Mg/Al e Mg/Al AMOX-IBU (ANEXO L e M) foram obtidos resultados análogos, porém para o HDL Mg/Al e HDL Mg/Al AMOX-IBU não foram observadas bandas referentes aos fármacos, uma vez que a

quantidade de HDL estava presente majoritariamente, podendo ter ocasionado a sobreposição das bandas dos fármacos.

As micrografias de MEV dos sólidos inorgânicos e híbridos (Figura 18) revelam a presença de aglomerados na superfície dos HDL após a coprecipitação com as fármacos. A presença dos ânions orgânicos durante a coprecipitação conduz a uma morfologia diferente da observada quando essa mesma metodologia é empregada na presença de ânions pequenos inorgânicos como carbonato e cloreto, favorecendo a formação de placas, típicas de hidróxidos duplos lamelares (WANG; ZHANG, 2012). As micrografias representadas na figura 14 indicam mudança morfológica durante a etapa de associação dos fármacos no HO-Fe e HDL Zn/Al. As demais micrografias encontram-se disponíveis no ANEXO N e O.

Figura 18 – Micrografias do HO-Fe (A), HO-Fe AMOX-IBU (B), HDL Zn/Al(C) e HDL Zn/Al AMOX-IBU (D).



Os resultados de energia dispersiva de raios X (EDS) mostram que não ocorre a formação do HDL nos compostos derivados de Mg/Fe, uma vez que a presença do ferro está presente majoritariamente nas amostras analisadas. A ausência de picos de fase halita nos difratogramas de raios X do HO-Fe são confirmados pelos dados de EDS, como demonstrado na Quadro 7, a quantidade de cloreto no HO-Fe é baixa e não é dectado a presença do metal sódio. Diferentemente para o HO-Fe-AMOX-IBU que é observado a presença de dos dois elementos. O teor de C, O e S no composto conduz para a presença de pouca quantidade de fármacos no material.

Quadro 7 – Composição elementar em massa de regiões dos compostos HO-Fe e HO-Fe-AMOX-IBU.

Elemento	% elementar em massa	
	HO-Fe	HO-Fe-AMOX-IBU
O	42,4	35,5
Fe	40,7	31,42
C	14,2	18,19
Cl	1,87	7,87
Na	-	2,68
Mg	0,07	1,83
S	-	0,27

Foram realizados ensaios de dessorção dos fármacos presentes nas matrizes de HDL para avaliar o tempo de liberação e a solubilidade dos princípios ativos. Os estudos de dessorção dos sólidos-fármacos em tampão fosfato pH 7,4 mostram um perfil de liberação rápido “burst release” dos princípios ativos (Quadro 8). Para a cinética, foi monitorada a banda presente em 273 nm, pois ela é observada nos espectros de AMOX e IBU, representando os dois fármacos. Para o HO-Fe foi observado a dessorção de mais de 80% dos princípios ativos nos primeiros 5 minutos de cinética. Os HDL Zn/Al e Mg/Al conseguiram reter os fármacos nas matrizes por mais tempo nos primeiros minutos, porém o HDL Zn/Al apresentou dessorção máxima após 60 minutos de cinética. Os HDL Mg/Fe e Mg/Al atingiram a concentração máxima dos fármacos após 180 minutos de cinética.

Quadro 8 – Porcentagem dessorvida de princípios ativos (AMOX e IBU) das matrizes em tampão fosfato pH 7,4.

% dessorvida em 273 nm			
Tempo (min)	**HDL Mg/Fe AMOX-IBU**	**HDL Mg/Al AMOX-IBU**	**HDL Zn/Al AMOX-IBU**
5	84	50	53
15	88	55	60
30	88	72	60
60	92	88	100
120	92	88	-
180	100	100	-

As quantificacões de fármacos nos compostos foram realizadas através de extrações com solvente. Foram realizados testes preliminares com diversos solventes para avaliar o melhor solvente que solubilizasse apenas o ibuprofeno. Inicialmente foi extraído o IBU com diclorometano (fase orgânica), através de lavagens do sobrenadante resultante da cinética realizada anteriormente, essa lavagem ocorreu até a extinção total da absorbância

da banda em 263 nm. Após, pressupondo que havia apenas AMOX no sobrenadante final (fase aquosa), realizou-se as leituras de todas as fases por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis (Quadro 9) e a partir da curva padrão de cada fármaco (ANEXO P e Q) determinou-se a concentração dos fármacos na solução tampão e a porcentagem carreada de cada fármaco nos HDL (Quadro 8).

Quadro 9 – Absorbâncias das fases aquosas e orgânicas após cada extração.

Fase aquosa	**λ = 273 nm**			**Fase orgânica**	**λ = 263 nm**		
	HO-Fe AMOX-IBU	**HDL Zn/Al AMOX-IBU**	**HDL Mg/Al AMOX-IBU**		**HO-Fe AMOX-IBU**	**HDL Zn/Al AMOX-IBU**	**HDL Mg/Al AMOX-IBU**
1	0,33	0,24	0,21	**1**	0,15	-	0,07
2	0,28	0,24	0,17	**2**	0,08	-	0,07
3	0,27	0,22	0,15	**3**	0,05	0,10	0,03
4	0,27	0,21	0,14	**4**	0,04	0,07	0,04
5	0,26	0,20	0,12	**5**	0,04	0,05	0,03

Para a coprecipitação dos fármacos foram utilizados 10% em massa de cada fármaco baseado na síntese do HDL sem o fármaco. Porém, a quantidade encapsulada poderia ser menor ou exceder esse valor, pois a depender da quantidade formada de HDL e da interação dos fármacos com cada matriz essa quantidade poderia sofrer alterações. As absorbâncias utilizadas para determinação das concentrações em cada equação da reta foram baseadas na absorbância final da fase aquosa (AMOX) e o somatório das absorbâncias de cada extração da fase orgânica (IBU). Para determinar a porcentagem de carreamento de cada fármaco nas matrizes, foram consideradas as massas dos HDL-fármacos e os volumes dos tampões utilizados nas cinéticas. Os valores encontrados encontram-se no Quadro 10.

Quadro 10 – Porcentagem carreada de fármacos nas matrizes de HO-Fe, HDL Zn/Al e HDL Mg/Al.

	HO-Fe		**HDL Zn/Al**		**HDL Mg/Al**	
Fármacos	AMOX	IBU	AMOX	IBU	AMOX	IBU
Absorbância	0,26	0,36	0,20	0,22	0,12	0,24
Concentração (mg mL^{-1})	0,09	0,15	0,07	0,05	0,04	0,06
% carreada	9,39	14,78	7,12	4,64	4,09	6,09

O HO-Fe e HDL Zn/Al apresentaram um maior teor de carreamento dos fármacos em relação ao HDL Mg/Al, o que já havia sido comprovado por outras caracterizações realizadas. Os resultados obtidos demostram a não reprodutibilidade na série de HDL sintetizados, o que demonstra a falta de uniformidade de dosagem. Esses resultados mostram que a metodologia aplicada não é eficiente para o carreamento dos princípios ativos, sendo necessária a mudança na metodologia de incorporação dos fármacos nas matrizes lamelares.

5.4 SÓLIDOS INORGÂNICOS SINTETIZADOS PELO MÉTODO DE COPRECIPITAÇÃO EM pH 7,4 / 75°C E DISPERSÕES SÓLIDAS (DS)

Devido às limitações do método de síntese proposto anteriormente, foi estabelecida uma nova metodologia de síntese que não contribuísse para a degradação dos fármacos. O objetivo dessa nova metodologia é aumentar a cristalinidade dos compostos, obter um teor de carreamento dos fármacos homogêneo e eliminar impurezas de cloreto de sódio. Para isso, foram preparados os sólidos inorgânicos derivados de Zn/Al, Mg/Al e Mg/Fe em condições de pH 7,4 / 75°C.

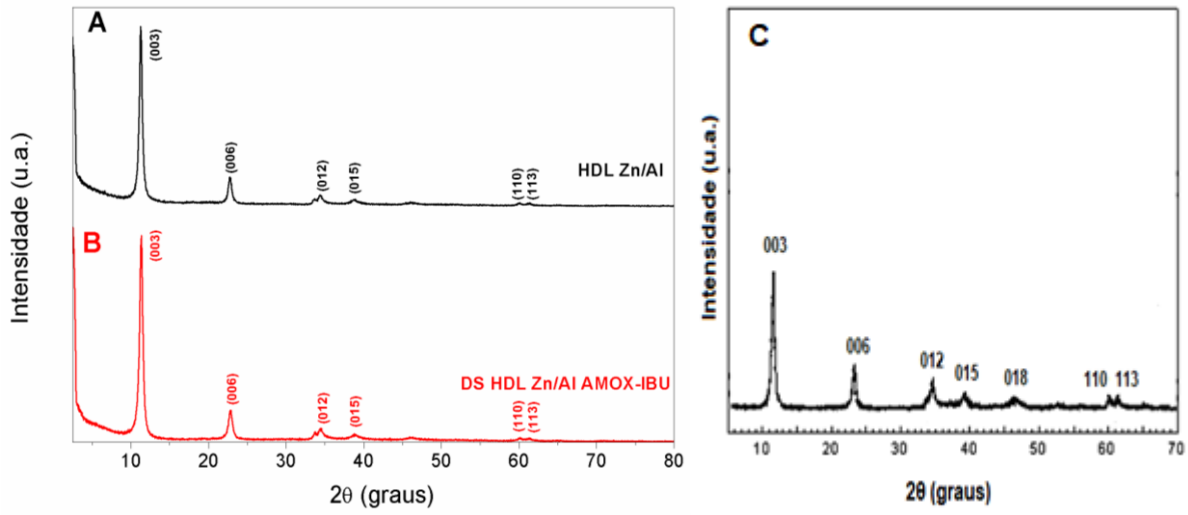
Apesar dos estudos preliminares apontarem que essa temperatura pode ajudar na degradação da amoxicilina, ela foi utilizada para aumentar a cristalinidade na etapa da coprecipitação inicial, sem a presença dos fármacos. Os compostos foram lavados excessivamente com água para a completa eliminação do cloreto, essa etapa foi possível uma vez que ainda não havia a presença dos fármacos. Após a obtenção dos sólidos por coprecipitação, os compostos foram mantidos por três dias em aquecimento na presença de etanol. Essa etapa teve a finalidade de aumentar a área superficial dos compostos, facilitando a entrada dos fármacos. Em seguida, foram preparadas as dipersões sólidas (DS) pela adição de 20% m/m (massas fármacos/massa sólido inorgânico) nessa solução a temperatura ambiente.

A identificação dos picos dos difratogramas que serão apresentados foram acrescentados conforme buscas de trabalhos descritos na literatura e em comparação com padrões de raios X do banco de dados Power Diffraction File (ICDD-PDF), utilizando o software Crystallographica Search-Match.

O difratograma de raios X do HDL Zn/Al e DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU evidenciam a formação da matriz lamelar (Figura 19) antes e após o processo de dispersão com os fármacos. A presença de picos finos e intensos demostram que o material apresenta um alto grau de cristalinidade. O perfil de difração observado é semelhante aos encontrados na literatura (THOMAS et al., 2006). Os picos intensos e simétricos localizados em valores de 2θ de 11,2°, 22,8°, são referentes, respectivamente, aos planos (003), (006) da estrutura do HDL Zn/Al. As difrações de DRX de baixa intensidade foram identificadas em valores de 2θ

de 34,4°, 38,7°, 60° e 61,4° são atribuídas aos planos (012), (015), (110) e (113). Os padrões de difração do HDL Zn/Al-AMOX-IBU apresentam semelhanças com o padrões e intensidades do HDL Zn/Al puro, indicando que os fármacos podem estar na superfície da matriz lamelar e não intercalado.

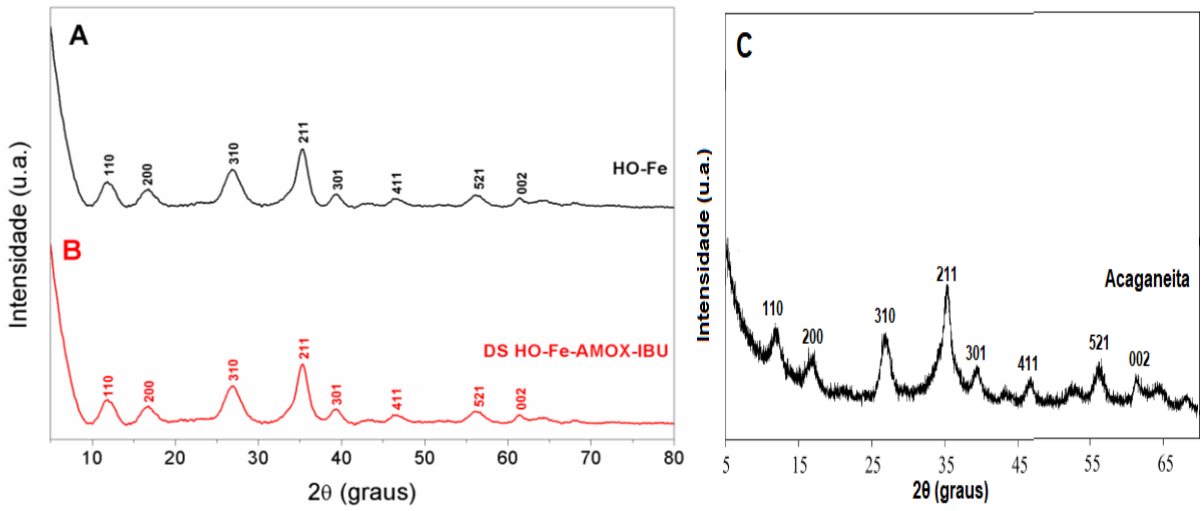
Figura 19 – Difratogramas de raios X do HDL Zn/Al (A), DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU (B) e HDL Zn/Al da literatura (C).



Os difratogramas de raios X do HDL Mg/Al e DS HDL Mg/Al-AMOX-IBU, apresentado no ANEXO R demonstram que o material apresenta baixa cristalinidade em comparação com o HDL Zn/Al. É possível definir o material como lamelar devido as repetições dos picos basais (003) e (006), porém pode não ter ocorrido a formação completa do HDL devido a ausência de outros picos característicos. Essa má formação do composto pode estar relacionada com o pH de síntese de coprecipitação.

Os dados obtidos pela difratometria de raios X dos compostos sintetizados com Mg/Fe (Figura 20) indicam que não houve a formação do HDL, pois não foram identificados picos que comprovassem a formação de material lamelar. Os resultados de DRX mostram que há um perfil semelhante com o do mineral acaganeita (β-FeOOH) encontrado na literatura e os picos também são compatíveis com o padrão de referência da acaganeita no banco de dados (CHITRAKAR et al., 2006). Por se tratar de um hidr(óxido) de ferro os compostos foram nomeados como HO-Fe e HO-Fe-AMOX-IBU.

