

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**OBTENÇÃO DE FIBRAS DE POLI (ÁCIDO LÁTICO): CERÂMICA PARA APLICAÇÃO
EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO PROLONGADA DA CLOXACILINA**

Mayara Coelho Sá*

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de DOUTORA EM
CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA.

Orientador(a): Dra. Elaine Cristina Paris

*** bolsista (FAPEMA - Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento
Científico e Tecnológico do Maranhão)**

**São Carlos - SP
2022**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Mayara Coelho Sá, realizada em 28/05/2020.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Elaine Cristina Paris (EMBRAPA)

Prof. Dr. Caio Marcio Paranhos da Silva (UFSCar)

Profa. Dra. Tânia Regina Giraldi (UNIFAL)

Prof. Dr. Elton Fabiano Sitta (UFSCar)

Profa. Dra. Maria Inês Basso Bernardi (USP)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

"[...] A ciência é a alma da prosperidade das nações e a fonte de todo progresso".

Louis Pasteur

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Maria dos Remédios Sá e
Militino Sá.

Ao meu Marido, Edson Tobias de Jesus.

À minha filha Gabriela de Jesus.

Por todo o amor, carinho e compreensão.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida.

À Dra Elaine Cristina Paris pela oportunidade e orientação durante a fase de desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca pelas contribuições e disponibilidade para avaliação desse trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação em Química (PPGQ/UFSCar), e em especial aos professores pela oportunidade do aprendizado e realização do doutorado.

À Embrapa Instrumentação pela infraestrutura e aos técnicos por toda a dedicação e colaboração nesse projeto de doutorado.

Ao Instituto Federal do Maranhão por conceder afastamento para a realização do doutorado.

Aos meus pais, Maria dos Remédios e Militino Sá, por tornar consistente a minha base familiar e por todo amor a mim dedicado. E, também aos meus familiares, Marcos, Vitalina, Sofia, Maria Eduarda e Maria Fernanda pelo amor e incentivo.

Aos Drs. Radell Echemendía e Waléria Echemendía por toda ajuda e contribuições.

À FAPEMA por conceder um ano de bolsa.

A todos os membros do grupo de pesquisa pelas discussões e colaborações durante a trajetória de doutoramento.

LISTA DE TABELA

TABELA 1.1 - Efeitos dos parâmetros na morfologia das fibras.	5
TABELA 3.1 - Reagentes e padrões utilizados na produção das fibras	22
TABELA 3.2 – Todos os sistemas e abreviaturas empregadas neste trabalho	24
TABELA 5.1 - Valores do espaço basal para as argilas (laponita e montmorilonita) antes e após inserção na matriz PLA_AMIDO	42
TABELA 5.2 - Relação das temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação e as respectivas perdas de massa para as amostras PLA, PLA_CS; PLA_CB; CS e CB.	54
TABELA 5.3 - Relação das temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação e as respectivas perdas de massa para as amostras PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_CS; PLA_AMIDO_CB.....	58
TABELA 5.4 - Relação das temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação e as respectivas perdas de massa para as amostras PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_LAPONITA_CS; PLA_AMIDO_LAPONITA_CB.....	60
TABELA 5.5 - Relação das temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação e as respectivas perdas de massa para as amostras PLA_AMIDO_MONTMORILONITA; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB.....	63
TABELA 5.6 - Eventos térmicos (DSC) para o sistema PLA após primeiro aquecimento	65
TABELA 5.7 - Eventos térmicos (DSC) para o sistema PLA_AMIDO após primeiro aquecimento.....	67
TABELA 5.8 - Eventos térmicos (DSC) para o sistema PLA_AMIDO_LAPONITA após primeiro aquecimento.....	69
TABELA 5.9 - Eventos térmicos (DSC) para o sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA após primeiro aquecimento.....	71
TABELA 5.10 - Apresenta os valores de tensão e deformação dos sistemas produzidos por eletrofiação	74
TABELA 5.11- Parâmetros cinéticos calculados pelos modelos cinéticos para todas as fibras desenvolvidas.....	87

LISTA DE FIGURA

FIGURA 1.1- Ilustração esquemática do sistema de eletrofição.....	4
FIGURA 1.2 - Representação gráfica de várias estratégias para a preparação de fibras carregadas com fármacos. Fonte: Figura adaptada por HE et al, 2014.	7
FIGURA 1.3 - Isômeros ópticos do a) ácido láctico: b) L-ácido láctico e c) D-ácido láctico	8
FIGURA 1.4 – a) Imagem da manta de fibras de PLA; b) imagem de microscopia eletrônica de varredura das fibras do PLA. Fonte: XU et al 2015.	10
FIGURA 1.5 - Estrutura química do amido: a) amilose e b) amilopectina.....	11
FIGURA 1.6 - Representação esquemática da laponita: a) composição atômica; b) estrutura cristalina e b) formato da laponita em disco.	16
FIGURA 1.7 – Estrutura química da cloxacilina: (A) sódica e (B) benzatina.....	18
FIGURA 1.8 – Rotas de Impactos dos fármacos no ambiente	20
FIGURA 5.1 – Difratomogramas de raios X das fibras eletrofiadas para o sistema PLA: a) Cloxacilina Sódica (CS) e PLA_CS (▼) pico intenso de CS; b) Cloxacilina Benzatina (CB) e PLA_CB, (▼) pico intenso de CB.	30
FIGURA 5.2 – Espectros Raman das fibras eletrofiadas do sistema PLA: a) Cloxacilina sódica e PLA_CS; b) Cloxacilina benzatina e PLA_CB.	31
FIGURA 5.3 - Espectros na região do infravermelho para o sistema PLA: a) fibras PLA, PLA_CS e padrão da Cloxacilina sódica (CS); b) fibras de PLA, PLA_CB e padrão da Cloxacilina Benzatina (CB)	33
FIGURA 5.4 - Difratomogramas de raios X das fibras eletrofiadas para o sistema PLA_AMIDO: a) Cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_CS (▼) picos intensos CS ; b) Cloxacilina benzatina (CB) e PLA_AMIDO_CB (▼) picos intensos CB. (■) pico intenso do amido.	36
FIGURA 5.5 - Espectros Raman das fibras eletrofiadas do sistema PLA_AMIDO: a) cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_CS; b) Cloxacilina benzatina (CB) e PLA_AMIDO_CB.....	37
FIGURA 5.6 - Espectros na região do infravermelho para o sistema PLA_AMIDO: a) Cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_CS; b) Cloxacilina benzatina (CB) e PLA_AMIDO_CB.....	38

- FIGURA 5.7 – Difrátogramas de raios X (a e b) e espectros Ramam (c e d) das fibras eletrofiadas para o sistema PLA_AMIDO_LAPONITA; cloxacilina sódica (CS), benzatina (CB); PLA_AMIDO_LAPONITA_CS e PLA_AMIDO_LAPONITA_CB. (★) picos intensos da laponita..... 39
- FIGURA 5.8 - Espectros na região do infravermelho para o sistema PLA_AMIDO; Cloxacilina sódica (CS), benzatina (CB); PLA_AMIDO_CS e PLA_AMIDO_CB 40
- FIGURA 5.9 - Difrátogramas de raios X das fibras eletrofiadas para o sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA: a) Cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS; b) Cloxacilina benzatina (CB) e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB. (★) picos intensos da montmorilonita..... 41
- FIGURA 5.10 – Esquema ilustrativo das possibilidades de arranjo do polímero e argila. Fonte: Adaptado de ALEXANDRE et al.,2009. 43
- FIGURA 5.11 – Espectros Raman das fibras eletrofiadas do sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA: a) cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS; b) cloxacilina Benzatina (CB) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB..... 44
- FIGURA 5.12 – Espectros na região do infravermelho para o sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB; cloxacilina sódica e benzatina. 45
- FIGURA 5.13 – Micrografias das fibras: a) PLA; b) PLA_CB e c) PLA_CS, d-f) distribuição do tamanho das fibras obtidas. 46
- FIGURA 5.14 - Micrografias obtidas pelo MEV das fibras: a) PLA_AMIDO; b) PLA_AMIDO_CB e c) PLA_AMIDO_CS, e d) distribuição do tamanho das fibras obtidas..... 48
- FIGURA 5.15 - Micrografias obtidas pelo MEV das fibras de a) PLA_AMIDO_LAPONITA; b) PLA_AMIDO_LAPONITA_CB e c) PLA_AMIDO_LAPONITA_CS, e d) Distribuição do tamanho das fibras. 49
- FIGURA 5.16 - Imagens de MEV-EDS da amostra PLA_AMIDO_LAPONITA 50
- FIGURA 5.17 - Micrografias obtidas pelo MEV das fibras de a) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA b) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB

e c)PLA_AMIDO_ MONTMORILONITA _CS, e d-f) Distribuição do tamanho das fibras.....	51
FIGURA 5.18 - Imagens de MEV-EDS da amostra PLA_AMIDO_MONTMORILONITA	52
FIGURA 5.19 – Sistema PLA: a) e c) correspondem às curvas de TG relacionadas à perda de massa em função da temperatura e b) e d) às curvas DTG relacionando a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, utilizando atmosfera de ar sintético e taxa de aquecimento 10°C/min.....	53
FIGURA 5.20 – Sistema PLA_AMIDO: a) e c) correspondem às curvas de TG relacionadas à perda de massa em função da temperatura das amostra, e b) e d) às curvas de DTG relacionando a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, utilizando atmosfera de ar sintético e taxa de aquecimento 10°C/min.....	57
FIGURA 5.21 – Sistema PLA_AMIDO_LAPONITA: a) e c) correspondem as curvas de TG relacionada a perda de massa em função da temperatura das amostra e b) e d) as curvas DTG relacionando a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, utilizando atmosfera de ar sintético e taxa de aquecimento 10°C/min.....	59
FIGURA 5.22 - Sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA: a) e c) correspondem as curvas de TG relacionada a perda de massa em função da temperatura das amostra e b) e d) as curvas DTG relacionando a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, utilizando atmosfera de ar sintético e taxa de aquecimento 10°C/min	62
FIGURA 5.23 – curvas de DSC dos sistema PLA: a) PLA_CS e b) PLA_CB.....	65
FIGURA 5.24 - Curvas de DSC das amostras de fibras processadas por eletrofiação: a) sistema PLA_AMIDO, PLA_AMIDO_CS e b) sistema PLA_AMIDO_CB.....	66
FIGURA 5.25 - Curvas de DSC das amostras de fibras processadas por eletrofiação dos sistemas: a) PLA_AMIDO_LAPONITA, b) PLA_AMIDO_LAPONITA_CS e c) PLA_AMIDO_LAPONITA_CB.....	68
FIGURA 5.26 - Curvas de DSC das amostras de PLA_AMIDO_MONTMORILONITA, PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB.....	70

FIGURA 5.27 - Ensaio de tensão x deformação para os sistemas desenvolvidos por eletrofiação: a) PLA, b) PLA_AMIDO, c) PLA_AMIDO_LAPONITA e c) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA.....	72
FIGURA 5.28 – Ensaio bactericida com a bactéria <i>E. coli</i> no meio contendo as amostras PLA; PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA com os fármacos CS e CB	75
FIGURA 5.29 – Halo de inibição de crescimento da bactéria <i>S. aureus</i> no meio Contendo as amostras PLA; PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_MONTMORILLO	76
FIGURA 5.30 – a) Medida do halo de inibição a partir das fibras produzidas por eletrofiação e b) aferiu-se os halos de inibição com auxílio de paquímetro para todos os sistemas utilizando a bactéria <i>S. aureus</i>	77
FIGURA 5.31 - Perfil de liberação da Cloxacilina para as amostras a)PLA_CS e PLA_CB; b) comparação da liberação entre 5 horas, 12 horas e 24 horas.....	78
FIGURA 5.32 - Perfil de liberação da Cloxacilina para as amostras a) PLA_AMIDO_CS e PLA_AMIDO_CB; b) liberação após 24 horas	80
FIGURA 5.33 - Perfil de liberação da Cloxacilina para as amostras a) PLA_AMIDO_LAPONITA_CS e PLA_AMIDO_LAPONITA_CB; b) liberação após 24 horas.....	82
FIGURA 5.34 - Perfil de liberação das cloxacilinas para as amostras de fibras processadas por eletrofiação, sistema: a) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB; eb) comparação da liberação após 24 horas de liberação.....	84
FIGURA 5.35 - Ajustes com base nos modelo Korsmeyer-Peppas.....	86

RESUMO

OBTENÇÃO DE FIBRAS DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO):CERÂMICA PARA APLICAÇÃO EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO PROLONGADA DA CLOXACILINA. O uso indiscriminado de antibióticos causa sérios problemas à saúde humana e ao ambiente. Isso porque o consumo excessivo desses medicamentos pode provocar o desenvolvimento de superbactérias capazes de resistir aos efeitos dos tratamentos em humanos, além de ocasionar consequências ambientais. Dentre as alternativas usadas, as fibras obtidas por eletrofiação destacam-se como estratégia simples e de baixo custo, podendo aumentar a biodisponibilidade do princípio ativo no local infeccionado, por exemplo, atingindo os níveis terapêuticos com uma única dose. Assim, o objetivo deste trabalho foi obter fibra poli (ácido láctico):amido:argila para liberação controlada/prolongada de fármacos. As fibras foram produzidas, utilizando-se a técnica da eletrofiação em que foram desenvolvidos quatro sistemas diferentes: poli (ácido láctico); poliácido láctico e amido; poliácido láctico, amido e laponita; poliácido láctico, amido e montmorilonita. No entanto, para cada sistema desenvolvido foram testadas a cloxacilina benzatina e a sódica. Foram realizados testes bactericidas com todas as amostras frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Além disso, foram feitas análise mecânica dos sistemas desenvolvidos. Para os ensaios de liberação foram realizados em soluções tamponadas pH 7 e os fármacos foram quantificados com auxílio do espectrofotômetro ultravioleta-visível. Os resultados indicaram que as fibras do sistema poli (ácido láctico), amido e montmorilonita apresentaram maiores valores de tensão e deformação, aproximadamente 4 vezes, quando comparada as fibras de poli (ácido láctico). Nos testes de liberação, foram observados perfis de liberação controlada/prolongada, ao adicionar as argilas, laponita e montmorilonita, as quais foram ajustadas pelo modelo de Korsmeyer-Peppas. Nos demais sistemas, observaram-se perfis de liberação rápida. Os ensaios microbiológicos para esses sistemas, usando cloxacilinas sódica e benzatina, comprovaram atividade bactericida frente à bactéria *S. aureus*. Portanto, os sistemas que contêm argilas são promissores para aplicação na liberação de cloxacilinas, em especial aqueles que necessitem de dosagem, cuja concentração permaneça por longo período na faixa terapêutica desse medicamento.

ABSTRACT

OBTAINING POLY (LACTIC ACID) FIBERS: CERAMIC FOR CLOXACILLIN PROLONGED RELEASE SYSTEMS. The excessive consumption of these drugs can cause the development of superbugs capable of resisting treatments in humans, in addition to environmental consequences. Among the alternatives used, fibers obtained by electrospinning stand out as a simple and low cost strategy, increasing the bioavailability of an active principle at an infected site, for example, reaching therapeutic levels with a single dose. Thus, the objective of this work was to obtain fiber poly(lactic acid): starch: clay for controlled / prolonged drug release. The fibers were produced using electrospinning technique in which four different systems were developed: poly(lactic acid); poly(lactic acid) and starch; poly(lactic acid), starch and laponite; poly(lactic acid), starch and montmorillonite. However, for each system developed, benzathine and sodium cloxacillin were tested. Bactericidal tests were carried out with all samples against the bacteria *S. aureus* and *E. coli*. In addition, mechanical analysis of the developed systems was carried out. The release tests were carried out in buffered pH 7 solutions and the drugs were quantified with the aid of an ultraviolet-visible spectrophotometer. The results indicated that the fibers of the poly(lactic acid) starch and montmorillonite system showed higher values of tension and deformation, approximately 4 times, when compared to the poly(lactic acid) fibers. In the release tests, controlled/prolonged release profiles were observed, by adding clays, laponite and montmorillonite, which were adjusted by the Korsmeyer-Peppas model. In the other systems, burst release profiles were observed. Microbiological tests for these systems, using benzathine and sodium cloxacillin, have shown bactericidal activity against the bacterium *S. aureus*. Therefore, systems that contain clays are promising for application involving the release of cloxacillins, especially those that require dosage, whose concentration remains for a long time in the therapeutic range of this medication

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Processamento de fibra por eletrofiação	2
1.2	Polímero poli (ácido láctico) (PLA)	7
1.2.1	<i>Amido.....</i>	<i>11</i>
1.3	Argilominerais laponita e montmorilonita	14
1.3.1	<i>Laponita</i>	<i>15</i>
1.4	Cloxacilinas: usos, limitações e aplicações	18
2	OBJETIVOS	21
2.1	GERAL.....	21
2.2	ESPECÍFICOS.....	21
3	MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1	Preparo de solução para eletrofiação.....	23
3.1.1	<i>Sistema PLA.....</i>	<i>23</i>
3.1.2	<i>Sistema PLA com amido</i>	<i>23</i>
3.1.3	<i>Sistema PLA com amido reforçada com montmorilonita (MMT)</i>	<i>23</i>
3.1.4	<i>Sistema PLA com amido reforçada com laponita (LAP).....</i>	<i>24</i>
3.1.5	<i>Obtenção das fibras via eletrofiação</i>	<i>24</i>
3.2	Atividade antimicrobiana: Método de disco difusão.....	25
3.3	Ensaio de liberação	25
4	CARACTERIZAÇÕES DAS FIBRAS.....	26
4.1	Difração de raios X (DRX)	26
4.2	Espectrofotometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	26
4.3	Espectroscopia Raman com transformada de Fourier	27
4.4	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	27
4.5	Análise Termogravimétrica (TGA)	28
4.6	Análise Térmica por Calorimetria de Varredura Exploratória (DSC)	28
4.7	Análise Dinâmico mecânico (DMA)	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1	Análise estrutural	29
5.1.1	<i>Sistema PLA.....</i>	<i>29</i>
5.1.2	<i>Sistema PLA_AMIDO</i>	<i>34</i>
5.1.3	<i>Sistema PLA_AMIDO_LAPONITA</i>	<i>38</i>

5.1.4	SISTEMA PLA_AMIDO_MONTMORILONITA	41
5.2	Morfologia das Fibras	46
5.2.1	Sistema PLA.....	46
5.2.2	Sistema PLA_AMIDO	47
5.2.3	Sistema PLA_AMIDO_LAPONITA	48
5.2.4	Sistema PLA_AMIDO MONTMORILONITA	50
5.3	Análises térmicas.....	52
5.3.1	Análise termogravimétrica (TGA)	52
5.3.2	Calorimetria de Varredura Exploratória (DSC)	64
5.3.3	Análise Dinâmico-Mecânica	71
5.3.4	Atividade bactericida.....	75
5.3.5	Ensaio de Liberação	78
5.3.6	Cinética de liberação	85
6	CONCLUSÃO.....	89
7	REFERÊNCIAS.....	91

1 INTRODUÇÃO

Os antibióticos têm sido rotineiramente usados para manter humanos e animais saudáveis, pois são agentes químicos naturais ou sintéticos utilizados para inibir o crescimento ou matar microorganismos (ZHU et al., 2013). Os antibióticos são uma classe de antimicrobianos, denominados bactericidas ou bacteriostáticos, ou seja, quando matam são bactericidas e quando inibem o crescimento, bacteriostáticos (WANG et al., 2019).

A descoberta de antibióticos reduziu significativamente a mortalidade resultante de doenças infecciosas, como também proporcionou segurança nos procedimentos cirúrgicos (LIU et al., 2017). Eles também são empregados extensivamente para prevenir e tratar doenças infecciosas em humanos e animais. Após a invenção da penicilina para uso antibacteriano em 1942, um marco histórico para a sociedade, vários antibióticos foram desenvolvidos rapidamente para tratamento de inúmeras infecções (QIAO et al., 2018). Porém, o abuso de antibióticos tem produzido grandes quantidades de resíduos nocivos a serem liberados no ambiente (SHAO et al., 2018).

Segundo as estatísticas, existem mais de 250 classificações diferentes de antibióticos registrados para tratamento de humanos e animais (AHMED et al., 2015). A China tem a maior produção e consumo de antibióticos do mundo, em 2013, foram produzidas $2,48 \times 10^5$ e consumidas $1,62 \times 10^5$ toneladas, impactando o ambiente com um total de $5,38 \times 10^4$ toneladas, das quais 46% foram destinados ao corpo aquático e 54% ao solo (LI et al., 2018; QIAO et al., 2018; ZHANG et al., 2015). O Brasil, por sua vez, está entre os países com maior consumo de antibióticos do mundo. Conforme, a Organização Mundial de Saúde, o Brasil tem consumo diário em torno de 2.225,47 toneladas (WHO, 2018).

A grande questão do uso indiscriminado de fármacos está relacionada à resistência bacteriana, que se constitui uma séria ameaça para a saúde humana e ao ambiente. Isto porque, com administração de dose excessiva desse medicamento ao paciente, as bactérias podem se modificar geneticamente, tornando-se super-resistentes a esses fármacos, ou seja, bactérias causadoras de doenças infecciosas como

pneumonia, meningite, tuberculose podem resistir aos efeitos da medicação (SZABÓ et al., 2016).

Baseada nessas considerações, a indústria farmacêutica e muitos pesquisadores têm desenvolvido plataformas para o tratamento de diversas doenças, tais como: infecções bacterianas, câncer, tuberculoses entre outras (LI et al., 2018; NASIRUDDIN et al., 2017). Dentre essas alternativas, os nanocarreadores constituem uma estratégia interessante para a melhoria da ação terapêutica dos princípios ativos existentes, uma vez que, esses sistemas permitem liberar o fármaco de forma controlada dentro da faixa terapêutica por tempo prolongado utilizando dosagem única (PRASAD et al., 2018).

Esses materiais por estarem em escala nanométrica são potencialmente promissores em atuação no organismo vivo e, como consequência, podem promover a redução da resistência das bactérias aos antimicrobianos, bem como aos efeitos colaterais. Sobretudo, os nanocarreadores podem ser mais eficientes, quando comparados aos métodos convencionais, que se limitam a necessidade de dosagem suficiente para atingir e permanecer por longo tempo na faixa terapêutica. Caso, não seja administrada uma nova dose, o tratamento pode se tornar ineficaz, ou seja, fora da faixa terapêutica. Contudo, concentrações elevadas podem ser tóxicas ao paciente (DAS et al., 2011).

Neste sentido, vários sistemas de administração de fármacos de forma controlada foram desenvolvidos e/ou estão sendo investigados, tais como: formulações em lipossomas, micelas poliméricas, partículas, fibras entre outros. As fibras processadas por eletrofiação têm atraído atenção de pesquisadores nas últimas décadas, porque além de apresentar potencialidades para melhorar os efeitos terapêuticos, pode reduzir a toxicidade das formas de dosagem convencionais, como também pode ser versátil na seleção de seus materiais e insumos farmacêuticos ativos, utilizados nos sistemas de liberação controlada.

1.1 Processamento de fibra por eletrofiação

Dentre os diversos sistemas desenvolvidos para liberação controlada de fármacos, aqueles produzidos por eletrofiação apresentam algumas vantagens, sendo

possível manipular a taxa de degradação das fibras, e consequentemente a taxa de liberação do medicamento. Acrescentam-se a essa vantagem, a alta capacidade de encapsulamento do fármaco, facilidade de operação para liberação imediata ou prolongada, podendo ser utilizado também, como curativo para tratamentos inflamatórios ou quimioterápicos (TORRES et al., 2018).

Para a produção das nanofibras, a técnica da eletrofiação é comumente empregada. No entanto, os primeiros estudos foram iniciados por Rayleigh em 1897 e posteriormente detalhados em 1914 com os trabalhos de eletropulverização do pesquisador Zeleny (SILL e VON, 2008). Embora iniciados e detalhados os estudos em anos anteriores, o marco principal foi quando Formhals patenteou a técnica em 1934, publicando descrições do método (FORMHALS, 1934). Em 1969, Taylor estudou o jato acionado eletricamente, que formou as bases para a eletrofiação (TAYLOR, 1969). Nas décadas seguintes, apenas alguns pesquisadores estudaram e usaram a eletrofiação, mas no início do século XXI a técnica começou a ganhar amplo interesse na comunidade de pesquisa por ser considerada simples na instrumentação e versátil para preparação de fibras, e principalmente por produzir materiais com elevada área de superfície e diâmetros de fibras controlados, abrindo novos caminhos para futuras tecnologias e aplicações, especialmente para a área médica (KHADKA e HAYNIE, 2012).

Um típico aparelho de eletrofiação inclui uma fonte de alimentação de alta voltagem, uma seringa com agulha metálica e um coletor (FIGURA 1.1). Para que sejam produzidas fibras poliméricas, aplica-se uma alta tensão para criar um campo elétrico entre a ponta da agulha metálica e o coletor com bomba hidráulica aterrado (HAN et al., 2008). Inicialmente, prepara-se uma solução polimérica com viscosidade necessária, coloca-se a solução na seringa e ajusta-se os parâmetros da eletrofiação (vazão, tensão e distância). Com auxílio de uma bomba, a solução polimérica flui até a ponta da seringa a uma taxa constante formando uma gota, concomitantemente, após acionamento do sistema de alta voltagem, essa gota adquire uma tensão superficial na ponta da seringa que gradualmente se rompe à medida que o campo elétrico aumenta, isto porque a força eletrostática torna-se suficientemente maior para superar a tensão superficial da gota. Neste instante, um cone denominado cone de Taylor se forma e depois do rompimento da gota, um jato fino será formado em direção ao coletor. Assim, durante o trajeto da solução polimérica até o coletor, ocorre a evaporação do solvente e a formação das

nanofibras sólidas serão depositadas no coletor e uma manta polimérica será formada (HAIDER et al., 2015). A FIGURA 1.1 ilustra o esquema do sistema de eletrofiação.

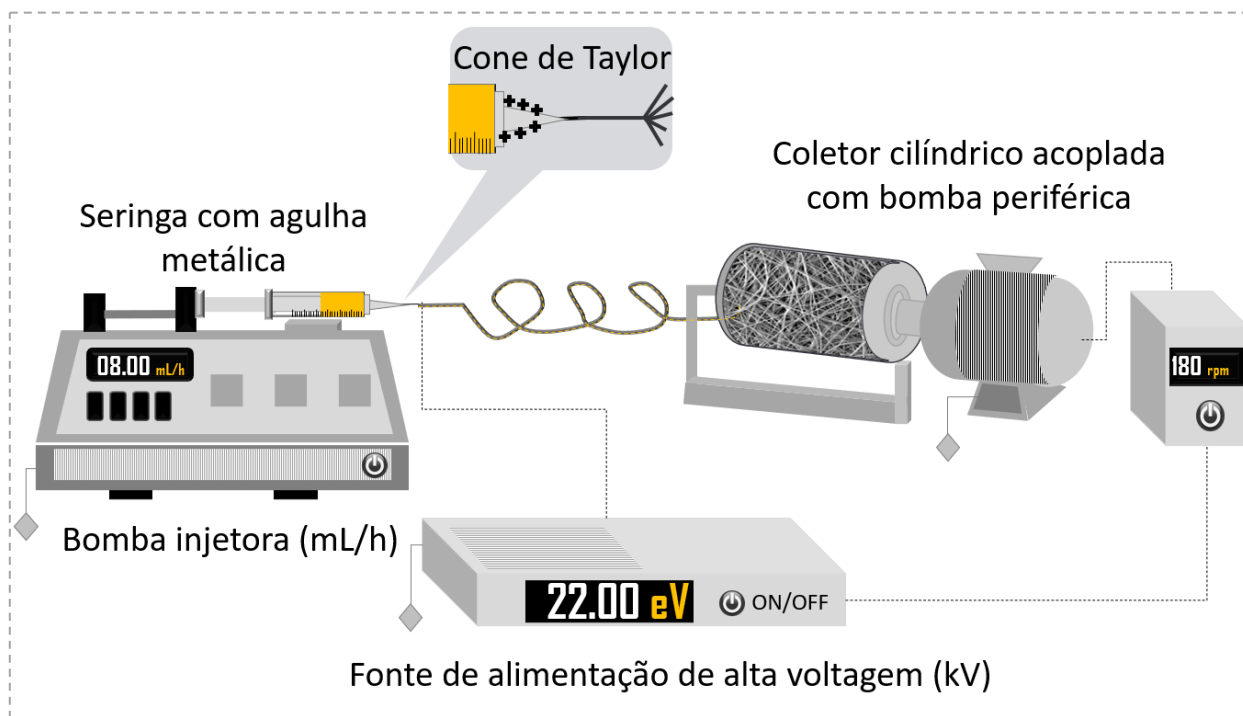


FIGURA 1.1- Ilustração esquemática do sistema de eletrofiação
Fonte: FIGURA adaptada de HE et al 2014.

O sucesso no processo de eletrofiação e a morfologia das nanofibras obtidas dependem de diferentes parâmetros, os quais estão diretamente relacionados. Os parâmetros que afetam a morfologia das nanofibras obtidas podem ser divididos em parâmetros da solução, parâmetros de processamento e condições ambientais. Em termos de parâmetros da solução, a viscosidade, a tensão superficial e a condutividade são as mais determinantes. Entre os parâmetros do processamento, os mais decisivos são a tensão aplicada, a taxa de vazão e a distância da agulha metálica ao coletor. Embora, esses parâmetros têm uma influência predominante na formação e morfologia das nanofibras, o efeito das condições ambientais (temperatura e umidade) não são desprezíveis. A TABELA 1.1, sumariza a relação dos parâmetros com a morfologia das fibras, adaptada de HAIDER et al., 2015.

TABELA 1.1 - Efeitos dos parâmetros na morfologia das fibras.

	Parâmetros	Efeitos na morfologia das fibras
Parâmetros da solução	Concentração	O aumento da concentração leva ao aumento no diâmetro das fibras.
	Viscosidade	O aumento da viscosidade leva à produção de fibras com diâmetros maiores, que podem gerar fibras com defeitos denominados <i>beads</i> .
	Condutividade	O aumento da condutividade leva a produção de fibras mais finas.
	Massa molar do polímero	O aumento da massa molecular do polímero gera nanofibras com defeitos reduzidos.
	Volatilidade do solvente	Solventes mais voláteis requerem uma taxa de vazão mais alta que leva à formação de fibras com menos <i>beads</i> .
	Constante dielétrica	O solvente empregado deve apresentar uma constante dielétrica suficiente para que a eletrofiação seja bem sucedida.
Parâmetros do processamento	Vazão de fluxo	Uma vazão muito baixa do fluxo da solução polimérica resulta em fibras mais finas. O contrário pode ocasionar <i>beads</i> .
	Voltagem aplicada	Uma voltagem muito alta aplicada pode ocasionar a formação de defeitos nas fibras
	Distância do coletor até a ponta da seringa	É necessária uma distância mínima para obter fibras homogêneas. Os <i>beads</i> são formados quando a distância é muito curta ou longa demais.
	Geometria do coletor	Os coletores de metal com estrutura rotativa são preferidos, pois podem alinhar as nanofibras.
Parâmetros Ambientais	Umidade	Umidade mais baixa permite maior vazão, conseqüentemente os <i>beads</i> podem ser reduzidos.
	Temperatura	Fibras mais finas podem ser obtidas quando a temperatura aplicada é mais alta.

Os parâmetros listados na TABELA 1.1, relacionam-se também com o polímero a ser processado na eletrofiação. Em teoria, a escolha do polímero para ser eletrofiado é ilimitada, desde que o polímero permita a preparação de uma solução com características adequadas para o processamento. Neste sentido, a seleção do polímero empregado no campo biomédico desempenha um papel fundamental, uma vez que o material ideal deve ser biocompatível, biodegradável, não tóxico, hidrofílico e com resistência mecânica adequada (SUN et al., 2019).

Assim, os polímeros mais usados para esse aplicação são poli (álcool vinílico) (PVA), poli (óxido de etileno) (PEO), poli (ϵ -caprolactona) (PCL), quitosana, poli (ácido acrílico) (PAA), etilcelulose (CE), acetato de celulose (CA), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), poli (ácido L-láctico) (PLLA), poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poliacrilonitrila (PAN), ftalato de acetato de celulose (CAF) e poliuretano (PU) entre outros. Um aspecto importante com respeito as nanofibras desenvolvidas nesses sistemas, quando comparadas aos sistemas de formulações convencionais, é o fato de melhorar a biodisponibilidade do medicamento no organismo do ser vivo (MARTÍNEZ et al., 2018).

Por causa das características das nanofibras mencionadas acima, uma variedade de medicamentos com diferentes classes terapêuticas, como: antiinflamatório, antimicrobiano, antineoplásico, cardiovascular, diversos, anti-histamínicos, gastrointestinais, paliativos e anticoncepcionais foram adicionados às matrizes poliméricas. Dessa maneira, há diversas estratégias de processamentos para inserção de ingredientes farmacêuticos ativos nas nanofibras. A FIGURA 1.2 (a) ilustra como os fármacos podem ser adicionados após a produção das fibras; FIGURA 1.2 (b) ilustra também a adição de fármaco após produção das fibras, porém com o uso de nanocarreador; FIGURA 1.2 (c) apresenta a possibilidade de imobilização dos fármacos durante o processamento das fibras, co-eletrofiadas; FIGURA 1.2 (d) apresentam uma alternativa de processamento de fibras no formato casca-núcleo (*core-shell*) (HE et al, 2014).