Figura 20 – Difratogramas de raios X do HO-Fe (A), DS HO-Fe-AMOX-IBU (B) e acaganeita (C).



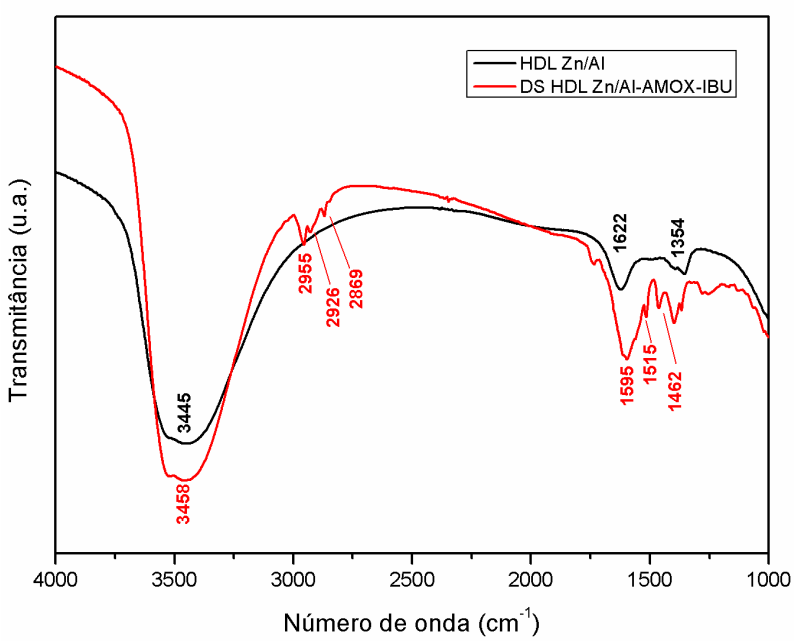
Concomitantemente aos dados de difração de raios X, os resultados de espectroscopia de infravermelho do HDL Zn/Al e DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU sugerem a confirmação da formação da matriz de HDL e a presença dos fármacos em sua estrutura.

O espectro de IV do HDL Zn/Al e DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU é apresentado na Figura 21. Em ambos os espectros é possível identificar a presença da banda larga e intensa referente ao estiramento do grupamento OH das hidroxilas das lamelas de HDL, em torno de 3445 cm^{-1} para o HDL Zn/Al e 3458 cm^{-1} para a DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU. A banda fraca em torno de 1600 cm^{-1} apresentadas nos dois espectros são atribuídas ao modo de deformação angular de moléculas de água presentes no domínio interlamelar dos HDL. No espectro do HDL Zn/Al ainda é observada uma banda fraca de baixa intensidade em 1354 cm^{-1} que é atribuída ao estiramento do íon carbonato que pode ter se formado devido à absorção de gás atmosférico de CO_2, uma vez que essa molécula é lábil e consegue estabilizar as lamelas de HDL.

No espectro da DS de HDL Zn/Al AMOX-IBU (Figura 21) são apresentadas bandas que confirmam a presença dos fármacos no HDL Zn/Al. São observadas duas bandas fracas (2955 e 2869 cm^{-1}) que são características de estiramento assimétrico e simétrico de CH_3 presente na estrutura do ibuprofeno, respectivamente. A banda fraca em 2926 cm^{-1} é característica de estiramento assimétrico de CH_2 do anel aromático do ibuprofeno. As bandas em 1515 e em 1642 cm^{-1} são referentes ao estiramento simétrico e assimétrico do grupo COO- dos fármacos.

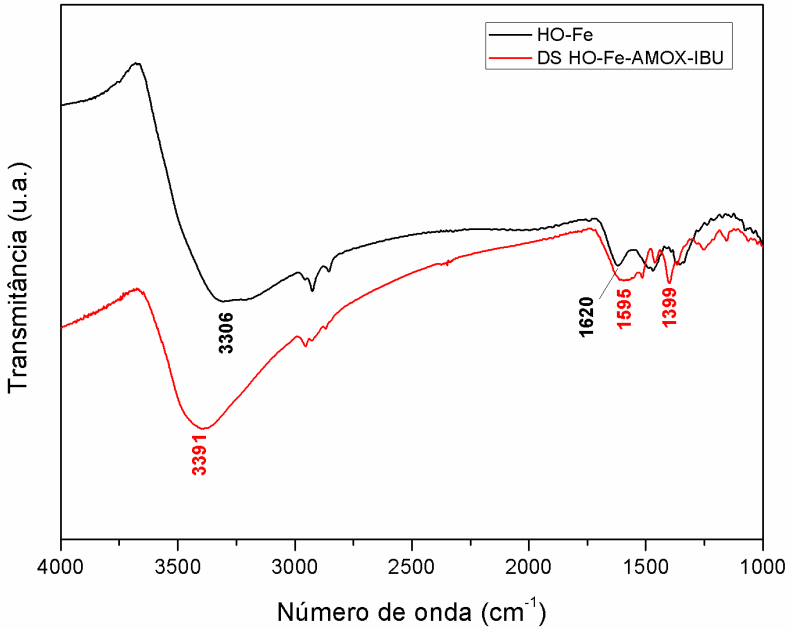
Os espectros de IV do HDL Mg/Al e DS HDL Mg/Al AMOX-IBU apresentaram bandas de estiramentos próximas as observadas para o HDL Zn/Al e DS HDL Mg/Al AMOX-IBU, comprovando a presença da estrutura lamelar nos compostos sintetizados. Os espectros encontram-se disponíveis no ANEXO S.

Figura 21 – Espectros vibracionais na região do IV do HDL Zn/Al e DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU.



Os espectros de IV de HO-Fe e DS HO-Fe-AMOX-IBU mostrados na Figura 22 apresentam bandas características semelhantes aos HDL, portanto, não seria possível identificar a formação do hidr(óxido) sem a difração de raios X. A banda larga e intensa presente em 3306 cm-1 é atribuída ao estiramento da ligação OH. A banda fraca presente em 1620 cm-1 é característica da vibração de flexão de moléculas de água adsorvida, conforme trabalhados já citados (FU et al., 2020). A banda referente ao estiramento OH é encontrada no composto contendo os fármacos em 3391 cm-1.

Figura 22 – Espectros vibracionais na região do IV do HO-Fe e HO-Fe-AMOX-IBU.



A liberação dos fármacos foram monitoradas por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis nos primeiros dias após a síntese das dispersões e após 110 dias. Os estudos de cinética apresentaram curvas de concentração em função do tempo com comportamento semelhante para os três compostos sintetizados. A liberação dos fármacos ocorreu de forma simultânea, sendo liberado mais de 70% dos princípios ativos após 5 minutos para o HDL Zn/Al e HO-Fe. O HDL Mg/Al conseguiu reter os fármacos por um pouco mais de tempo, atingindo liberação maior que 70% após 10 minutos. Todos os compostos atingiram sua concentração máxima após 30 minutos em contato com o meio tamponado.

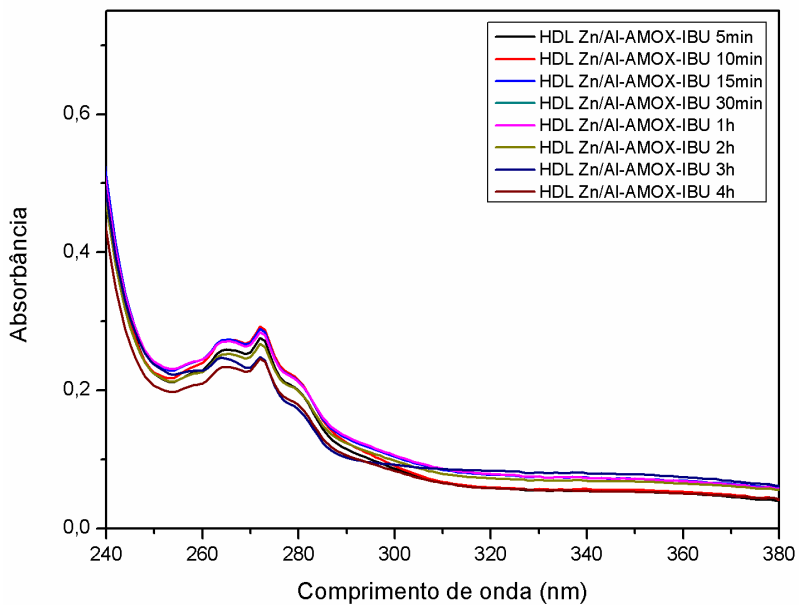
A cinética de liberação apresentou um perfil de liberação rápida dos fármacos “burst release”, conforme observado no Quadro 11. Este fato pode ser um indicativo de que os fármacos estejam na superfície dos sólidos inorgânicos e por isso a liberação ocorreu de maneira imediata na solução. Essa liberação imediata é considerada como vantajosa em tratamentos que buscam uma ação terapêutica rápida, como alívio de dor imediata.

Quadro 11 – Porcentagem dessorvida de princípios ativos (AMOX e IBU) das matrizes em tampão fosfato pH 7,4.

% dessorvida em 273 nm			
Tempo (min)	**HDL Zn/Al AMOX-IBU**	**HDL Mg/Al AMOX-IBU**	**HO-Fe AMOX-IBU**
5	78,2	45,8	80
15	86,9	54,1	85
30	91,3	91,6	95
60	100	100	100

A partir da Figura 23 é possível observar que após 110 dias não foi detectada a banda de absorção em 350 nm referente ao produto de degradação da amoxicilina. Esses resultados reforçam a hipótese de que dispersões de HDL com os fármacos conseguem proteger os princípios ativos contra degradações.

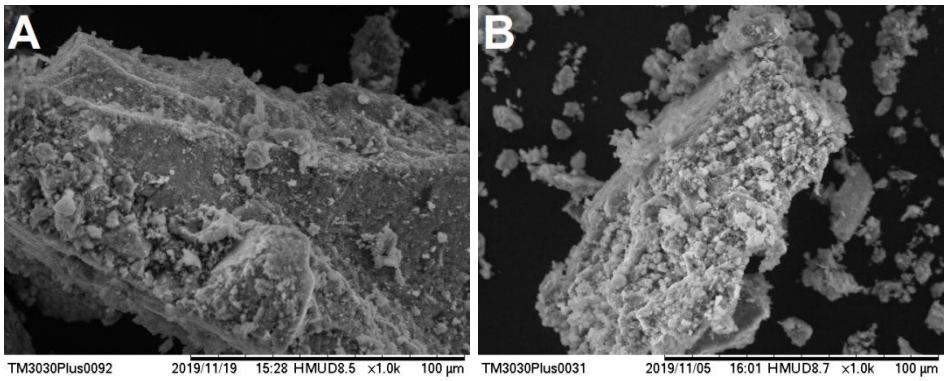
Figura 23 – Espectro eletrônico na região do UV-vis da DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU após 110 dias.



Na Figura 24 são mostradas as micrografias de MEV do HDL Zn/Al e DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU. As imagens sugerem que o HDL Zn/Al apresenta características de material lamelar, sendo possível a visualização de camadas empilhadas. Após a combinação com os fármacos o sólido perde suas características e é detectada a presença de aglomerados em sua superfície.

A razão molar utilizada na síntese do HDL Zn/Al pelo método de coprecipitação foi a razão 2. No Quadro 12 é apresentado o percentual em massa dos elementos presentes na amostra dos compostos e identificados por MEV-EDS. Para o HDL Zn/Al essa razão ficou em 4,27, enquanto que para a DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU essa razão ficou em 2,35 , valor próximo ao teórico. Tal fato pode ser explicado pela escolha da região a ser analisada durante a caracterização, pois a depender da região escolhida pode haver variação na composição elementar. Percentuais altos de cloreto são encontrados no HDL puro, porém os dados de difração de raios X mostram que não há a presença de picos característicos da fase halita nos materiais caracterizados, esses resultados sugerem que o cloreto detectado possa estar adsorvido nas camadas de HDL. O percentual de cloreto é menor para a dispersão sólida, o que pode estar relacionada com a troca dos ânions cloreto pelas moléculas dos fármacos durante o preparo das dispersões. A DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU apresentou um alto conteúdo de carbono e traços de enxofre, indicando à presença dos fármacos na matriz lamelar.

Figura 24 – Microgafias de MEV do HDL Zn/Al (A) e DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU (B).



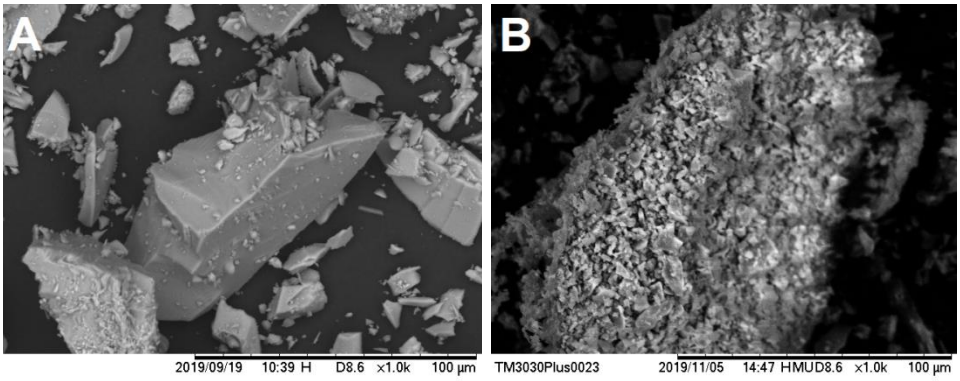
Quadro 12 – Composição elementar em massa de regiões dos compostos HDL Zn/Al e HDL Zn/Al-AMOX-IBU.

Elemento	% elementar em massa	
	HDL Zn/Al	HDL Zn/Al-AMOX-IBU
Zn	36,39	17,97
O	24,21	37,51
C	22,44	31,43
Al	8,51	7,63
Cl	8,45	4,95
S	-	0,31

As imagens de MEV do HO-Fe e HO-Fe-AMOX-IBU (Figura 25) com ampliações de 1000 vezes, revelam a presença de blocos com aparente área superficial elevada para o HO-Fe. Diferentemente da micrografia do HO-Fe, o HO-Fe-AMOX-IBU apresenta morfologia que sugere a preseça de possíveis aglomerados de matéria orgânica na superfície.

Os dados da análise elementar por EDS dos elementos O, Fe, C, Cl e Mg dos compostos HO-Fe e HO-Fe-AMOX-IBU estão descritos na Quadro 13. Esses dados fazem parte da interpretação dos resultados juntamente com as demais técnicas de IV e DRX. Apesar desses resultados serem qualitativos, eles evidenciam a formação majoritária de 38,85% do metal ferro formado durante o processo de coprecipitação em relação a 1,15% de magnésio, o que reafirma a formação do hidr(óxido) de ferro. Após o processo de dispersão, nota-se que o teor de carbono na área analisada aumentou de 9,75% para 22,20%, esse aumento é recorrente à presença de material orgânico na superfície do HO-Fe. A presença de enxofre no HO-Fe-AMOX-IBU confirmam a presença de amoxicilina no composto.

Figura 25 – Microgafias de MEV do HO-Fe (A) e HO-Fe-AMOX-IBU (B).



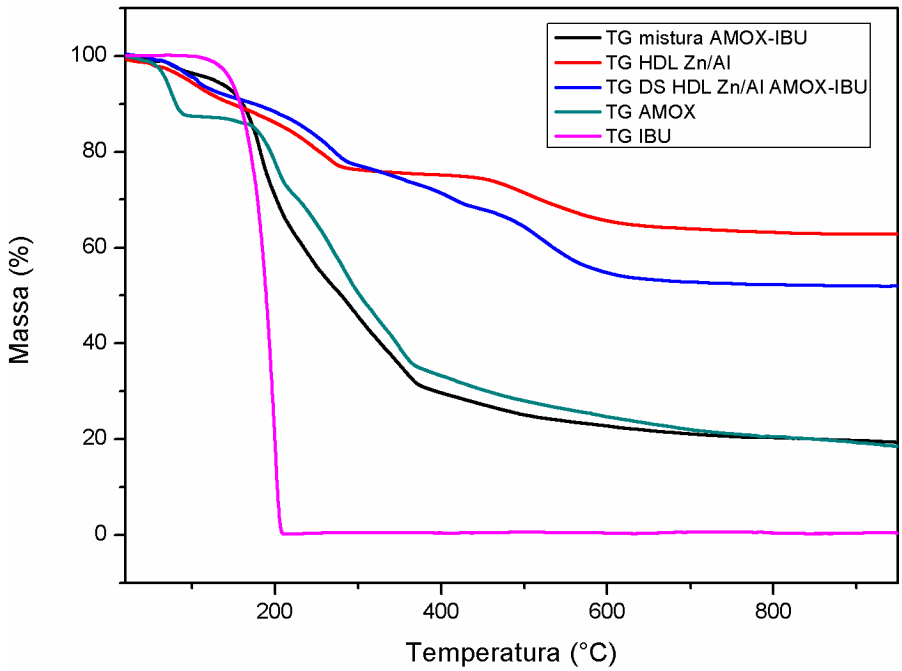
Quadro 13 – Composição elementar em massa de regiões dos compostos HO-Fe e HO-Fe-AMOX-IBU.

Elemento	% elementar em massa	
	HO-Fe	HO-Fe-AMOX-IBU
O	46,76	43,75
Fe	38,85	31,79
C	9,75	22,20
Cl	1,40	0,86
Mg	1,15	0,80
S	-	0,17

As curvas de análise termogravimétricas do HDL Zn/Al, DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU, mistura de fármacos e fármacos individualmente são apresentas na Figura 26. Na curva de TG do IBU puro é observada a decomposição térmica do IBU ocorrendo a formação de CO_2 e H_2O e a perda abrupta de quase 100% de sua massa em 207 °C . Esse mesmo comportamento não é observado quando é realizada a mistura com a AMOX, a curva da mistura se assemelha com a curva de AMOX pura. Esses resultados demonstram que o IBU na mistura pode estar sendo estabilizado pela AMOX. A curva da DS Zn/Al AMOX-IBU mostra que o HDL Zn/Al e a AMOX protegem o IBU, uma vez que é observado o mesmo perfil de decomposição em ambos os compostos. Um resíduo sólido de 51,7% em massa é observado do composto final de DS HDL Zn/Al AMOX-IBU, esse resíduo é caracteristíco da formação de óxidos no composto final.

As curvas de TG do HDL Mg/Al e DS HDL Mg/Al AMOX-IBU apresentaram o mesmo comportamento observado para o HDL Zn/Al. Os termogramas seguem disponíveis no ANEXO V.

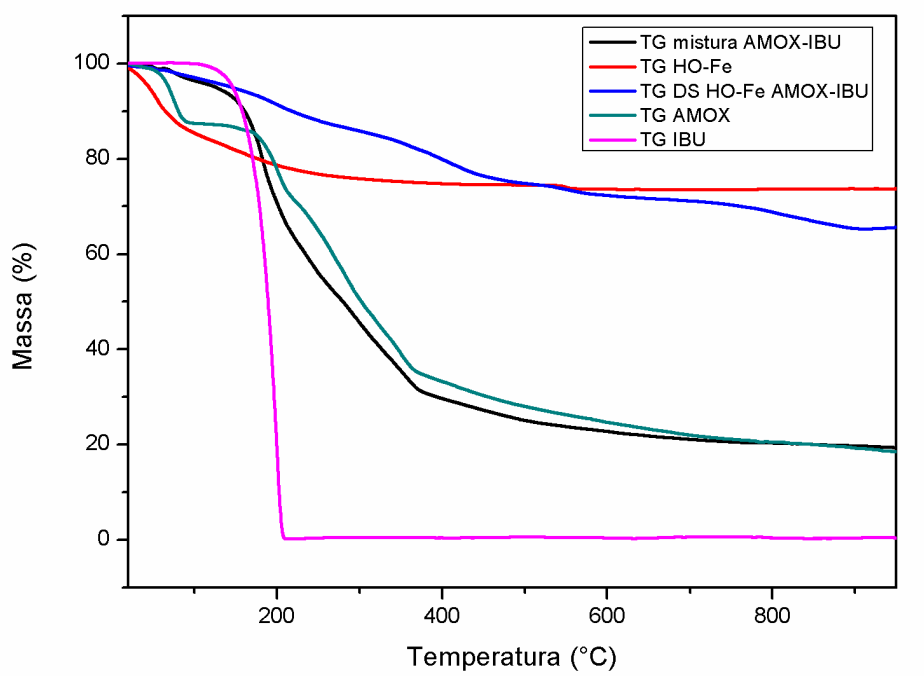
Figura 26 – Curvas de TG da mistura AMOX-IBU, HDL Zn/Al, DS HDL Zn/Al AMOX-IBU, AMOX pura e IBU puro.



O comportamento observado nas curvas de TG do HO-Fe e DS HO-Fe-AMOX-IBU apresentados na Figura 27 também indicam para a estabilização do IBU quando associado na matriz do HO-Fe. Porém, diferentemente do comportamento observado para o HDL Mg/Al e a DS HDL Zn/Al AMOX-IBU que em 600 °C apresenta uma perda de massa constante, a curva de DS HO-Fe AMOX-IBU mostra que a decomposição não ocorreu completamente até a faixa de temperatura analisada, levantando a hipótese de que o compostos ainda possam estar reagindo, ocorrendo a formação de complexos de ferro.

Os resultados obtidos demonstram que não existe uma interação negativa quando os fármacos estão presentes nas matrizes de HDL e HO-Fe, o que converge com os resultados de estudo de estabilidade em meio aquoso e sólido.

Figura 27 – Curvas de TG da mistura AMOX-IBU, HO-Fe, DS HO-Fe AMOX-IBU, AMOX pura e IBU puro.



Gordijo e colaboradores realizaram a imobilização de ibuprofeno em matrizes de HDL Mg/Al sintetizado por diferentes métodos (troca-iônica, coprecipitação e reconstrução). Os resultadados de análise térmica mostram curvas de TG semelhantes para os compostos sintetizados pelos três métodos, sendo observado uma mudança significativa no comportamento térmico do medicamento após imobilização. A estabilidade térmica do IBU apresentou um leve aumento quando é intercalada entre as camadas de HDL (GORDIJO et al., 2005).

5.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As atividades antimicrobianas dos sólidos inorgânicos derivados de Zn/Al, Mg/Al e Mg/Fe preparados em pH 7,4/ 75 °C e suas dispersões sólidas foram testadas frente a uma bactéria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*). As concentrações escolhidas para a realização dos ensaios foram as concentrações mínimas inibitórias da amoxicilina (0,25 µg L-1) de estudos já apresentados na literatura (WEBER et al., 2005). Como a síntese das dispersões foi realizada com 10% em massa de ambos os fármacos, então a massa necessária que continha essa concentração inibitória de AMOX seria extremamente pequena, dificultando assim a pesagem. Portanto, foi necessária a preparação de uma mistura física da dispersão sólida com as matrizes puras, a partir dessa mistura foram retiradas as massas necessárias para o ensaio.

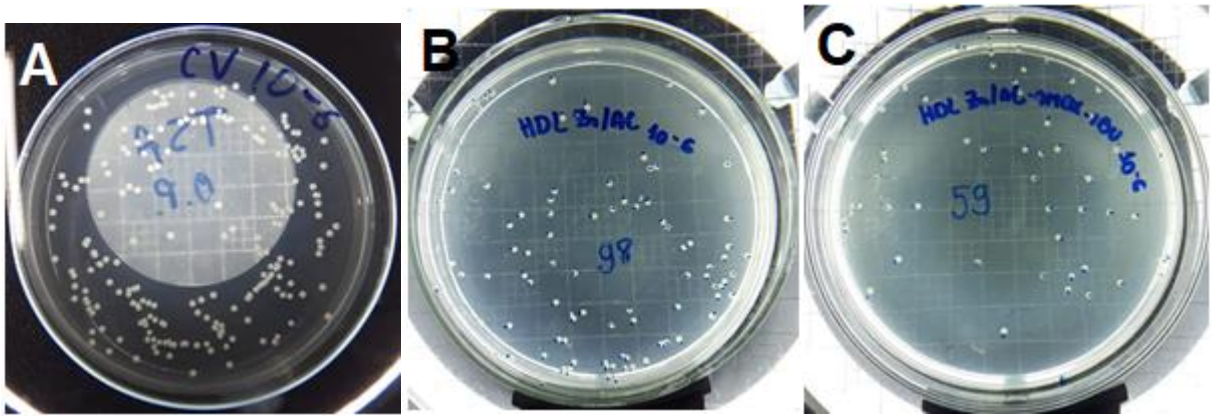
Após o período de incubação das amostras na presença do inóculo foi observado que todos os frascos apresentaram turvação, indicando que havia ocorrido crescimento bacteriano em todas as soluções. Para determinação do número de unidade formadora de colônia por mL, utilizou-se a seguinte fórmula:

UFC / mL = nº de colônias (contagem na placa entre 30 a 300 colônias) x fator de diluição / volume inoculando

Sendo o fator de diluição o inverso da diluição na qual a contagem de placas foi realizada e o volume inoculado igual a 0,1 mL.

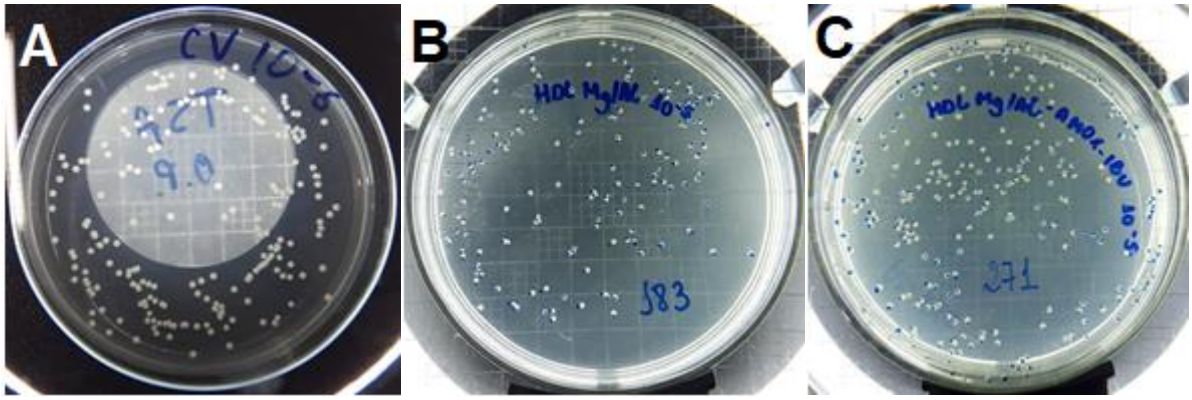
Os testes foram realizados em triplicata, os resultados mais satisfatórios do número de UFC/mL estão apresentados na Quadro 14. Na figura 28 são mostrados o crescimento nas placas contendo o controle, o HDL Zn/Al e o HDL Zn/Al-AMOX-IBU. É possível observar que existe uma diminuição do número de microorganismos nas placas contendo o HDL Zn/Al e DS HDL Zn/Al-AMOX-IBU em relação ao controle, considerando essa diminuição podemos determinar que o HDL Zn/Al mesmo puro apresenta uma ação bacteriostática, ou seja, o composto age inibindo o crescimento bacteriano. Tal efeito é mais intensificado nas amostra de Zn/Al contendo os fármacos.

Figura 28 – Contagem de microorganismos viáveis nas amostras do controle (A), HDL Zn/Al (B) e HDL Zn/Al-AMOX-IBU (C).



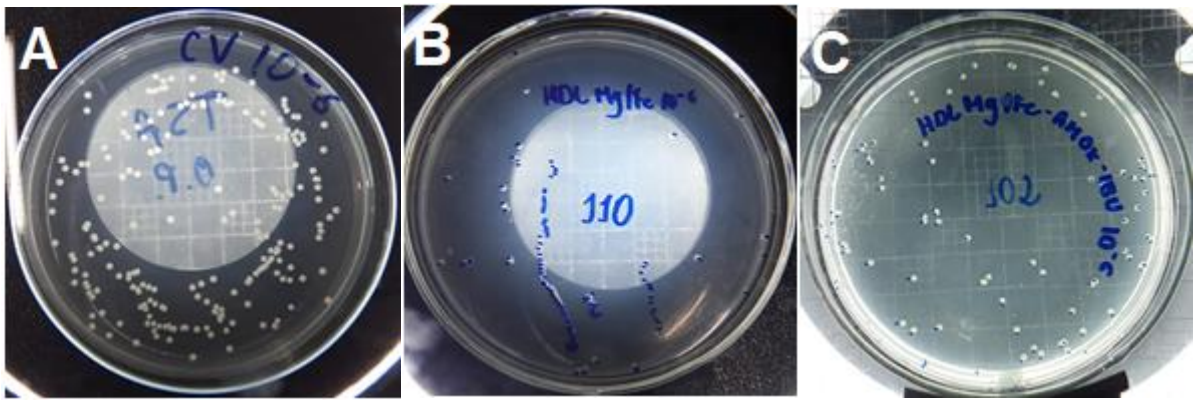
Na Figura 29 encontram-se apresentadas placas de crescimento bacteriano do HDL Mg/Al e DS HDL Mg/Al-AMOX-IBU. De maneira semelhante a observada nas placas de HDL Zn/Al é possível visualizar crescimento, porém menos intenso em relação ao controle de viabilidade. O número de colônias na placa de HDL Mg/Al sem fármacos apresentou uma maior mortalidade, podendo estar relacionada a lixiviação dos metais de Mg e Al , favorecendo a inibição bacteriana.