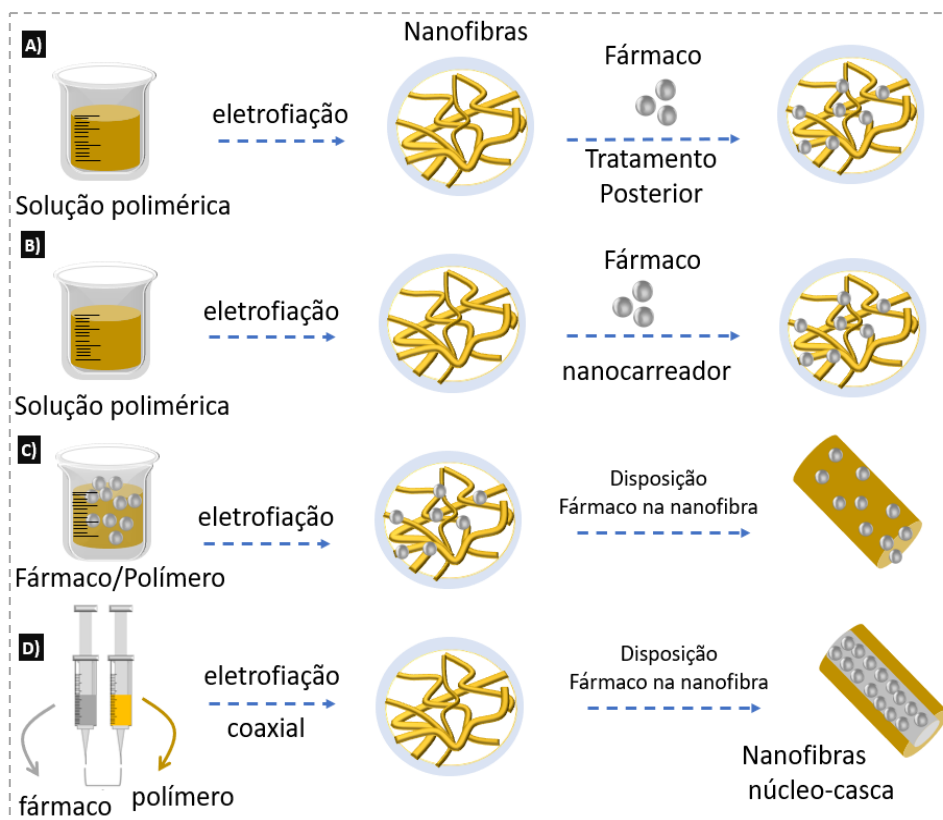


FIGURA 1.2 - Representação gráfica de várias estratégias para a preparação de fibras carregadas com fármacos. Fonte: Figura adaptada por HE et al, 2014.

Dentre as estratégias apresentadas na FIGURA 1.2, a co-eletrospinning é o método mais popular, entre os métodos citados, devido a simplicidade de processamento e baixo custo. Assim, uma variedade de medicamentos, como cloridrato de tetraciclina, mefloquina, ibuprofeno, cefazolina, rifampicina, Itraconazol, rapamicina e medicamentos antitumorais como carmustina, paclitaxel, cloridrato de doxorubicina (DOX), fluorouracil, polifenol e camptotecina foram incorporados nas fibras eletrospinnadas, com ajuste das interações entre drogas e polímeros (HE et al., 2014).

1.2 Polímero poli (ácido láctico) (PLA)

O poli (ácido láctico) é um poliéster alifático altamente versátil, biodegradável, derivado 100% de recursos renováveis, como por exemplo o milho. Uma das formas de obtenção do PLA é através da síntese química a partir do ácido láctico obtido por fermentação bacteriana de glicose extraída do milho (GARLOTTA, 2001).

Como o ácido láctico é uma molécula quiral, o PLA possui estereoisômeros, como poli (L-ácido láctico) (PLLA), poli (D-ácido- láctico) (PDLA) e a mistura racêmica origina o poli (D,L- ácido láctico) (PDLLA). O PDLLA é opticamente inativo e amorfo, enquanto PLLA e PDLA são opticamente ativos e semicristalinos (GARLOTTA, 2001). A FIGURA 1.3 ilustra a estrutura do ácido láctico e seus respectivos isômeros ópticos.

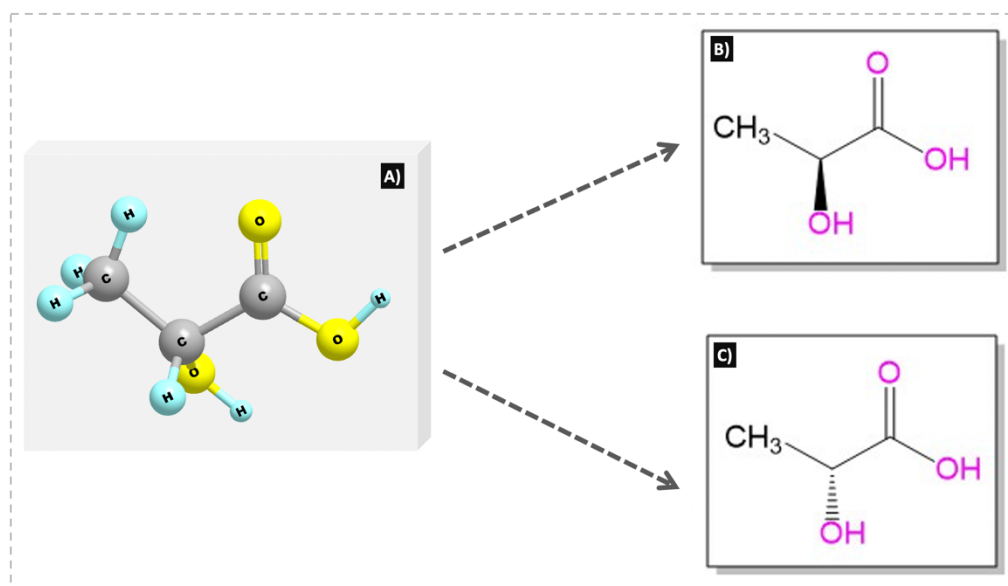


FIGURA 1.3 - Isômeros ópticos do a) ácido láctico: b) L-ácido láctico e c) D-ácido láctico

Dependendo da composição do isômero, opticamente ativo L e D (FIGURA 1.3 (b-c) e o modo de processamento para obtenção do PLA, este pode cristalizar em três formas (α , β , γ). A fase α ocorre devido as diversas condições de cristalização a frio, ou do estado fundido. A fase α' , por sua vez, é considera fase α modificada com desordenamento limitado. Nessa fase, o crescimento de cristais está relacionado a baixas temperaturas de cristalização. Na forma β os cristais crescem devido aos processos de fiação de polímeros fundidos ou solução, contudo faz-se necessário altas taxas de estiramento. A última fase γ tem uma formação mais específica que as demais, composto com cristais e substratos bem definidos (PAN e INOUE, 2009). Dentre essas estruturas a forma α é a mais estável. Nas aplicações biomédicas, a estrutura e a natureza óptica do PLA influenciam nas propriedades de barreira e mecânica do polímero (AURAS et al., 2004).

O PLA por apresentar vantagens, como biodegradabilidade, biocompatibilidade e processabilidade, devido esses fatores, foi aprovado pela agência reguladora dos Estados Unidos (FDA) para ser usado nos humanos em suturas, implantes ósseos e parafusos, e em formulações para administração sustentada de medicamentos, bem como antígenos de vacina (proteínas, peptídeos e DNA) (IMMICH et al., 2013).

Baseado nas vantagens acima, o PLA tem sido empregado para o desenvolvimento de nanofibras por eletrofiação. Sendo facilmente dissolvido em diferentes tipos de solventes convencionais, como acetona (AC), clorofórmio (CHL), diclorometano (DCM), dimetilacetamida (DMAc), dimetilformamida (DMF) entre outros. A eficiência desses sistemas já foi comparada à micropartículas e apresentou superioridade, caso apresentado no estudo XIE et al. (2008) quando utilizou nanofibras de PLA carregadas com cisplatina, comparados com as micropartículas de PLA. A eficiência de encapsulação das micropartículas variou de 33 a 72%, enquanto as fibras eletrofiadas foram superiores a 90%. Além disso, as micropartículas carregadas com cisplatina mostraram uma liberação inicial de aproximadamente 70% seguida por uma liberação lenta e sustentada por 35 dias. Por outro lado, as fibras alcançaram uma liberação sustentada de 75 dias, sem nenhum efeito de liberação inicial. As análises de citotoxicidade indicaram que as formulações com as nanofibras foram 4 vezes superiores à droga na forma livre.

LIU e colaboradores (2013b) encapsularam doxorrubicina nas fibras do polímero PLLA para verificar a eficácia na quimioterapia local contra carcinoma hepático, assim, as fibras foram sobrepostas no fígado com carcinoma. Nas primeiras 24 h, o medicamento foi rapidamente liberado da fibra para o tecido hepático, inibindo significativamente o crescimento do tumor e, conseqüentemente, aumentou o tempo médio de sobrevivência dos ratos no experimento. Para se ter uma ideia da aplicação das nanofibras, a FIGURA 1.4 ilustra mantas de fibra de PLA processadas por eletrofiação.



FIGURA 1.4 – a) Imagem da manta de fibras de PLA; b) imagem de microscopia eletrônica de varredura das fibras do PLA. Fonte: XU et al 2015.

A FIGURA 1.4 a) exemplifica como a manta do PLA molda-se facilmente ao substrato devido a sua flexibilidade. A FIGURA 1.4 b) ilustra imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dessas fibras. É possível observar que a manta de fibra se molda facilmente na superfície da mão e apresenta facilidade para retirar.

Embora, o PLA seja considerado biomaterial ecológico, com excelentes propriedades, possui muitas desvantagens, tais como: 1) taxa de degradação lenta, que pode levar de 6 meses a 2 anos, constituindo-se uma limitação para aplicações biomédicas; 2) O PLA não apresenta boas propriedades mecânicas (quebradiço), o que limita sua aplicação, a menos que seja adequadamente modificado; 3) O PLA é fortemente hidrofóbico, podendo provocar uma resposta inflamatória dos tecidos dos hospedeiros vivos, devido à sua baixa afinidade com as células quando é usado como material de engenharia de tecidos (PAWAR et al., 2014). Além disso, o alto custo de comercialização implicam na utilização deste polímero, pois o custo final da produção desta fibra pode ser economicamente inviável.

Baseado, nessas argumentações a inserção de aditivos de baixo custo, que sejam biocompatíveis e biodegradáveis ao PLA, como por exemplo o amido, são fundamentais para ter êxito no desenvolvimento de plataforma para aplicação na liberação de fármacos.

1.2.1 Amido

O amido é um polímero natural constituído pela amilose e amilopectina, FIGURA 1.5

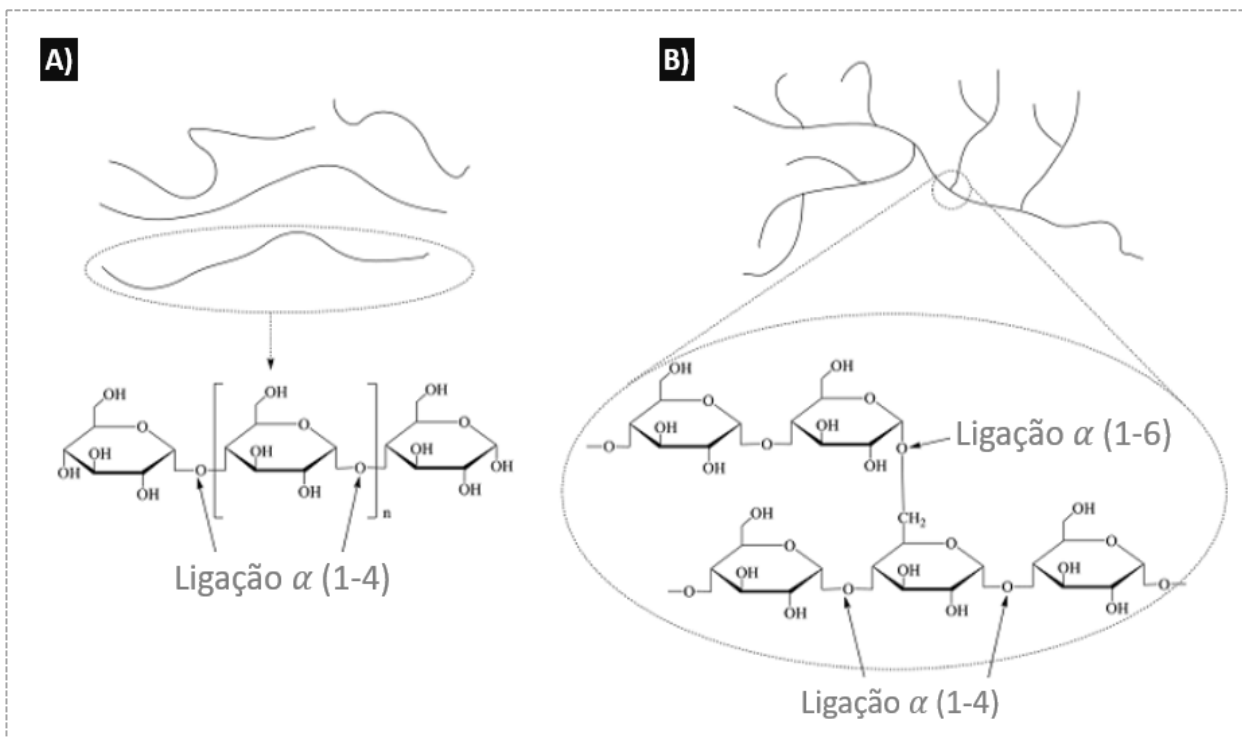


FIGURA 1.5 - Estrutura química do amido: a) amilose e b) amilopectina

Fonte: Figura adaptada de CHEN et al., 2015.

A primeira macromolécula (FIGURA 1.5 a) é linear, com unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas nas posições α -1,4, cristalina e solúvel em água, com média de massa molar 1×10^5 a 1×10^6 g/mol que pode corresponder à 20% em massa de amido. A segunda macromolécula (FIGURA 1.5 b) tem estrutura ramificada formada por unidades de glicose unidas com 95% em α -1,4 e 5% em α -1,6, é insolúvel em água e tem massa molar com variação de 1×10^7 a 1×10^9 g/mol, além de ser essencialmente amorfo. Ressalta-se que as proporções em massa dependem das diferentes espécies e do grau de maturação das plantas que originam o amido (CHEN et al., 2015).

Essas duas macromoléculas naturais conferem ao amido tamanhos de grânulos com diferentes formatos, aparências e propriedades. No interior do grânulo

têm-se duas regiões, a amorfa e a cristalina, que são exibidas de forma alternadas dentro do grânulo. (CHEN et al., 2015).

Embora, o amido seja frequentemente usado em embalagens (KAEWPHAN et al., 2013), ele tem sido empregado na área biomédica devido a ação em sítios específicos, com melhoria de aprisionamento do fármaco e por proporcionar a eficácia terapêutica do medicamento (SANTANDER-ORTEGA et al., 2010)

Adicionalmente, é um produto atóxico, conforme reportado por BISWAS e SAHOO (2016) que no seu estudo utilizou o amido de tapioca com alginato de sódio para formulação de um adesivo a ser empregado na mucosa gástrica para liberação do fármaco tártaro de metoprolol, medicamento bastante utilizado no tratamento de hipertensão. O aprisionamento do fármaco no amido mostrou eficiência de 88% na liberação, em meio ácido (pH=1,2) e período de liberação em torno de 3 à 4 horas.

No estudo de GÖK e colaboradores (2016) foram desenvolvidos adesivos contendo a progesterona para serem administrados na mucosa vaginal das ovelhas, os quais foram formulados a partir de amido e poli(ácido acrílico). Os resultados demonstraram que a formulação contendo o amido de trigo gelatinizado, contendo 75 mg de progesterona permaneceu na mucosa vaginal durante 7 dias, onde inicialmente houve liberação brusca do princípio ativo seguido de liberação sustentada ao longo dos dias em conformidade com outros estudos. Os autores afirmaram que esta formulação pode ser uma alternativa para a medicina veterinária.

No estudo de WANG et al. (2016) as nanopartículas de amido foram preparadas em microemulsão de água/óleo, devido às suas propriedades de baixa tensão interfacial e a sua capacidade de solubilizar líquidos imiscíveis. As nanopartículas incorporadas com amido apresentaram condições ótimas de encapsulamento da droga modelo (azul de metileno) por 2 h, 27°C e concentração de 0,2 mg/mL. Na análise da liberação da droga, inicialmente, o fármaco apresentou uma liberação brusca nas regiões próximas às microesferas de amido, e depois houve liberação sustentada, devido ao inchamento do amido. Uma das vantagens de utilizar nanofibras de amido em liberação de fármacos, está associada a elevada área superficial quando confrontada aos filmes e hidrogéis, por promover a hemostasia, absorção do fármaco e, proliferação celular.

Além desse fator, o tamanho de poros permite a respiração das células, protegendo a lesão contra infecção bacteriana, principalmente, quando comparados aos materiais tradicionais com acabamento sintético à base de petróleo, tais como nylon e poliestireno. Todavia, para fabricar nanofibras de amido, estudo das propriedades reológicas das soluções e parâmetros necessários para produzir as nanofibras por eletrofiação devem ser avaliados, como também o estudo de solventes que sejam biocompatíveis para a aplicação biomédica, com isenção total dos resíduos indesejáveis (GÖK et al.,2016).

No estudo de KONG E ZIEGLER (2015) foi investigado a possibilidade de formação de estruturas complexas com a inclusão de amido com alto teor de amilose. Para isso, foram testados vários solventes para a formação dos complexos, a saber, ácido palmítico, palmitato de ascorbila, e brometo de cetiltrimetilamônio, seguido de adição de amido e etanol (75%) para a produção das nanofibras. Dentre os solventes testados, o palmitato de ascorbila apresentou baixa solubilidade ao etanol, já o ácido palmítico e o brometo de cetiltrimetilamônio apresentaram boa estabilidade térmica. O brometo de cetiltrimetilamônio necessitou de maior quantidade (2%) quando comparado ao ácido palmítico (1%). Os mesmos testes foram feitos substituindo o etanol pelo dimetilsulfóxido (DMSO), porém os resultados não foram significativos. Sutjarittangtham e colaboradores (2014) fabricaram nanofibras de amido de tapioca com água deionizada em diferentes concentrações de amido (3; 3,5, 4; 4,5 e 5% m/m). No entanto, o sistema de eletrofiação foi colocado de modo axial e o sistema coletor continha etanol (-20°C). Após a obtenção das nanofibras, a água e o etanol foram removidos usando secagem a vácuo. Em decorrência dessas modificações no sistema de eletrofiação, os resultados indicaram que a proporção 4,5% em massa de amido, teve aumento da fase amorfa e no grau de pureza, podendo ser utilizado nas aplicações de liberação de fármacos.

KONG E ZIEGLER (2015) utilizando a mesma modificação do SUTJARITTANGTHAM e colaboradores (2014), adicionaram amido com DMSO/etanol, durante a fabricação das fibras, seguido de secagem a vácuo. Após a produção, as fibras foram submetidas ao tratamento térmico visando aumentar a cristalinidade do material e

a estabilidade em água. Assim, foram obtidas fibras lisas e uniformes com diâmetros micrométricos.

No estudo de XU e colaboradores (2009), as fibras de amido produzidas via eletrofiação foram modificadas quimicamente com ácido acético ou anidrido acético na presença de catalisadores como, ácido sulfúrico ou ácido perclórico. As fibras obtidas apresentaram uma estrutura uniformes e finas, com taxa de liberação do fármaco de forma prolongada e controlada.

Uma alternativa, comumente empregada é a utilização de argilas para aumentar a propriedade de barreira na matriz. A incorporação de argilas proporciona aumento da estabilidade química, térmica e/ou fotoquímica do princípio ativo devido à barreira protetora, possibilitando aumento da solubilidade dos princípios ativos devido a sua carga superficial e a liberação controlada das espécies intercaladas na ausência e/ou frente aos fatores com controle externos (pH, concentração de oxigênio, temperatura e/ou pela presença de certas enzimas ou íons, entre outras) (ZENG et al., 2005).

1.3 Argilominerais laponita e montmorilonita

A montmorilonita pertence a classe dos filossilicatos 2:1, cujas placas são caracterizadas por duas folhas tetraédricas de sílica (SiO_4) com uma folha central octaédrica que pode conter $\text{Al}_2(\text{OH})_6$ e $\text{Mg}_3(\text{OH})_6$, que são unidas entre si por átomos de oxigênio comuns em ambas as folhas, formando uma camada denominada lamela. A estrutura lamelar é devido a continuidade das folhas nos eixos, com orientação nos planos (001) dos cristais (JAYRAJSINH et al., 2017).

Esse argilomineral é a mais abundante do grupo das esmectitas, cuja fórmula geral é dada por $\text{Mx}(\text{Al}_4\text{-xMgx})\text{Si}_8\text{O}_{20}(\text{OH})_4$, sendo o M um cátion monovalente (PAIVA et al., 2008). Devido à presença desse cátion na estrutura, a montmorilonita apresenta elevada capacidade de troca iônica, permitindo a sua ampla aplicação, por exemplo, na liberação de fertilizantes, catalisadores, adsorventes, agentes descorantes, entre outras utilidades. Isso se deve, principalmente, a algumas propriedades de inchamento, adsorção e plasticidade, além das propriedades reológicas e coloidais (NAGELSCHMIDT, 1936)

Os argilominerais, quando aplicados na área biomédica, têm chamado a atenção de pesquisadores, uma vez que esse material permite incorporar compostos orgânicos entre as camadas, que posteriormente serão liberados de forma prolongada. No estudo de IANNUCELLI e colaboradores (2015), a tetraciclina foi incorporada à montmorilonita modificada para tratamento de infecção gástrica causada pela *Helicobacter pylori*. Os resultados indicaram que o uso da montmorilonita no tratamento ocorreu em duas fases, a primeira foi a ruptura do fármaco quimicamente ligado à argila seguida por uma fase sustentada, por cerca de 1 h, frente ao valor médio da utilização da tetraciclina administrada de forma convencional. Ademais, o uso da argila nesse estudo proporcionou distribuição homogênea do antibiótico na mucosa gástrica de forma promissora para o tratamento do *H. pylori*.

No estudo de UL-ISLAM et al. (2012) foram desenvolvidos compósitos de celulose/montmorilonita (MMT), que destacaram a utilização da argila MMT como reforço às propriedades físico-químicas da matriz. Além disso, o compósito apresentou aumento no tempo de liberação em água, fator primordial para utilização deste material como sistema de liberação controlada na biomedicina. Por outro lado, as propriedades mecânicas (resistência à tração) e térmicas (temperatura de degradação do nanocompósito), apresentaram melhora em relação à celulose pura.

1.3.1 Laponita

A laponita é uma hectorita sintética e possui fórmula química $\text{Na}_{0,7}\text{Mg}_{5,5}\text{Li}_{0,3}\text{Si}_8\text{O}_{20}(\text{OH})_4$. Na FIGURA 1.6, tem-se a representação da laponita: a) composição atômica; b) estrutura cristalina e b) formato da laponita em disco. A literatura reporta que a laponita é formada por discos com aproximadamente 25 nm de diâmetro e 0,92 nm de espessura (NEUMANN e SANSOM, 1970a e 1970b; LEACH et al., 2005).

LIU et al. (2013) ilustram a organização estrutural da laponita em folhas ou lamelas. Essas folhas combinam-se uma com as outras originando camadas, as quais são organizadas por folhas tetraédricas e octaédricas. Os cátions são trocáveis, uma vez que a água solvata os cátions lábeis, ocasionando desequilíbrios na substituição isomórfica, gerando repulsão mútua entre as lamelas e como resultado final, ocorre a dispersão da argila no meio aquoso.

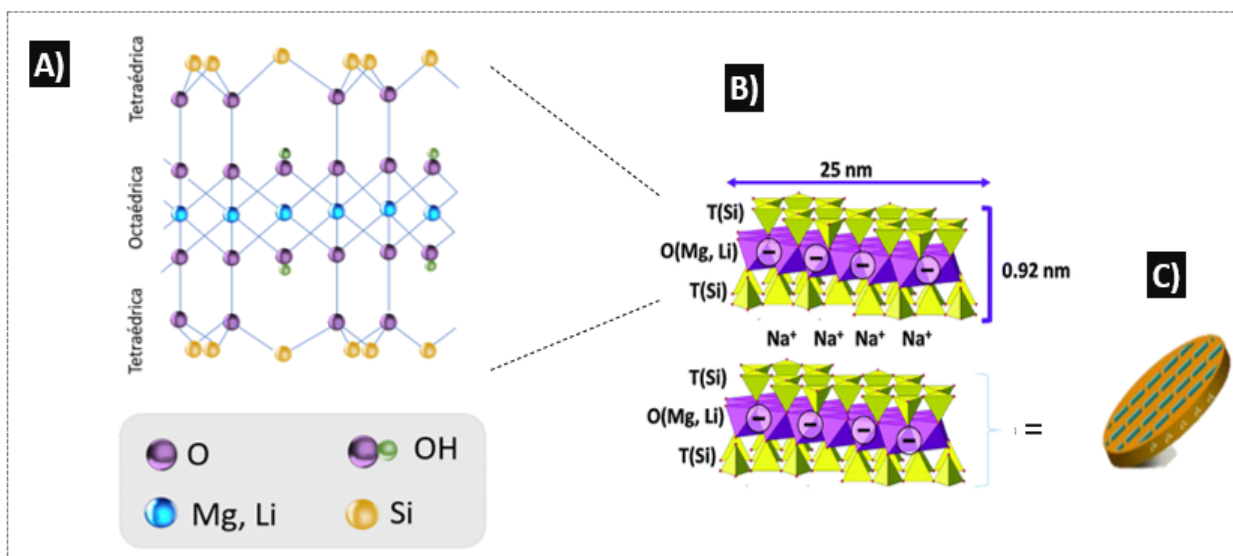


FIGURA 1.6 - Representação esquemática da laponita: a) composição atômica; b) estrutura cristalina e b) formato da laponita em disco.

Fonte: CUMMINS (2007)

Devido à propriedade hidrofílica da laponita, ela é muito usada em produtos domésticos, cosméticos, agricultura e horticultura, peças cerâmicas, na medicina entre outras áreas. Conforme Directiva 1999/45 / CE (1999), a laponita é um produto seguro, a qual não está associada efeitos negativos para o ambiente e seres humanos, mesmo quando degradada sob condições fisiológicas. Somado a esses fatores, a laponita é comercializada pela metade do preço ao comparar com a argila natural hectorita, diminuindo o custo na produção de plataforma para liberação de fármacos.

Quando as argilas são usadas no campo biomédico, alguns parâmetros são essenciais para que a argila seja aplicada nas formulações farmacêuticas, tais como, granulometria, grau de pureza, quantidade de água adsorvida, composição química e contaminação microbiológica. No caso, específico da laponita, as principais vantagens da utilização estão associadas à biodisponibilidade e biodegradabilidade como reportado por WANG et al. (2012). Os autores verificaram que a laponita foi importante na proliferação, diferenciação e expressão do gene osteogênico nas células de tecidos, bem como na regeneração do tecido ósseo. Essa argila apresentou melhor biocapacidade da reposta (fármaco/células) devido ao formato de nanodiscos, os quais

carregaram maiores concentrações de fármacos, proporcionando uma eficiência de 98,3% na liberação da doroxubicina em células cancerígenas, principalmente, utilizando pH=5,4. Adicionalmente, esses nanodiscos possuem a capacidade de transportar proteínas e nutrientes necessários para a modulação e a diferenciação de células progenitoras.

No trabalho de GHADIRI et al. (2013), os resultados indicaram que a incorporação do fármaco na laponita são promissores, uma vez que a atividade antimicrobiana da tetraciclina liberada foi mantida e não foi afetada pela intercalação de tetraciclina para o carreador (laponita). Consequentemente, a liberação ocorreu a partir do carreador, proporcionando eficiência na ação do princípio ativo.

No estudo de LIU e colaboradores (2013), a laponita foi incorporada à solução de poli (álcool vinílico – PVA) para produção de nanofibras por meio da eletrofição. As fibras obtidas apresentaram deformações com superfície áspera após a adição da laponita. Esses fatores foram atribuídos às seguintes razões: orientação aleatória de nanoargila ao longo da direção da fibra axial, descontinuidade da fibra causada pela nanoargila e distribuição não homogênea da nanoargila. Quando a laponita foi modificada com poli (ácido láctico-co-ácido glicólico – PLGA) e posteriormente eletrofiadas, as nanofibras produzidas apresentaram a capacidade de induzir o osteoblasto em meio de crescimento sem quaisquer fatores de indução, podendo assim ser aplicado no campo da engenharia de tecidos. Além disso, as nanofibras apresentaram boa capacidade de adsorção de substâncias hidrofílicas na superfície, enquanto os testes de hemocompatibilidade, que avaliam os contatos das nanofibras e os efeitos do sangue que permaneceram inalterados.

Já no estudo de WANG et al. (2015) o antibiótico amoxicilina foi encapsulado dentro da laponita modificado com poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) por intermédio da eletrofição para formar nanofibras para aplicações biomédicas. Destaca-se, que neste estudo a incorporação da amoxicilina não modificou a morfologia da laponita permitindo uma liberação sustentada e prolongada do fármaco. Para os ensaios de atuação da atividade antimicrobiana e citocompatibilidade, os resultados demonstraram que quando as nanofibras foram expostas a bactéria *Staphylococcus aureus* ocorreu a inibição do crescimento dessas bactérias.

1.4 Cloxacilinas: usos, limitações e aplicações.

A cloxacilina é um antibiótico do grupo dos β -lactâmicos de segunda geração, resistentes a β -lactamases e apresentam histórico de eficácia terapêutica. Esse antibiótico frequentemente é utilizado para tratar diversas doenças bacterianas, tais como: impetigo, pneumonia, artrite séptica dentre outras doenças. Para este antibiótico, os sais mais comumente disponíveis estão nas formas sódica e benzatínica.

A Cloxacilina benzatina (CB) apresenta a fórmula molecular $(C_{19}H_{18}ClN_3O_5S)_2 \cdot C_{16}H_{24}ON_2$, é um antibiótico semissintético, com atividade antibacteriana frente bactérias Grampositivas, especialmente *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Devido a sua alta bioatividade, por causa da presença do anel β -lactâmico, esse composto é comumente usado para prevenir infecções e tratar mastites bovinas, uma das doenças mais comuns dos animais leiteiros.

A cloxacilina sódica (CS) pertence aos antibióticos β -lactâmicos semissintéticos. Devido ao anel β -lactama modificado, CS exibe suscetibilidade acentuada a vários nucleófilos, reagentes ácido/base, íons metálicos, agentes oxidantes e até solventes como água e álcoois, e é amplamente utilizado no tratamento de pneumonia e parênquima de infecção de pele (ZHI et al., 2012).

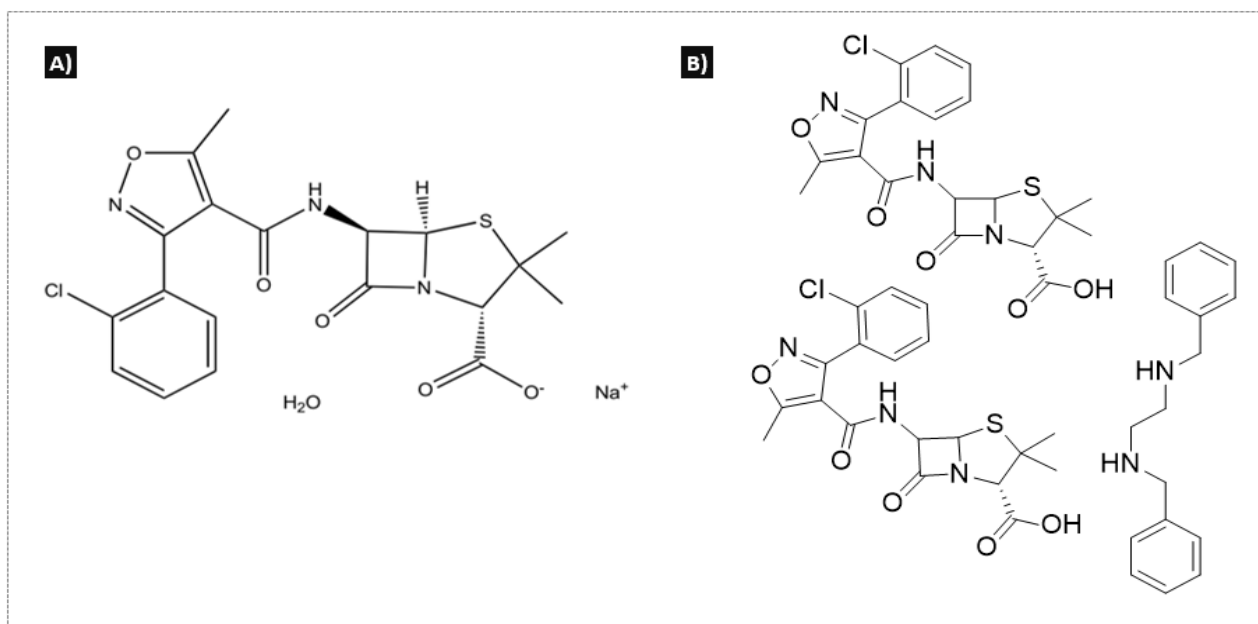


FIGURA 1.7 – Estrutura química da cloxacilina: (A) sódica e (B) benzatina

A principal diferença desses fármacos está associada à elevada solubilidade da cloxacilina sódica, pois o sal favorece a rápida disponibilidade do fármaco no organismo vivo. Por outro lado, a cloxacilina benzatina constituída de sal benzatínico possui baixa solubilidade e por essa razão a sua aplicação é favorecida quando o organismo vivo necessita de manutenção da dosagem desse fármaco, dentro dos limites terapêuticos, por um período prolongado. No caso, da CB isto só ocorre devido a estrutura química do sal benzatínico que pode reter o fármaco no compartimento biológico do indivíduo e, conseqüentemente, reduzir a velocidade de degradação.