Figura 29 – Contagem de microorganismos viáveis nas amostras do controle (A), HDL Mg/Al (B) e HDL Mg/Al-AMOX-IBU (C).



Por outro lado, na Figura 30 nota-se que há um crescimento mais acentuado de microorganismos nos compostos contendo o Ho-Fe e DS HO-Fe-AMOX-IBU quando comparado com as outras placas contendo os HDL e suas dispersões sólidas. Esses resultados sugerem que o hidr(óxido) não seja tão eficaz na inibição da *S. aureus* em comparação com os hidróxidos duplos lamelares.

Figura 30 – Contagem de microorganismos viáveis nas amostras do controle (A), HO-Fe (B) e HO-Fe-AMOX-IBU (C).



As placas contendo HO-Fe foram consideradas como HDL Mg/Fe durante os ensaios, uma vez que os resultados de difração de raios X (comprovando que de fato o composto não era HDL) ainda não estavam disponíveis.

Quadro 14 – Colônias viáveis das amostras frente à *S.aureus*.

Compostos	Número de colônias viáveis (UFC / mL)
Controle de viabilidade	$2,08 \times 10^9$
HDL Zn/Al	$9,8 \times 10^8$
HDL Zn/Al-AMOX-IBU	$5,9 \times 10^8$
HDL Mg/Al	$1,83 \times 10^8$
HDL Mg/Al-AMOX-IBU	$2,71 \times 10^8$
HO-Fe	$1,10 \times 10^9$
HO-Fe-AMOX-IBU	$1,02 \times 10^9$

Ensaios com AMOX e IBU foram realizados para avaliar a ação dos fármacos individualmente e em conjunto. Resultados realizados em triplicata e inseridas no ANEXO X, demonstraram uma larga contaminação das placas que continham os fármacos sem a presença dos HDL ou HO-Fe, não sendo possível a realização da contagem bacteriana. Esses resultados comprovam a ação de inibição dos princípios ativos quando associadas com as matrizes dos compostos inorgânicos.

Os resultados de ação antimicrobiana dos HDL e suas dispersões apresentam resultados positivos quanto a sua ação antibacteriana. Trabalhos encontrados na literatura que utilizam ensaios de difusão em disco não demonstram uma ação potencialmente promissora quando empregado o HDL puro. Ryu et al. incorporaram o antibiótico cefazolina em HDL Zn/Al e estudaram a sua ação antibacteriana frente a bactéria *S. aureus* (ATCC 25923) com diferentes tempos de liberação, utilizando água e uma solução de NaCl 0,8%. Os resultados apresentados não mostraram nenhuma ação bacteriana quando utilizado apenas o HDL, e quando utilizado o HDL-cefazolina a ação mostrou-se dependente do tempo e mais eficiente na solução de NaCl. Apesar de ter ocorrido a formação de uma zona de inibição no HDL-cefazolina de maneira controlada, quando utilizada a cefazelina pura essa zona apresentou uma inibição maior. Esse estudo demonstra que a matriz de HDL somente melhora a eficiência antibacteriana da cefazolina quando empregada de forma controlada (RYU et al., 2010).

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Neste trabalho, foi realizado um estudo da estabilidade dos fármacos amoxicilina e ibuprofeno em função do tempo, pH e temperatura. Os resultados de estabilidade em meio aquoso, mostraram que a estabilidade da amoxicilina é totalmente dependente do tempo, pH e temperatura, enquanto que o ibuprofeno mantem-se estável em relação a todas as variáveis empregadas. Os resultados de estabilidade em meio sólido vão de encontro com esses resultados, demonstrando que ao realizar misturas de compostos inorgânicos (sintetizados em condições de pHs mais altos e temperaturas altas) com esses fármacos, a susceptibilidade de degradação da amoxicilina é potencialmente maior.

Para tanto, metodologia de síntese de sólidos inorgânicos (Zn/Al, Mg/Al e Mg/Fe) foram realizadas por coprecipitação em condições de pH 7,4 / temperatura ambiente. Para a impregnação dos fármacos nas matrizes foi a utilizada a mesma metodologia por coprecipitação direta. Através das caracterizações realizadas foi comprovada a formação do HDL Zn/Al, HDL Mg/Al e do HO-Fe. Os fármacos foram detectados com uma baixa concentração e supostamente localizados na superfície externa dos sólidos, o que é evidenciado pelos dados de DRX, IV, MEV e UV-vis. A contaminação dos compostos por cloreto de sólido e a falta de uniformidade de dosagem dos fármacos em cada sólido utilizado tornaram o método inviável.

Contudo, foi proposta uma nova metodologia com o objetivo de barrar as limitações anteriores. O aumento da cristalinidade do material, a obtenção de doses uniformes de amoxicilina e ibuprofeno nos sólidos e a formação de compostos sem contaminantes foram pontos cruciais na nova metodologia. Foram preparados os HDL e HO-Fe pelo método de coprecipitação (pH 7,4 / 75°C), após foram realizadas dispersões sólidas desses sólidos com os fármacos a temperatura ambiente. Através dos resultados apresentados nos difratogramas de raios X foi demostrado a obtenção de compostos puros e mais cristalinos, porém não foi visualizado a presença dos fármacos no domínio interlamelar dos HDL. Os compostos apresentaram uma liberação rápida dos fármacos “burst realease”, o que é considerado um ponto positivo em aplicações para tratamentos que necessitam de uma ação instantânea. Os resultados de UV-vis também demostraram que os sólidos protegem os fármacos contra degradações, não havendo mudança da concentração inicial e após 110 dias de síntese. Os resultados obtidos através de análise térmica (TG) mostram que a mistura de fármacos ajuda no efeito de estabilização do IBU e que os fármacos não apresentam comportamentos negativos quando incorporados as matrizes estudadas.

No estudo de atividade antibacteriana, os HDL e suas dispersões mostraram-se promissores na inibição da bactéria *S.aureus,* demonstrando uma ação bacteriostática tanto com o HDL puro, quanto na presença dos fármacos. O HO-Fe não apresentou essa ação, o

que consequentemente comprova que as matrizes de HDL apresentam propriedades mais interessantes para aplicações médicas.

Apesar dos resultados apresentados até o presente momento indicarem para o sucesso das matrizes inorgânicas, trabalhos futuros poderão ainda ser desenvolvidos, tais como:

- Estudos mais abrangentes sobre o mineral acaganeita, sendo ele um candidato potencial para sistemas de entrega de fármacos;
- Metodologias que envolvam proporções diferentes de cada fármaco nas matrizes poderão ser exploradas;
- Determinação dos compostos de degradação e monitoramento das cinéticas por HPLC-UV;
- Síntese de HDL com os fármacos individualmente (HDL-AMOX e HDL-IBU) para avaliar melhor o efeito individual e combinado;
- Realização de mais ensaios biológicos com outras bactérias para demostrar a potencial ação bacteriana desses compostos, como o teste de difusão em disco.

7 REFERÊNCIAS

ABELLÁN, G.; MARTÍ-GASTALDO, C.; RIBERA, A.; CORONADO, E. Hybrid Materials Based on Magnetic Layered Double Hydroxides: A Molecular Perspective. **Accounts of Chemical Research**, v. 48, n. 6, p. 1601–1611, 2015.

ASEFA, T.; DUBOVOY, V. Ordered Mesoporous/Nanoporous Inorganic Materials via Self-Assembly. In: **Comprehensive Supramolecular Chemistry II**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 157–192.

BAZMI ZEYNABAD, F.; SALEHI, R.; ALIZADEH, E.; KAFIL, H. S.; HASSANZADEH, A. M.; MAHKAM, M. pH-Controlled multiple-drug delivery by a novel antibacterial nanocomposite for combination therapy. **RSC Advances**, v. 5, n. 128, p. 105678–105691, 2015.

BHARTI, S.; JAIN, S.; KAUR, G.; GUPTA, S.; TRIPATHI, S. K. PH dependent conjugation of Ibuprofen to PEGylated nanoparticles. In: AIP Conference Proceedings, **Anais**...American Institute of Physics Inc., 2018.

BI, X.; ZHANG, H.; DOU, L. Layered Double Hydroxide-Based Nanocarriers for Drug Delivery. **Pharmaceutics**, v. 6, n. 2, p. 298–332, 2014.

BINSON, G.; GRIGNON, C.; LE MOAL, G.; LAZARO, P.; LELONG, J.; ROBLOT, F.; VENISSE, N.; DUPUIS, A. Overcoming stability challenges during continuous intravenous administration of high-dose amoxicillin using portable elastomeric pumps. **PLoS ONE**, v. 14, n. 8, 2019.

BJARNASON, I.; SCARPIGNATO, C.; HOLMGREN, E.; OLSZEWSKI, M.; RAINSFORD, K. D.; LANAS, A. **Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory DrugsGastroenterology**, 2018.

BOUAZIZ, Z.; SOUSSAN, L.; JANOT, J. M.; JABER, M.; BEN HAJ AMARA, A.; BALME, S. Dual role of layered double hydroxide nanocomposites on antibacterial activity and degradation of tetracycline and oxytetracyline. **Chemosphere**, v. 206, p. 175–183, 2018.

CHEN, B.; WANG, J.; CHEN, B.; CHENG, J.; CAI; XIA GUOHUA; DE LIU RAN; WANG, X. Apoptotic mechanism of human leukemia K562/A02 cells induced by magnetic iron oxide nanoparticles co-loaded with daunorubicin and 5-bromotetrandrin. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 1027, 2011.

CHEN, X.; LIU, Z. Dual responsive mesoporous silica nanoparticles for targeted co-delivery of hydrophobic and hydrophilic anticancer drugs to tumor cells. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 25, p. 4382–4388, 2016.

CHEN, Y.; GAO, Y.; CHEN, H.; ZENG, D.; LI, Y.; ZHENG, Y.; LI, F.; JI, X.; WANG, X.; CHEN, F.; HE, Q.; ZHANG, L.; SHI, J. Engineering inorganic nanoemulsions/nanoliposomes by fluoride-silica chemistry for efficient delivery/co-delivery of hydrophobic agents. **Advanced Functional Materials**, v. 22, n. 8, p. 1586–1597, 2012.

CHITRAKAR, R.; TEZUKA, S.; SONODA, A.; SAKANE, K.; OOI, K.; HIROTSU, T. Phosphate adsorption on synthetic goethite and akaganeite. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 298, n. 2, p. 602–608, 2006.

CUNHA, V. R. R.; FERREIRA, A. M. da C.; CONSTANTINO, V. R. L.; TRONTO, J.; VALIM, J. B. Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 159–171, 2010.

DEL HOYO, C. Layered double hydroxides and human health: An overview. **Applied Clay Science**, v. 36, n. 1–3, p. 103–121, 2007.

DJABALLAH, R.; BENTOUAMI, A.; BENHAMOU, A.; BOURY, B.; ELANDALOUSSI, E. H. The use of Zn-Ti layered double hydroxide interlayer spacing property for low-loading drug and low-dose therapy. Synthesis, characterization and release kinetics study. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 739, p. 559–567, 2018.

DYKMAN, L.; KHLEBTSOV, N. Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. **Chemical Society reviews**, v. 41, n. 6, p. 2256–82, 2012.

Farmacopeia Brasileira Agência Nacional de Vigilância Sanitária. . [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.

FU, X.; JIA, L.; WANG, A.; CAO, H.; LING, Z.; LIU, C.; SHI, E.; WU, Z.; LI, B.; ZHANG, J. Thermal stability of akaganeite and its desiccation process under conditions relevant to Mars. **Icarus**, v. 336, p. 113435, 2020.

GAO, Y.; QIU, L.; O'HARE, D.; WANG, Q. Thermal properties and flame-retardant characteristics of layered double hydroxide polymer nanocomposites. In: **Layered Double Hydroxide Polymer Nanocomposites**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 311–345.

GIL, O. M.; ROCHA, M. A.; CONSTANTINO, V. R. L.; KOH, I. H. J.; DE FARIA, D. L. A. Modified drug release system based on Sulindac and layered double hydroxide: An in vivo Raman investigation. **Vibrational Spectroscopy**, v. 87, p. 60–66, 2016.

GIRI, T. K.; KUMAR, K.; ALEXANDER, A.; AJAZUDDIN; BADWAIK, H.; TRIPATHI, D. K. A novel and alternative approach to controlled release drug delivery system based on solid dispersion technique. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 50, n. 2, p. 147–159, 2012.

GODSEY, M. E.; SURYAPRAKASH, S.; LEONG, K. W. **Materials innovation for co-delivery of diverse therapeutic cargosRSC Advances**Royal Society of Chemistry, , 21 dez. 2013. .

GORDIJO, C. R.; BARBOSA, C. A. S.; DA COSTA FERREIRA, A. M.; CONSTANTINO, V. R. L.; DE OLIVEIRA SILVA, D. Immobilization of ibuprofen and copper-ibuprofen drugs on layered double hydroxides. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 5, p. 1135–1148, 2005.

GU, Z.; ATHERTON, J. J.; XU, Z. P. Hierarchical layered double hydroxide nanocomposites: structure, synthesis and applications. **Chemical Communications**, v. 51, n. 15, p. 3024–3036, 2015.

HAJIPOUR, M. J.; FROMM, K. M.; AKBAR ASHKARRAN, A.; JIMENEZ DE ABERASTURI, D.; LARRAMENDI, I. R. de; ROJO, T.; SERPOOSHAN, V.; PARAK, W. J.; MAHMOUDI, M. **Antibacterial properties of nanoparticlesTrends in Biotechnology**, 2012.

HAKEEM, A.; ZHAN, G.; XU, Q.; YONG, T.; YANG, X.; GAN, L. Facile synthesis of pH-responsive doxorubicin-loaded layered double hydroxide for efficient cancer therapy. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, n. 36, p. 5768–5774, 2018.

HE, Y.; HO, C. **Amorphous Solid Dispersions: Utilization and Challenges in Drug Discovery and Development Journal of Pharmaceutical Sciences** John Wiley and Sons Inc., 2012.