Na forma sódica, a elevada solubilidade do sal favorece seu uso em condições clínicas que necessitem de rápida distribuição do fármaco no compartimento biológico desejado. Em contrapartida o sal benzatínico, apresenta baixa solubilidade, o que favorece seu uso em condições que necessitem a manutenção do limiar terapêutico do fármaco por um período maior (MESTORINO E ERRECALDE, 2012).

O mecanismo de ação da cloxacilina envolve a ligação de proteínas específicas à penicilina que estão localizadas na parede celular bacteriana. Assim, a cloxacilina inibe o terceiro e último estágio da síntese da parede celular bacteriana, logo a lise celular é então mediada por enzimas autolíticas da parede celular bacteriana, como as autolisinas, sendo possível que a cloxacilina interfira como um inibidor de autolisina.

Assim, os fármacos são absorvidos pelo organismo e após reações metabólicas são excretados pela urina, fezes e esterco animal, provocando diversos impactos ao ambiente. Além disso, os antibióticos são utilizados como promotores de crescimento de animais, na produção do gado, produção avícola, e também inseridos como complemento alimentar na criação de peixes e porcos. Para se ter uma ideia da rota de contaminação, desde a produção industrial desses medicamentos até o destino final, a FIGURA 1.8 expõe as rotas de contaminação dos fármacos no ambiente.

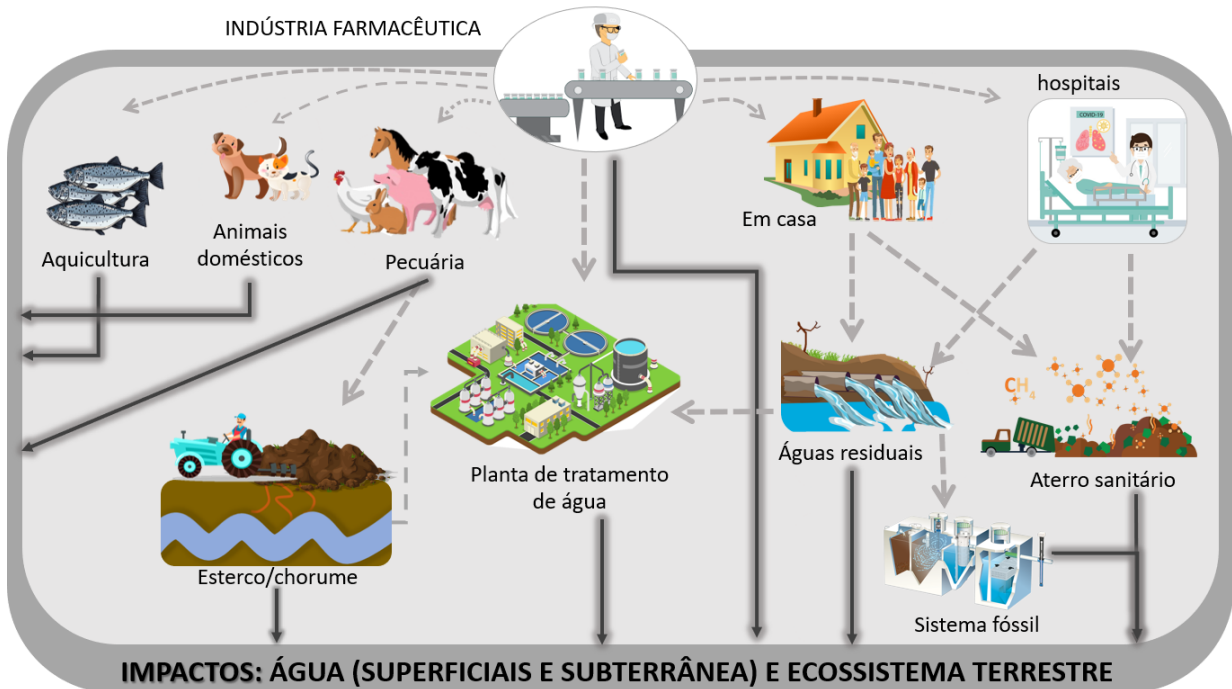


FIGURA 1.8 – Rotas de Impactos dos fármacos no ambiente
 FONTE: FIGURA adaptada OECD, 2019.

De acordo com FIGURA 1.8 os produtos e os resíduos farmacêuticos podem contaminar águas superficiais, águas subterrâneas e os ecossistemas terrestres, e independentemente da rota, ocasiona sérios riscos para a população e o ambiente. Para as cloxacilinas essa rota não é diferente e podem implicar diretamente na saúde populacional e ambiental.

Dessa maneira, o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada/prolongada pode ser uma boa alternativa para aplicação, na qual há necessidade de dosagem de medicamento, cuja concentração seja suficiente para passar longo período na faixa terapêutica do medicamento. Podendo mitigar o uso indiscriminados dos antibióticos e impactos ambientais, bem como minimizar os efeitos colaterais no organismo vivo.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

O presente trabalho objetivou o desenvolvimento de fibras composta por materiais híbridos poli (ácido láctico):amido:argila por intermédio da técnica de eletrofiação para aplicação em sistemas de liberação controlada/prolongada de fármacos, usando a cloxacilina sódica e benzatina.

2.2 ESPECÍFICOS

- a) Desenvolver fibras híbridas poli (ácido láctico):amido:argila via eletrofiação;
- b) Avaliar as fibras híbridas, quanto à morfologia, composição, estrutura e estabilidade térmica;
- c) Incorporar os antióticos β -lactâmicos, tal como cloxacilina sódica e cloxacilina benzatina nas fibras híbridas desenvolvidas;
- d) Avaliar atividade bacteriana das fibras frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.
- e) Avaliar a capacidade de liberação de fármacos (cloxacilina sódica e cloxacilina benzatina) a partir das fibras eletrofiadas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A sequência metodológica deste estudo baseou-se primeiramente na obtenção das fibras via eletrofiação, as quais foram divididas em quatro sistemas, sendo eles: 1) poli (ácido láctico); 2) poli (ácido láctico) e amido; 3) (ácido láctico), amido e laponita.; 4) poli (ácido láctico), amido e montmorilonita. Para cada sistema foram desenvolvidas três fibras que correspondem à fibra pura (sem adição do fármaco), fibra com adição do fármaco cloxacilina sódica e a fibra com a cloxacilina benzatina. Perfazendo assim, um total de doze fibras produzidas, as quais foram caracterizadas por difração de raios X (DRX), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV); espectroscopia Raman, análise térmica (TGA), calorimetria de varredura exploratória (DSC) e análise dinâmico-mecânica (DMA), a fim de avaliar a composição, estrutura, tamanho, forma, estabilidade térmica e mecânica dessas amostras. Após as caracterizações das amostras foram realizados ensaios de liberação dos fármacos, sendo monitorados através de medidas de alíquotas, utilizando espectrofotômetro (UV-Vis). Por fim, aplicou-se um teste para verificar manutenção da atividade bactericida, utilizando o método de difusão de discos em ágar para a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Na TABELA 3.1, estão listados todos os reagentes empregados para a realização deste trabalho.

TABELA 3.1 - Reagentes e padrões utilizados na produção das fibras

Reagentes/Padrões	Pureza (%)	Marca
Dimetilforfamida	99	Sigma-Aldrich
Poli (ácido láctico)*	-----	Nature Works
Amido	-----	Synth
Cloxacilina sódica	99	USP
Cloxacilina benzatina	99	USP
Laponita	-----	Empresa Laporte
Cloisite 20A	-----	Southern clay Products
Clorofórmio	PA	Dinâmica

*MM = 66000 g/mol

3.1 Preparo de solução para eletrofiação

As fibras foram processadas por eletrofiação baseado no procedimento reportado por MALAFATTI (2016). A seguir encontram-se as descrições do preparo da solução para cada sistema.

3.1.1 Sistema PLA

Para obtenção das fibras, pesou-se 0,8 g de PLA que foi solubilizado em 6 mL de clorofórmio e 2 mL de dimetilformamida com agitação mecânica por 4 h à temperatura ambiente. Após o processamento na eletrofiação esta fibra foi denominada de PLA. Ao utilizar as mesmas condições da fibra de PLA com adição de 10% (m/m) do fármaco cloxacilina sódica (CS), essa amostra foi denominada PLA_CS. E para a amostra com a adição da cloxacilina benztatina (CB) a amostra foi nomeada PLA_CB. Conforme resume a TABELA 3.2

3.1.2 Sistema PLA com amido

Para este sistema, foram usadas as mesmas condições da solução do sistema PLA e adicionada uma dispersão contendo 0,1 g de amido e 2 mL de dimetilformamida. Em seguida, o sistema foi submetido à agitação mecânica por 4 h à temperatura ambiente. A esse sistema foram adicionados 10% (m/m) das cloxacilinas sódica e benztatina, individualmente, em relação a massa do polímero. Para esse sistema as amostras foram denominadas: PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_CS e PLA_AMIDO_CB. Conforme resume a TABELA 3.2

3.1.3 Sistema PLA com amido reforçada com montmorilonita (MMT)

Neste sistema, conforme explicado no item anterior, acrescentou-se 0,1 g de MMT que foram dispersos com o ultrassom de ponteira por 30 minutos, amplitude de 20 %, agitados por 4 h para posterior acréscimo das cloxacilinas 10 % (m/m), considerando a massa do polímero e argila. As amostras foram denominadas:

PLA_AMIDO_MMT; PLA_AMIDO_MMT_CS e PLA_AMIDO_MMT_CB. Conforme resume a TABELA 3.2

3.1.4 Sistema PLA com amido reforçada com laponita (LAP)

Para este sistema toda a preparação foi baseada no sistema que contém a montmorilonita (MMT), sendo substituída pela argila laponita na mesma proporção e tempo de dispersão. Os sistemas foram denominados: PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_LAP_CS e PLA_AMIDO_LAP_CB. Conforme resume a TABELA 3.2

3.1.5 Obtenção das fibras via eletrofiação

Após o preparo das soluções de todos os sistemas supracitados, as soluções foram levadas ao sistema de eletrofiação para obtenção das fibras conforme FIGURA 1.1.

O sistema empregado para produção das fibras foi composto por uma fonte de alta tensão da marca Glassman Hight Voltage, modelo PS/FC60P02.0-22, uma bomba ejetora do tipo KVS, modelo 100 e do conjunto de seringa de 20 mL da Art Glass e agulha de 40 x 1,2 mm. O coletor consiste em um cilindro rotativo encapado com folha de papel alumínio. Para obtenção das fibras via eletrofiação, este estudo baseou-se nos resultados anteriores do grupo de pesquisa (MALAFATTI, 2016), fixando os seguintes parâmetros: distância de 8 cm entre o coletor e o injetor com agulha metálica, vazão 0,8 mL/h, tensão 22 kV e temperatura entre 25 a 28°C.

Assim, todas as amostras descritas acima com os sistemas e abreviaturas estão dispostos na TABELA 3.2

TABELA 3.2 – Todos os sistemas e abreviaturas empregadas neste trabalho

Sistemas	Abreviaturas
PLA	PLA
	PLA_CS
	PLA_CB

cont. TABELA 3.2 – Todos os sistemas e abreviaturas empregadas neste trabalho

PLA_AMIDO	PLA_AMIDO
	PLA_AMIDO_CS
	PLA_AMIDO_CB
PLA_AMIDO_LAPONITA	PLA_AMIDO_LAPONITA
	PLA_AMIDO_LAPONITA_CS
	PLA_AMIDO_LAPONITA_CB
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA	PLA_AMIDO_MONTMORILONITA
	PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS
	PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB

3.2 Atividade antimicrobiana: Método de disco difusão

Este teste baseou-se na norma M2-A8 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI/NCCLS adotada pela ANVISA (2003). Inicialmente, pesou-se 2,1 g de meio de cultura Muller Hilton para solubilização em 100 mL de água destilada, seguido de adição de 1,7 g de ágar-ágar que foram autoclavados por aproximadamente 45 minutos. Logo após, foram retidas alíquotas de 10 mL do meio de cultura para inocular as bactérias Gram-positiva (*S. aureus*) e Gram-negativa (*E. coli*) por 24 h à 35°C. Após esse tempo, utilizou-se o espectrofotômetro na região do UV-Vis ($\lambda=625$ nm) para verificação do crescimento bacteriano.

Por fim, foram colocadas as fibras recortadas em forma circular com diâmetro de $6,0 \text{ mm} \pm 0,2 \text{ mm}$ com incubação por 24 h à 35°C. Para avaliar a inibição do crescimento microbiano foi medido o diâmetro dos halos em cada placa de Petri. Halos com diâmetros iguais ou superiores a 24 mm foram considerados indicativos de sensibilidade bacteriana ao sistema comparando com o fármaco cloxacilina.

3.3 Ensaios de liberação

Inicialmente foram realizadas curvas de calibração para os dois fármacos empregados, observando a relação funcional do sinal por uma determinada quantidade

de analito, assim a curva de calibração foi utilizada para determinar a concentração dos fármacos liberados das fibras eletrofiadas. Para isso, foram preparadas soluções na concentração de 100 mg/L das cloxacilinas (sódica e benzatina) utilizando balão volumétrico de 100 mL em tampão fosfato (pH 7,4). O tampão fosfato foi preparado utilizando o fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4) (Synth) e fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4) (Cromoline).

Foram feitas diluições sucessivas selecionando as concentrações de 2, 4, 6, 8, 10 15 e 20 mg/L. Em seguida, as fibras de todos os sistemas foram colocadas em 500 mL de tampão dentro do erlenmeyer 1 L, na incubadora com temperatura controlada 35°C.

A partir de tempos predeterminados foram retiradas alíquotas para leituras no Espectrofotômetro na região do UV (Perkin-Elmer, EUA) na faixa entre 200-300 nm utilizando as cubetas de quartzo.

4 CARACTERIZAÇÕES DAS FIBRAS

4.1 Difração de raios X (DRX)

Os ensaios de difração de raios X (DRX) foram realizados com a finalidade de obter informações de ordem cristalográfica dos materiais analisados em uma ordem à média e longa distância no retículo cristalino, bem como, informações relativas à cristalinidade, presença de impurezas e confirmação dos materiais de interesse em cada amostra. Os difratogramas de raios X foram obtidos em um equipamento Shimadzu®, modelo LabX XRD-6000, utilizando radiação Cu-K α de $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$. A taxa de varredura foi contínua de 1°/min para um intervalo em 2θ de 3° a 85°, tensão de 30 kV e corrente de 30 mA.

4.2 Espectrofotometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de absorção na região do infravermelho é utilizada na identificação das unidades estruturais dos compostos a partir das frequências vibracionais das moléculas. As bandas originadas nos espectros são decorrentes da

absorção da radiação eletromagnética resultante dos movimentos de torção, deformação, rotação e vibração dos átomos constituintes de uma molécula. Nesse trabalho a técnica de FTIR foi empregada com o propósito de confirmar a presença dos componentes constituintes de cada fibra. Para obtenção dos espectros foi utilizado o modo de transmitância no equipamento Bruker VERTEX FT com modulo ATR, com realização de 32 varreduras na região espectral de 4000 a 400 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} .

4.3 Espectroscopia Raman com transformada de Fourier

A espectroscopia de espalhamento Raman caracteriza-se como uma técnica complementar à difração de raios X (DRX), isto porque, é mais sensível às mudanças estruturais de ordem local dos materiais em estudo. Os espectros de espalhamento Raman com transformada de Fourier (FT-Raman) foram obtidos com a utilização do espectrômetro Bruker Vertex FT-IR com o módulo FT-Raman RAM II acoplado, utilizando detector de Germânio. As medidas foram coletadas na região de 100 a 4000 cm^{-1} , com 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite obter imagens com alta magnificação e resolução superiores ao microscópio óptico. E isso contribui para uma avaliação da microestrutura do material de modo que se possa correlacionar com as propriedades física e química das amostras. Neste trabalho, o MEV (marca JEOL® modelo 6701F) foi utilizado para determinar a forma e diâmetro das fibras, colocando-as diretamente no porta-amostra com recobrimento de uma fina camada de ouro. A distribuição do diâmetro médio foi determinada a partir das micrografias obtidas com contagens de 100 fibras aleatórias com auxílio do software *Image J* para cada amostra.

Com o intuito de confirmar a composição e a distribuição das argilas nas fibras foram utilizadas a Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS – Energy Dispersive Spectroscopy), obtendo-se o mapa composicional da região observada, de acordo com o número de átomos (energia) dos constituintes. O modo de preparo da amostra foi realizado a partir do recobrimento das fibras com a utilização de uma fina cama de carbono para a proteção do material contra o feixe de elétrons do equipamento.

4.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas (TGA/DTG) foram empregadas com a finalidade de obter informações das alterações de ganho ou perda de massa ocorridas quando a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura. As curvas térmicas TGA/DTG foram obtidas utilizando o equipamento TA Instruments (Q500), a partir do aquecimento das amostras a temperatura ambiente até 1000 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min e atmosfera de ar sintético com fluxo de 60 mL/min.

4.6 Análise Térmica por Calorimetria de Varredura Exploratoria (DSC)

As análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram feitas no equipamento TA Instruments (Q100). Os ensaios foram realizados com amostras previamente secas em dessecador pelo período de 24 horas, colocando aproximadamente 6 mg de amostra em cadinhos herméticos de alumínio sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min, com rampa de aquecimento 10°C/min, na faixa de temperatura de 25 a 180°C.

4.7 Análise Dinâmico mecânico (DMA)

A análise por DMA permite avaliar as propriedades dinâmico-mecânica quando as fibras foram submetidas à deformações oscilatória, em solicitações de tração. A análise dos resultados após ensaios de tensão-deformação das fibras foram avaliadas usando o equipamento TA Instruments, model DMA Q800 com célula de carga de 0,1N/min e corpo de prova com dimensões de altura, largura e espessura (12,87 x 6,32 x 0,05) mm, modo: tensão; temperatura: 25°C, amplitude: 25 µm e frequência: 5 Hz

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos itens a seguir, serão discutidos os resultados referentes à caracterização estrutural, térmica, mecânica e morfológica das 12 fibras processadas por eletrofiação, as quais foram agrupadas, conforme TABELA 3.2. Em seguida, serão discutidas as aplicações: testes bactericidas das fibras desenvolvidas neste trabalho, visando verificar a sensibilidade frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* com respeito a manutenção da eficácia *in vitro* das cloxacilinas nas referidas fibras. Adicionalmente, serão apresentados e discutidos os testes de liberação dos fármacos cloxacilina sódica (CS) e benzatina (CB) a partir de cada sistemas desenvolvidos, com o intuito de prolongar a ação convencional desses medicamentos com menor dosagem e maior tempo de disponibilidade do princípio ativo. Por fim, serão realizados ajustes com base nos modelos matemáticos de liberação existentes, a fim de verificar possíveis mecanismos de liberação.

5.1 Análise estrutural

5.1.1 Sistema PLA

A FIGURA 5.1 mostra os difratogramas de difração de raios X para o sistema PLA. Pôde-se observar picos na região $2\theta = 16^\circ$ e 19° característicos da fase α , pseudo-ortorrômbica, helicodal, que indica a fase mais estável deste polímero (DE e KOVACS, 1968; REN et al., 2006; SCHLEMMER et al., 2010). Além do grau de cristalinidade, esta amostra também apresentou amorficidade, caracterizada pela presença do halo amorfo, indicando características típicas de materiais semicristalinos (CAI et al., 2014; HALL BARRIENTOS et al., 2017)

Para os fármacos, foi confirmada a presença da cloxacilina sódica pela presença de picos intensos em $2\theta = 7,1^\circ$; $19,72^\circ$; $21,02^\circ$, (FIGURA 5.1 a) tal qual, os estudos de KADUK et al. (2019). Analogamente, a cloxacilina benzatina foi confirmada a partir dos picos intensos característicos em $2\theta = 9,54^\circ$; $12,36^\circ$; $17,1^\circ$; $18,62^\circ$; $20,68^\circ$; $23,82^\circ$, (FIGURA 5.1 b) conforme reportado por (LI et al., 2013). Os fármacos na forma

de pós possuem uma rede cristalina ordenada que representou os picos característicos de alta intensidade no padrão de difração de raios X (FIGURA 5.1 a-b).

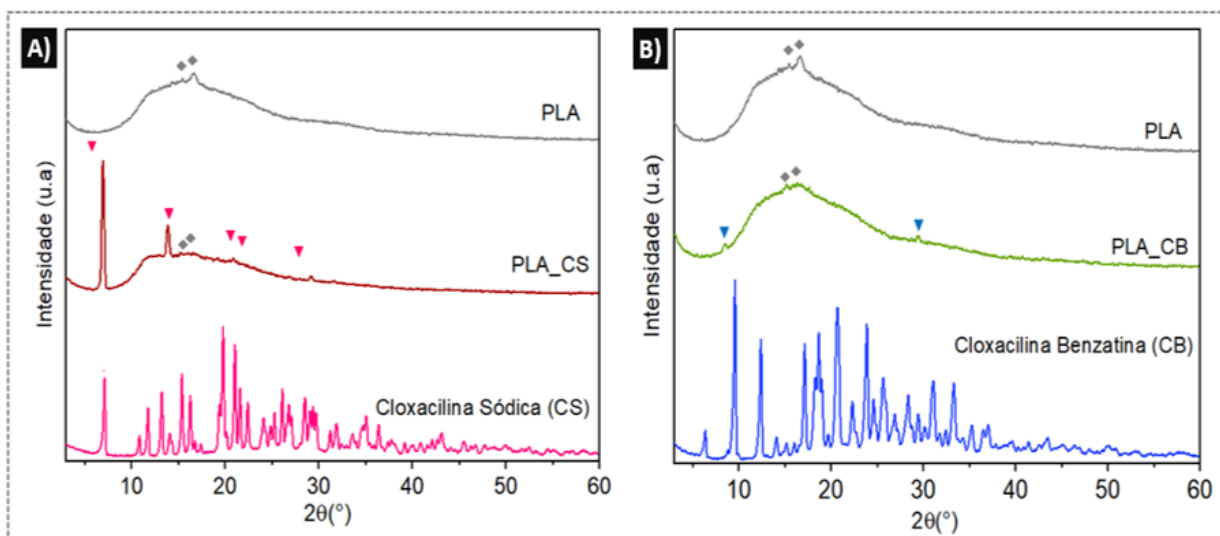


FIGURA 5.1 – Difratomogramas de raios X das fibras eletrofiadas para o sistema PLA: a) Cloxacilina Sódica (CS) e PLA_CS (▼) pico intenso de CS; b) Cloxacilina Benzatina (CB) e PLA_CB, (▼) pico intenso de CB.

A partir dos difratogramas (FIGURA 5.2) foram evidenciados nas amostras PLA_CS e PLA_CB a presença dos fármacos sinalizados através dos símbolos (▼) indicando a presença da cloxacilina sódica e (▼) para a cloxacilina benzatina. Nas amostras PLA_CS e PLA_CB foram observadas diferenças quanto às intensidades dos picos quando comparado aos difratogramas dos fármacos sem incorporação na matriz PLA, isto pode estar relacionada à orientação preferencial das fibras durante o processo da eletrofiação na qual a distribuição da orientação do cristal ocorre aleatoriamente e tendem a crescer em maior ou menor grau para uma orientação específica quando expostos a fonte de raios X. Quanto maior o a quantidade de faces expostas à fonte, maior a intensidade dos picos (PATTNAIK et al., 2015). Outro ponto que pode estar influenciando as intensidades pode estar relacionado ao diâmetro, uma vez que fibras mais finas também aumentam o grau de cristalinidade, bem como a orientação molecular dos feixes lamelares dentro das fibras, as quais serão confirmadas com as análises morfológicas e análise térmica (KONGKHLANG et al., 2008).

Para complementar análise de difração de raios X, a espectroscopia Raman foi usada para confirmar a presença dos fármacos, cloxacilina sódica e benzatina no sistema PLA, FIGURA 5.3. Em geral, a espectroscopia Raman é mais sensível às perturbações na rede, de ordem local, que o difratograma de raios X (DI MASCOLO, 2019). Para as fibras de PLA foram observados picos mais intensos em 3005, 2945 e 2879 cm^{-1} , correspondente as vibrações simétricas e assimétricas do CH_3 . O pico em 1768 cm^{-1} foi atribuído a $\nu(\text{C}=\text{O})$. Para os picos 1454 e 1126 cm^{-1} são atribuídos aos estiramentos simétricos e assimétricos do CH_3 (RAMIREZ et al., 2018).

Para a cloxacilina Benzatina (CB) o pico em 3061 cm^{-1} correspondente $\nu(\text{N-H})$, refere-se às estiramento (O-H), 2942 e 2940 cm^{-1} . O pico referente às deformações assimétricas e simétricas do CH_3 com vibrações $\nu(\text{C-H})$, 1599 cm^{-1} correspondente a amida secundária $\nu(\text{C}=\text{C})$, para os picos 1031 e 1003 cm^{-1} $\nu(\text{C-C})$ vibração do anel β -lactâmico, envolvendo a vibração de alongamento do anel b-lactama. Os modos vibracionais da cloxacilina sódica (CS) correspondem as referências citadas para o CB, assim para a (CS) os picos em 3070 cm^{-1} foi atribuído a $\nu(\text{N-H})$, 1799 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1660 cm^{-1} $\nu(\text{C-C})$, 1565 e 1510 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1485 $\nu(\text{C-O})$, 1157 cm^{-1} $\nu(\text{C-H})$, 1041 $\nu(\text{C-C})$ podem ser atribuídas à vibração de alongamento do anel fenil. (JIANG et al., 2015)

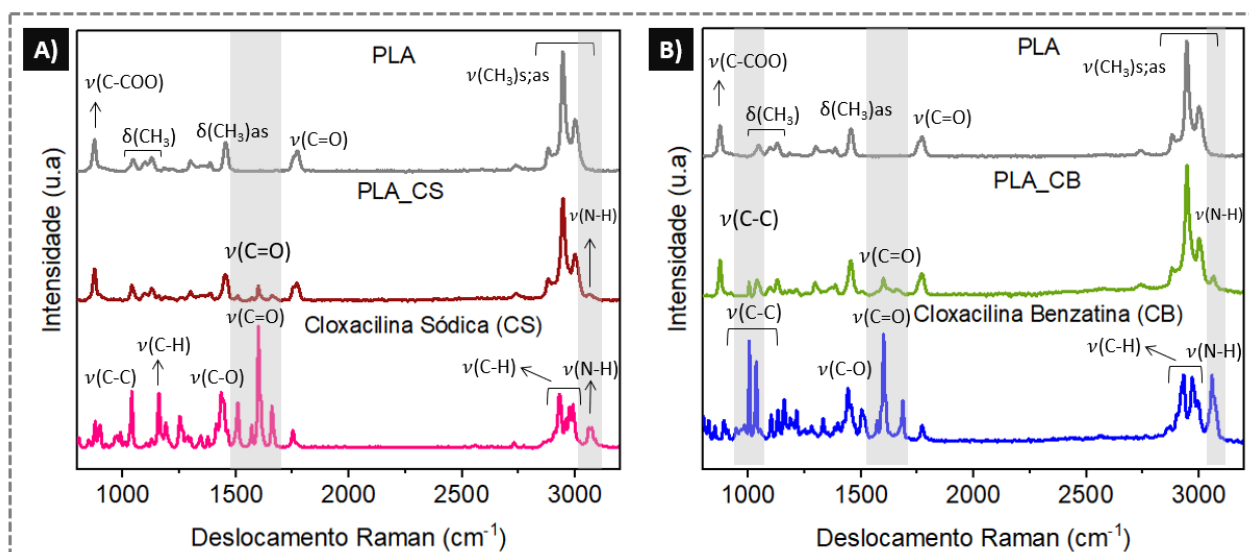


FIGURA 5.3 – Espectros Raman das fibras eletrofiadas do sistema PLA: a) Cloxacilina sódica e PLA_CS; b) Cloxacilina benzatina e PLA_CB.

Na FIGURA 5.2 a presença dos fármacos foi indicada pela parte em destaque (cor cinza). Assim, para as fibras de PLA_CS e PLA_CB os picos em 3057 e 1601 cm^{-1} que correspondem a $\nu(\text{N-H})$ e a $\nu(\text{C=O})$, confirmando a presença dos fármacos. Além desses picos supracitados, a amostra PLA_CB apresentou pico em 1005 cm^{-1} que corresponde a $\nu(\text{C-N})$ presente na cloxacilina benzatina (CB) (CHAO et al., 2007).

Outro fato interessante foi verificado no deslocamento do pico de 3057 cm^{-1} para 3063 cm^{-1} , referente as vibrações N-H, (FIGURA 5.2 b). Isso sugere que houve interação entre a cloxacilina Benzatina (CB) e a matriz PLA, que era esperado. Embora tenham sido utilizados fármacos diferentes, os resultados de BISWAS e SAHOO (2018) corroboram com o resultado observado neste trabalho. Esses autores encapsularam o ácido benzoico na matriz PLA. Os deslocamentos Raman foram observados em dois casos, o primeiro corresponde a alteração do pico 1607 cm^{-1} para 1604 cm^{-1} , referente ao alongamento do anel aromático do ácido benzoico. No segundo caso, foi observado deslocamento do pico de 1003 cm^{-1} para 1001 cm^{-1} , referente a deformação do anel benzênico do ácido benzoico. A partir desses eventos, os autores indicaram possíveis interações entre o PLA e o ácido benzoico, os quais foram confirmados com os estudos de análise térmica.

Visando complementar a análise Raman no sentido de confirmar a presença dos fármacos no sistema PLA, bem como avaliar a presença de possíveis impurezas, foi utilizada a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier. A FIGURA 5.3 ilustra os espectros na região do infravermelho das amostras do sistema PLA e cloxacilina sódica e benzatina.

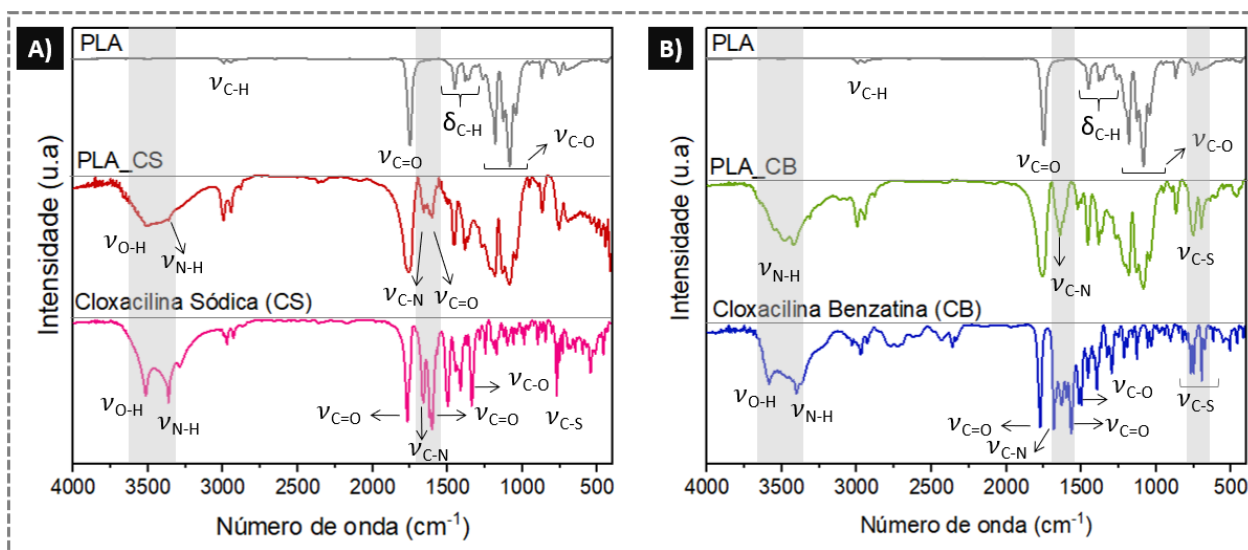


FIGURA 5.4 - Espectros na região do infravermelho para o sistema PLA: a) fibras PLA, PLA_CS e padrão da Cloxacilina sódica (CS); b) fibras de PLA, PLA_CB e padrão da Cloxacilina Benzatina (CB)

De acordo com a FIGURA 5.4 (a-b), as bandas características do polímero PLA foram identificadas e os números de onda em 2994 e 2944 cm^{-1} , são correspondentes às deformações assimétrica e simétrica da ligação C-H do grupo CH_3 , respectivamente. A banda mais intensa foi observada em 1751 cm^{-1} , sendo está associada ao estiramento do C=O do grupo éster presente na cadeia do PLA. Deformações angulares assimétricas da ligação C-H do grupo CH_3 foi observada em 1452 cm^{-1} . Na região entre 1250-1440 cm^{-1} , observa-se um conjunto de bandas associadas as deformações simétricas do CH_3 e as deformações angulares do grupamento C-H, caracterizada por três números de onda em 1380, 1360 e 1300 cm^{-1} . As bandas observadas em 1182 cm^{-1} e em 1044 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos das ligações C-O e C-O-C de poliésteres alifáticos, respectivamente (RAMÍREZ-HERRERA et al., 2018).

Ao examinar os espectros da cloxacilina sódica (FIGURA 5.3 a), foram observadas bandas intensas na região de 3514 e 3363 cm^{-1} que foram relacionados à vibração da amida secundária $\nu(\text{N-H})$. Outra banda intensa foi observada próximo ao 1630 cm^{-1} que estão associadas a três vibrações $\nu(\text{C=O})$ da amida secundária, $\nu(\text{C=O})$ do ácido carboxílico, $\nu(\text{C=C})$ do anel benzeno. Outros dois modos vibracionais em 1414

e 1338 cm^{-1} são associados $\nu(\text{C}-\text{O})$ de ácido carboxílico no ligante e, também são integrados a um pico médio forte (1401 cm^{-1}) do complexo. Além disso, a intensidade da $\nu(\text{C}=\text{O})$ (1768 cm^{-1}) da amida terciária no ligante. Por fim, a ligação $\nu(\text{C}-\text{S})$ foi mostrada pelo modo vibracional em aproximadamente em 696 cm^{-1} (ZHI et al., 2012). Os modos vibracionais que confirmam a cloxacilina benzatina (FIGURA.53 b) são coincidentes com todos aqueles identificados nos espectros Raman da cloxacilina sódica, (FIGURA.53 a), tratados acima.

Com relação a amostra PLA_CS ficou evidente nos espectros FIGURA 5.4, a presença dos grupos O-H (3519 cm^{-1}), N-H (3370 cm^{-1}), beta-lactâmico carbonil (1770 cm^{-1}), amida secundária (1669 cm^{-1}) e carbonil carboxilato (1604 cm^{-1}). Já para a amostra PLA_CB (FIGURA 5.3 b), a evidência da presença do fármaco pode ser interpretada pelos modos vibracionais da amida secundária (1669 cm^{-1}) e carbonil carboxilato (1604 cm^{-1}). (CHAO et al., 2007; KUMAR, 2014)

Outro fator relevante neste estudo foi que em todas as análises estruturais (DRX, FTIR e RAMAN) do sistema PLA não foi observada a presença de solventes residuais utilizados na preparação das soluções poliméricas e/ou qualquer outro contaminante, fator indesejável do ponto de vista da interferência da interação do polímero *versus* princípios ativos (cloxacilinas).

5.1.2 Sistema PLA_AMIDO

Considerando as propriedades do amido tratadas neste trabalho (Item 1.2.1), semicristalino, biocompatível, biodegradável, bem como, economicamente viável. Assim, adicionando amido ao PLA, esperava-se melhorar as propriedades do PLA. Uma vez que o PLA apresenta duas principais limitações, a primeira delas está relacionado ao alto custo de produção em comparação aos derivados não biodegradáveis oriundos do petróleo e a segunda associa-se ao fato que o PLA é quebradiço, embora apresente microestrutura e propriedades mecânicas ajustáveis (KOH et al., 2018).

Baseado nessas limitações, neste estudo, tentou-se eletrofiar fibras apenas de amido, visto que é atraente do ponto de vista econômico devido ao baixo custo, além de ser completamente biodegradável e renovável a partir da colheita anual (LU et al., 2009). Contudo, as fibras desenvolvidas não possuíam estabilidade, perdendo formato

de fibras (em uma dimensão), ou seja, sofriam o fenômeno da coalescência no coletor, dificultando a coleta da manta para armazenamento e posterior caracterizações. Comportamento similares foram reportados no estudo de (KONG e ZIEGLER, 2014). Em outro estudo, quando as fibras de amido nativo foram eletrofiadas apresentaram sensibilidade à água e baixas propriedades mecânicas, além da dificuldade no processamento, limitando suas aplicações (LANCUŠKI et al., 2015).

Assim, prosseguiu-se os estudos com incorporação do amido na fibra de PLA. Embora, o amido e o PLA apresentem diferenças em suas características físico-químicas, o amido é hidrofílico enquanto o PLA é hidrofóbico. Isso significa que os materiais à base de amido são sensíveis à água (KOH et al., 2018). Neste estudo a fase de amido disperso (minoritária) foi incorporada à matriz de PLA durante o processamento. Os difratogramas das fibras do sistema PLA com adição do amido estão ilustrados na FIGURA 5.5. O difratograma da amostra de PLA_AMIDO apresenta perfil similar ao amido, classificado com cristalinidade tipo C, apresentando picos intensos em $2\theta = 17,14^\circ$ e $22,98^\circ$ e de baixa intensidade em $2\theta = 15^\circ$, além de apresentar um halo amorfo sobreposto aos picos intensos, que pode confirmar que se trata de polímero semicristalino (FAN et al., 2017). O amido do Tipo C é uma mistura do tipo A com o B, uma vez que o tipo A apresenta picos intensos em $2\theta = 15^\circ$, $17,2^\circ$; 18° ; $23,2^\circ$ e o tipo B apresenta picos intensos em $2\theta = 17^\circ$ e de baixa intensidade em $2\theta = 15^\circ$; 20° ; 22° e 24° e um pico característico em $2\theta = 5,6^\circ$ (RS GREEN CHEMISTRY, 2018). A classificação do tipo C ainda pode ser subdividida em C_A ou C_B , conforme proporção dos polimorfos do tipo A ou B presente nos grânulos. O amido tipo A apresenta estrutura monoclinica com empacotamento fechado e com baixo teor de água, já o tipo B apresentam duplas hélices em arranjo hexagonal com estrutura aberta e com presença de água dentro do núcleo helicoidal (CAI et al., 2014a).

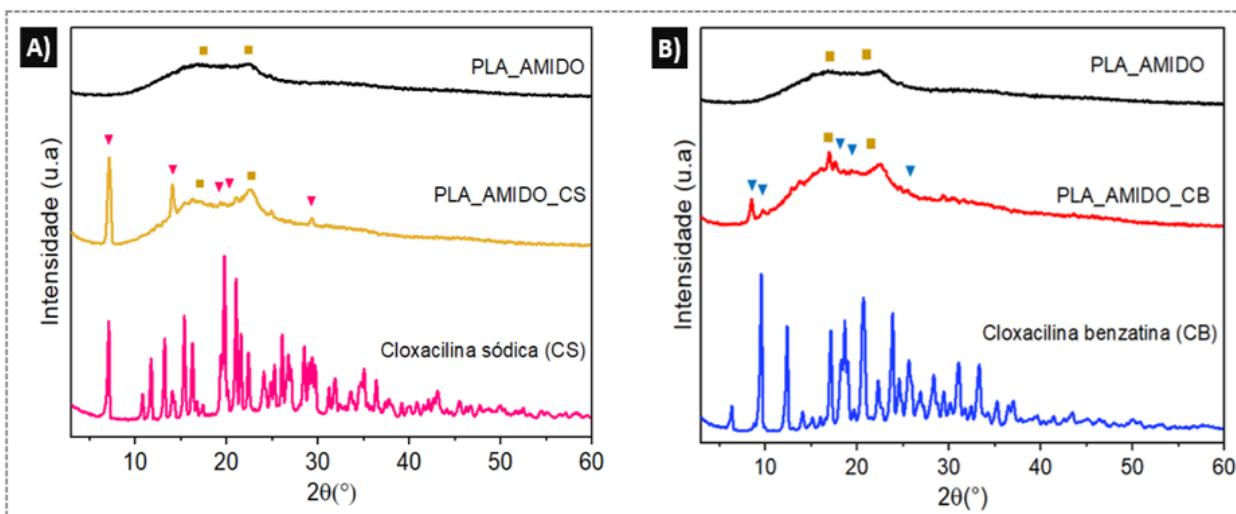


FIGURA 5.5 - Difrátogramas de raios X das fibras eletrofiadas para o sistema PLA_AMIDO: a) Cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_CS (▼) pico intensos CS ; b) Cloxacilina benzatina (CB) e PLA_AMIDO_CB (▼) pico intensos CB. (■) pico intenso do amido.

Uma observação importante na FIGURA 5.4 é que os picos característicos do PLA, confirmados na FIGURA 5.1, não foram identificados na amostra PLA_AMIDO. Isso sugere possíveis modificações estruturais do PLA com a presença do amido fisicamente disperso na matriz do PLA (HU et al., 2013b), ou que os picos do PLA foram mascarados pelos do amido.

Além do DRX, foram feitas análises Raman de todas as amostras de fibras do sistema PLA_AMIDO. A FIGURA 5.6 ilustra os espectros Raman destas amostras. Nesta análise não foi possível identificar os picos referentes ao amido, o que pode estar atribuído a maior sensibilidade Raman do PLA comparado ao amido (MILLEN et al., 2005). Ao analisar o amido puro pela técnica Raman, a literatura reporta que o espectro apresenta picos mais intensos em 440 cm^{-1} atribuídos à estrutura do material com vibrações do anel piranose na unidade de glicose do amido. Relata também os picos em 930 e 860 cm^{-1} referentes às deformações nas ligações $\text{C}_1\text{-H}$ e CH_2 da ligação glicosídica $\alpha\text{-1-4}$ tanto da amilose quanto da amilopectina (POZO et al., 2018). Contudo, para as amostras PLA_AMIDO não foi evidenciada a presença do amido, por possível mascaramento do sinal Raman do PLA, pois no processamento da amostra havia apenas 11,11% (m/m) de amido em relação ao PLA.

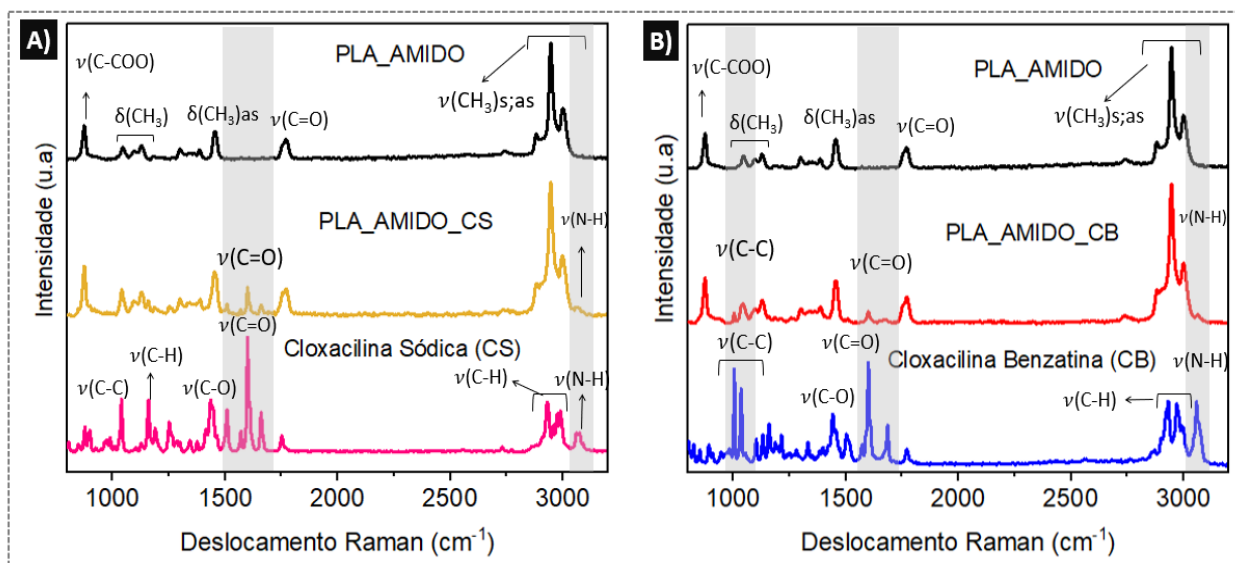


FIGURA 5.6 - Espectros Raman das fibras eletrofiadas do sistema PLA_AMIDO: a) cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_CS; b) Cloxacilina benzatina (CB) e PLA_AMIDO_CB.

Ao examinar a FIGURA 5.5 a-b, verificaram-se as presenças dos fármacos CS e CB nas amostras de fibras de PLA_AMIDO_CS e PLA_AMIDO_CB. Os modos vibracionais concordam com as FIGURA 5.2 e FIGURA 5.3.

Os espectros de infravermelho para o sistema PLA_AMIDO estão ilustrados na FIGURA 5.6.

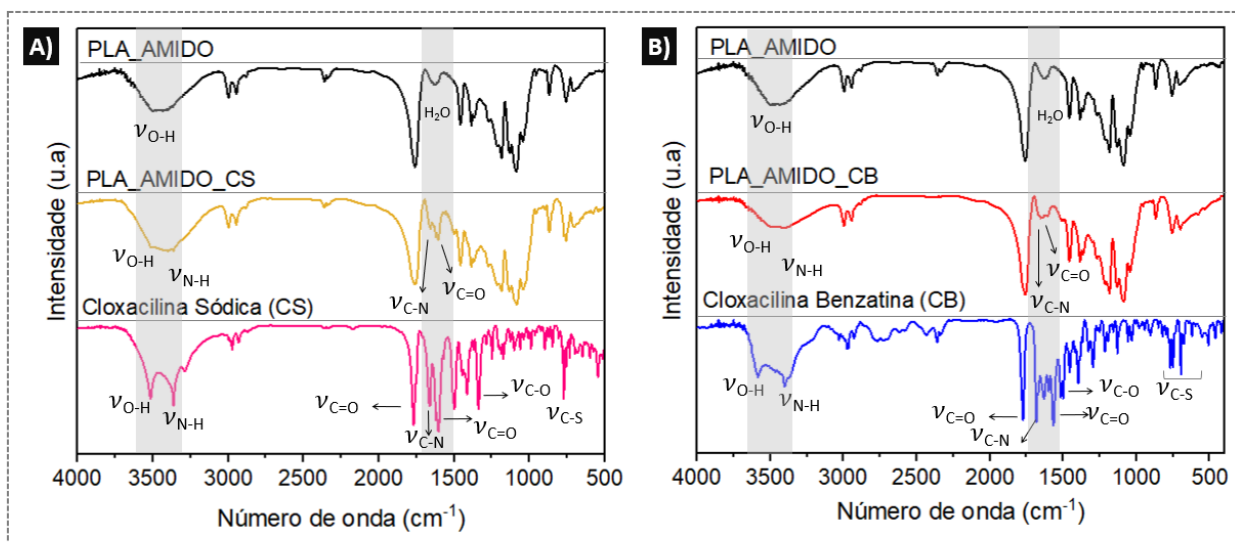


FIGURA 5.7 - Espectros na região do infravermelho para o sistema PLA_AMIDO: a) Cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_CS; b) Cloxacilina benzatina (CB) e PLA_AMIDO_CB

Conforme reportado na literatura o amido apresenta banda larga na região de 3400-3000 e 1643 cm^{-1} atribuídas ao estiramento e a deformação angular de ligações O-H da unidade glicosídica, fato evidenciado para amostra PLA_AMIDO. Além disso, no estudo de LIPSA e TUDORACHI (2006) também reporta presença de banda de absorção muito larga em 3400 cm^{-1} , que pode ser característica do grupo OH do amido e da água absorvida. Ainda nesse estudo esses autores afirmam que o PLA nessa mesma banda tem uma frequência mais reduzida.

Além dessas bandas, não foi possível observar a banda do amido próximo a 2925 cm^{-1} , atribuída a deformação de ligações C-H do anel, nem mesmo as bandas na região de 1200 a 1000 cm^{-1} consideradas bandas características das vibrações de deformação de C-O em álcoois e a vibrações de deformação O-C-O (LIMA et al., 2012).

5.1.3 Sistema PLA_AMIDO_LAPONITA

A FIGURA 5.8 (a-b) apresentam os resultados da análise de DRX para amostra de PLA e amido na presença da argila laponita. A inserção da laponita justifica-se devido à capacidade de melhorar a biodisponibilidade dos fármacos empregados. Assim, foram observados picos característicos da presença desta argila na matriz

PLA_AMIDO. Conforme, reportado no estudo de (DING et al., 2016; GHADIRI et al., 2013) os planos (001) (110) e (300) são correspondentes à laponita, que são indicados pelo símbolo (★).

Para a amostra PLA_AMIDO_LAPONITA_CS foi confirmada a presença da cloxacilina sódica (▼). Porém, para amostra PLA_AMIDO_LAPONITA_CB, os picos da cloxacilina benzatina (▼) não foram evidenciados. Neste último caso, sugere-se que a benzatina foi encapsulada na matriz PLA_AMIDO, possivelmente tenha formado agregados moleculares amorfo nas fibras. Estudos similares reportam este mesmo resultado do encapsulamento do fármaco em matriz polimérica (SONGSURANG et al., 2011; VALAREZO et al., 2013).

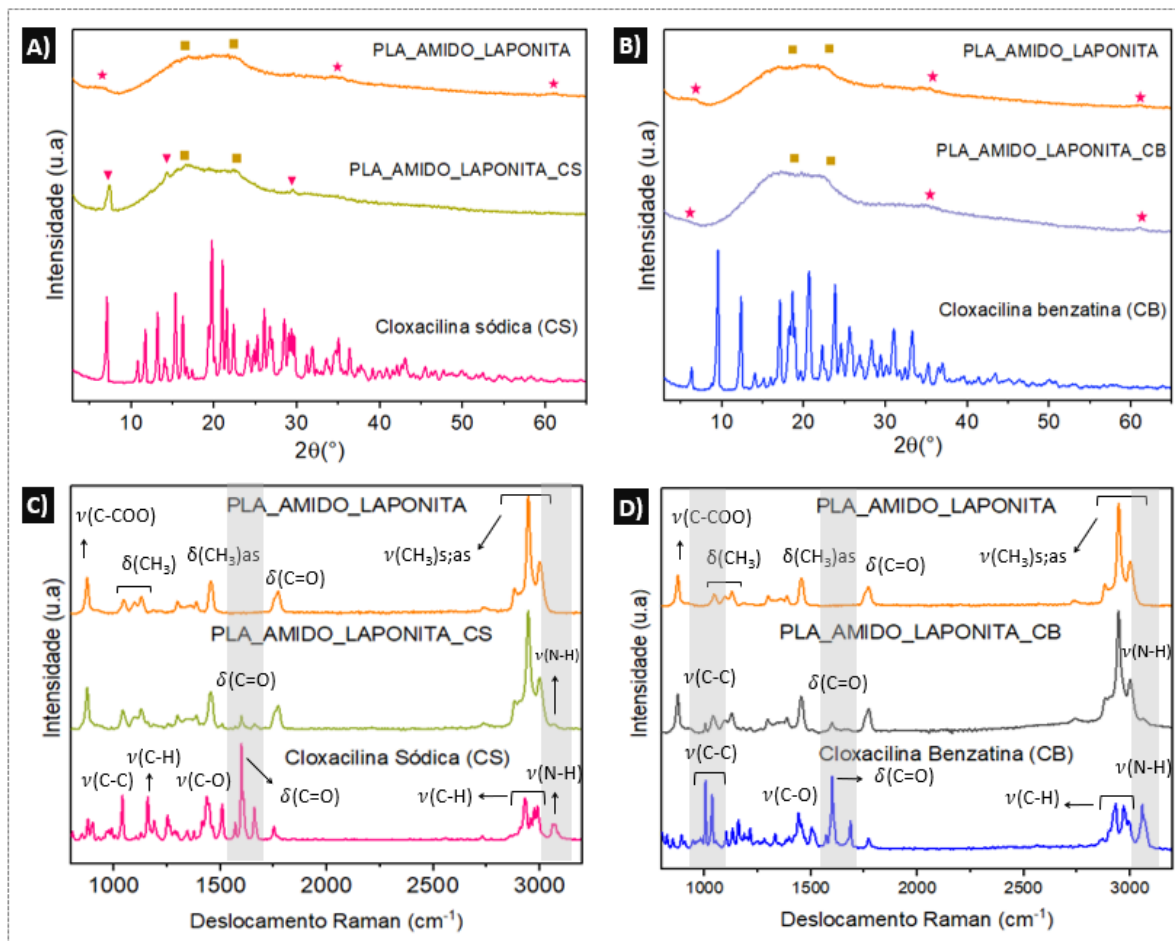


FIGURA 5.8 – Difratomogramas de raios X (a e b) e espectros Ramam (c e d) das fibras eletrofiadas para o sistema PLA_AMIDO_LAPONITA; cloxacilina sódica (CS), benzatina

(CB); PLA_AMIDO_LAPONITA_CS e PLA_AMIDO_LAPONITA_CB. (★) picos intensos da laponita.

Ainda na FIGURA 5.8 (c-d), os espectros Raman das amostras PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_LAPONITA_CS; PLA_AMIDO_LAPONITA_CB, apresentaram picos característicos do composto majoritário da fibra (PLA) com a presença dos picos dos fármacos nas mesmas posições discutidas na sessão 5.1.1.

Além dos resultados de DRX e Raman, a FIGURA 5.8 ilustram os resultados de FTIR para o sistema PLA_AMIDO_LAPONITA.

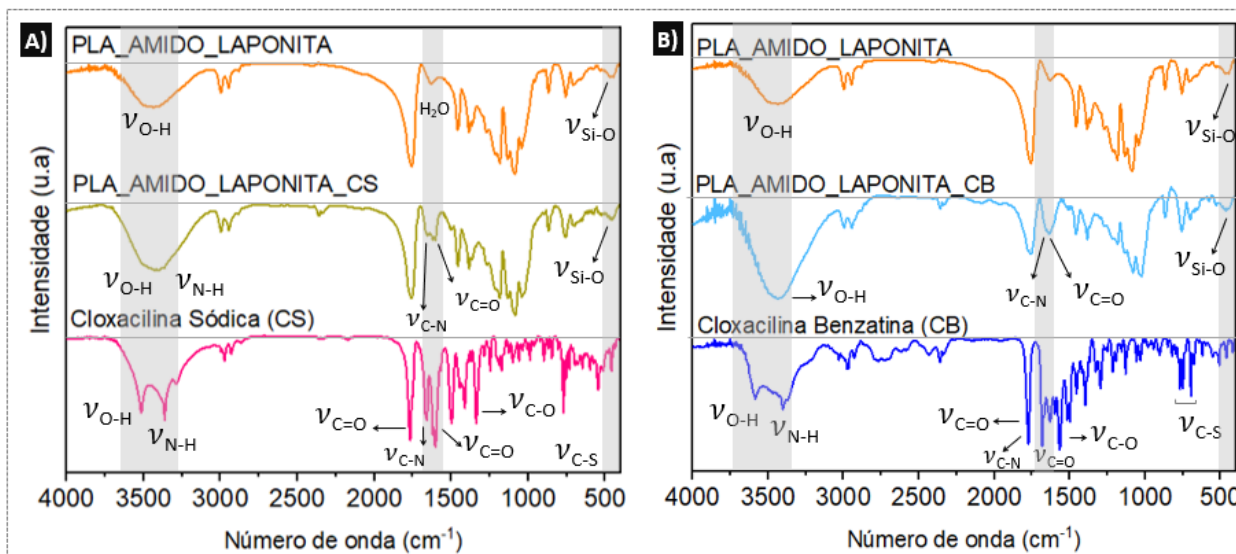


FIGURA 5.9 - Espectros na região do infravermelho para o sistema PLA_AMIDO; Cloxacilina sódica (CS), benzatina (CB); PLA_AMIDO_CS e PLA_AMIDO_CB

Na FIGURA 5.8, além da presença das bandas características do PLA e amido, discutidas anteriormente, a amostra PLA_AMIDO_LAPONITA 5.8 (a-b) apresenta bandas em torno de 435 cm^{-1} que foram atribuídas as vibrações de estiramento de Si-O, modos característicos da laponita (DYAB et al., 2014). Foram confirmadas bandas características de CS, 3513 cm^{-1} $\nu(\text{O-H})$, 3364 cm^{-1} $\nu(\text{N-H})$, 1660 cm^{-1} $\nu(\text{C-N})$ e 1603 cm^{-1} $\delta(\text{C=O})$ na mostra PLA_AMIDO_LAPONITA_CS. Da mesma forma, foram confirmadas bandas de características de CB, 3444 cm^{-1} $\nu(\text{O-H})$, 1665 cm^{-1} $\nu(\text{C-N})$ e 1597 cm^{-1} $\delta(\text{C=O})$ na amostra PLA_AMIDO_CB.

5.1.4 SISTEMA PLA_AMIDO_MONTMORILONITA

Para o sistema PLA e amido com a presença da montmorilonita, uma argila organicamente modificada. A FIGURA 5.9 ilustra os difratogramas para esse sistema. De acordo com (PAIVA et al., 2008) a inserção de moléculas orgânicas faz com que ocorra expansão entre os planos (001) da argila, isto pode proporcionar alterações na natureza hidrofílica no sistema, tornando-a hidrofóbica. Fato que possibilita a ampliação desse material no campo biomédico. Outro fator interessante, na produção desse material é a variação de interação entre o polímero e a argila modificada organicamente com o sal de amônio (cloreto de sebo bis-2-hidroxietil metil amônio) (KAKEGAWA; OGAWA, 2002).

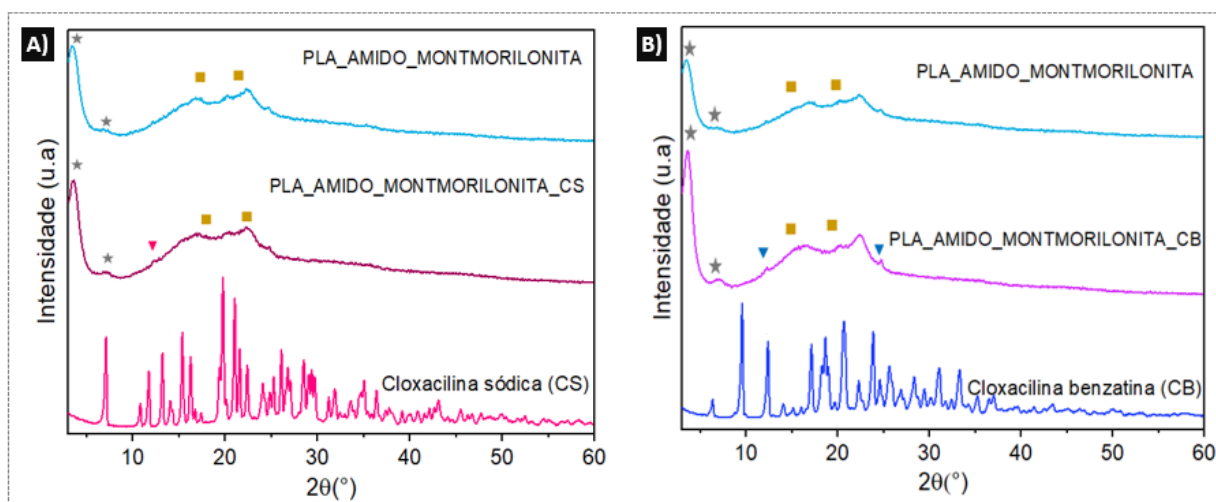


FIGURA 5.10 - Difratogramas de raios X das fibras eletrofiadas para o sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA: a) Cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA _CS; b) Cloxacilina benzatina (CB) e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA _CB. (★) picos intensos da montmorilonita.

Ao examinar a FIGURA 5.9, verificou-se na amostra PLA_AMIDO_MONTMORILONITA a presença de picos em $2\theta = 3,4^\circ$ e $2\theta = 8,2^\circ$ característicos da montmorilonita. O primeiro pico corresponde ao plano (001) e o segundo pico (002) (LUJAN-ACOSTA et al., 2016; ABDOLRSAOULI et al., 2018). Na FIGURA 5.9 (a-b) também foram confirmadas as presenças dos fármacos CS e CB nas amostras PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB, nessa ordem, conforme discussão na 5.1.3.

A partir dos difratogramas apresentados nas FIGURA 5.7 e FIGURA 5.9, foi possível calcular a relação dos ângulos de difração, referente ao espaço interlamelar (001) utilizando a Lei de Bragg, apresentado na Equação 5.

$$d_{hkl} = \frac{\lambda}{2 \sin \theta} \quad (5)$$

Onde λ é o comprimento de onda da fonte de cobre do ânodo ($\lambda = 1,5406$ Å) e θ representa o ângulo de difração de cada plano difratado, os quais resultados estão expostos na TABELA 5.1

TABELA 5.1 - Valores do espaço basal para as argilas (laponita e montmorilonita) antes e após inserção na matriz PLA_AMIDO

Amostras	2 θ (°)	Espaçamento basal (nm)
MONTMORILONITA	3,44	2,56
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA	3,45	2,55
LAPONITA	6,68	1,37
PLA_AMIDO_LAPONITA	6,30	1,41

De acordo com TABELA 5.1, os valores dos espaçamentos basais (d) para a montmorilonita e laponita na forma de pós estão concordantes com os resultados. Esse comportamento concorda com os resultados obtidos por CUNHA et al. (2017), verificaram que o plano (001) em $2\theta \approx 6,68$, quando intercalaram a pilocarpina na laponita e ABDOLRSAOULI et al. (2018), observaram o plano (001) em $2\theta \approx 3,44$, ao inserir montmorilonita no PLA. Já as fibras de PLA_AMIDO_LAPONITA quando comparadas à amostra de laponita (pós) apresentou deslocamento e diminuição da intensidade do pico equivalente ao plano (001). Esse fato pode sugerir que houve intercalação do polímero nas lamelas da argila. O aumento nos valores do espaçamento basal (d_{001}) de 1,37 para 1,41 nm evidencia a intercalação de parte do PLA:AMIDO nas lamelas da laponita e, assim, podendo formar um compósito de estrutura esfoliada, uma vez que, as camadas do silicato podem estar completamente dispersas na matriz polimérica (DELHOM et al., 2010; AOUADA et al., 2013). Contrariamente ao resultado da laponita, as fibras de PLA_AMIDO na presença da montmorilonita mantiveram o espaçamento basal após a

adição dos polímeros (d_{001} 2,56 nm), indicando duas possibilidades, intercalação parcial, ou nenhuma intercalação do polímero na argila. Assim, a FIGURA 5.10 ilustra as possibilidades de intercalação de polímero nas argilas.



FIGURA 5.11 – Esquema ilustrativo das possibilidades de arranjo do polímero e argila. Fonte: Adaptado de ALEXANDRE et al.,2009.

De acordo com o esquema (FIGURA 5.10) e os resultados de DRX (FIGURAS 5.7 e 5.9), a utilização da montmorilonita sugere duas possibilidades, a primeira o polímero não intercala as estruturas das argilas, chamados de microcompósitos (FIGURA 5.10 a), ou intercalou, mantendo a estrutura de multicamadas ordenadas, chamada nanocompósitos intercalados (FIGURA 5.10b). Nesses casos, não há variação no espaçamento basal (d_{001}), fato evidenciado na TABELA 5.1. Com a laponita, os resultados sugerem que polímero intercalou na argila, dispersando-a de forma que a estrutura seja do tipo esfoliada, (FIGURA 5.10 c).

É importante ressaltar que fortes interações do tipo polar, especialmente ligações de hidrogênio, são críticas para a formação de híbridos intercalados e esfoliados. Além disso, a compatibilidade e as interações ótimas entre a matriz polimérica e a superfície da camada de silicato são cruciais para a formação de nanocompósitos intercalados e esfoliados (LEE et al., 2009)

Para complementar a análise de DRX, as amostras com montmorilonita foram analisadas por FT-Raman. A FIGURA 5.11, ilustra os espectros Raman das amostras processadas por eletrofiação do sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA.

A partir das análises espectrais da FIGURA 5.11 não foi possível confirmar a presença da montmorilonita no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA. Isso pode estar atribuído à incorporação da fração de montmorilonita (10% m/m) em relação à

matriz PLA_AMIDO. Além disso, FROST E RINTOUL (1996) observaram que os espectros Raman da montmorilonita são difíceis de obter se as camadas forem randomizadas em seu espaçamento, ou seja, ocorre um empilhamento aleatório entre as camadas.