HUSSEIN AL ALI, S.; NAZRUL-HAKIM, M.; AL-QUBAISI, M.; HUSSEIN, M. Z.; ZAINAL, Z.; HUSSEIN AL ALI, S.; ISMAIL, M. Controlled release and angiotensin-converting enzyme inhibition properties of an antihypertensive drug based on a perindopril erbumine-layered double hydroxide nanocomposite. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 2129, 2012.

KANKALA, R. K.; TSAI, P. Y.; KUTHATI, Y.; WEI, P. R.; LIU, C. L.; LEE, C. H. Overcoming multidrug resistance through co-delivery of ROS-generating nano-machinery in cancer

therapeutics. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 5, n. 7, p. 1507–1517, 2017.

KHAN, A. I.; RAGAVAN, A.; FONG, B.; MARKLAND, C.; O'BRIEN, M.; DUNBAR, T. G.; WILLIAMS, G. R.; O'HARE, D. Recent Developments in the Use of Layered Double Hydroxides as Host Materials for the Storage and Triggered Release of Functional Anions. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 23, p. 10196–10205, 2009.

KUBO, A. L.; CAPJAK, I.; VRČEK, I. V.; BONDARENKO, O. M.; KURVET, I.; VIJA, H.; IVASK, A.; KASEMETS, K.; KAHRU, A. Antimicrobial potency of differently coated 10 and 50 nm silver nanoparticles against clinically relevant bacteria Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 170, p. 401–410, 2018.

KURA, A. U.; HUSSEIN, M. Z.; FAKURAZI, S.; ARULSELVAN, P. Layered double hydroxide nanocomposite for drug delivery systems; bio-distribution, toxicity and drug activity enhancement. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n. 1, p. 47, 2014.

LAMM, A.; GOZLAN, I.; ROTSTEIN, A.; AVISAR, D. Detection of amoxicillin-diketopiperazine-2', 5' in wastewater samples. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 44, n. 14, p. 1512–1517, 2009.

LEE, J. H.; EL-FIQI, A.; MANDAKHBAYAR, N.; LEE, H. H.; KIM, H. W. Drug/ion co-delivery multi-functional nanocarrier to regenerate infected tissue defect. **Biomaterials**, v. 142, p. 62–76, 2017.

LEE, J. H.; YEO, Y. Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers. **Chemical Engineering Science**, v. 125, p. 75–84, 2015a.

LEE, J. H.; YEO, Y. Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers. **Chemical Engineering Science**, v. 125, p. 75–84, 2015b.

LI, L.; GU, W.; CHEN, J.; CHEN, W.; XU, Z. P. Co-delivery of siRNAs and anti-cancer drugs using layered double hydroxide nanoparticles. **Biomaterials**, v. 35, n. 10, p. 3331–3339, 2014.

LI, M.; SULTANBAWA, Y.; XU, Z. P.; GU, W.; CHEN, W.; LIU, J.; QIAN, G. High and long-term antibacterial activity against Escherichia coli via synergy between the antibiotic penicillin G and its carrier ZnAl layered double hydroxide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, p. 435–442, 2019a.

LI, M.; SULTANBAWA, Y.; XU, Z. P.; GU, W.; CHEN, W.; LIU, J.; QIAN, G. High and long-term antibacterial activity against Escherichia coli via synergy between the antibiotic penicillin G and its carrier ZnAl layered double hydroxide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, p. 435–442, 2019b.

LI, S.; LI, X.; DING, J.; HAN, L.; GUO, X. Anti-tumor efficacy of folate modified PLGA-based nanoparticles for the co-delivery of drugs in ovarian cancer. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 13, p. 1271–1280, 2019c.

LIU, Y.; GAO, Y.; WANG, Q.; LIN, W. The synergistic effect of layered double hydroxides with other flame retardant additives for polymer nanocomposites: a critical review. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 42, p. 14827–14840, 2018.

MA, L.; KOHLI, M.; SMITH, A. **Nanoparticles for combination drug therapyACS Nano**, 2013.

MAI, W. X.; MENG, H. Mesoporous silica nanoparticles: A multifunctional nano therapeutic system. **Integrative biology : quantitative biosciences from nano to macro**, v. 5, n. 1, p. 19–28, 2013.

MASCOLO, G.; MASCOLO, M. C. **On the synthesis of layered double hydroxides (LDHs)**

by reconstruction method based on the "memory effect"Microporous and Mesoporous Materials Elsevier B.V., 2015.

MISHRA, G.; DASH, B.; PANDEY, S. **Layered double hydroxides: A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterialsApplied Clay Science**, 2018. .

MONDAL, S.; DASGUPTA, S.; MAJI, K. MgAl- Layered Double Hydroxide Nanoparticles for controlled release of Salicylate. **Materials Science and Engineering C**, v. 68, p. 557–564, 2016.

MONTEIRO, L. M.; LÖBENBERG, R.; FOTAKI, N.; DE ARAÚJO, G. L. B.; COTRIM, P. C.; BOU-CHACRA, N. Co-delivery of buparvaquone and polymyxin B in a nanostructured lipid carrier for leishmaniasis treatment. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 18, p. 279–283, 2019.

NABIPOUR, H. Design and Evaluation of Non-steroidal Anti-inflammatory Drug Intercalated into Layered Zinc Hydroxide as a Drug Delivery System. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 29, n. 5, p. 1807–1817, 2019.

NÄGELE, E.; MORITZ, R. Structure elucidation of degradation products of the antibiotic amoxicillin with ion trap MSn and accurate mass determination by ESI TOF. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 16, n. 10, p. 1670–1676, 2005.

NGUYEN, T. K.; SELVANAYAGAM, R.; HO, K. K. K.; CHEN, R.; KUTTY, S. K.; RICE, S. A.; KUMAR, N.; BARRAUD, N.; DUONG, H. T. T.; BOYER, C. Co-delivery of nitric oxide and antibiotic using polymeric nanoparticles. **Chemical Science**, v. 7, n. 2, p. 1016–1027, 2016.

OLOV, N.; BAGHERI-KHOULENJANI, S.; MIRZADEH, H. **Combinational drug delivery using nanocarriers for breast cancer treatments: A reviewJournal of Biomedical Materials Research - Part A** John Wiley and Sons Inc., 2018.

PREET, S.; PANDEY, S. K.; KAUR, K.; CHAUHAN, S.; SAINI, A. Gold nanoparticles assisted co-delivery of nisin and doxorubicin against murine skin cancer. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 53, 2019.

PRESTOPINO, G.; ARRABITO, G.; GENEROSI, A.; MATTOCCIA, A.; PACI, B.; PEREZ, G.; VERONA-RINATI, G.; MEDAGLIA, P. G. Emerging switchable ultraviolet photoluminescence in dehydrated Zn/Al layered double hydroxide nanoplatelets. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019.

QIN, M.; LEE, Y. E. K.; RAY, A.; KOPELMAN, R. Overcoming cancer multidrug resistance by codelivery of doxorubicin and verapamil with hydrogel nanoparticles. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 8, p. 1106–1115, 2014.

RAFANIELLO, C.; FERRAJOLO, C.; SULLO, M. G.; SESSA, M.; SPORTIELLO, L.; BALZANO, A.; MANGUSO, F.; AIEZZA, M. L.; ROSSI, F.; SCARPIGNATO, C.; CAPUANO, A. Risk of gastrointestinal complications associated to NSAIDs, low-dose aspirin and their combinations: Results of a pharmacovigilance reporting system. **Pharmacological Research**, v. 104, p. 108–114, 2016.

REBITSKI, E. P.; SOUZA, G. P.; SANTANA, S. A. A.; PERGHER, S. B. C.; ALCÂNTARA, A. C. S. Bionanocomposites based on cationic and anionic layered clays as controlled release devices of amoxicillin. **Applied Clay Science**, v. 173, p. 35–45, 2019.

RIVES, V.; DEL ARCO, M.; MARTÍN, C. **Layered double hydroxides as drug carriers and for controlled release of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs): A reviewJournal of Controlled Release**, 2013.

ROJAS, R.; PALENA, M. C.; JIMENEZ-KAIRUZ, A. F.; MANZO, R. H.; GIACOMELLI, C. E. Modeling drug release from a layered double hydroxide-ibuprofen complex. **Applied Clay Science**, v. 62–63, p. 15–20, 2012.

ROJAS, S.; ARENAS-VIVO, A.; HORCAJADA, P. **Metal-organic frameworks: A novel platform for combined advanced therapiesCoordination Chemistry Reviews**Elsevier B.V., 2019.

ROSSETO, R.; SANTOS, Á. C. M. A. dos; GALEMBECK, F. Hydrous non-crystalline phosphates: structure, function and a new white pigment. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 8, p. 1465–1472, 2006.

RYU, S. J.; JUNG, H.; OH, J. M.; LEE, J. K.; CHOY, J. H. Layered double hydroxide as novel antibacterial drug delivery system. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 71, n. 4, p. 685–688, 2010.

SALGUERO, Y.; VALENTI, L.; ROJAS, R.; GARCÍA, M. C. Ciprofloxacin-intercalated layered double hydroxide-in-hybrid films as composite dressings for controlled antimicrobial topical delivery. **Materials Science and Engineering C**, v. 111, p. 110859, 2020.

SAO, R.; VAISH, R.; SINHA, N. Multifunctional Drug Delivery Systems Using Inorganic Nanomaterials: A Review. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 3, p. 1960–1972, 2014.

SEPEHR, M. N.; AL-MUSAWI, T. J.; GHAHRAMANI, E.; KAZEMIAN, H.; ZARRABI, M. Adsorption performance of magnesium/aluminum layered double hydroxide nanoparticles for metronidazole from aqueous solution. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 611–623, 2017.

SOFOKLEOUS, P.; STRIDE, E.; EDIRISINGHE, M. Preparation, characterization, and release of amoxicillin from electrospun fibrous wound dressing patches. **Pharmaceutical research**, v. 30, n. 7, p. 1926–38, 2013.

SOSTRES, C.; GARGALLO, C. J.; ARROYO, M. T.; LANAS, A. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. **Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology**, v. 24, n. 2, p. 121–132, 2010.

SUN, B.; ZHANG, M.; ZHOU, N.; CHU, X.; YUAN, P.; CHI, C.; WU, F.; SHEN, J. Study on montmorillonite-chlorhexidine acetate-terbinafine hydrochloride intercalation composites as drug release systems. **RSC Advances**, v. 8, n. 38, p. 21369–21377, 2018.

TANG, L.; CHENG, J. Nonporous silica nanoparticles for nanomedicine application. **Nano Today**, v. 8, n. 3, p. 290–312, 2013.

THOMAS, G. S.; RADHA, A. V.; KAMATH, P. V.; KANNAN, S. Thermally induced polytype transformations among the Layered Double Hydrodides (LDHs) of Mg Zn with Al. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 25, p. 12365–12371, 2006.

USMAN, M. S.; HUSSEIN, M. Z.; KURA, A. U.; FAKURAZI, S.; MASARUDIN, M. J.; AHMAD SAAD, F. F. Chlorogenic acid intercalated Gadolinium–Zinc/Aluminium layered double hydroxide and gold nanohybrid for MR imaging and drug delivery. **Materials Chemistry and Physics**, v. 240, p. 122232, 2020.

VALAREZO, E.; TAMMARO, L.; GONZÁLEZ, S.; MALAGÓN, O.; VITTORIA, V. Fabrication and sustained release properties of poly(ε-caprolactone) electrospun fibers loaded with layered double hydroxide nanoparticles intercalated with amoxicillin. **Applied Clay Science**, v. 72, n. 72, p. 104–109, 2013.

WANG, A. Z.; LANGER, R.; FAROKHZAD, O. C. Nanoparticle Delivery of Cancer Drugs. **Annual Review of Medicine**, v. 63, n. 1, p. 185–198, 2012.

WANG, J.; LIU, Q.; ZHANG, G.; LI, Z.; YANG, P.; JING, X.; ZHANG, M.; LIU, T.; JIANG, Z. Synthesis, sustained release properties of magnetically functionalized organic-inorganic materials: Amoxicillin anions intercalated magnetic layered double hydroxides via calcined

precursors at room temperature. **Solid State Sciences**, v. 11, n. 9, p. 1597–1601, 2009a.

WANG, J.; LIU, Q.; ZHANG, G.; LI, Z.; YANG, P.; JING, X.; ZHANG, M.; LIU, T.; JIANG, Z. Synthesis, sustained release properties of magnetically functionalized organic–inorganic materials: Amoxicillin anions intercalated magnetic layered double hydroxides via calcined precursors at room temperature. **Solid State Sciences**, v. 11, n. 9, p. 1597–1601, 2009a.

WANG, Y.; ZHANG, D. Synthesis, characterization, and controlled release antibacterial behavior of antibiotic intercalated Mg-Al layered double hydroxides. **Materials Research Bulletin**, v. 47, n. 11, p. 3185–3194, 2012.

WANG, Z.; MA, R.; YAN, L.; CHEN, X.; ZHU, G. Combined chemotherapy and photodynamic therapy using a nanohybrid based on layered double hydroxides to conquer cisplatin resistance. **Chemical Communications**, v. 51, n. 58, p. 11587–11590, 2015.

WEBER, P.; DIB, C.; DURAND, C.; MONIOT-VILLE, N. Évaluation de la sensibilité à la lévofloxacine des souches isolées d'infections urinaires basses communautaires. **Pathologie Biologie**, v. 53, n. 2, p. 125–128, 2005.

WOODCOCK, J.; GRIFFIN, J. P.; BEHRMAN, R. E. Development of Novel Combination Therapies. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 11, p. 985–987, 2011.

WRIGHT, A. J. The penicillins. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 74, n. 3, p. 290–307, 1999.

YAN, L.; GONCA, S.; ZHU, G.; ZHANG, W.; CHEN, X. **Layered double hydroxide nanostructures and nanocomposites for biomedical applicationsJournal of Materials Chemistry B**Royal Society of Chemistry, 2019. .

YASAEI, M.; KHAKBIZ, M.; GHASEMI, E.; ZAMANIAN, A. Synthesis and characterization of ZnAl-NO 3 (-CO 3) layered double hydroxide: A novel structure for intercalation and release of simvastatin. **Applied Surface Science**, v. 467–468, p. 782–791, 2019.

YU, I. K. M.; HANIF, A.; TSANG, D. C. W.; SHANG, J.; SU, Z.; SONG, H.; OK, Y. S.; POON, C. S. Tuneable functionalities in layered double hydroxide catalysts for thermochemical conversion of biomass-derived glucose to fructose. **Chemical Engineering Journal**, v. 383, p. 122914, 2020.

ZHANG, H.; WANG, G.; YANG, H. **Drug delivery systems for differential release in combination therapyExpert Opinion on Drug Delivery**, 2011.

ZHANG, K.; XU, Z.; LU, J.; TANG, Z.; ZHAO, H.; GOOD, D.; WEI, M. Potential for Layered Double Hydroxides-Based, Innovative Drug Delivery Systems. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 5, p. 7409–7428, 2014.