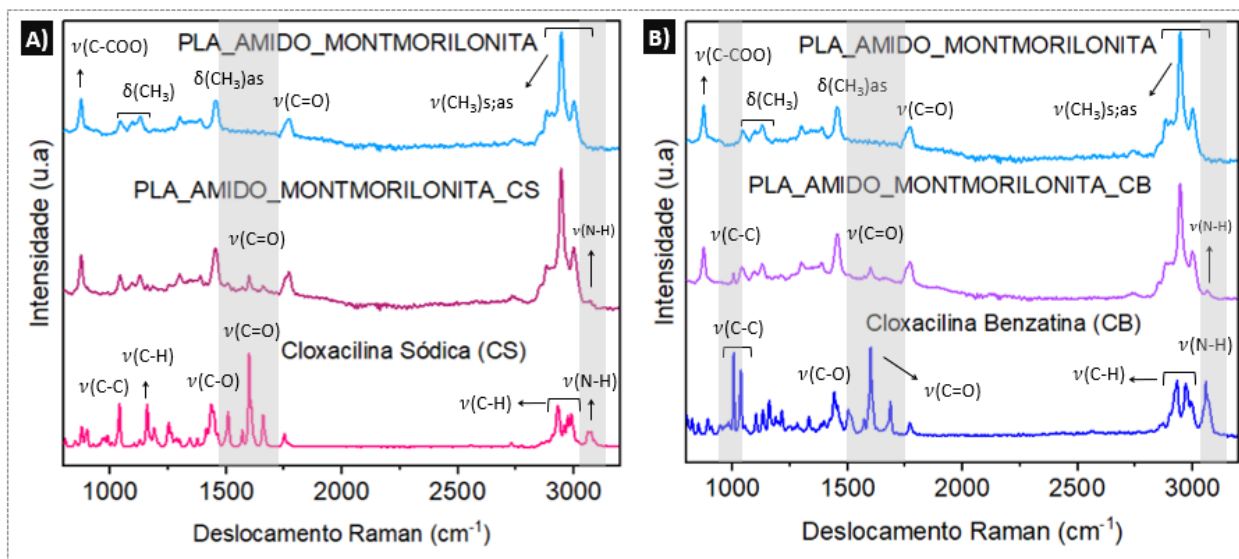


FIGURA 5.12 – Espectros Raman das fibras eletrofiadas do sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA: a) cloxacilina sódica (CS) e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS; b) cloxacilina Benzatina (CB) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB.

FIGURA 5.12 foi possível confirmar a presença dos fármacos CS e CB nas amostras PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB. Os picos característicos de CS foram evidenciados em 1599 cm^{-1} $\delta(\text{C=O})$ e 3070 cm^{-1} $\nu(\text{N-H})$ (FIGURA 5.11 a). Os picos característicos de CB foram identificados em 1003 cm^{-1} $\nu(\text{C-C})$, 1599 cm^{-1} $\delta(\text{C=O})$ e 3061 cm^{-1} $\nu(\text{N-H})$ (FIGURA 5.11 b). Assim como as outras matrizes de PLA, foi também confirmado o PLA no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA, embora não se confirmou a presença de picos de amido como discutido no item 5.1.2.

Com o intuito de complementar a análise estrutural e verificar se há algum contaminante, como também os principais modos vibracionais dos componentes do sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA presentes na região do infravermelho, foram

realizadas medidas de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier. A FIGURA 5.13 ilustra os espectros Raman das amostras PLA_AMIDO_MONTMORILONITA.

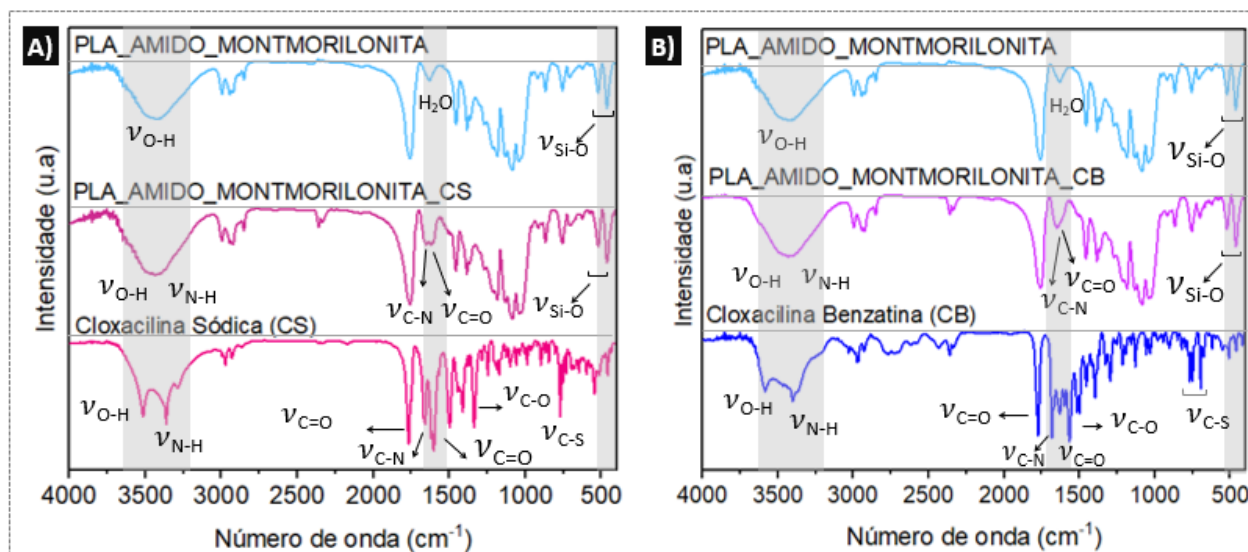


FIGURA 5.13 – Espectros na região do infravermelho para o sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB; cloxacilina sódica e benzatina.

Ao avaliar os espectros de FTIR da FIGURA 5.12, pôde-se confirmar a presença da montmorilonita no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA pelas bandas características dos estiramentos Si-O-Si em 523 cm^{-1} e 465 cm^{-1} , que correspondem ao grupo do silicato (DYAB et al., 2014). Além disso, foi também confirmada a presença dos fármacos CS e CB no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA por intermédio das bandas 3511 cm^{-1} $\nu(O-H)$, 3370 cm^{-1} $\nu(N-H)$, 1665 cm^{-1} $\nu(C-N)$ e 1603 cm^{-1} $\delta(C=O)$ características do CS, e as bandas 3517 cm^{-1} $\nu(O-H)$, 3400 cm^{-1} $\nu(N-H)$, 1665 cm^{-1} $\nu(C-N)$ e 1597 cm^{-1} $\delta(C=O)$, referentes ao CB.

Da mesma forma que o item 5.1.1, foram confirmadas as bandas do PLA no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB.

5.2 Morfologia das Fibras

Foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), visando confirmar a morfologia das fibras (formato 1D) e analisar as amostras processadas por eletrofiação neste trabalho. Assim, foram analisadas imagens de doze amostras dos sistemas: PLA, PLA_AMIDO, PLA_AMIDO_LAPONITA e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA. Nos quais foram adicionados os fármacos cloxacilina sódica e benzatina, que serão discutidos nos itens a seguir.

5.2.1 Sistema PLA

A FIGURA 5.13 (a-c) apresentam imagens representativas de MEV das amostras PLA; PLA_CB e PLA_CS processadas por eletrofiação e a FIGURA 5.13 (d-f) ilustra a distribuição do tamanho médio dessas fibras.

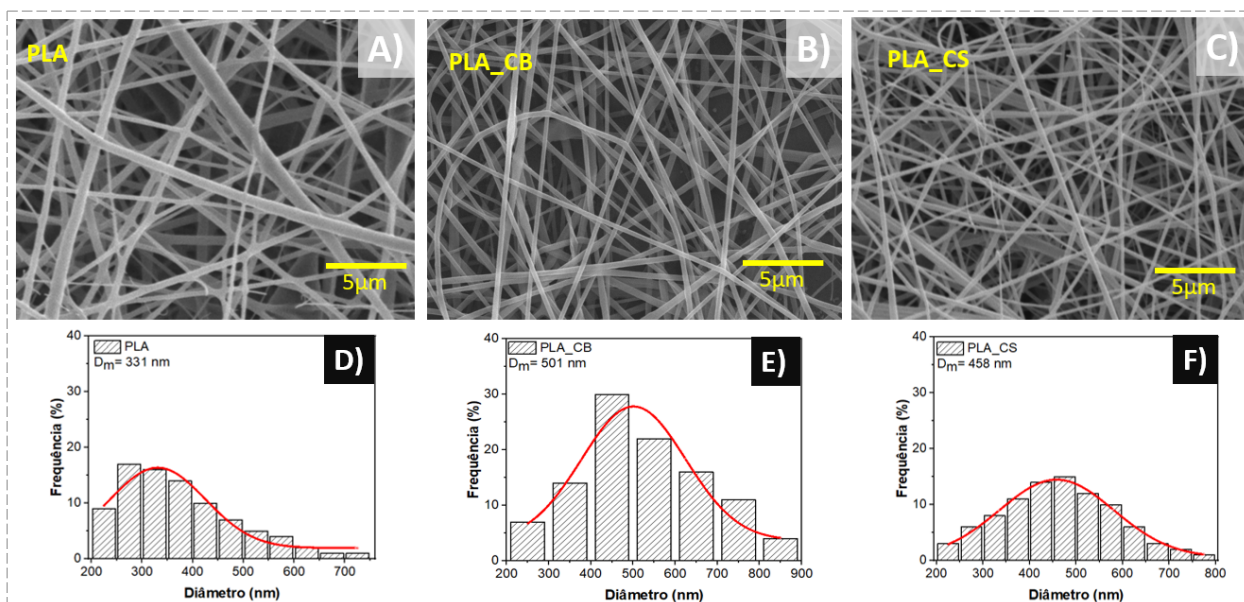


FIGURA 5.14 – Micrografias das fibras: a) PLA; b) PLA_CB e c) PLA_CS, d-f) distribuição do tamanho das fibras obtidas.

Ao analisar as micrografias das fibras da FIGURA 5.14 foi possível confirmar o formato 1D, que caracteriza as fibras e verificar que todas apresentaram morfologia homogênea e sem defeitos de superfície. O diâmetro médio e desvio padrão das fibras, calculados a partir das 100 contagens de fibras com auxílio do software *Image*

J foram: $331 \text{ nm} \pm 61$ para a amostra de PLA; $501 \text{ nm} \pm 246$ (PLA_CB); $458 \text{ nm} \pm 246$ (PLA_CS). Com base nos resultados, observou-se que o aumento do diâmetro médio das fibras foi influenciado após adição dos fármacos, cloxacilina sódica e benzatina, resultando em correlações diretas com a viscosidade. Para esse sistema, a viscosidade aumentou de 53,6 cP (PLA) para 68,3 cP (PLA_CB) e 60,2 cP (PLA_CS), após adição dos fármacos. Conforme reportado no estudo de ZHANG et al. (2019), soluções poliméricas que têm alta viscosidade interferem diretamente no processo de estiramento das fibras durante o processamento, produzindo fibras com maiores diâmetros.

Por outro lado, o aumento do diâmetro médio das fibras pode estar associado à pressão de vapor e ponto de ebulição dos solventes utilizados no processamento das fibras. Neste estudo, os valores de pressão de vapor à 21°C e ponto de ebulição dos solventes utilizados foram: 213 mmHg; $61,2^\circ\text{C}$ (clorofórmio) e 2,7 mmHg; 153°C (dimetilformamida). Como pode-se perceber, o clorofórmio apresenta alta pressão de vapor e baixo ponto de ebulição, isso pode favorecer a evaporação do solvente e a consequente produção de fibras com maiores diâmetros. Embora, esse desafio tenha sido minimizado ao utilizar o solvente dimetilformamida que apresenta parâmetros contrários, resultando em uma evaporação mais lenta, que pode alterar as propriedades viscoelásticas da solução e, portanto, o alongamento do jato para diâmetros menores (PLATAN, 2018).

Ao comparar as amostras PLA_CS e PLA_CB observou-se que o diâmetro médio das fibras de PLA_CS foram menores. Este fator pode ser explicado pela molécula dos fármacos, pois uma é formada por sal sódico e a outro por sal benzatínico

5.2.2 Sistema PLA_AMIDO

Na FIGURA 5.15 (a-c) estão apresentadas as micrografias para as amostras PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_CB e PLA_AMIDO_CS, e a FIGURA (d-f) a distribuição do tamanho médio dessas fibras. De acordo com este sistema foi possível verificar que em todas as amostras, as fibras apresentaram distribuição homogênea e sem a presença de *beads*. Fato que evidencia a estabilidade do sistema de eletrofiação no processamento dessas fibras.

Os valores do diâmetro médio, desvio padrão e viscosidade das fibras foram: PLA_AMIDO: 390 nm $\pm$ 323 (69,8 cP); PLA_AMIDO_CB 463 nm $\pm$ 174 (71,5 cP); PLA_AMIDO_CS: 600 nm $\pm$ 312 (75,8 cP). De acordo com esses resultados pôde-se observar que o diâmetro médio e a viscosidade foram maiores quando comparadas ao sistema PLA. Além disso, o aumento da concentração da solução do PLA com adição do amido levou a um incremento da viscosidade e ao emaranhamento das cadeias entre as estruturas poliméricas.

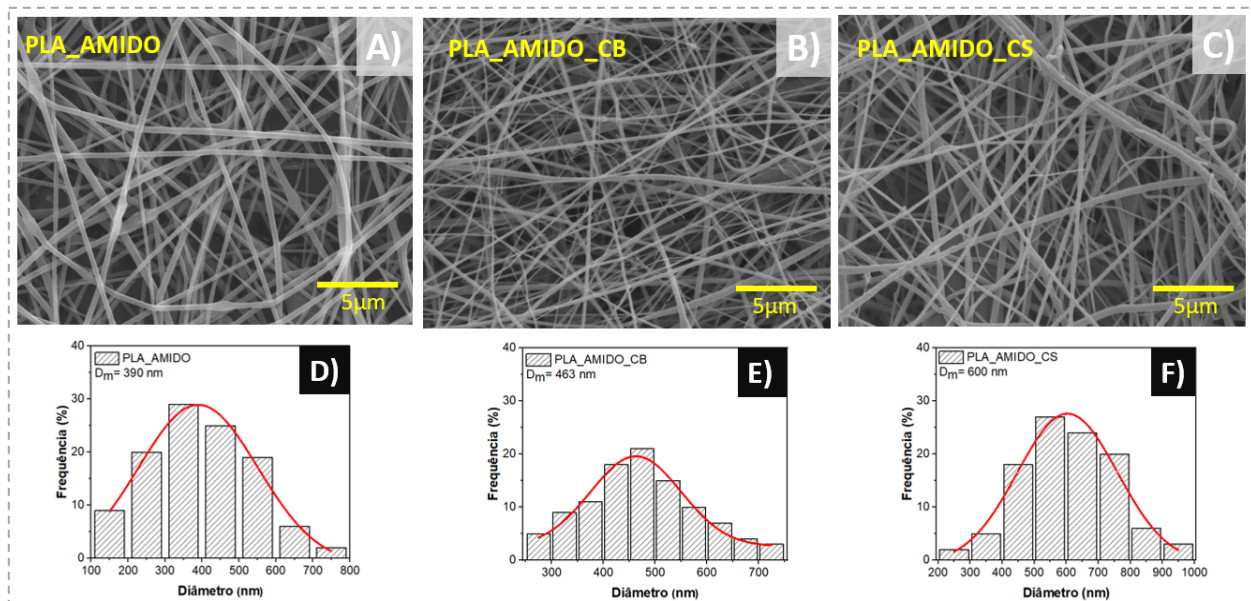


FIGURA 5.15 - Micrografias obtidas pelo MEV das fibras: a) PLA_AMIDO; b) PLA_AMIDO_CB e c) PLA_AMIDO_CS, e d) distribuição do tamanho das fibras obtidas.

Para este sistema foi observada uma distribuição bimodal que contribui para altos valores de desvio padrão. Os resultados reportados por TIPDUANGTA et al., (2016) corroboram com os resultados deste trabalho. Outra possibilidade quanto a observação de fibras com menores diâmetros, pode ser atribuído à diferença de massa molecular entre o PLA e o amido, conforme reportado por ZHAO et al. (2005).

5.2.3 Sistema PLA_AMIDO_LAPONITA

Na FIGURA 5.15 (a-c) estão apresentadas as micrografias para as amostras PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_LAPONITA_CB e

PLA_AMIDO_LAPONITA_CS, e na FIGURA 5.15 (d-f) a distribuição do tamanho médio dessas fibras.

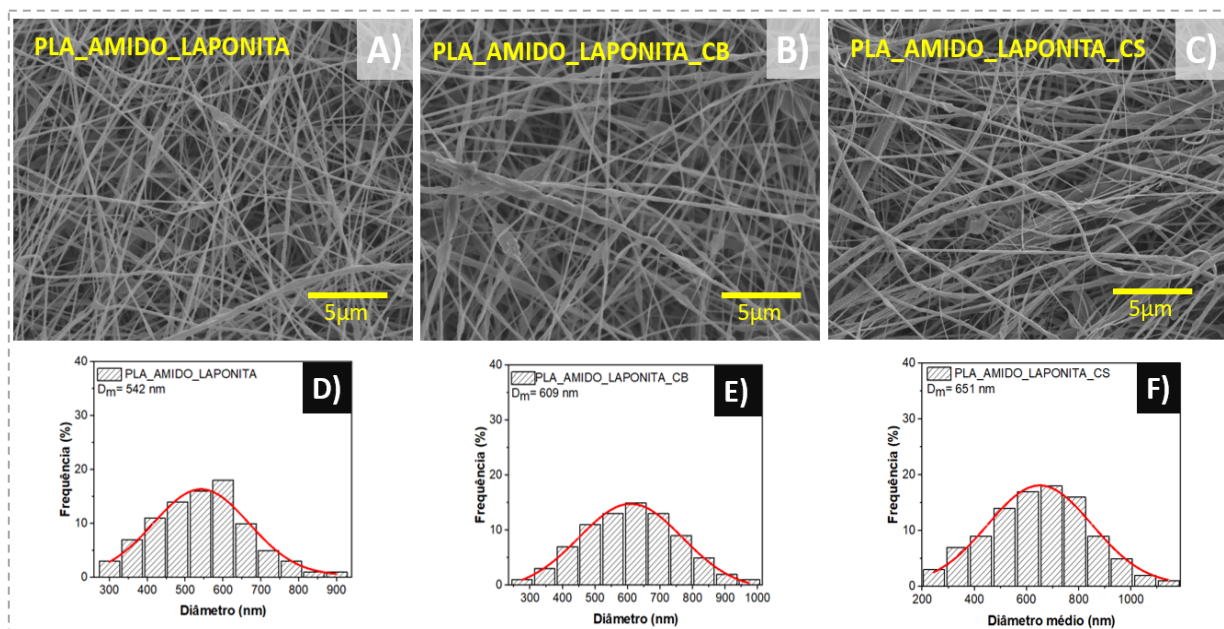


FIGURA 5.16 - Micrografias obtidas pelo MEV das fibras de a) PLA_AMIDO_LAPONITA; b) PLA_AMIDO_LAPONITA_CB e c) PLA_AMIDO_LAPONITA_CS, e d) Distribuição do tamanho das fibras.

De acordo com a FIGURA 5.16 as fibras do sistema PLA_AMIDO que foi adicionada laponita apresentam valores de diâmetro médio/viscosidade com variações entre 524 ± 251 nm/72,8 cP; 609 ± 318 nm/76,1 cP; e 651 ± 399 nm/ 78,2 cP, respectivamente para as amostras de PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_LAPONITA_CB; PLA_AMIDO_LAPONITA_CS. Percebeu-se aumento dos diâmetros médios das fibras, bem como dos valores de viscosidade para cada amostra com a adição da laponita, quando comparado ao sistema com adição do amido. Além disso, verificou-se que houve a formação de estrutura fibrosa não-homogênea carregada com argila oriunda do processo de eletrofiação, devido aos agregados resultantes da distribuição restritiva das camadas de argila na solução PLA_AMIDO, o que causa irregularidades nos tamanhos das fibras. No estudo de ISARANKURANAAYUTTHAYA et al. (2016), esses autores investigando adição de argila (*keratin*) no PLA, observaram formações de irregularidades similares aquelas observadas nesse trabalho.

Em busca de confirmar os resultados das análises estruturais das argilas, foram realizadas análises elementares com auxílio da microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva (MEV-EDS). Assim, a FIGURA 5.16 apresenta imagens de MEV-EDS da amostra de PLA_AMIDO_LAPONITA.

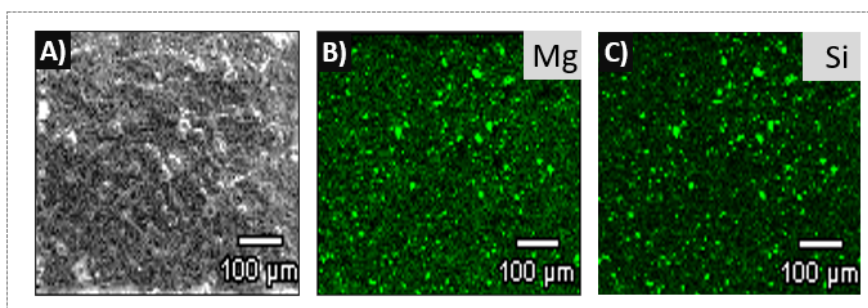


FIGURA 5.17 - Imagens de MEV-EDS da amostra PLA_AMIDO_LAPONITA

De acordo com a FIGURA 5.17 (a-c) observou-se pontos mais realçados indicando a presença de aglomerados de laponita. Em virtude da presença do amido na composição da fibra não foi possível fazer o carregamento da amostra com alcances mínimos necessário para verificar o tipo de exfoliação da laponita nas fibras de PLA. A partir da análise de mapeamento elemental dos elementos químicos que compõem a laponita foi possível identificar o Mg (FIGURA 5.16 b) e o Si (FIGURA 5.16 c), confirmando os resultados de FTIR (FIGURA 5.8), na identificação de Si-O, embora não tenha sido possível identificar a presença do Mg pelas outras técnicas, foi evidenciado pelo mapeamento elemental.

5.2.4 Sistema PLA_AMIDO MONTMORILONITA

A FIGURA 5.18 (a-c) estão apresentadas as imagens representativas das amostras a) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA; b) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB e c) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS e as ilustrações da distribuição do tamanho médio dessas fibras FIGURA 5.17 (d-f).

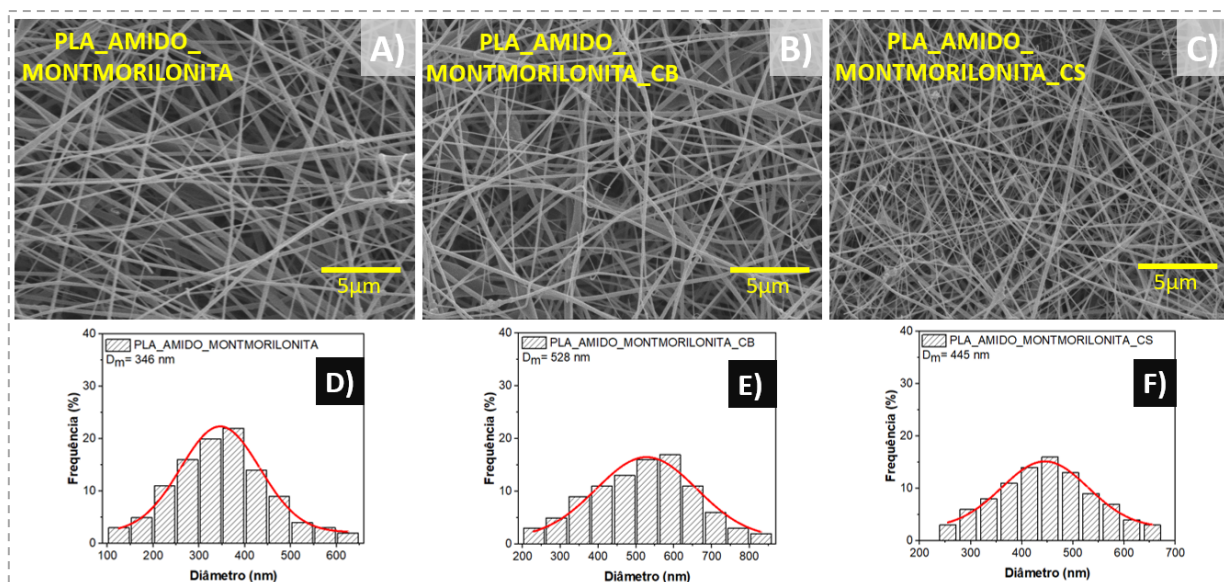


FIGURA 5.18 - Micrografias obtidas pelo MEV das fibras de a) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA b) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB e c) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS, e d-f) Distribuição do tamanho das fibras.

Pôde-se verificar na FIGURA 5.17 (a-c) as micrografias das fibras com formato 1D, as quais apresentam diâmetro médio/valores de viscosidade com variação entre: a) $346 \pm 172 \text{ nm} / 62,1 \text{ cP}$; b) $528 \pm 266 \text{ nm} / 72,7 \text{ cP}$; c) $445 \pm 168 \text{ nm} / 69,7 \text{ cP}$. O aumento dos diâmetros das fibras pode ser atribuído a adição de fármacos. Quando se adicionou CB no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA observou-se maior diâmetro médio das fibras, que pode ser explicada pela melhor interação de CB com a matriz PLA_AMIDO, embora as fibras produzidas com CS também tenham proporcionado um aumento de diâmetro menos expressivo. Indicando uma menor interação com a matriz PLA_AMIDO que a CB, como era esperado.

No estudo de BABU et al. 2016, a adição da argila (cloisita 30B) levou a uma diminuição no diâmetro da fibra de nylon de 578 nm à 165 nm. Os autores atribuíram esse efeito ao aumento da condutividade elétrica e viscosidade da solução causada pela adição da argila.

Para complementar as análises estruturais em que foram avaliados os modos vibracionais e as ligações químicas presentes nas amostras, foi realizada a caracterização elementar por MEV/EDS das amostras que contém montmorilonita, com

o intuito de encontrar os elementos característicos da argila, os resultados estão apresentados na FIGURA 5.18.

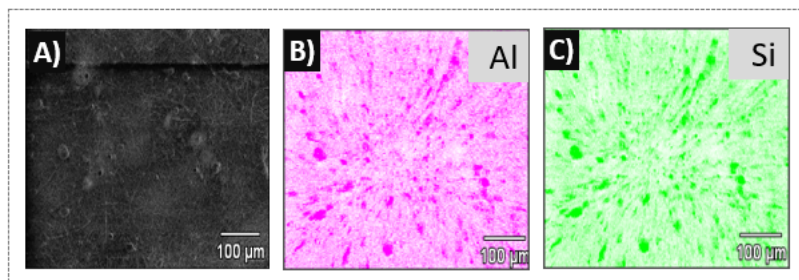


FIGURA 5.19 - Imagens de MEV-EDS da amostra PLA_AMIDO_MONTMORILONITA

Como observado na FIGURA 5.16, em que os resultados de mapeamento elemental foram limitados pela presença de amido na amostra, a análise de MEV-EDS (FIGURA 5.18), também foram limitadas pela mesma razão, Embora tenha sido possível mapear alguns elementos químicos constituintes da montmorilonita, como por exemplo o Al (FIGURA 5.18 b), Si (FIGURA 5.18 c). Mesmo com baixa resolução pôde-se verificar que essas imagens exibem aglomerados de argila dispersas em toda a amostra, mas tornam-se inconclusivas quanto a forma de esfoliação das argilas em cada fibras de PLA.

5.3 Análises térmicas

As amostras para os sistemas: PLA; PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_LAPONITA e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA foram analisadas por análises termogravimétrica (TGA) e a calorimetria de varredura exploratória (DSC) com intuito de analisar a estabilidade térmica das fibras antes e após a adição dos aditivos na matriz PLA.

5.3.1 Análise termogravimétrica (TGA)

As amostras dos sistemas: PLA; PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_LAPONITA e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA foram caracterizadas por análise termogravimétrica

(TGA) e calorimetria de varredura exploratória (DSC) com intuito de avaliar a estabilidade térmica das fibras, antes e após a adição dos componentes na matriz PLA. A FIGURA 5.19 apresenta as curvas de TGA das amostras de fibras do sistema PLA.

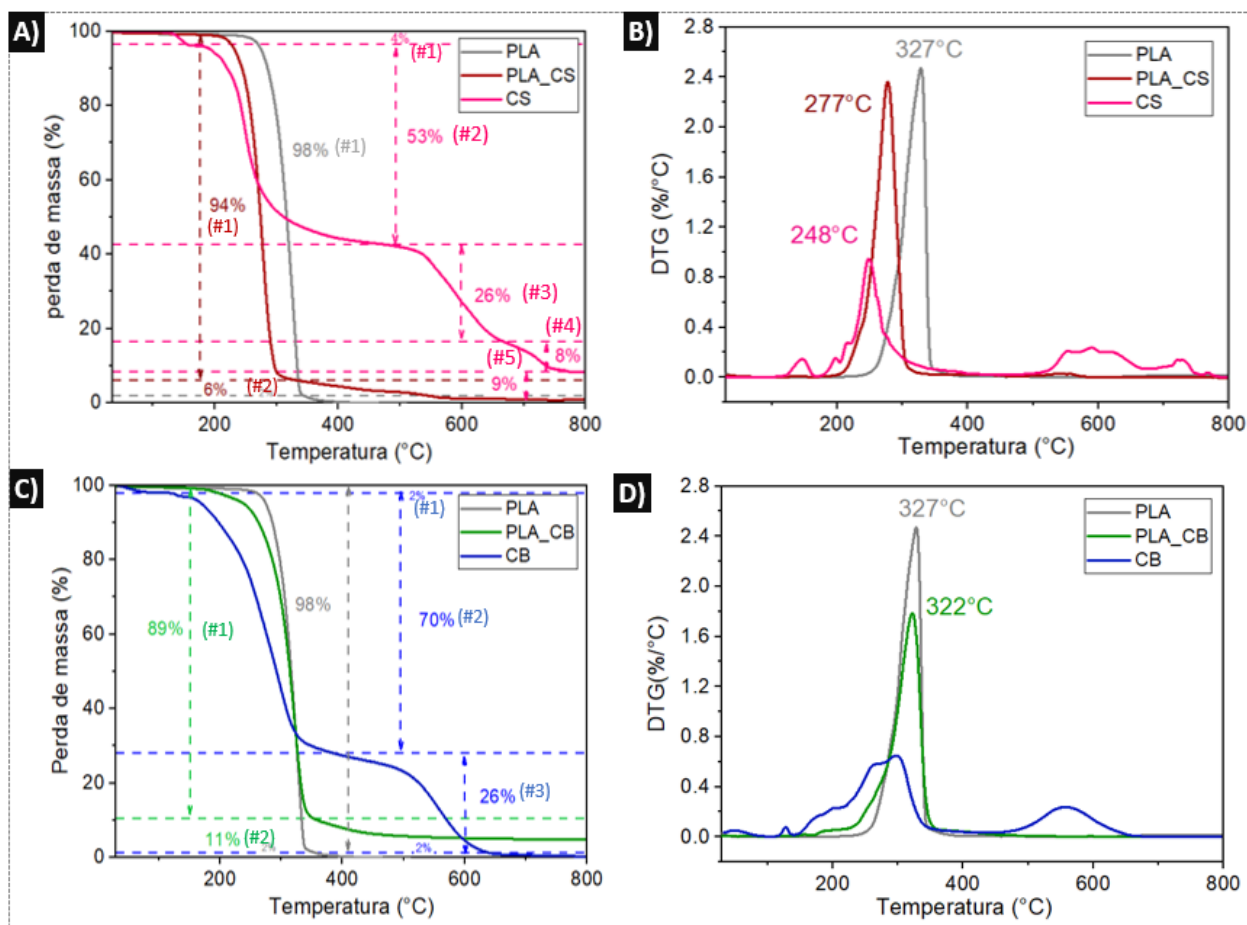


FIGURA 5.20 – Sistema PLA: a) e c) correspondem às curvas de TGA relacionadas à perda de massa em função da temperatura e b) e d) às curvas DTG relacionando a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, utilizando atmosfera de ar sintético e taxa de aquecimento 10°C/min.

Ao examinar os termogramas apresentados na FIGURA 5.19, pôde-se observar que as fibras do sistema PLA apresentaram um único evento térmico, correspondente à cisão das ligações éster ou perda do grupo terminal da cadeia principal, com 98% (#1) de degradação entre 370°C e 400°C. Os resultados de BUBECK et al., (2018), no qual os autores processaram fibras de PLA por eletrofiação, corroboram com os resultados obtidos neste trabalho.

As perdas de massa de inicial de CS, foram atribuídas 4% (#1) perda de água e orgânicos voláteis (#1) entre 30°C e 230°C, seguido de decomposição da cadeia principal com perdas de 53% (#2), 26% (#3) e 8% (#4) entre 230 e 700°C, com resíduo final de 9%. Enquanto, CB apresentou 2% (#1) de perda de massa entre 30°C e 150°C que foi atribuída a perda de orgânicos voláteis, seguido da perda 70% (#2) 26% (#3) entre 150 e 650°C e 2% (#4) resíduo final.

Para os fármacos CS as perdas de massa iniciais correspondem à perda de água e orgânicos voláteis (4%) entre 30°C até 230°C, seguido de decomposição da cadeia principal com perdas de 53%, 26% e 8% entre 230 a 700°C e resíduo final de 9%. Já o CB apresentou 2% de perda de massa entre 30°C até 150°C que pode ser atribuído a perda de orgânicos voláteis, seguido da perda 70% a partir 150 até 650°C.

Na TABELA 5.2 estão sumarizadas as temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação ($T_{máxima}$) e as respectivas perdas de massa para cada amostra.

TABELA 5.2 - Relação das temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação e as respectivas perdas de massa para as amostras PLA, PLA_CS; PLA_CB; CS e CB.

Amostras	T_{onset} (°C)	$T_{máxima}$ (°C)	Eventos (%)				
			(#1)	(#2)	(#3)	(#4)	(#5)
PLA	290	327	98	2	---	---	---
CS	131	248	4	53	26	8	8
CB	174	297	2	70	26	2	---
PLA_CS	258	277	94	6	---	---	---
PLA_CB	257	322	89	11	---	---	---

Com relação as amostras de fibras PLA, após adição das cloxacilinas na matriz PLA, proporcionaram diminuição da estabilidade do PLA, observada pela diminuição de 32°C e 50°C em T_{onset} e $T_{máxima}$ quando comparadas à amostra de PLA. Com respeito ao fármaco CB, embora se observou variação em T_{onset} de 33°C, não houve variação significativa na temperatura máxima de degradação, com adição de CB na matriz PLA. No estudo de VALERO et al. (2013) ao adicionar a amoxicilina no PCL os

autores observaram que não houve alteração da estabilidade térmica e atribuíram esse efeito a boa interação do PCL com a amoxicilina. Assim, esses resultados sugerem que o fármaco CB possui boa interação na matriz PLA considerando que não houve alteração significativa na temperatura máxima de degradação de PLA_CB, que era esperado, pois trata-se de dois compostos hidrofóbicos.

Além disso, essas alterações na estabilidade do sistema PLA podem ser explicadas devido ao fato que as cloxacilina sódica podem intercalar e diminuir as interações intramoleculares existentes do PLA, uma vez que os subprodutos de degradação decorrentes das análises térmicas dos fármacos podem acelerar os processos de oxidação/degradação do PLA nas fibras contendo o fármaco (KOH et al., 2018).

Outra questão que pode ser avaliada trata-se do efeito dos solventes utilizados no processamento das fibras por eletrospiação, uma vez que a manipulação da miscibilidade fármaco-polímero e a degradabilidade do polímero podem ser meios eficazes para projetar a liberação do medicamento. No estudo de Yuan e colaboradores (2018) foram investigados os perfis de liberação de dois compostos da doxorrubicina na forma hidrofóbica e outra hidrofílica em nanofibras de PLA. Os autores afirmaram que quando o dimetilsulfóxido (DMSO) foi usado como solvente para doxorrubicina hidrofílica, a miscibilidade do fármaco na matriz polimérica foi significativamente melhorada, formando um esquema de solução quase monolítica, embora a liberação do fármaco tenha sido mais lenta.

É importante salientar que o equipamento de análise térmica convencional possui limitação fundamental quando correlacionado aos estudos da inserção de fármacos em matrizes poliméricas. Essa barreira está ligada aos processos de decomposição, os quais podem ser estudados com muito mais detalhes se o método estiver associado a algum método analítico para determinação de subprodutos voláteis (FTIR ou Espectrometria de massas (MS)). Tais limitações implicam diretamente na análise dos valores percentuais dos resíduos provenientes da inserção dos fármacos na matriz PLA.

Dando seguimento aos estudos, as curvas de TG e DTG do sistema PLA_AMIDO com adição da cloxacilina sódica e benztatina estão representadas na FIGURA 5.21. Para efeito de comparação, as curvas dos fármacos ainda serão tratadas

nos próximos termogramas, mas os dados de degradação serão suprimidos. Assim, pôde-se observar três eventos térmicos relacionados a inserção do amido na matriz PLA. A literatura reporta que quando o amido se decompõe termicamente, produz algumas pequenas moléculas polares (CO, CO₂, H₂O, CH₄, C₂H₄ e CH₂O) que foram determinadas por técnicas analíticas (AGGARWAL et al., 1997; LIU et al., 2013; RUDNIK, et al, 2005).

Esses estudos indicam que provavelmente essas moléculas quebram a cadeia de poliéster do PLA de maneira semelhante à quebra por hidrólise, resultando em uma diminuição na temperatura de decomposição do PLA. Em nosso estudo, esse comportamento não foi evidenciado, fato que pode estar associado ao emaranhamento das cadeias poliméricas do PLA protegendo o amido da degradação térmica durante o processamento utilizando a técnica de eletrofiação.

Outra questão observada refere-se às diferenças dos picos da DTG, na amostra PLA_AMIDO_CS, onde os deslocamentos foram mais pronunciados (68°C) com adição de CS ao sistema PLA_AMIDO, enquanto para adição de CB nesse sistema, o deslocamento foi de 45°C. Embora, se constatou uma boa interação de CB com PLA da matriz PLA_AMIDO, houve indicativo de melhor interação na amostra que contém a cloxacilina sódica com amido desse sistema, fato que também era esperado, considerando que CS e amido são hidrofílicos.

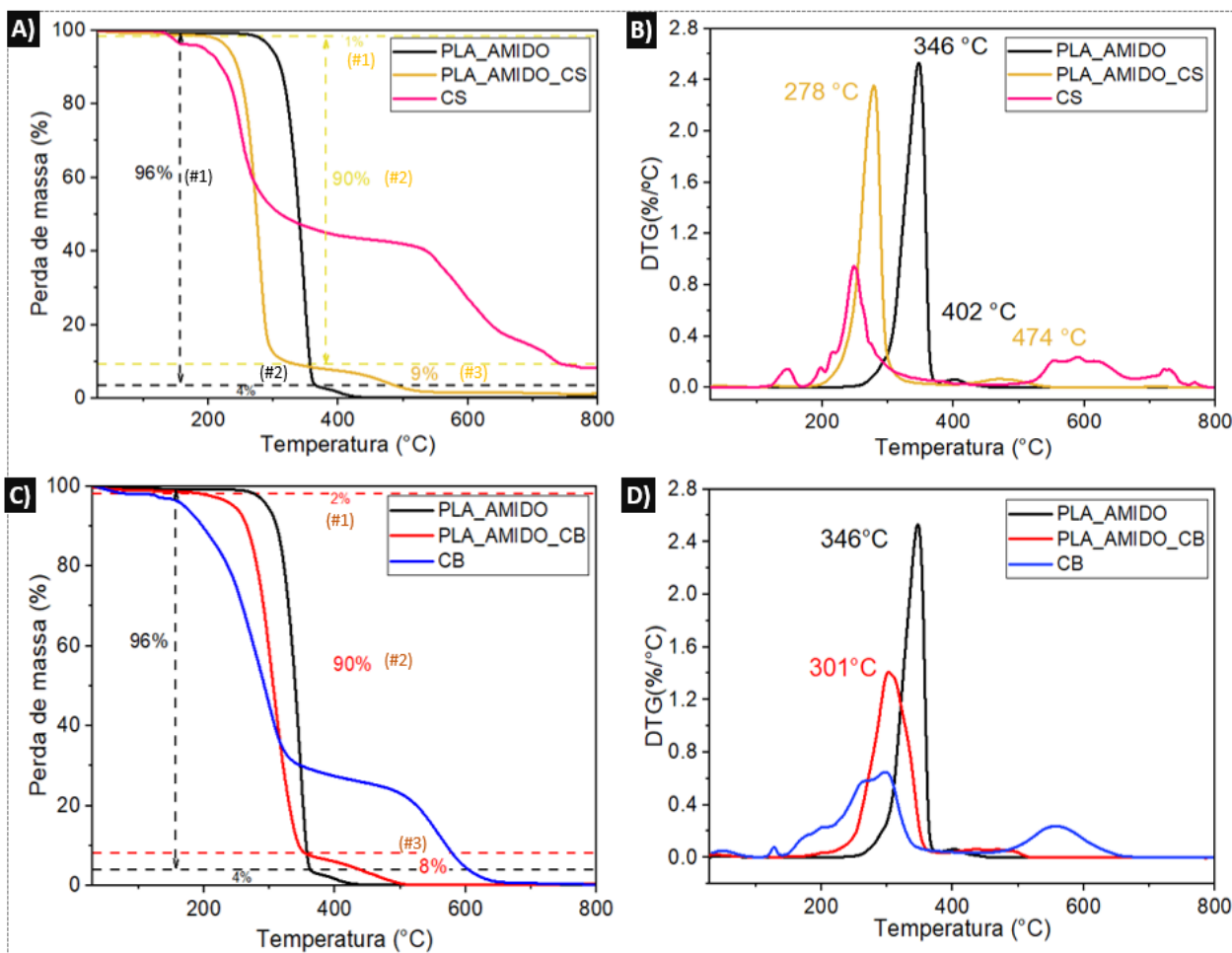


FIGURA 5.21 – Sistema PLA_AMIDO: a) e c) correspondem às curvas de TGA relacionadas à perda de massa em função da temperatura das amostras, e b) e d) às curvas de DTG relacionando a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, utilizando atmosfera de ar sintético e taxa de aquecimento 10°C/min

De acordo com os resultados apresentados para os sistemas PLA (FIGURA 5.19) e PLA_AMIDO (FIGURA 5.20), observa-se que ao se comparar as amostras às temperaturas T_{onset} aumentou 38°C e a $T_{máxima}$ 19°C com a adição do amido. Para as amostras PLA_AMIDO_CS e PLA_AMIDO_CB os comportamentos térmicos foram semelhantes aos evidenciados nas amostras PLA_CS e PLA_CB, ou seja, os fármacos diminuíram a estabilidade térmica da matriz PLA_AMIDO. Embora, a amostra PLA_AMIDO_CB aumentou as temperaturas T_{onset} em 16%, isto é, os componentes dessa amostra retardaram o início da degradação térmica. Esse fato, sugere que houve

enfraquecimento das ligações de hidrogênio entre os componentes amido e PLA, na presença de CB (KOH et al., 2018).

Assim, como o sistema PLA, a TABELA 5.3 resume as temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação ($T_{máxima}$) e as respectivas perdas de massa para cada amostra para o sistema PLA_AMIDO.

TABELA 5.3 - Relação das temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação e as respectivas perdas de massa para as amostras PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_CS; PLA_AMIDO_CB.

Amostras	T_{onset} (°C)	$T_{máxima}$ (°C)	Eventos (%)		
			(#1)	(#2)	(#3)
PLA_AMIDO	328	346	96	4	---
PLA_AMIDO_CS	253	278	1	90	9
PLA_AMIDO_CB	273	301	2	90	8

De acordo com os termogramas e os dados de perda de massa foi observado que após a inserção do amido e fármaco houve a presença de um terceiro evento (#3), oriundo da decomposição térmica desses compostos. Porém, não identificados devido a limitação com a utilização convencional da técnica.

Com o intuito de verificar a influência da laponita no sistema PLA_AMIDO, as curvas de TGA e DTG do sistema PLA_AMIDO_LAPONITA com adição da cloxacilina sódica e benzatina estão apresentados na FIGURA 5.21.

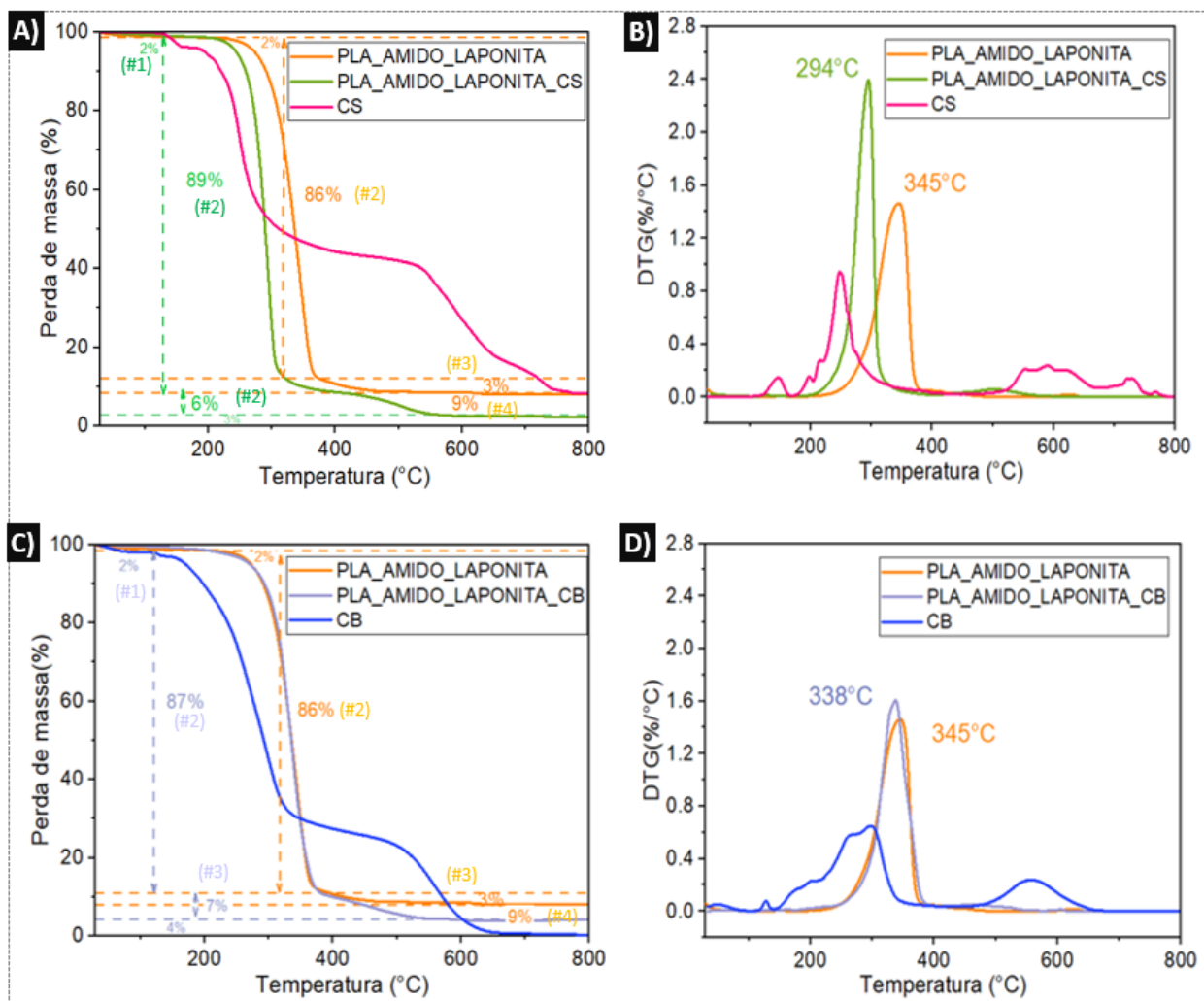


FIGURA 5.22 – Sistema PLA_AMIDO_LAPONITA: a) e c) correspondem as curvas de TGA relacionada a perda de massa em função da temperatura das amostra e b) e d) as curvas DTG relacionando a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, utilizando atmosfera de ar sintético e taxa de aquecimento 10°C/min

De acordo com a FIGURA 5.21a-b) observou-se que as curvas de degradação TGA/DTG do sistema PLA_AMIDO foi influenciada com a adição da laponita, uma vez que, apresentou quatro eventos térmicos, o primeiro pode corresponder à degradação e eliminação de grupos voláteis e perda de água (2%) (#1) de 30° a 200°C. A segunda perda de massa em torno de 86% (#2) nas temperaturas de 380°C e 450°C pode referir-se à degradação parcial do PLA_AMIDO. Por fim, a terceira perda em torno de 3% (#3) na faixa de temperatura até 450°C indica a degradação final dos polímeros e

o resíduo final após 450°C em torno de 9% (#4), pode ser a contribuição da fração da laponita.

Ao examinar as curvas de TGA/DTG da amostra PLA_AMIDO_LAPONITA_CS na FIGURA 5.21a) observou-se que a adição da CS manteve a degradação inicial em 2% (#1) nas temperaturas de 30°C a 200°C, que pode ser atribuída à perda de água e grupos voláteis. O segundo evento térmico apresentou 89% (#2) de perda da fração polimérica (PLA_AMIDO), ou seja, aumentou 3% com adição da CS nas temperaturas entre 305 e 400°C. O terceiro evento térmico apresentou 6% (#3) entre 405 e 550°C, que pode ser relacionada à degradação parcial do fármaco; e o último evento térmico 6% (#4) pode estar associado a fração da argila e fármaco CS. Na FIGURA 5.21b) notou-se que a adição da CS diminui em 51°C a temperatura máxima de degradação do sistema PLA_AMIDO_LAPONITA.

Enquanto, para a curvas de TGA/DTG da amostra PLA_AMIDO_LAPONITA_CB, apresentados na FIGURA 5.21c-d), observou-se que a adição da CB manteve a perda de 2% (#1) entre 30 e 200°C que pode ser atribuída à perda de água e grupos voláteis, seguido de perda de 87% (#2) entre 380° e 530°C, que pode ser relacionada à degradação do PLA_AMIDO e degradação parcial de CB. Por fim, 4% (#3) de perda após 550°C pode se referir a fração da argila e CB. Na FIGURA 5.21d) notou-se que a adição da CB diminui em 7°C a temperatura máxima de degradação do sistema PLA_AMIDO_LAPONITA.

A TABELA 5.4, resume as temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação ($T_{máxima}$) e as respectivas perdas de massa para cada amostra para o sistema PLA_AMIDO_LAPONITA.

TABELA 5.4 - Relação das temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação e as respectivas perdas de massa para as amostras PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_LAPONITA_CS; PLA_AMIDO_LAPONITA_CB.

Amostras	T_{onset} (°C)	$T_{máxima}$ (°C)	Eventos (%)			
			(#1)	(#2)	(#3)	(#4)
PLA_AMIDO_LAPONITA	297	345	2	86	3	9
PLA_AMIDO_LAPONITA_CS	270	294	2	89	6	3
PLA_AMIDO_LAPONITA_CB	297	338	2	87	7	4

De acordo com os resultados da TABELA 5.4, ao adicionar o fármaco CS no sistema PLA_AMIDO_LAPONITA observou-se que as temperaturas de degradação final e inicial diminuíram em 27°C e 51°C, respectivamente, ao comparar com a amostra PLA_AMIDO_LAPONITA. E, ao adicionar a CB, houve manutenção da temperatura inicial de degradação e diminuição em apenas 7°C na temperatura de degradação final. Assim, observou-se que a laponita contribuiu para a estabilidade térmica da amostra PLA_AMIDO_LAPONITA_CB. Resultados similares foram reportados por GHADIRI et al. (2014), que processaram fibras PLGA puro e com a laponita, e verificaram um aumento na estabilidade térmica da amoxicilina.

Ao compararmos os resultados da TABELA 5.3 e 5.4 para as amostras que contém os fármacos no sistema PLA_AMIDO observou-se que as amostras PLA_AMIDO_LAPONITA_CS e PLA_AMIDO_LAPONITA_CB apresentaram maior estabilidade na temperatura máxima de degradação com aumento de 16°C e 37°C, respectivamente. Esse evento pode ser explicado devido a presença da argila que atuou como barreira protetora, dificultando a entrada de oxigênio nas amostras de fibras de PLA_AMIDO (KIM et al., 2015).

As curvas de TGA e DTG do sistema PLA_AMIDO_ MONTMORILONITA com adição da cloxacilina sódica e benzatina estão apresentados na FIGURA 5.22

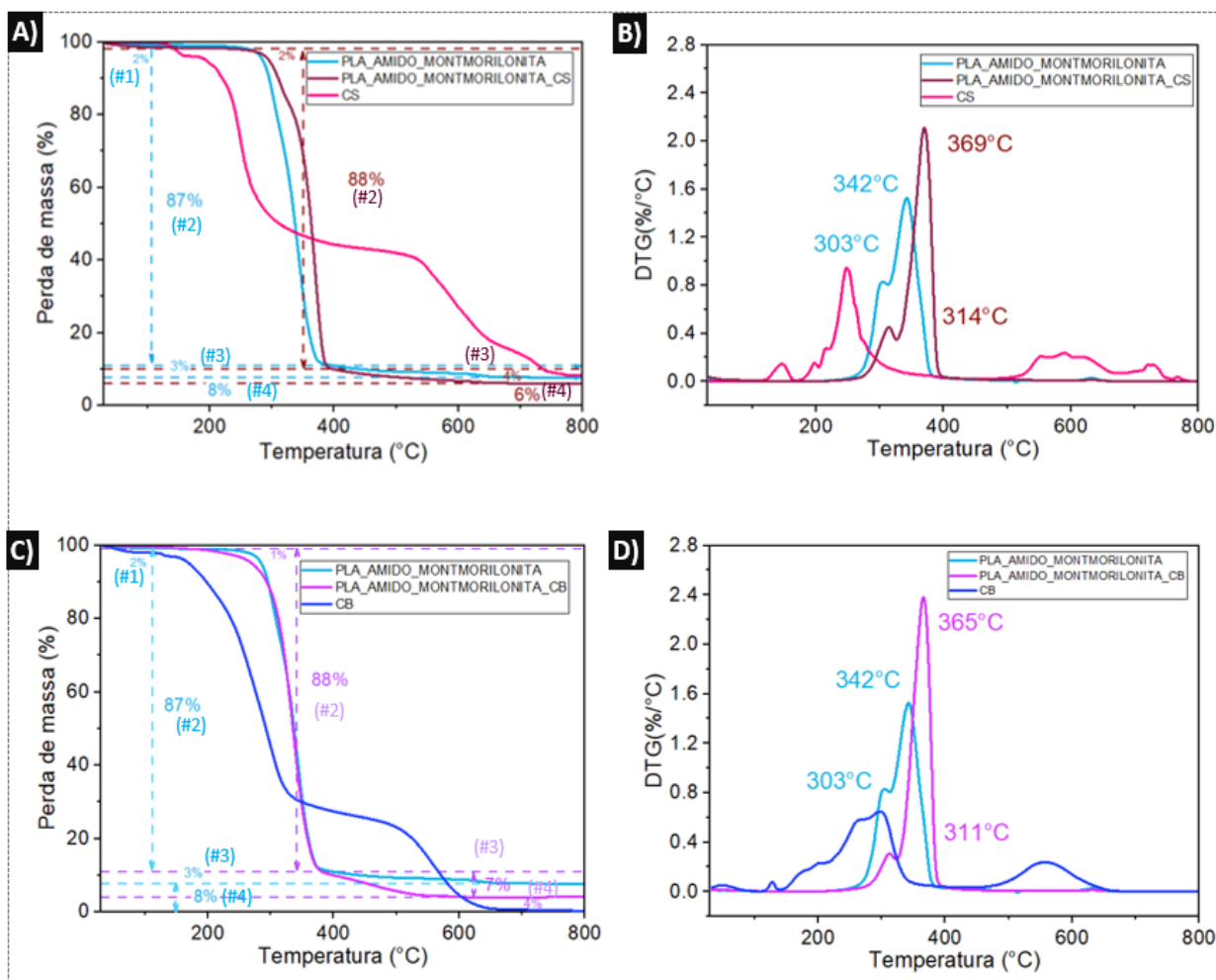


FIGURA 5.23 - Sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA: a) e c) correspondem as curvas de TGA relacionada a perda de massa em função da temperatura das amostra e b) e d) as curvas DTG relacionando a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, utilizando atmosfera de ar sintético e taxa de aquecimento 10°C/min

De acordo com FIGURA 5.22a-b, a partir da amostra PLA_AMIDO_LAPONITA foi possível observar uma perda inicial de 2% entre 30 a 200°C, que pode ser atribuída à perda de água e grupos voláteis, seguida da perda de 87% entre 390 a 450°C atribuída à degradação dos polímeros PLA_AMIDO. A perda de 3%, entre 450 a 610°C, pode ser atribuída à fração montmorilonita e o resíduo final de 8% decorrente da fração da argila. Ao adicionar a CS nesse sistema observou-se perdas de 2% e 87%, entre 30 a 450°C, correspondendo à perda de água, grupos voláteis e a degradação PLA_AMIDO, seguido de 4% degradação parcial da argila com resíduo final 6%, correspondendo à fração do fármaco CS e montmorilonita.

Na FIGURA 5.22 c-b) ao adicionar a cloxacilina benzatina observou-se perda de 2% entre 30 a 200°C, atribuída à perda de água e grupos voláteis, seguido de 88% de perda entre 201 e 400°C, correspondendo à degradação do PLA_AMIDO e posterior degradação parcial do fármaco entre 401 e 530°C (7%), como resíduo final após 530°C, 4% que corresponde à fração da argila e fármaco.

TABELA 5.5 - Relação das temperaturas do início da perda de massa (T_{onset}), temperatura máxima de degradação e as respectivas perdas de massa para as amostras PLA_AMIDO_MONTMORILONITA; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB.

Amostras	T_{onset} (°C)	$T_{máxima}$ (°C)	Perda 1 (%)	Perda 2 (%)	Perda 3 (%)	Perda 4 (%)
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA	282	342	2	87	3	8
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS	302	369	1	88	2	6
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB	268	365	1	88	7	4

De acordo com a TABELA 5.5 ao adicionar o fármaco CS no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA observou-se que as temperaturas de degradação final e inicial aumentaram para 20° e 27°C, respectivamente, ao comparar com a amostra PLA_AMIDO_MONTMORILONITA, fator que pode estar associado à presença do sal quaternário na montmorilonita e as interações existentes entre a CS e o PLA_AMIDO.

Ao adicionar a CB, houve diminuição em 14°C e 23°C na T_{onset} e $T_{máxima}$, fatores associados ao enfraquecimento das ligações PLA_AMIDO após interação do fármaco CB.

Ao comparar os resultados da TABELA 5.3 e TABELA 5.5 observou-se que a amostra PLA_AMIDO_MONTMORILONITA diminuiu a T_{onset} em 46°C, o que pode ser atribuído à presença do sal quaternário de amônio da argila em relação à amostra PLA_AMIDO (KIM et al., 2015). Em contrapartida, na amostra PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS as temperaturas T_{onset} e $T_{máxima}$ aumentaram 49°C e 91°C, nessa ordem. Fator atribuído aos efeitos entre os componentes argila, CS e PLA_AMIDO. De modo semelhante, na amostra PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB

a temperatura máxima de degradação aumentou de 64°C comparada à amostra PLA_AMIDO_CB. Nesses casos, a camada de argila contendo o grupo silicato pode atuar como uma barreira de transporte de massa e mitigar a fuga de produtos voláteis gerados durante a decomposição térmica (JI et al., 2006; ZHANG e WILKIE, 2005).

5.3.2 Calorimetria de Varredura Exploratória (DSC)

Com o intuito de completar as análises térmicas utilizou-se o DSC para acompanhar as transições térmicas das fibras desenvolvidas por eletrofiação, tais como: temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização a frio (T_c), temperatura de fusão cristalina (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m) e grau de cristalinidade ($X_c\%$). Para o grau de cristalinidade ($X_c\%$) das amostras eletrofiadas utilizou-se a Equação 2:

$$X_c(\%) = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^*} \times 100 \quad (2)$$

Onde: ΔH_m é a entalpia endotérmica de fusão, ΔH_{cc} é a entalpia da cristalização a frio do PLA e ΔH_m^* é a entalpia teórica do PLA 100% cristalino que é 93 J/g (HENTON et al., 2005).

5.3.2.1 Sistema PLA

As curvas de DSC referentes ao primeiro aquecimento do sistema PLA com adição da cloxacilina sódica e benzatina estão apresentadas na FIGURA 5.23.

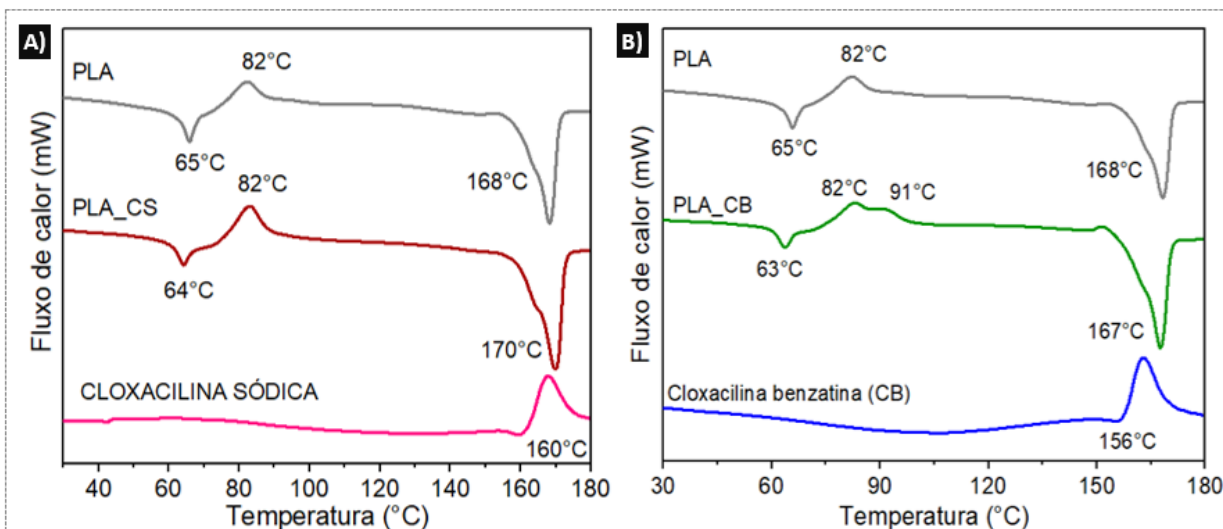


FIGURA 5.24 – curvas de DSC dos sistema PLA: a) PLA_CS e b) PLA_CB

Na FIGURA 5.23, a partir das fibras de PLA foi possível observar o primeiro evento térmico, representado por um pico endotérmico em 65°C, referente a temperatura de transição vítrea do PLA. A temperatura de 82°C há um pico largo exotérmico, que indica a cristalização a frio característica do PLA, devido ao seu caráter semicristalino. Por fim, o terceiro evento térmico, a temperatura de fusão do PLA foi observada em 168°C. Comportamentos similares foram reportados no trabalho de HALL BARRIENTOS et al. (2017), os quais desenvolveram fibras de PLA por eletrofiação

Ao adicionar a cloxacilina sódica, observou-se que não houve alterações significativas nos eventos, conforme observados para as fibras de PLA (FIGURA 5.23 a). No entanto, ao adicionar a CB foram observados dois eventos em T_c, sugerindo que CB interferiu na nucleação devido à interação fármaco-polímero (FIGURA 5.23. b). A partir dos resultados encontrados, a TABELA 5.6 resume os principais eventos e os valores calculados de cristalinidade.

TABELA 5.6 - Eventos térmicos (DSC) para o sistema PLA após primeiro aquecimento

Amostras	T _g (°C)	T _c (°C)	T _m (°C)	ΔH _m (J/g)	ΔH _{cc} (J/g)	X _c (%)
PLA	65	82	168	34	10	37
PLA_CS	64	82	170	40	12	43
PLA_CB	63	82	167	36	18	39

De acordo com a TABELA 5.6 observou-se que os valores de T_g , T_c e T_m para o sistema PLA não apresentaram variações significativas nessas temperaturas, quando foram adicionados os fármacos CS e CB. No entanto a cristalinidade do material foi maior com adição do fármaco devido as reações de oxidação/degradação dos fármacos, ou seja, a adição dos fármacos foi mais energética, fato que pode facilitar a formação de cristais na matriz de PLA. Além disso, a cristalinidade do PLA_CS foi ligeiramente maior quando comparada ao PLA e PLA_CB.