ZHANG, L.; LI, Y.; YU, J. C. Chemical modification of inorganic nanostructures for targeted and controlled drug delivery in cancer treatment. **J. Mater. Chem. B**, v. 2, n. 5, p. 452–470, 2014.

ZHANG, L. xiao; XIE, X. xiu; LIU, D. qun; XU, Z. P.; LIU, R. tian. Efficient co-delivery of neo-epitopes using dispersion-stable layered double hydroxide nanoparticles for enhanced melanoma immunotherapy. **Biomaterials**, v. 174, p. 54–66, 2018.

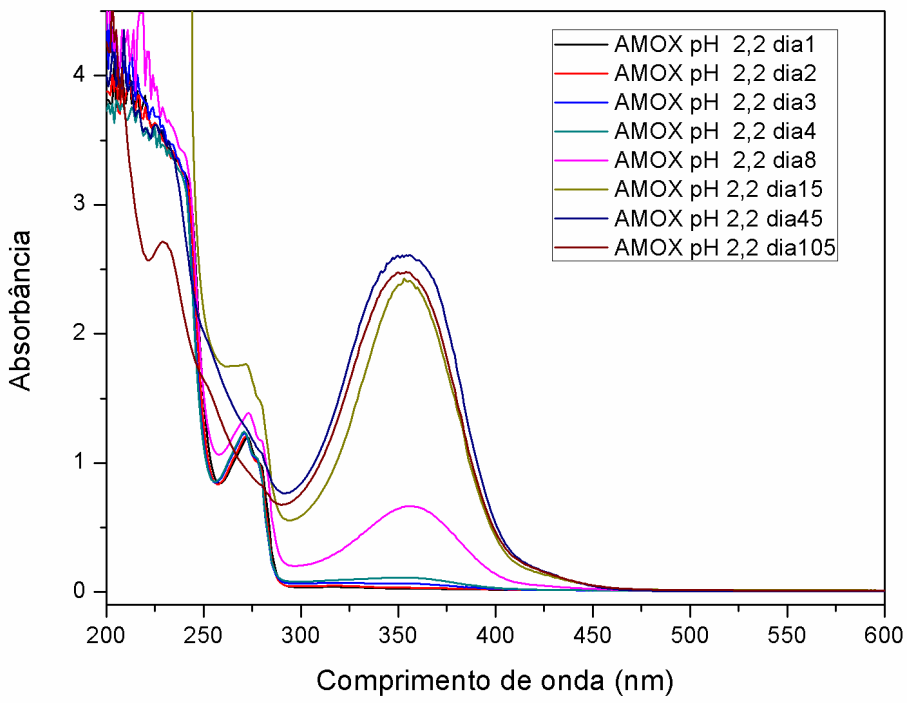
ZHAO, D.; LIU, C. J.; ZHUO, R. X.; CHENG, S. X. Alginate/CaCO3 hybrid nanoparticles for efficient codelivery of antitumor gene and drug. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 10, p. 2887–2893, 2012.

ANEXOS

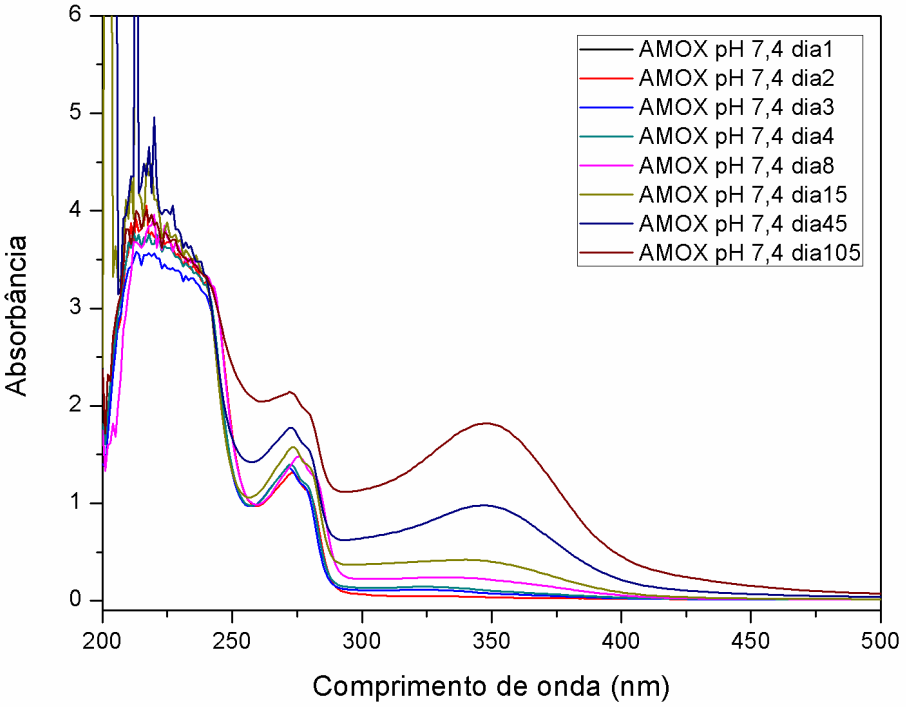
ANEXO A – Reagentes utilizados nas síntese dos HDL e demais procedimentos.

Reagentes	**Fórmula**	**Procedência**	**Pureza (%)**
Ácido fosfórico	H_3PO_4	VETEC	85
Amoxicilina triidratada	$C_{16}H_{19}N_3O_5S.3H_2O$	NATURALIS manipulação e homeopatia	-
Cloreto de alumínio hexaidratado	$AlCl_3.6H_2O$	NEON	99,80
Cloreto de ferro III hexaidratado	$FeCl_3.6H_2O$	VETEC	97 – 102
Cloreto de magnésio hexaidratado	$MgCl_2.6H_2O$	DINÂMICA	99 – 102
Cloreto de zinco	$ZnCl_2$	DINÂMICA	97
Diclorometano	CH_2Cl_2	NEON	99,98
Fosfato de potássio bibásico anidro	K_2HPO_4	DINÂMICA	98,0
Fosfato de sódio bibásico anidro	Na_2HPO_4	SYNTH	99,0
Fosfato de sódio bibásico heptahidratado	$Na_2HPO_4.7H_2O$	NEON	98,43
Fosfato de sódio monobásico anidro	NaH_2PO_4	NEON	98,60
Fosfato de sódio monobásico monohidratado	$NaH_2PO_4.H_2O$	VETEC	98-102
Hidróxido de sódio	NaOH	VETEC	97
Ibuprofeno	$C_{13}H_{18}O_2$	VOLTA À FLORA manipulação e homeopatia	-

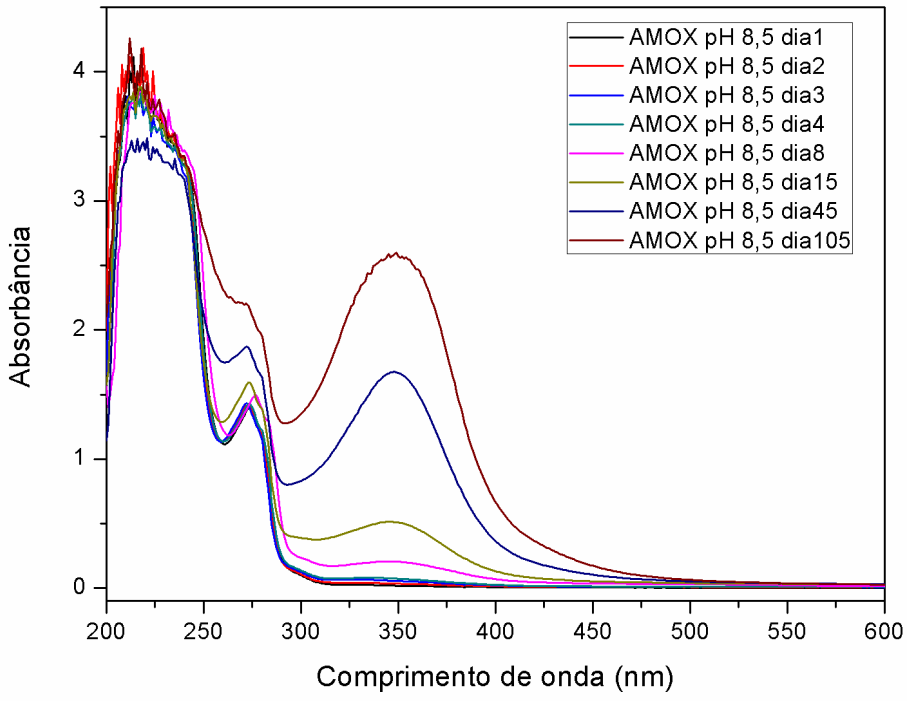
ANEXO B – Espectros de UV-vis da estabilidade da AMOX em pH 2,2 após 105 dias.



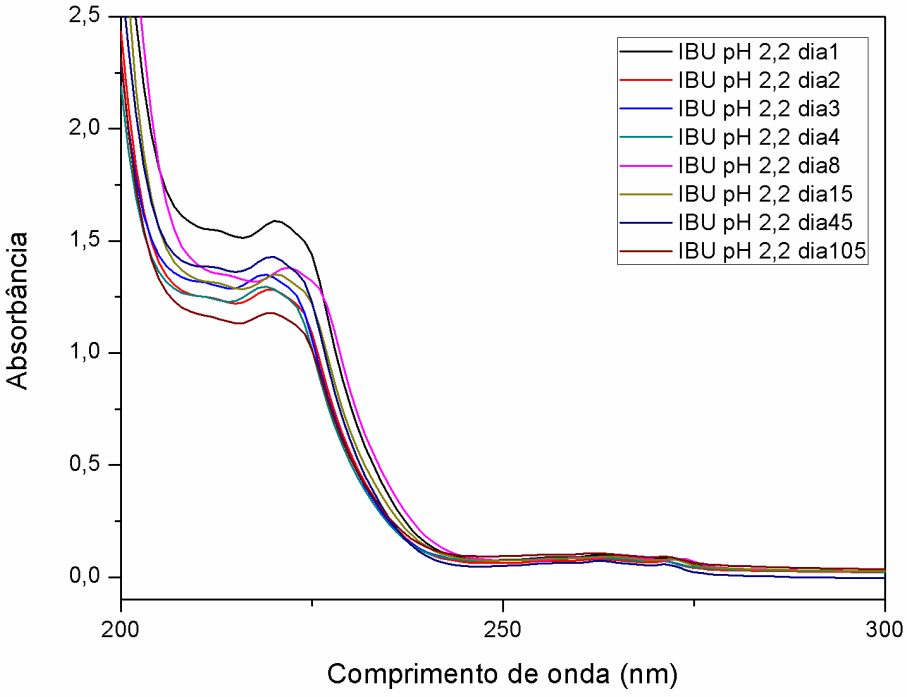
ANEXO C – Espectros de UV-vis da estabilidade da AMOX em pH 7,4 após 105 dias.



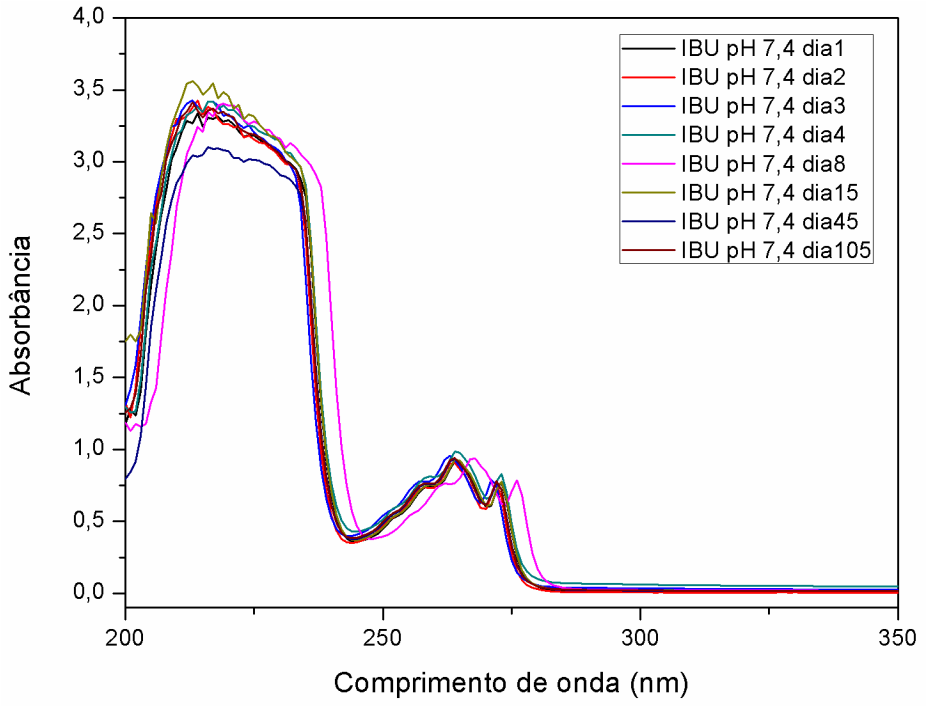
ANEXO D - Espectros de UV-vis da estabilidade da AMOX em pH 8,5 após 105 dias.



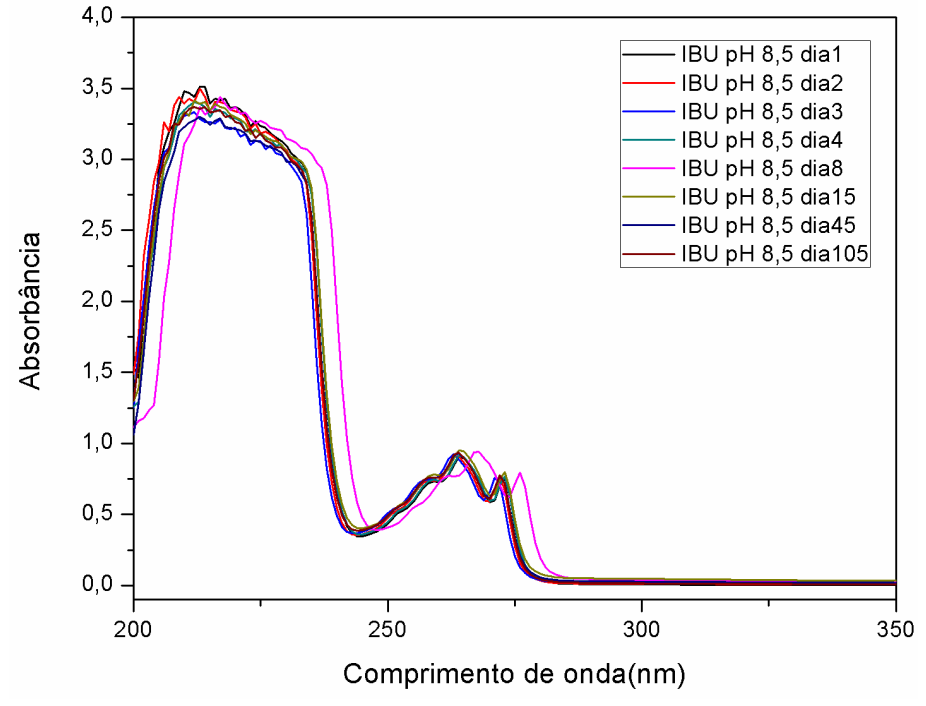
ANEXO E - Espectros de UV-vis da estabilidade do IBU em pH 2,2 após 105 dias.