5.3.2.2 Sistema PLA_AMIDO

As curvas de DSC referente ao primeiro aquecimento das amostras de fibras do sistema PLA_AMIDO com adição da cloxacilina sódica e benzatina estão ilustradas na FIGURA 5.24

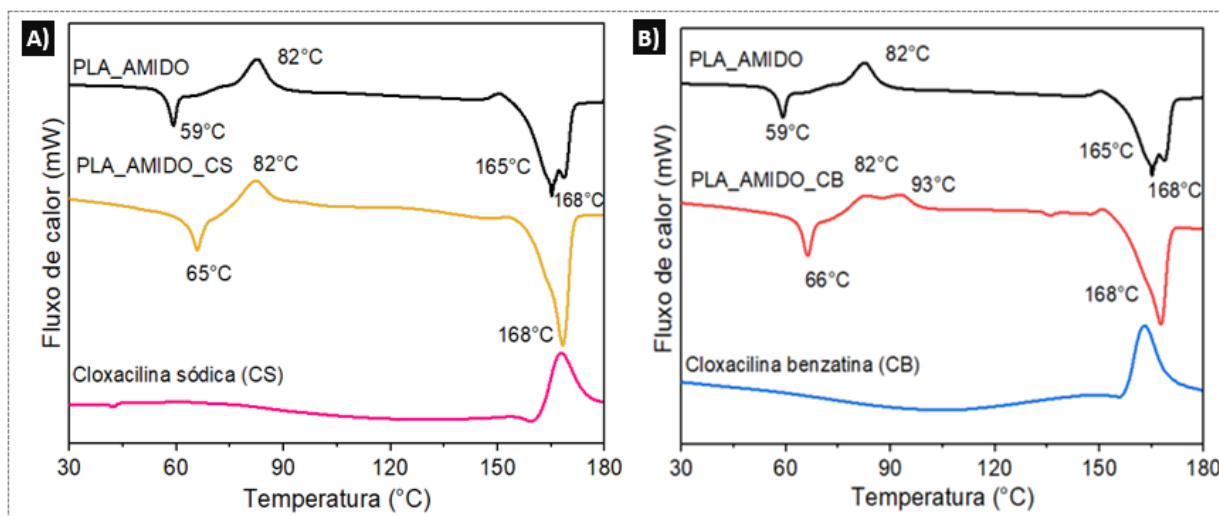


FIGURA 5.25 - Curvas de DSC das amostras de fibras processadas por eletrofiação: a) sistema PLA_AMIDO, PLA_AMIDO_CS e b) sistema PLA_AMIDO_CB.

De acordo com a FIGURA 5.24 na amostra PLA_AMIDO foi observado um deslocamento da T_g após inclusão do amido, com variação de temperatura em torno de 6°C, quando comparado à fibra de PLA. Além disso, na amostra PLA_AMIDO (FIGURA 5.24) apareceram dois eventos térmicos em 165 e 168°C, picos de fusão característicos de materiais imiscíveis (ZUO et al, 2015). Contudo, ao adicionar os fármacos CS e CB, verificou-se que houve aumento nas temperaturas de transição vítrea de 6 e 7°C, nessa

ordem (FIGURA 5.24 a-b). Fato que sugere possíveis interações de CS com o amido da matriz PLA_AMIDO, enquanto a adição de CB indica interação com o PLA dessa matriz, que era esperado. Não foram observadas que variações nos valores de T_c quando se adicionou CS a matriz, embora com adição de CB, foram observados os eventos em 82 e 93°C, picos de T_m que podem sugerir formação de cristais em diferentes temperaturas de cristalização, favorecidas pelas interações entre CB e a matriz PLA.

Por outro lado, foram verificados apenas um evento na fusão quando adicionados os fármacos, individualmente, na matriz PLA_AMIDO. Com adição de CS observou-se um evento em 168°C (FIGURA 5.24 a) e, a presença de CB também se verificou um único evento em 168°C (FIGURA 5.24 b). Em ambos os casos, pôde-se concluir que as adições dos fármacos favoreceram a miscibilidade entre o PLA e amido, caracterizados por apenas um evento de fusão em cada caso. A TABELA 5.7 apresenta os valores para os eventos térmicos observados na análise de DSC.

TABELA 5.7 - Eventos térmicos (DSC) para o sistema PLA_AMIDO após primeiro aquecimento

Amostras	T_g (°C)	T_c (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	ΔH_{cc} (J/g)	X_c (%)
PLA_AMIDO	65	82	165/168	29	6	31
PLA_AMIDO_CS	64	82	170	32	9	34
PLA_AMIDO_CB	63	82	167	28	11	30

De acordo com a TABELA 5.7 observa-se que não houve diferenças significativas nas T_g , T_c e T_m para o sistema PLA_AMIDO. Para a amostra com a CS observa-se que a cristalinidade foi maior comparada as outras amostras desse mesmo sistema, indicando maior gasto energético com adição desse fármaco.

5.3.2.3 Sistema PLA_AMIDO_LAPONITA

As curvas de DSC referentes ao primeiro aquecimento das fibras dos sistemas PLA_AMIDO_LAPONITA com adição da cloxacilina sódica e benzatina estão ilustradas na FIGURA 5.25.

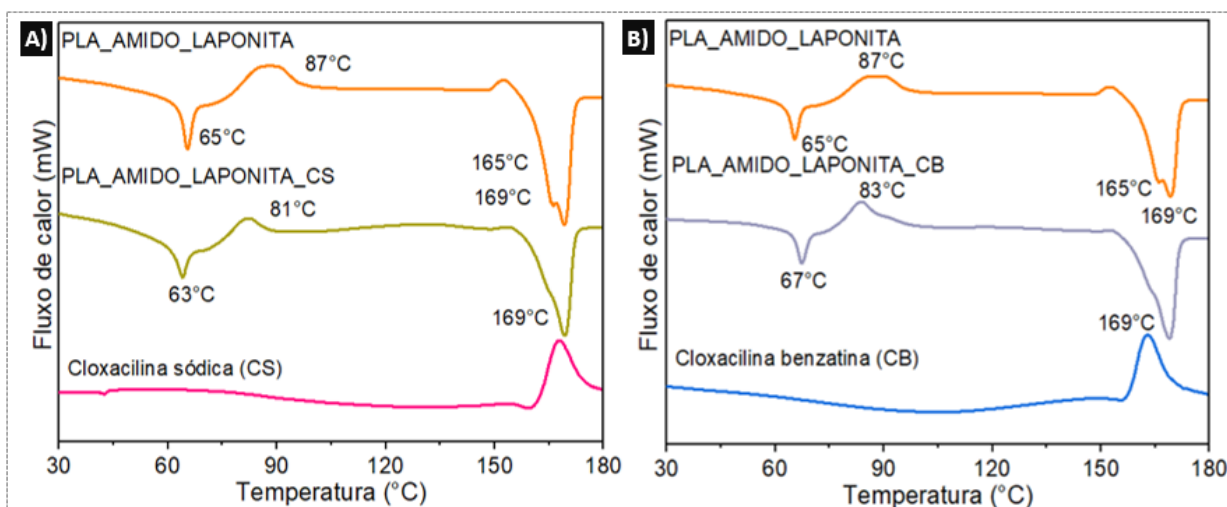


FIGURA 5.26 - Curvas de DSC das amostras de fibras processadas por eletrospinning dos sistemas: a) PLA_AMIDO_LAPONITA, b) PLA_AMIDO_LAPONITA_CS e c) PLA_AMIDO_LAPONITA_CB.

Ao examinar as curvas da FIGURA 5.26 (a-b), embora os eventos térmicos de fusão em 165 e 169°C se mantiveram constantes com adição da laponita na matriz PLA_AMIDO, comparadas com sistema PLA_AMIDO (item 5.3.2.2), pôde-se observar aumento de 6°C e 5°C nas temperaturas de transição vítrea e cristalização nessa ordem, quando a laponita foi adicionada no sistema PLA_AMIDO, comparadas aos valores de T_g e T_c do sistema PLA_AMIDO (item 5.3.2.2). Isso pode estar atribuído ao fato da laponita atuar, nesse caso, tanto como propriedade de barreira, evidenciado no item 5.1.2 ou como agente de nucleação, podendo interferir tanto na transição vítrea quanto na cristalização do PLA.

No entanto, após a adição dos fármacos CS e CB, verificou-se que a presença desses fármacos no sistema PLA_AMIDO_LAPONITA não foram suficientes para alterar, significativamente, as temperaturas de transição vítrea (T_g = 65°C), de cristalização (T_c = 81°C) e de fusão (T_m = 169°C) (FIGURA 5.26 a), comparado com o efeito desses fármacos, quando adicionados ao sistema PLA_AMIDO (item 5.3.2.2). Porém, ao adicionar CB ao sistema PLA_AMIDO_LAPONITA, observou-se um único evento de cristalização, T_c = 83°C, mesmo mantendo T_g e T_m, ao comparar a adição de CB ao sistema PLA_AMIDO (item 5.3.2.2), indicando efeito único, exclusivamente, da laponita.

A TABELA 5.8 apresenta os eventos térmicos de DSC, referentes aos primeiros aquecimentos das amostras de fibras do sistema PLA_AMIDO_LAPONITA.

TABELA 5.8 - Eventos térmicos (DSC) para o sistema PLA_AMIDO_LAPONITA após primeiro aquecimento

Amostras	Tg (°C)	Tcc (°C)	Tm (°C)	ΔH_m (J/g)	ΔH_{cc} (J/g)	Xc (%)
PLA_AMIDO_LAPONITA	65	87	165/169	34	17	37
PLA_AMIDO_LAPONITA_CS	63	81	169	29	4	31
PLA_AMIDO_LAPONITA_CB	63	83	169	35	16	38

Analisando a TABELA 5.8, foi possível verificar variações no grau de cristalinidade dos materiais com adição da laponita, a qual proporcional ganho 7% de cristalinidade, quando comparada à fibra de PLA_AMIDO. Quando a laponita foi adicionada à matriz polimérica, o grau de cristalinidade tem a tendência de aumentar, o que pode evidenciar um efeito nucleante da argila, como citado acima

5.3.2.4 Sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA

As curvas de DSC referentes ao primeiro aquecimento das amostras de fibras do sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA, com adição da cloxacilina sódica e benzatina estão ilustradas na FIGURA 5.26.

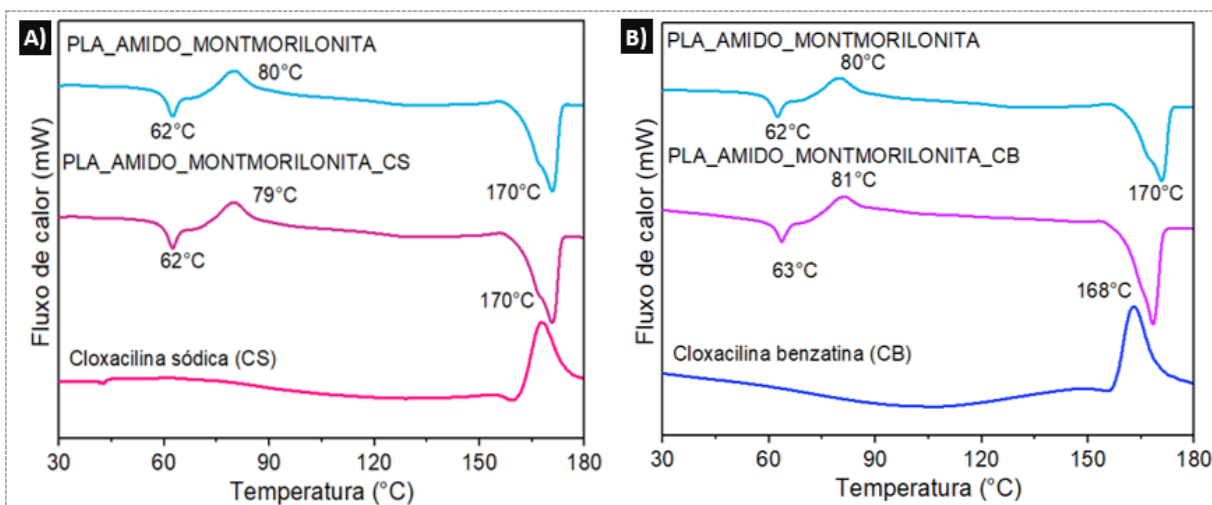


FIGURA 5.27 - Curvas de DSC das amostras de PLA_AMIDO_MONTMORILONITA, PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB

De acordo com a FIGURA 5.26 (a-b), ao adicionar montmorilonita no sistema PLA_AMIDO, foi possível observar que não houveram diferenças significativas nas temperaturas de transição vítrea ($T_g = 62^\circ\text{C}$), de cristalização ($T_c = 80^\circ\text{C}$) e temperatura de fusão ($T_m = 170^\circ\text{C}$), comparadas aos eventos térmicos do sistema PLA_AMIDO (item 5.3.2.2). Nesse caso, a argila não funcionou como propriedade de barreira, isto pode estar atribuído a modificação superficial da montmorilonita com sal de amônia, mesmo sendo um produto comercial. Como discutido no item 5.1.4, essa argila não foi esfoliada no processamento das fibras, embora tenha sido submetida às mesmas condições de preparo de solução e processamento das fibras com laponita, as quais apresentaram boa homogeneidade.

Por outro lado, quando se adicionou os fármacos CS e CB ao sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA, não foram observadas variações significativas nas T_g , T_c e T_m em relação ao sistema PLA_AMIDO (item 5.3.22), embora se verificou apenas um evento de cristalização, ao adicionar CB no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA, fato semelhante foi observado no sistema PLA_AMIDO_LAPONITA (FIGURA 5.25), indicando um efeito, exclusivamente, da montmorilonita nesse sistema.

TABELA 5.9 - Eventos térmicos (DSC) para o sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA após primeiro aquecimento

Amostras	Tg (°C)	Tcc (°C)	Tm (°C)	ΔH_m (J/g)	ΔH_{cc} (J/g)	Xc (%)
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA	62	80	170	19	8	20
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS	62	79	170	29	4	31
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB	63	81	168	23	8	25

De acordo com a TABELA 5.9 foram observados que a temperatura de cristalização foi inferior quando comparada à matriz de PLA, indicando que as camadas de argilas com a modificação com o sal quaternário de amônio podem ter sido um fator limitante na cristalização dos poliméricos (GOES et al., 2012).

5.3.3 Análise Dinâmico-Mecânica

Com o objetivo de avaliar a influência das propriedades mecânicas nas amostras de fibras dos sistemas PLA, PLA_AMIDO_PLA_AMIDO_LAPONITA e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA processados por eletrofiação, bem como os efeitos da inserção dos aditivos em cada amostra, foi realizado o ensaio de DMA. Os resultados estão apresentados FIGURA 5.27

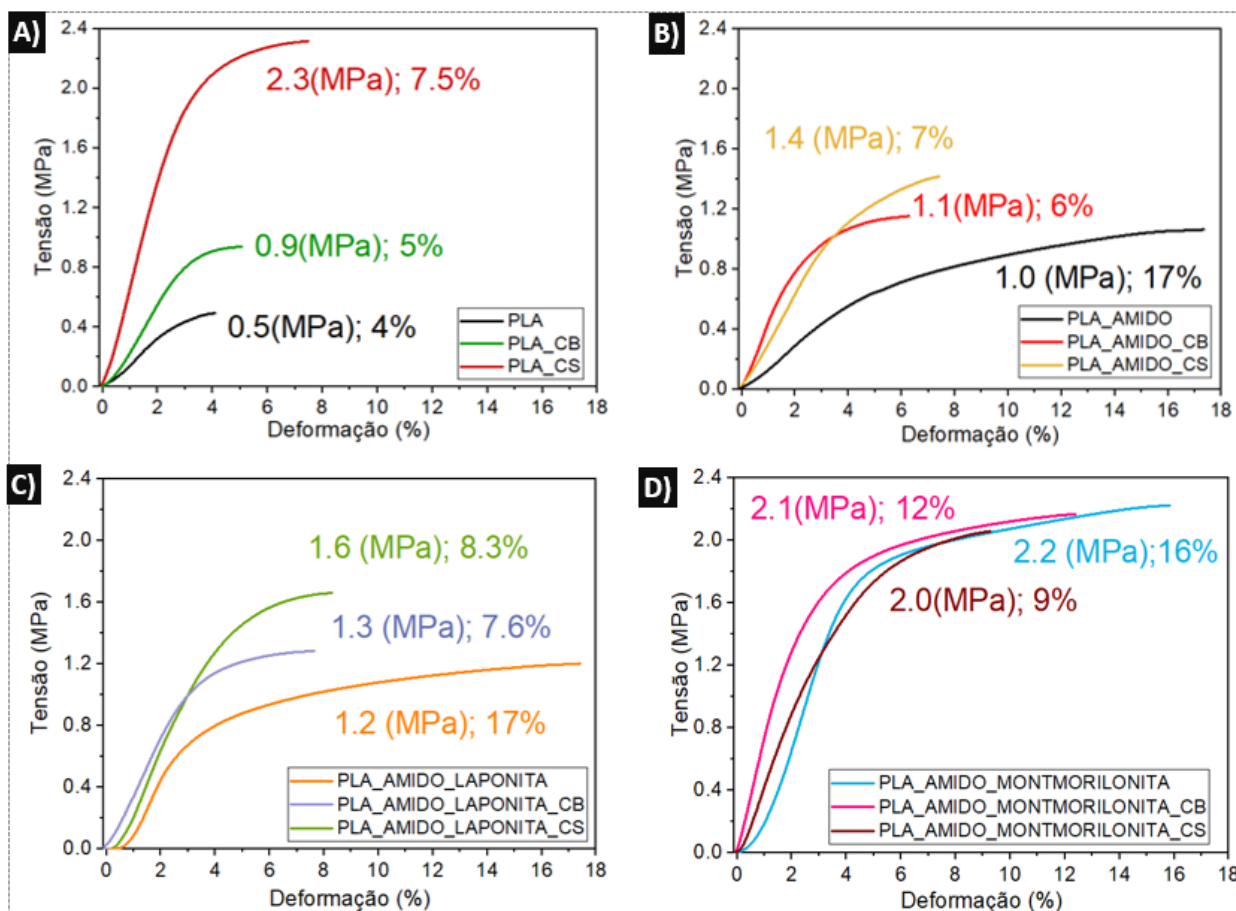


FIGURA 5.28 - Ensaio de tensão x deformação para os sistemas desenvolvidos por eletrofiação: a) PLA, b) PLA_AMIDO, c) PLA_AMIDO_LAPONITA e c) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA.

A FIGURA 5.27 (a-c) ilustra os resultados da análise dinâmico-mecânica, com respeito às propriedades de tensão e deformação das amostras de fibras desenvolvidas neste trabalho por eletrofiação. Pôde-se observar que os valores de tensão e deformação foram mais expressivos a partir da adição da cloxacilina sódica (CS) nos sistemas PLA (tensão = 2,3 MPa e 7,5% de deformação), em relação à adição de cloxacilina benzatina (CB) no PLA (FIGURA 5.27 a). Embora CB apresentou maior interação com PLA (itens 5.3.1 e 5.3.2), os maiores valores de tensão-deformação de CS na matriz PLA podem estar atribuídos à redução das interações entre as cadeias do PLA (intramolecular), que podem aumentar a flexibilidade do polímero e favorecer a resistência mecânica, ou seja, o aditivo CS se comporta como plastificante, cuja manipulação da razão polímero/plastificante pode ajustar as propriedades mecânicas do polímero (KOH et al., 2018).

No sistema PLA_AMIDO, verificou-se que a adição de amido ao PLA apresentou ganho na propriedade mecânica (tensão-deformação) do PLA, embora a adição dos fármacos resultou em maiores valores, para CS (tensão = 1,4 MPa e 7% de deformação) e CB (tensão = 1,1 MPa e 6% de deformação) (FIGURA 5.27 b), pelas mesmas razões tratadas acima. Com a adição da laponita no sistema PLA_AMIDO, não foram observadas variações significativas nos valores de tensão-deformação, embora os valores de tensão-deformação permaneceram maiores com adição de fármacos CS e CB (FIGURA 5.27 c).

Porém, ao adicionar montmorilonita ao sistema PLA_AMIDO, pôde-se observar que os valores de tensão (2.2 MPa) e deformação (16%) suplantaram aqueles referentes à adição da laponita nessa matriz, bem como aqueles proporcionados pelos fármacos CS e CB no sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA (FIGURA 5.27), tornando um material mais resistente e flexível. Esse efeito da motmorilonita pode estar relacionado à modificação superficial dessa argila com sal de amônia, tratado no item 5.3.2.

. Ressalta-se que para a análise mecânica, o sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA apresentou melhores resultados, uma possível explicação para os maiores valores de tensão e deformação adquiridos nos sistemas pode estar atribuído ao fato de que a argila pode gerar pontos de carga nessas matrizes, os quais podem funcionar como centros de dissipação de energia, proporcionando maiores valores de tensão e deformação da matriz. Além disso, os resultados de DSC indicaram que esse sistema apresentou alta cristalinidade quando adicionado o agente de nucleação (argila montmorilonita modificada organicamente), item 5.3.2. Outra questão que está relacionada ao efeito plastificante do modificador orgânico usado na argila que pode se tornar significativo nos ensaios mecânicos, ou seja, proporcionou melhorias nas propriedades mecânicas quando comparado ao sistema PLA (KRISHNAMACHARI et al., 2009).

A TABELA 5.10 apresenta os valores de tensão e deformação dos sistemas produzidos por eletrofiação. Pôde-se verificar que ao adicionar os aditivos nas matrizes poliméricas (PLA), proporcionaram alterações nas propriedades dinâmico-mecânicas, como por exemplo, tensão e deformação. Inicialmente, observou-se que a adição de amido no sistema PLA proporcionou o dobro do valor de tensão (tensão = 1,0 MPa,

PLA_AMIDO) e o valor de deformação foi 4 vezes maior, comparado ao sistema PLA puro. Uma possível explicação para essas variações pode estar atribuída ao fato que o amido se encontrava disperso na matriz PLA, ou seja, não foi possível solubilizá-lo completamente com os solventes utilizados no processamento das fibras do sistema PLA_AMIDO, uma limitação desse estudo. Assim, o amido pode gerar pontos de cargas na matriz PLA, os quais podem funcionar como centros de dissipação de energia, proporcionando maiores valores de tensão e deformação da matriz. Tal efeito pode também justificar o aumento nos valores de tensão e deformação, embora menos expressivos àqueles apresentados pelo amido, quando se adicionou as argilas laponita e montmorilonita nos sistemas PLA_AMIDO.

Corroborando com estes resultados DONG et al. (2005) ao realizarem um estudo das propriedades mecânicas das misturas de PLA contendo diferentes proporções de poli (óxido de etileno-b-amida-12) (PEBA), formou misturas imiscível, mas com uniformidade de PEBA dispersos na matriz PLA. Os resultados apresentaram maiores tensão e deformação com a inserção do PEBA, uma vez que ocorreu a dissipação de energia e melhorou a resistência das misturas PLA/PEBA, com o alongamento na ruptura e a resistência ao impacto, aumentando para 346% e 60,5 kJm², respectivamente

TABELA 5.10 - Apresenta os valores de tensão e deformação dos sistemas produzidos por eletrofiação

AMOSTRAS	TENSÃO (MPa)	DEFORMAÇÃO (%)
PLA	0,5 ± 0,2	4,0 ± 3,0
PLA_CS	2,3 ± 0,1	7,5 ± 5,2
PLA_CB	0,9 ± 0,1	5,0 ± 11,3
PLA_AMIDO	1,0 ± 0,1	17 ± 7,7
PLA_AMIDO_CS	1,4 ± 0,1	7,0 ± 8,1
PLA_AMIDO_CB	1,1 ± 0,1	6,0 ± 2,0
PLA_AMIDO_LAPONITA	1,2 ± 0,1	17 ± 3,5
PLA_AMIDO_LAPONITA_CS	1,6 ± 0,1	8,3 ± 1,0

PLA_AMIDO_LAPONITA_CB	$1,3 \pm 0,1$	$7,6 \pm 2,3$
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA	$2,2 \pm 0,1$	$16 \pm 2,3$
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS	$2,0 \pm 0,1$	$9,0 \pm 1,0$
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB	$2,1 \pm 0,1$	$12 \pm 2,0$

5.3.4 Atividade bactericida

Para confirmar a manutenção da atividade antimicrobiana das fibras contendo os fármacos, foi realizado o teste bactericida utilizando as bactérias *S. aureus*. e *E.coli*. Os resultados estão ilustrados nas FIGURAS 5.28 e 5.29.

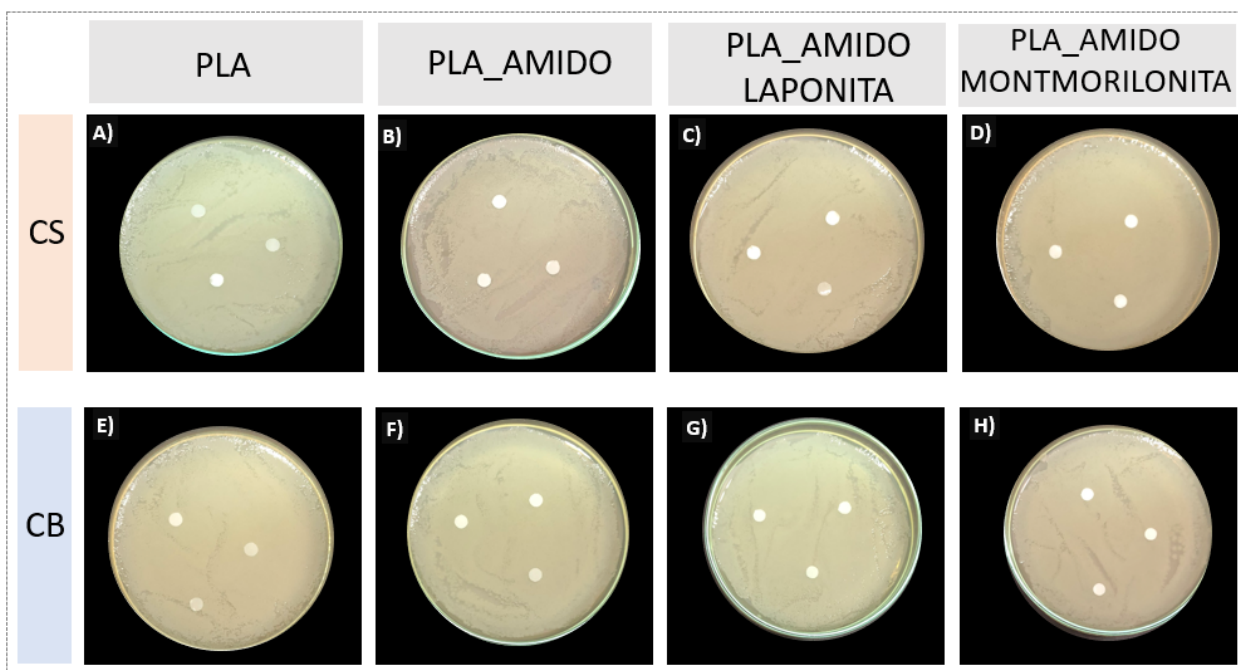


FIGURA 5.29 – Ensaio bactericida com a bactéria *E. coli* no meio contendo as amostras PLA; PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA com os fármacos CS e CB

De acordo com a FIGURA 5.28 para todos os sistemas desenvolvidos não foi possível verificar a presença de halo de inibição para a bactéria *E. coli*. Isso pode estar atribuído ao fato que as bactérias (Gram-negativas) apresentam uma estrutura de membranas complexas que pode ter inibido o efeito dos fármacos, fazendo com que não

formasse zona de inibição. A bactéria Gram-negativa apresenta uma parede celular com uma camada fina de peptideoglicano (~10 nm), e uma membrana externa composta de dupla camada de lipídios, proteínas e polissacarídeos. Além disso, entre a membrana externa e a membrana plasmática existe o espaço periplasmático que contém enzimas e outros componentes que podem ter limitado a penetração do fármaco e a formação do halo de inibição nas fibras (KHAN et al., 2018). Outra possibilidade para a não formação do halo de inibição pode estar correlacionada ao fato da não difusão do fármaco no meio de cultura. Os resultados das fibras sem o fármaco são similares aos resultados da fibra com fármaco, nenhuma zona de inibição de crescimento bacteriano foi observada, o que era esperado, visto que os materiais utilizados na composição das fibras não apresentaram atividade bactericida. Para a bactéria *S. aureus* observou-se que halos foram formados, conforme ilustra a FIGURA 5.29

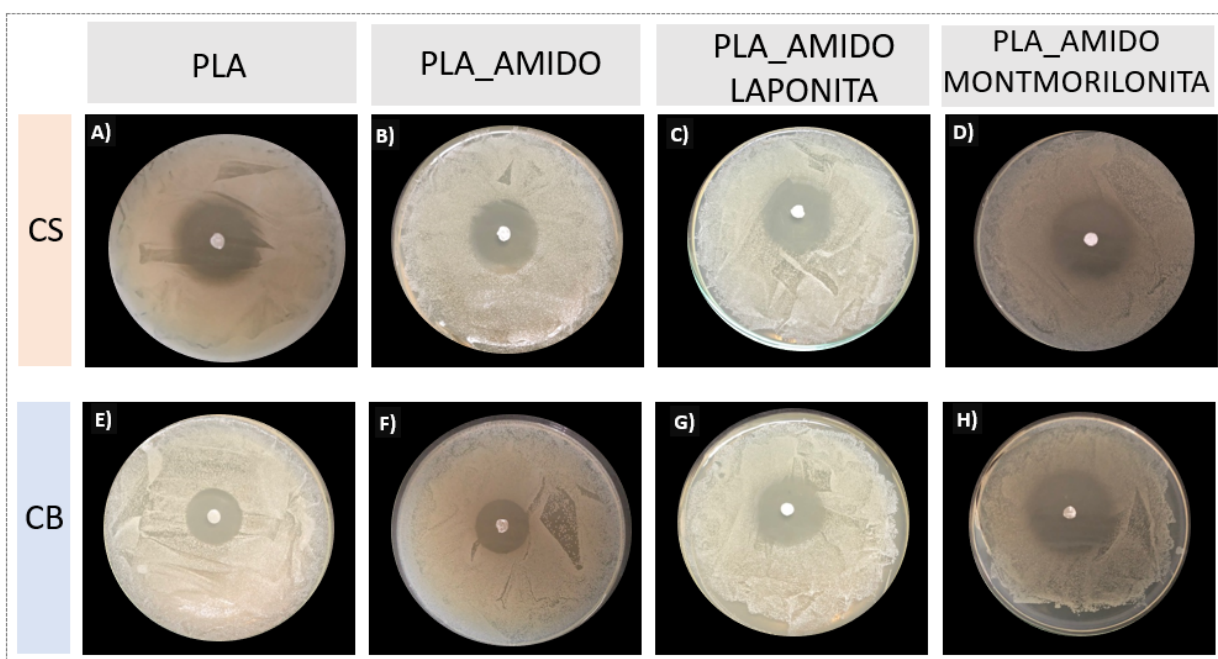


FIGURA 5.30 – Halo de inibição de crescimento da bactéria *S. aureus* no meio Contendo as amostras PLA; PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_LAPONITA; PLA_AMIDO_MONTMORILONITA com os fármacos CS e CB.

De acordo com a FIGURA 5.29, observou-se que houve manutenção da atividade bacteriana para todas as fibras que continham a cloxacilina sódica e a

cloxacilina benzatina. Ao utilizar a bactéria *S. aureus* o halo de inibição foi evidenciado em todas as amostras. A explicação baseia-se na composição da própria bactéria Gram-positiva, pois na sua superfície encontram-se polissacarídeos neutro e ácidos, além de diversas proteínas e ácidos teicóicos. Logo abaixo, a parede celular apresenta-se como uma camada densa de peptideoglicano (~30 nm), a qual é formado por cadeias dissacarídicas, ligadas entre si por pontes peptídicas. A difusão das cloxacilinas no meio de cultura atinge diretamente a parede peptideoglicana fragmentando e levando a morte bacteriana (PAN et al., 2016). O mecanismo de ação dos antibióticos associa-se a inibição das bactérias sensíveis ao bloquear macromoléculas importantes, como enzimas e atividade de ácidos nucleicos, que são muito importantes na multiplicação ou divisão celular. As cloxacilinas são capazes de se ligar a um local específico na macromolécula para formar um complexo, diferente da entidade original e são incapazes de desempenhar sua função. Os principais alvos são a síntese da parede celular bacteriana (peptidoglicano), síntese proteica bacteriana (ribossomo bacteriano), replicação bacteriana do DNA (enzimas bacterianas envolvidas no super enrolamento do DNA) em função da membrana citoplasmática.

A partir dos resultados na FIGURA 5.30 foi possível determinar o halo de inibição para todas as amostras, conforme ilustrado na FIGURA 5.30.

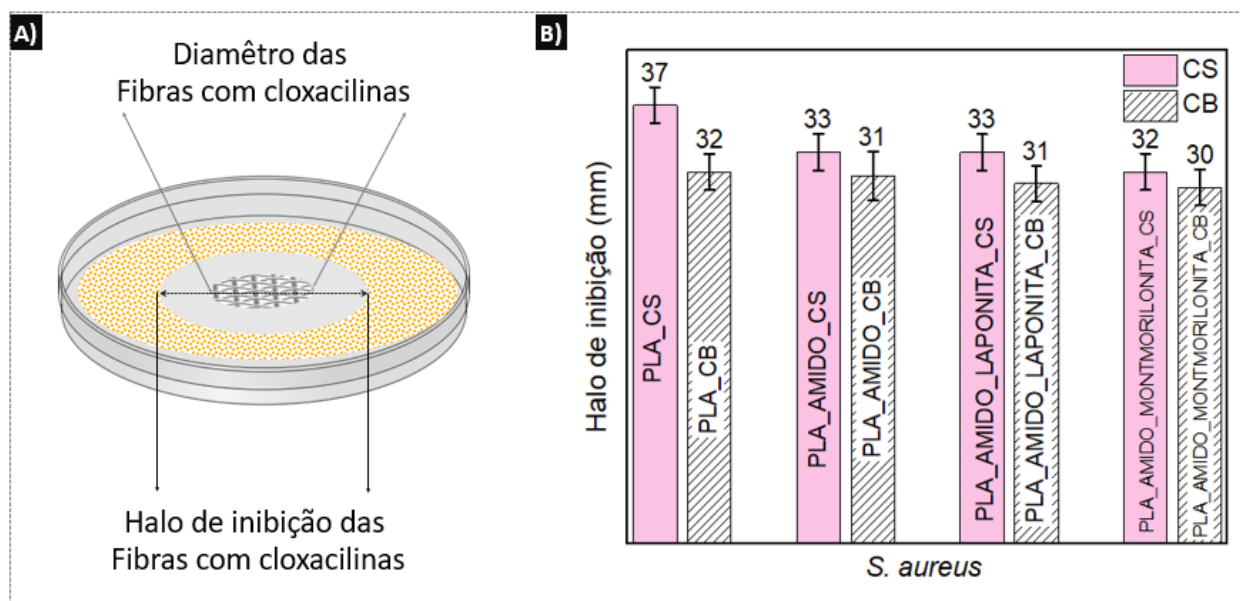


FIGURA 5.31 – a) Medida do halo de inibição a partir das fibras produzidas por eletrofiação e b) aferiu-se os halos de inibição com auxílio de paquímetro para todos os sistemas utilizando a bactéria *S. aureus*.