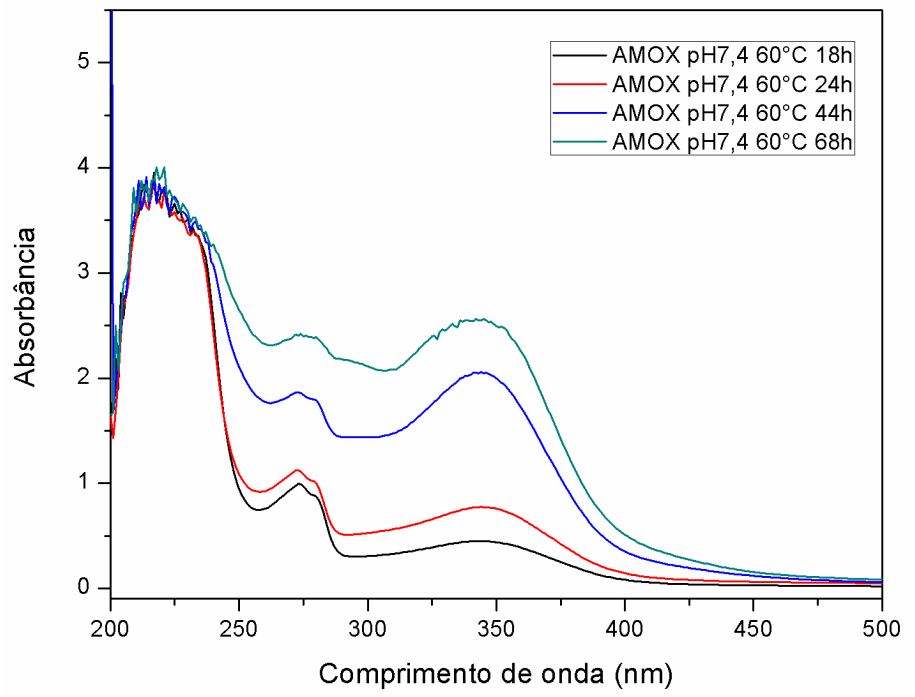
ANEXO F - Espectros de UV-vis da estabilidade do IBU em pH 7,4 após 105 dias.



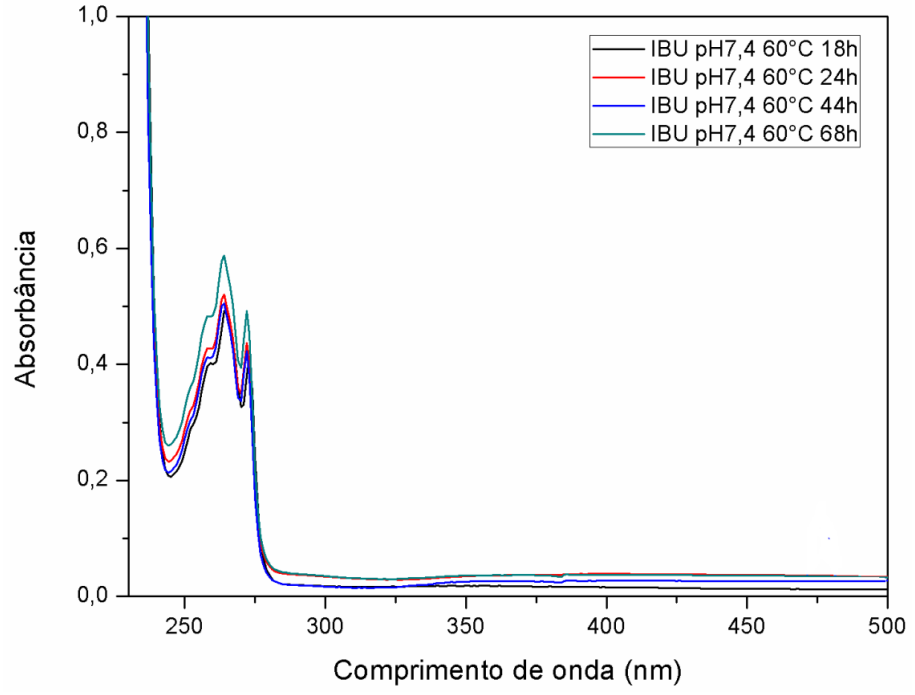
ANEXO G - Espectros de UV-vis da estabilidade do IBU em pH 8,5 após 105 dias.



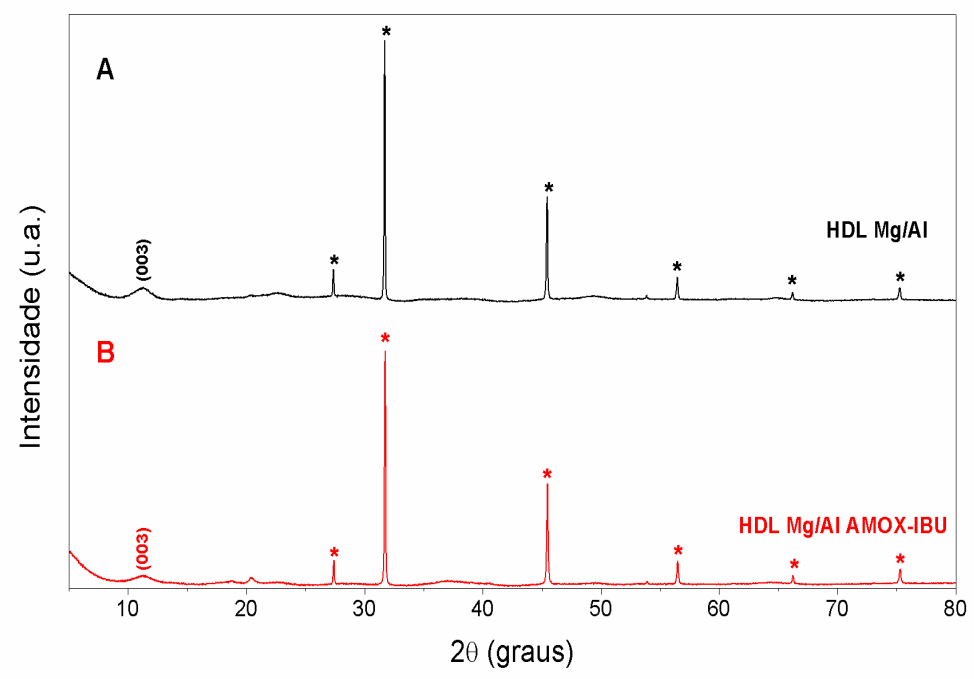
ANEXO H – Espectros de UV-vis da estabilidade da AMOX em tampão fosfato pH 7,4 a 60°C.



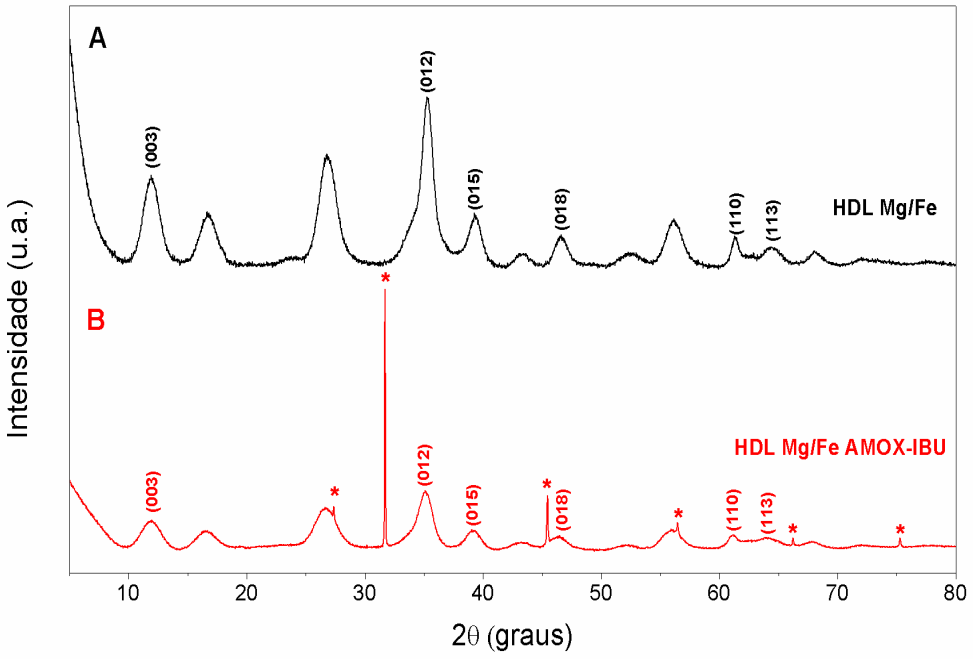
ANEXO I – Espectros de UV-vis da estabilidade do IBU em tampão fosfato pH 7,4 a 60°C.



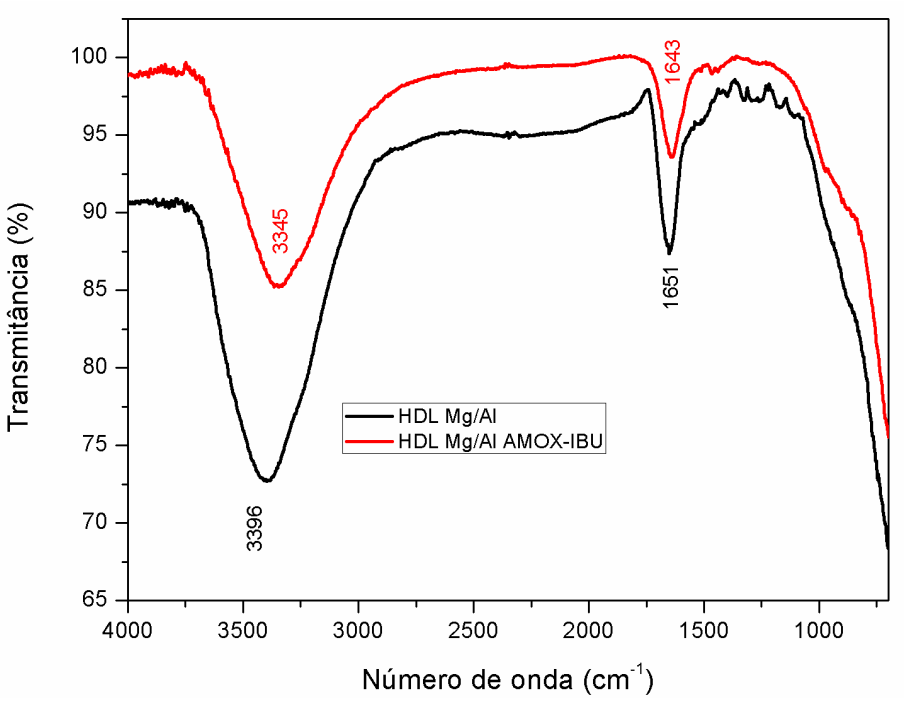
ANEXO J – Difratogramas de raios X do HDL Mg/Al (A) e HDL Mg/Al AMOX-IBU (B).



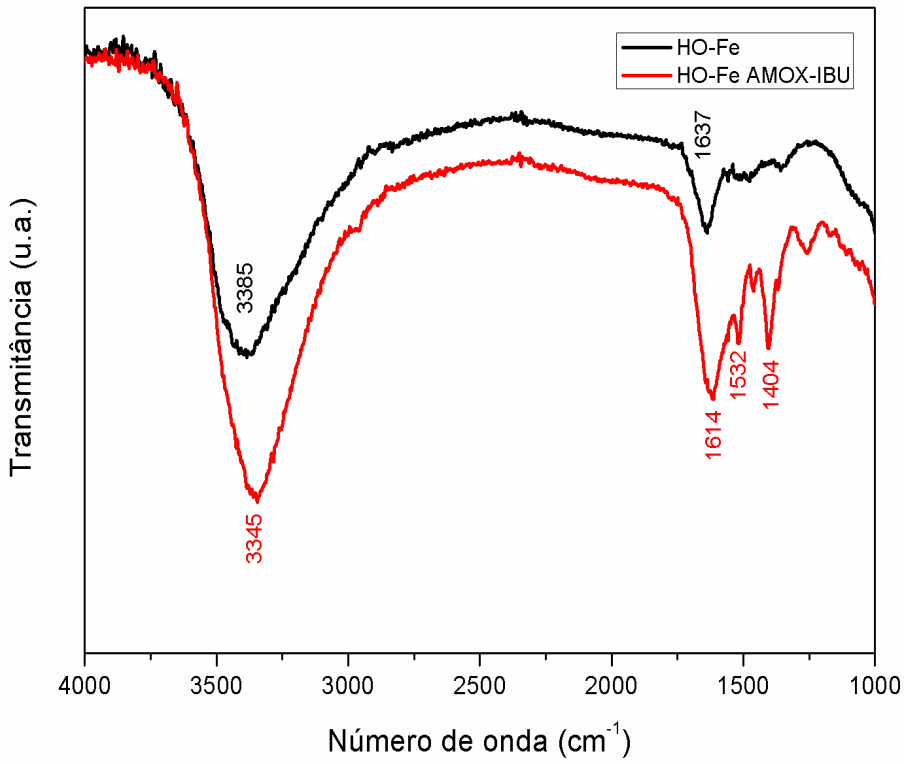
ANEXO K – Difratogramas de raios X do HO-Fe (A) e HO-Fe AMOX-IBU (B).



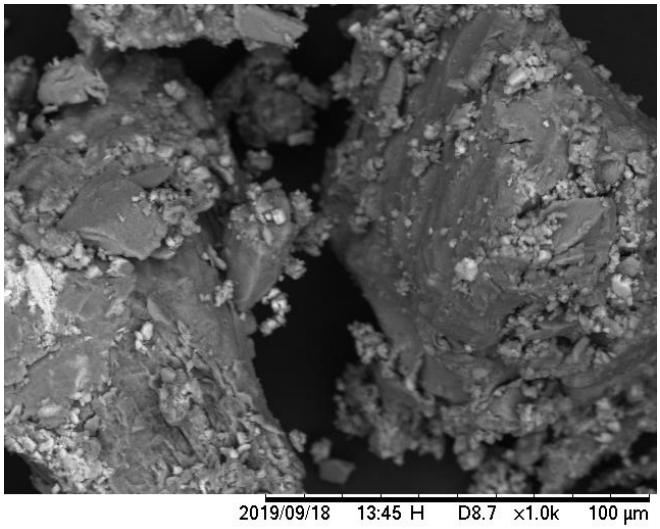
ANEXO L – Espectros de IV do HDL Mg/Al e HDL Mg/Al AMOX-IBU.



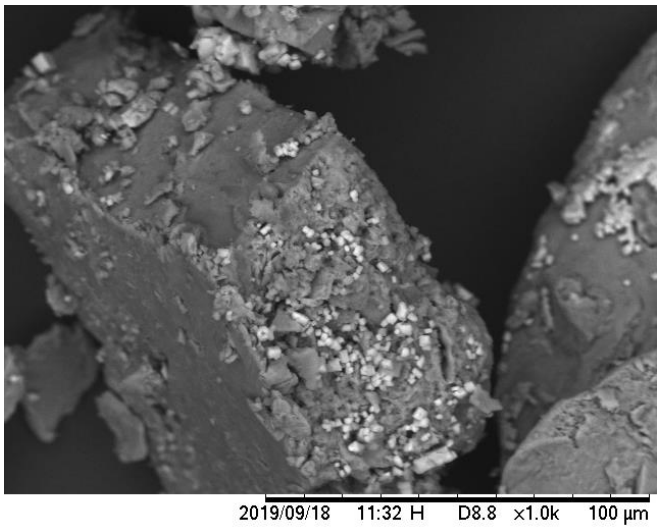
ANEXO M – Espectros de IV do HO-Fe e HO-Fe AMOX-IBU.



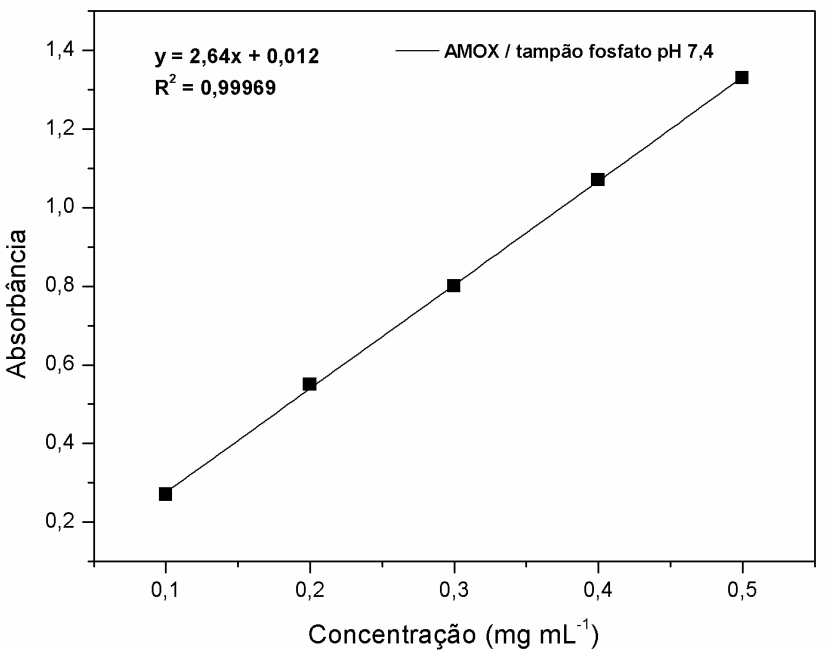
ANEXO N – Micrografia de MEV do HDL Mg/Al.



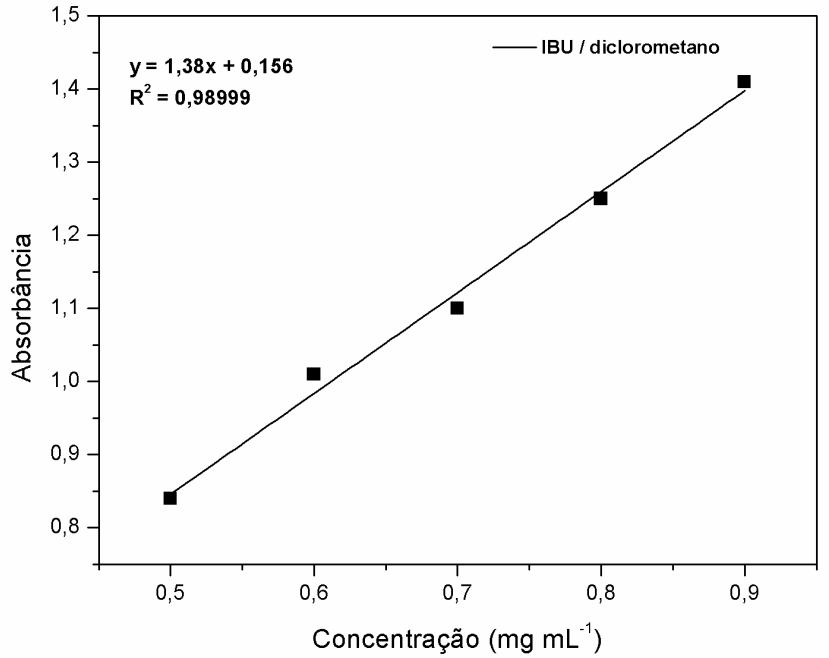
ANEXO O – Micrografia de MEV do HDL Mg/Al AMOX-IBU.



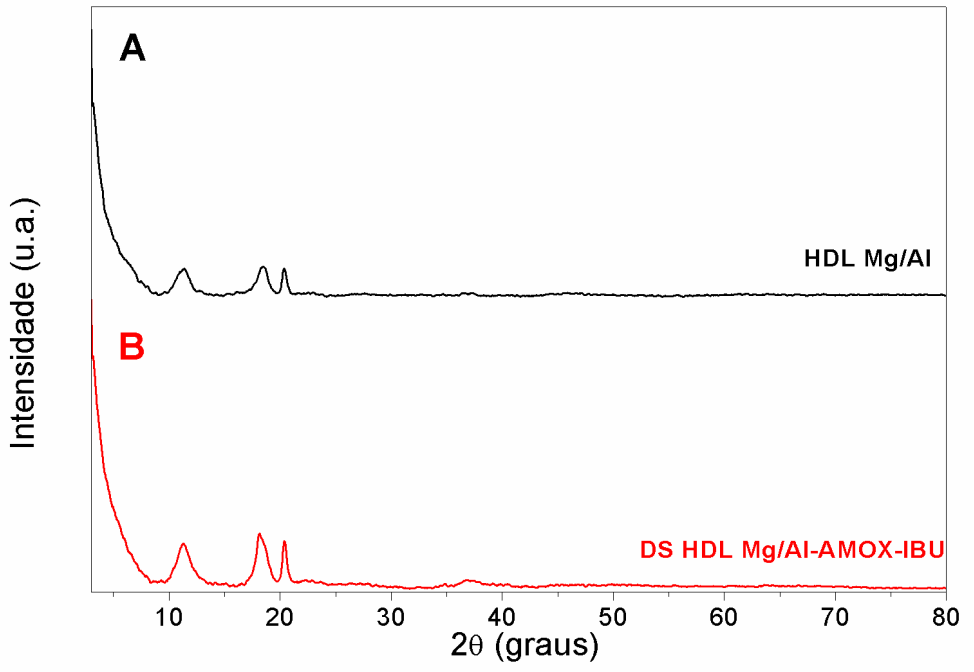
ANEXO P – Curva de calibração da AMOX em tampão fosfato



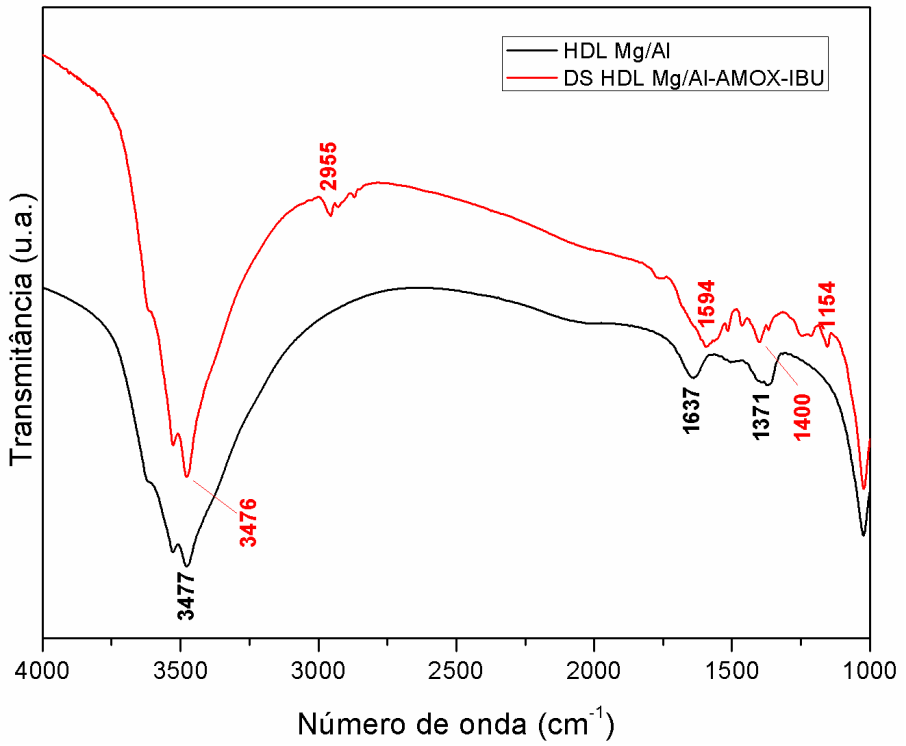
ANEXO Q – Curva de calibração do IBU em diclorometano.



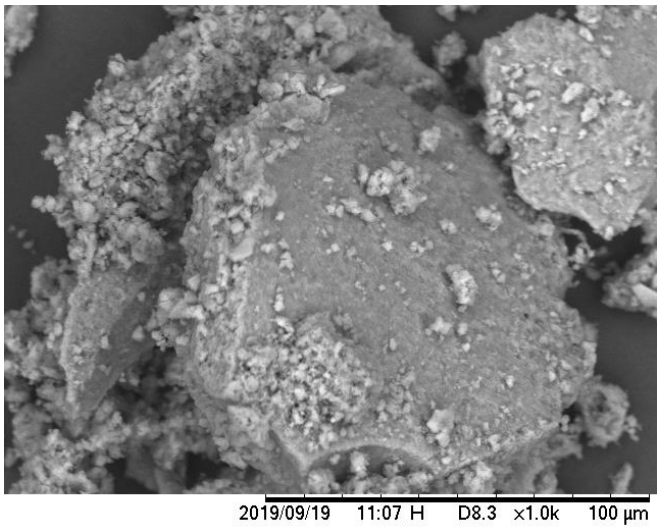
ANEXO R – Difratogramas de raios X do HDL Mg/Al (A) e DS HDL Mg/Al AMOX-IBU (B).



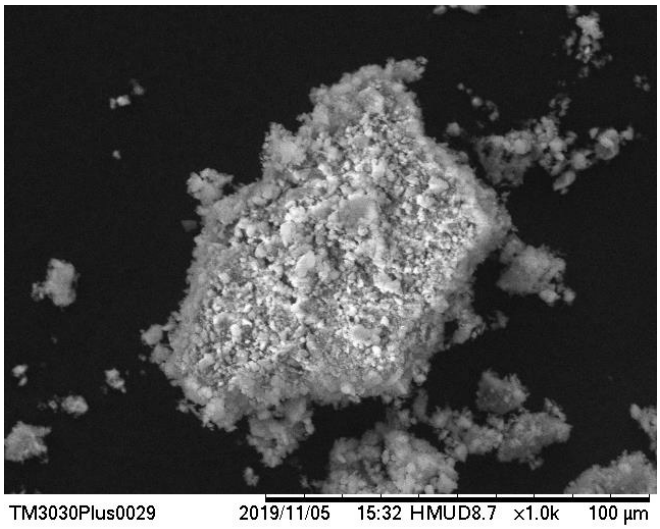
ANEXO S – Espectros de IV do HDL Mg/Al e DS HDL Mg/Al AMOX-IBU.



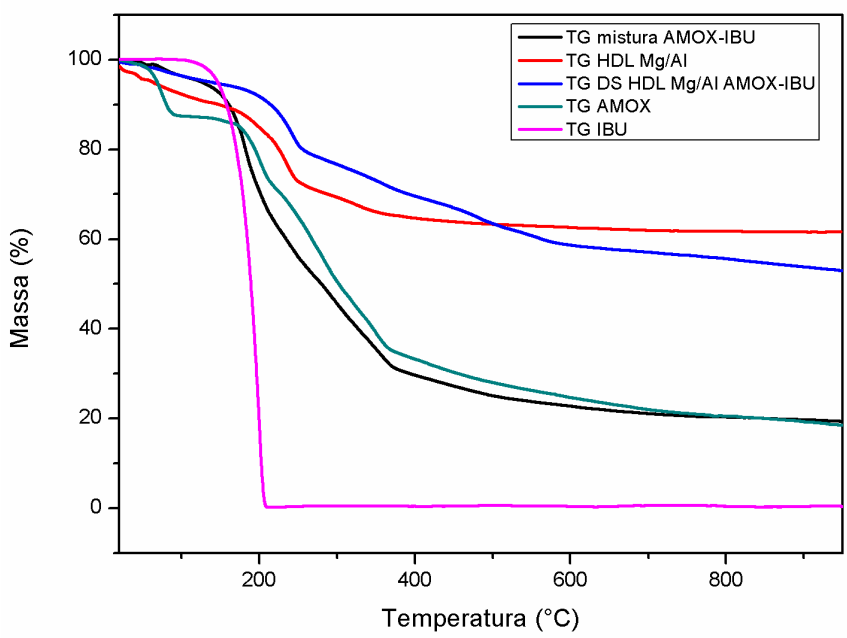
ANEXO T – Micrografia de MEV do HDL Mg/Al.



ANEXO U – Micrografia de MEV da DS HDL Mg/Al AMOX-IBU.



ANEXO V – Curvas de TG do da mistura AMOX-IBU, HDL Mg/Al, DS HDL Mg/Al AMOX-IBU, AMOX pura e IBU puro.



ANEXO X – Contaminação nas placas de AMOX, IBU e mistura AMOX-IBU.