De acordo com a FIGURA 5.30 (b) verificou-se que adição da cloxacilina sódica proporcionou a formação de maiores halos de inibição para todas as amostras dos sistemas desenvolvidos neste trabalho. Esse fato sugere que a solubilidade de CS implicou na sensibilidade das bactérias *S. aureus*, quando comparada à cloxacilina benzatina. Como discutido no item 1.4, CB possui baixa solubilidade em água. Vale ressaltar que o meio de cultura foi preparado a partir de 2,1 g do reagente muller Hilton e 100 mL de água destilada (item 3.2).

5.3.5 Ensaios de Liberação

Após a caracterização das fibras contendo as cloxacilinas foram realizados ensaios de liberação do fármaco a partir das amostras de fibras eletrofiadas com a adição da CS e CB, sendo monitorada pelas técnicas de UV-Vis em tampão fosfato em pH 7,2.

5.3.5.1 Sistema PLA

Os perfis de liberação para o sistema PLA estão expostos FIGURA 5.31.

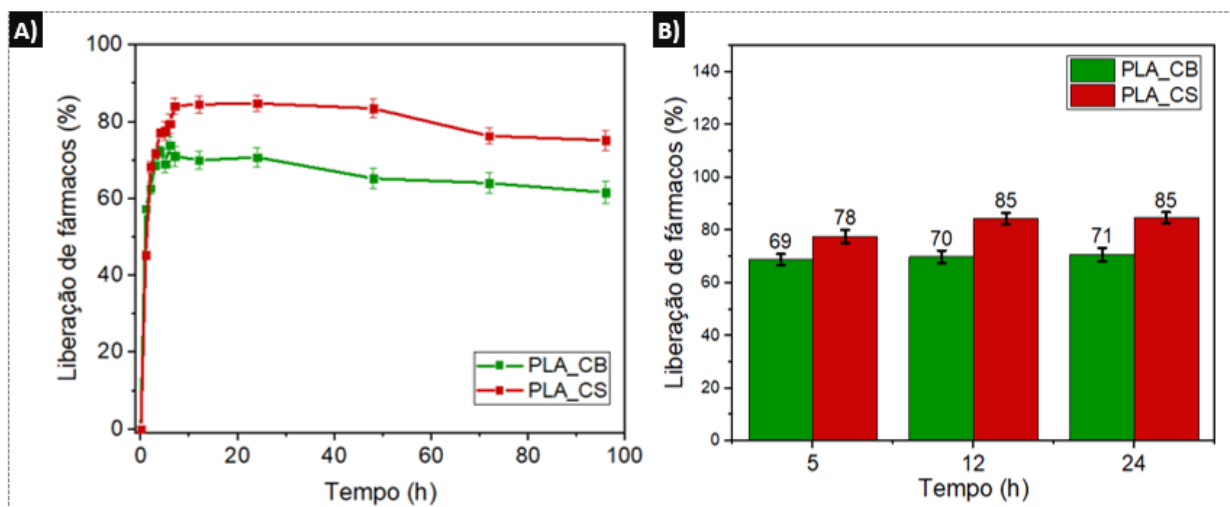


FIGURA 5.32 - Perfil de liberação da Cloxacilina para as amostras a) PLA_CS e PLA_CB; b) comparação da liberação entre 5 horas, 12 horas e 24 horas.

De acordo com a FIGURA 5.31 (a-b), para as amostras (PLA_CS e PLA_CB), observou-se uma liberação rápida, uma vez que o fármaco foi liberado nas primeiras horas de ensaio (70% em 7 horas), seguido de liberação sustentada ao longo

do ensaio (>12 horas). Perfis similares de liberação rápida foram reportados ao encapsular o fármaco diretamente na matriz do PLA, como por exemplo o Ibuprofeno (liberação > 46% em 12 horas) por HU et al. (2013); bacitracina (liberação de > 62% em 12 horas) por YAO et al. (2016); Diclofenaco (44% em 6 horas) por PICCIRILLO et al. (2019). Os autores atribuíram que os fármacos supracitados proporcionaram efeitos de erosão e degradação da matriz polimérica e, conseqüentemente, aumento da liberação dos medicamentos da matriz polimérica. Esse efeito de liberação rápida pode ser eficiente, pois o fármaco liberado pode eliminar as bactérias antes da proliferação no local infeccionado, principalmente em tratamento de feridas. A liberação sustentada, por sua vez, pode eliminar organismos que não foram atingidos na liberação rápida e que precisam desses antibióticos para impedir o crescimento bacteriano no local lesionado.

No tratamento convencional, a cloxacilina sódica e benzatina são frequentemente prescritas para infecções leves a moderadas das vias aéreas superiores e infecções localizadas na pele e tecidos moles, entre 250 a 500 mg, sendo administradas de quatro a seis horas para que a concentração dos fármacos atinjam e sejam mantidos nos níveis terapêuticos do medicamento, mantendo a eficácia do medicamento no organismos vivos. Ao desenvolver o sistema PLA, observou-se que a vantagem desse sistema está associada à manutenção dos fármacos ao longo das 96 horas de ensaio, com menor concentração (100 mg) de fármaco que são capazes de inibir o efeito bacteriano, conforme análise bactericida, item 5.3.4. Por se tratar de fibras com antibióticos, as quais podem promover melhorias quanto a frequência da administração, como também pode reduzir a duração de tratamento, uma vez que, as fibras podem ser colocadas diretamente no local infeccionado. A desvantagem aqui associada está relacionada ao uso do PLA que tem alto custo de comercialização, bem como o amido apresenta a capacidade de degradar o PLA em um período mais curto, é biodegradável, biocompatível e biodisponível. Fatos que justificam o uso de amido ao sistema PLA.

Outras questões observadas na FIGURA 5.31 foram os perfis de liberação das cloxacilinas, na qual a liberação do fármaco CS foi maior que a CB, fator que pode estar associado a alta solubilidade do fármaco CS e também ao menor diâmetro médio da fibra PLA_CS (item 5.2.1, FIGURA 5.13 (c)). Na FIGURA 5.31(b) não foram observadas ganhos significativos nas concentrações de liberação dos fármacos CS e CB entre 12 e 24 horas. Isso sugere que esse material tem potencial para aplicação em

tratamentos de doenças na pele, onde o fármaco pode atuar como inibidor da proliferação das bactérias entre outros patógenos, que podem afetar a saúde do ser vivo.

5.3.5.2 Sistema PLA_Amido

Os perfis de liberação para o sistema PLA_AMIDO estão apresentados na FIGURA 5.32.

Ao examinar a FIGURA 5.32, verificou-se que a liberação dos fármacos CS e CB no sistema PLA_AMIDO foi mais lenta ($\approx 60\%$ em 7 horas) ao correlacionar com o sistema PLA. A explicação para esse evento, pode estar associada ao aumento no diâmetro das fibras PLA_AMIDO que foram influenciados devido à pouca solubilização do amido que se manteve disperso na matriz PLA, podendo ter interferido no processo difusional do fármaco.

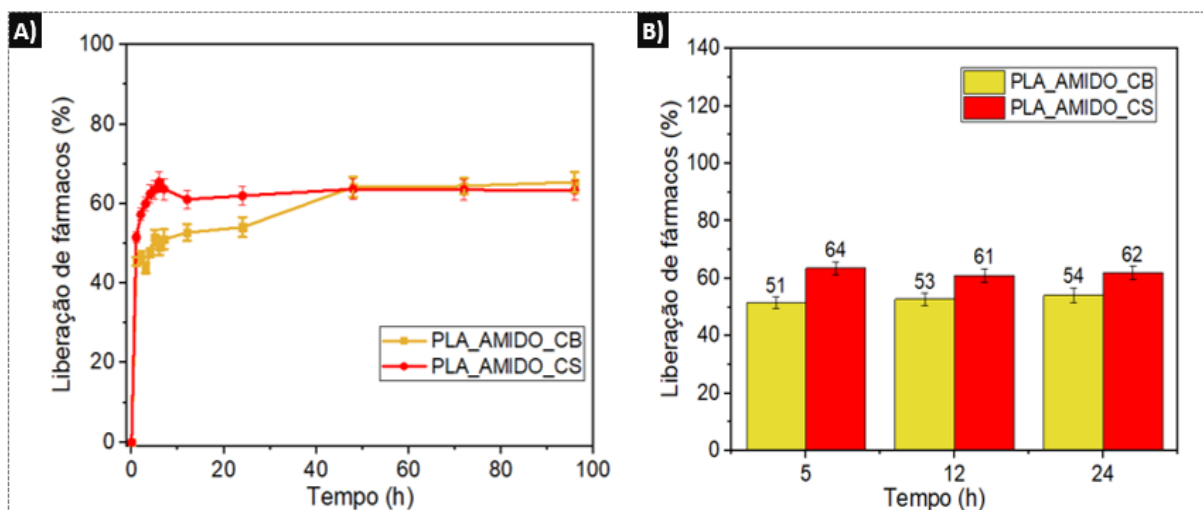


FIGURA 5.33 - Perfil de liberação da Cloxacilina para as amostras a) PLA_AMIDO_CS e PLA_AMIDO_CB; b) liberação após 24 horas

Adicionalmente, foi observado nas primeiras 12 h concentrações maiores de liberação de CS em relação a CB, que pode estar atribuída a elevada solubilidade em meio aquoso comparado com CB (FIGURA 5.32 a). Por outro lado, não foram verificadas grandes variações das concentrações de liberação dos fármacos CS e CB depois das 24 h (FIGURA 5.32 b).

Ao confrontar os resultados do sistema PLA_AMIDO com os trabalhos na literatura, esse sistema apresentou vantagem na liberação da cloxacilina, uma vez que estudos similares reportam uma liberação mais rápida em menor tempo utilizando esse mesmo fármaco, como é o caso do estudo de Schneider et al. (2018), que realizou a liberação da cloxacilina usando a blenda PBAT (poli-(butileno adipato-cotereftalato)/ PLA (poli(ácido láctico)), no qual o fármaco atingiu 70% da liberação em 15 minutos. Os autores associaram esse efeito à natureza da matriz polimérica, pois nos sistemas imiscíveis, PLA/PBAT, a liberação ocorre devido a ruptura e difusão através da interface PLA, PBAT, como também das distintas interações entre a droga e cada fase da mistura.

Outra vantagem desse sistema, foi quando comparado aos estudos de JAITURONG et al. (2018) ao produzir fibras contendo amido, PVA - poli(álcool polivinílico) e Maleato de Clorfeniramina, fármaco frequentemente usado para tratamento de gripes e dores reumáticas. As fibras exibiram uma liberação bifásica da droga, na qual aproximadamente 60% da droga foi liberada em 10 minutos e alcançou 90% de liberação em 120 minutos. Os autores apontaram que a rápida liberação foi devido a combinação dos efeitos de difusão e degradação da matriz polimérica, ocasionado pela adição do amido.

Contudo é importante destacar que, em nosso estudo, a proporção de amido utilizada, 11,11% (m/m) foi um fator significativo para a retenção na liberação dos fármacos no sistema desenvolvido (PLA_AMIDO). Nesse sentido, o estudo de TANG et al. (2015) demonstra que diferentes proporções em massa de amido (0,5; 1,0 e 2,0 % m/m) utilizado nas fibras contendo os polímeros PVA poli(álcool polivinílico), PEO (poli(óxido de etileno) e o fármaco amoxicilina (AM) produziram resultados divergentes de liberação rápida e liberação sustentadas/prolongadas. Assim, os resultados de liberação indicaram que a menor concentração de amido (0,5% m/m) empregada para os sistemas (AMIDO/PVA/AM) e (AMIDO/PEO/AM) não ultrapassaram 15 µg/mL em 100 minutos de ensaio utilizando o sistema com PEO e 10 horas para o sistema com PVA, apresentando características de sistemas prolongado. Enquanto, que a maior concentração de amido empregada (2,0% m/m) a liberação do fármaco foi a maior e atingiu aproximadamente 43 µg/mL em 100 minutos para o sistema com PEO e 53 µg/mL em 30 horas de ensaio com o PVA.

5.3.5.3 Sistema PLA_AMIDO_LAPONITA

Os perfis de liberação para o sistema PLA_AMIDO_LAPONITA estão ilustrados FIGURA 5.33. Foi verificado que no sistema PLA_AMIDO_LAPONITA, os resultados de liberação dos fármacos CS e CB foram sustentados/prolongados, quando comparados com o sistema PLA e PLA_AMIDO. As primeiras possibilidades elencadas para entender esse perfil de liberação com a laponita podem estar relacionadas ao tamanho do diâmetro da fibra, uma vez que o sistema PLA_AMIDO_LAPONITA apresentou fibras com diâmetros maiores (item 5.2.3). Uma possível explicação para esse resultado, pode estar atribuída ao fenômeno de esfoliação da laponita na matriz PLA_AMIDO, discutida no item 5.1.4 e consequente propriedade de barreira que possivelmente limitou a difusão dos fármacos para o meio tamponado.

No estudo de KAWAR et al. (2017) efeitos similares ao da laponita foram identificados ao produzir fibras utilizando o PCL e o fármaco ciprofloxacino. O fármaco atingiu 65% da liberação após 14 dias de ensaios, bem como foi observado efeito de liberação rápida nas primeiras horas de ensaio, com um percentual de 29%. Os autores atribuíram essa liberação ao mecanismo de inchamento das fibras quando colocados no tampão fosfato.

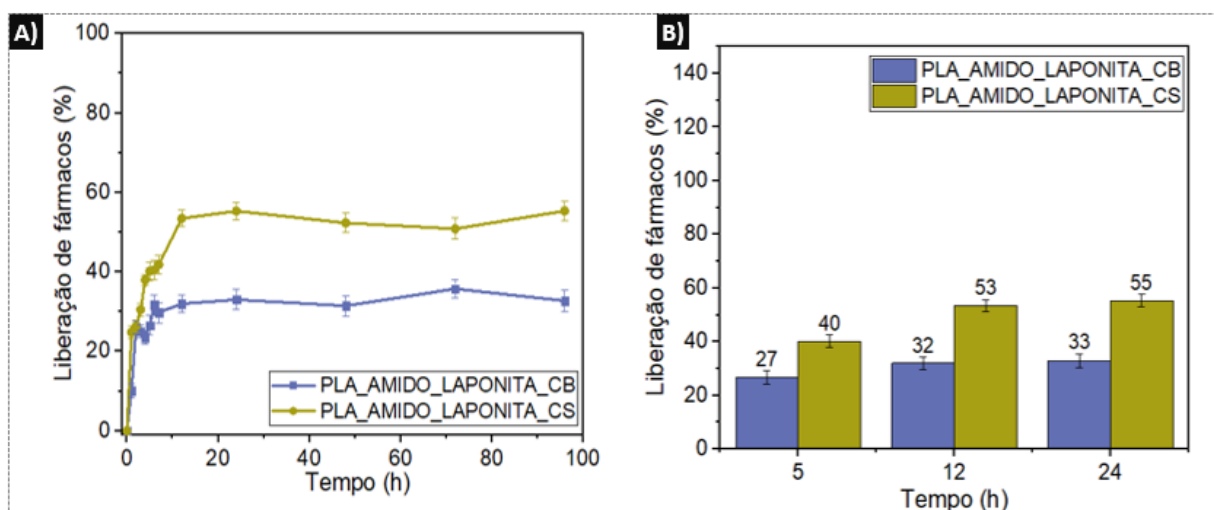


FIGURA 5.34 - Perfil de liberação da Cloxacilina para as amostras a) PLA_AMIDO_LAPONITA_CS e PLA_AMIDO_LAPONITA_CB; b) liberação após 24 horas

De acordo com a FIGURA 5.33 (b) observou-se que a liberação em 5, 12 e 24 horas manteve-se constante para a amostra com a cloxacilina benzatina. Já para a cloxacilina sódica, a liberação manteve-se constante de 12 a 24 horas. No estudo de LUO et al., (2019) os perfis de liberação em 100 horas de ensaio realizados com hidroxiapatita, PLGA e doxirrubicina também foram sustentados/prolongados com 11% de liberação no pH 7,4. Além disso, os autores afirmaram que devido a presença da hidroxiapatita, com função de armazenar o fármaco (nanocarreador) a liberação rápida não ocorreu. Comportamento similar foi evidenciado neste estudo.

No estudo de WANG et al. (2012) o perfil de liberação para a amoxicilina incorporada à laponita e eletrofiadas com PLGA seguiu um padrão bifásico caracterizado por uma liberação inicial rápida e devido a inserção da argila a liberação manteve-se sustentada após 12 horas com liberação de 40% da concentração do medicamento, como o ensaio foi realizado até o 14º dia a liberação final foi de 60%. Os autores atribuíram a liberação do medicamento foi devido à coexistência de dois mecanismos de liberação. O primeiro caracteriza-se pela liberação do fármaco encapsulado na laponita, o segundo o fármaco foi liberado a partir da matriz polimérica, sem encapsulamento. Fato que pode justificar a liberação controlada/prolongada na matriz PLA_AMIDO_LAPONITA.

5.3.5.4 Sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA

Os perfis de liberação para o sistema PLA_AMIDO_MONTMORILONITA estão apresentados na FIGURA 5.34

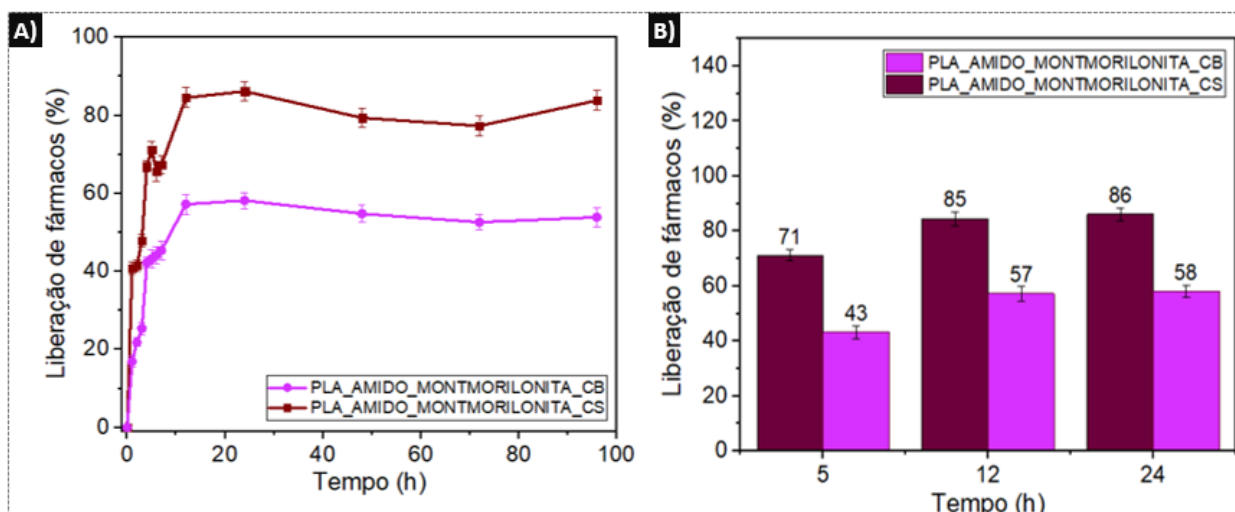


FIGURA 5.35 - Perfil de liberação das cloxacilinas para as amostras de fibras processadas por eletrofiação, sistema: a) PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB; eb) comparação da liberação após 24 horas de liberação.

Ao examinar a FIGURA 5.34 a verifica-se que a liberação do fármaco CS foi mais rápida que CB, pelas mesmas razões discutidas no item anterior. Por outro lado, a presença de montmorilonita no sistema PLA_AMIDO não teve influência com respeito a liberação da cloxacilina sódica (CS), devido ao caráter hidrofílico de CS e hidrofóbico da montmorilonita modificada com sal de amônia. Porém, a liberação de CB da matriz PLA_AMIDO_MONTMORILONITA foi mais lenta em relação a CS pelo fato da compatibilidade com respeito a hidrofobicidade da argila modificada e o fármaco CB que, consequentemente, prolongou a liberação de CB da matriz.

Outro aspecto interessante, que pode ter favorecido a liberação de CS, baseia-se no fato que a montmorilonita não ficou esfoliada no polímero da matriz PLA_AMIDO, como foi caso da laponita (item 5.3.5.3), na qual o perfil de liberação de CS se caracterizou como prolongada.

5.3.6 Cinética de liberação

O mecanismo envolvido de liberação de fármacos por materiais fibrosos depende vários fatores, tais como: natureza cristalina do fármaco, morfologias das fibras, solubilidade dos fármacos, homogeneidade da distribuição da fase dispersa na matriz entre outros fatores. A fim de compreender melhor a influência desses fatores, diversos modelos matemáticos têm sido empregados para descrever o mecanismo de liberação envolvido em cada fibra. Os modelos mais aplicados para liberação em fibras são os modelos de Korsmeyer-Peppas, Higuchi e Hixson-Crowel.

O modelo de Korsmeyer-Peppas descreve o perfil de liberação do fármaco a partir de um sistema polimérico. Assim, o modelo pode ser representado pela EQUAÇÃO 3:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (3)$$

Onde k é a constante cinética, M_t/M_∞ é a fração do fármaco liberado ao longo do tempo t e n é conhecida como expoente de liberação. Esse modelo categoriza os perfis de liberação de acordo com o valor de n , sendo eles: a) Quando o valor $n \geq 0,5$ o modelo corresponde ao mecanismo de difusão Fickiana; b) Quando n for $0,5 < n < 1$ é considerado como mecanismo de transporte de massa não-Fickiano (anômalo); c) Se $n > 1$ a difusão é não Fickiana, chamada de super caso II. A partir desse modelo, foram propostas variações, inicialmente, o modelo foi projetado para matrizes planas. As variações incluem formas cilíndricas, onde $n = 0,43$ corresponde ao transporte Fickiano e quando $n > 0,83$ corresponde ao super caso II. (KORSMEYS e PEPPAS, 1981; RITGER e PEPPAS, 1987)

Higuchi é um modelo puramente difusional, que é regido pela primeira lei de Fick, descrevendo uma dependência da liberação com a raiz quadrada do tempo (HIGUCHI, 1962). Para o modelo do Hixson-Crowel a liberação não envolve nenhum processo de difusão, sendo proposto para matrizes porosas com distribuição do medicamento na superfície (HIXSON e CROWELL, 1931). Neste modelo, a liberação depende exclusivamente da solubilidade do fármaco.

Assim, os gráficos para o modelo Korsmeyer-Peppas foram ajustados com base nos dados experimentais dispostos na FIGURA 5.35. A escolha do número de pontos para o ajuste foi baseada considerando que o modelo de Korsmeyer-Peppas descreve que 60% da liberação podem ser usados nos cálculos, assim 7 pontos foram selecionados para análise dos dados de liberação de todos os sistemas desenvolvidos neste trabalho.

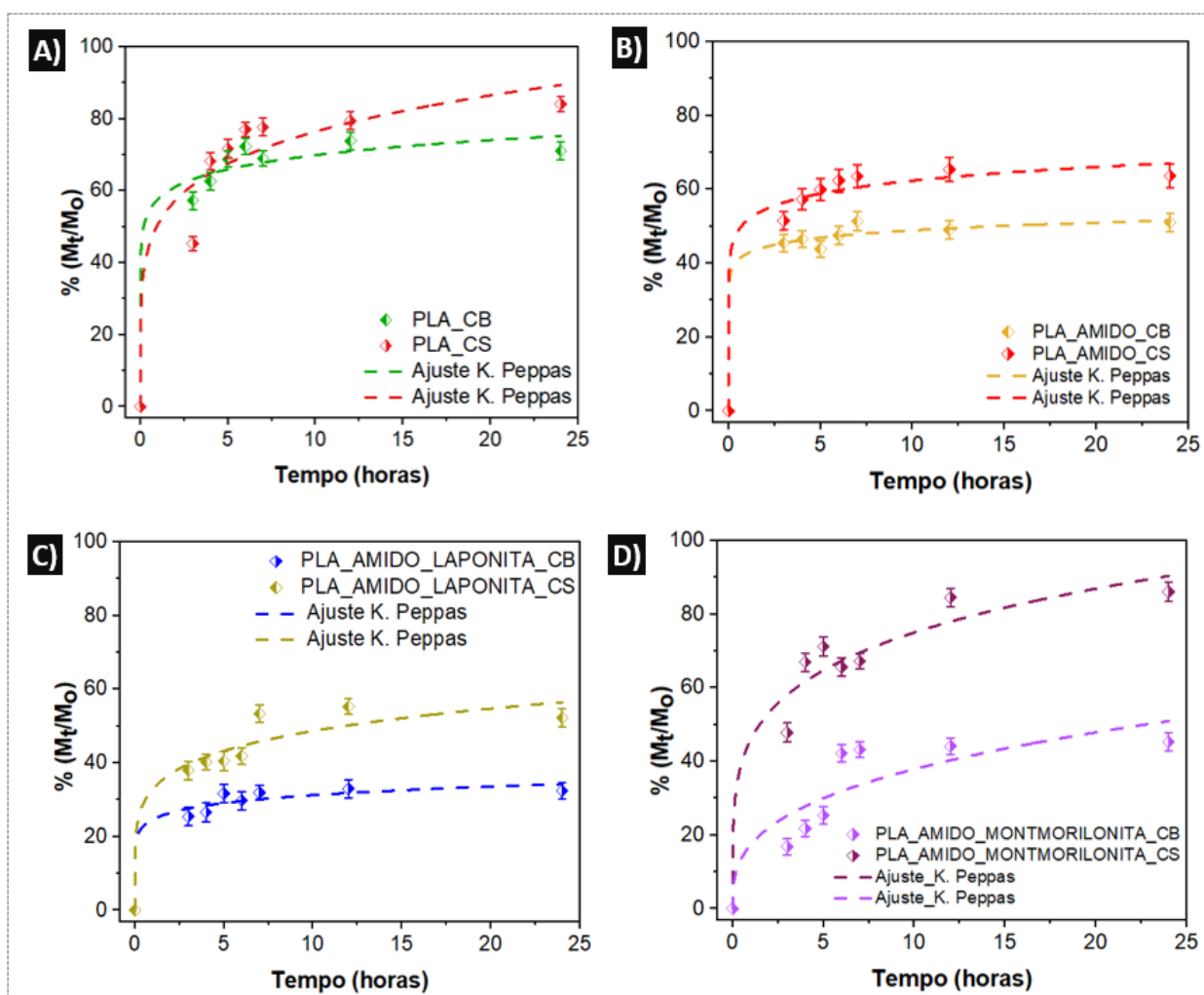


FIGURA 5.36 - Ajustes com base no modelo Korsmeyer-Peppas

A partir da FIGURA 5.35 é possível associar o melhor ajuste dos dados no modelo Korsmeyer-Peppas com base nos valores de R^2 , n e a constante k , cujas informações de controle cinético, estruturais e, geométricas das matrizes poliméricas

podem ser extraídas, nessa ordem, a partir desse modelo. A TABELA 5.11 sumariza os principais modelos matemáticos comumente utilizados na liberação de fármacos.

TABELA 5.11- Parâmetros cinéticos calculados pelos modelos cinéticos para todas as fibras desenvolvidas.

AMOSTRAS	Korsmeyer-Peppas		Higuchi		Hixson	
	R ²	k	R ²	k	R ²	k
PLA_CS	0,87	1,81	0,70	3,1	0,63	0,01
PLA_CB	0,70	1,78	0,67	3,7	0,45	0,03
PLA_AMIDO_CS	0,81	1,73	0,82	2,3	0,76	0,03
PLA_AMIDO_CB	0,82	1,65	0,71	6,3	0,48	2x10 ⁻²
PLA_AMIDO_LAPONITA_CS	0,94	1,17	0,90	2,6	0,80	4x10 ⁻³
PLA_AMIDO_LAPONITA_CB	0,93	1,07	0,86	3,1	0,72	5x10 ⁻³
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CS	0,96	1,72	0,71	5,5	0,74	0,05
PLA_AMIDO_MONTMORILONITA_CB	0,94	1,66	0,76	7,5	0,80	0,02

Com base nos resultados apresentados na TABELA 5.11, pôde-se verificar que o mecanismo de transporte dos sistemas de liberação dos fármacos CS e CB, desenvolvidos neste trabalho, foi melhor ajustado no modelo de Korsmeyer-Peppas que apresentou maiores valores de R², variando de 0,70 a 0,96, ficando mais próximos da unidade que os valores de R² quando se utilizou os modelos de Higuchi e Hixson.

No entanto, os sistemas que foram adicionados argilas se ajustaram adequadamente ao modelo de Korsmeyer-Peppas (maiores valores de R²), em cujos resultados de cinética de liberação, confirmaram os sistemas PLA_AMIDO_LAPONITA CB e PLA_AMIDO_LAPONITA CS como aqueles que tiveram liberações controladas/prolongadas, evidenciados pelos menores valores de k (1,07 e 1,17 mg/Lh). Em contra partida, a partir da constante cinética obtido pelo modelo de Korsmeyer-Peppas, foi possível também confirmar o sistema PLA_CS, em que apresentou cinética de liberação foi rápida, evidenciado pelo maior valor de k (1,81 mg/Lh), quando comparado com os demais sistemas.

Por outro lado, os valores de n foram menores que 0,5 e, de acordo com o modelo sugerindo (Korsmeyer-Peppas), esse valor classifica o mecanismo, no qual a liberação da cloxacilinas CS e CB ocorreram das fibras para o meio tamponado, como mecanismo de difusão Fickiano.

Portanto, as estratégias utilizadas neste trabalho, com respeito a inserção de aditivos na matriz PLA, buscando melhorar a estabilidade dos compósitos processados por eletrofiação, bem como as propriedades mecânicas e, principalmente, o controle da liberação dos fármacos cloxacilina sódica e benzatina dos sistemas desenvolvidos, como também os modelos matemáticos adotados, nos permitiram classificar o sistema que se adicionou as argilas como os mais eficientes para a liberação controlada/prolongada de CS e CB das fibras para o meio tamponante. Tais sistemas são promissores para aplicação na liberação de drogas que necessitem de concentrações de medicamento por longo período na faixa terapêutica.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram processadas fibras por eletrofiação com êxito para todos os sistemas propostos, a saber: PLA; PLA_AMIDO; PLA_AMIDO_LAPONITA e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA com adição em cada sistema dos fármacos cloxacilina sódica e benzatina. Essas fibras apresentaram diâmetros médios, variando de $331 \text{ nm} \pm 61$ a $651 \text{ nm} \pm 399$, contendo maiores valores aquelas em que a laponita foi adicionada.

As caracterizações estruturais (DRX , FTIR e Raman), morfológicas (MEV-EDS) confirmaram a composição dos compósitos desenvolvidos neste trabalho, PLA, amido, laponita e montmorilonita, bem com os fármacos CS e CB. Com auxílio do DRX foi possível também confirmar a intercalação dos polímeros nas lamelas das argilas e a fases dos polímeros, fármacos e argilas. Nas análises de MEV foram confirmadas o formato 1D das fibras processadas por eletrofiação.

Para todas as fibras contendo os fármacos houve manutenção da atividade bactericida, estando em conformidade aos ensaios realizados com antibióticos.

As análises térmicas TG e DSC mostraram que não houve alterações significativas com a adição da cloxacilinas e argilas, contudo o grau de cristalinidade foi alterado para cada amostra. Sendo mais cristalinas as fibras com adição da argila ao comparar com a fibra de PLA.

Os ensaios de tensão versus deformação para todas as fibras indicaram melhora na resposta após a adição do amido, montmorilonita e fármacos.

Mediante todos os sistemas eletrofiados ressalta-se que o sistema com a presença da montmorilonita foi eficiente para o reforço mecânico na fibra de PLA_AMIDO, bem como proporcionou a manutenção da atividade bactericida das cloxacilinas para os sistemas desenvolvidos frente à bactéria *S. aureus*.

Os resultados experimentais de liberação, como também os modelos matemáticos indicaram uma liberação rápida para o sistema PLA, controlada para os sistemas PLA_AMIDO, controlada/prolongada para PLA_AMIDO_LAPONITA e PLA_AMIDO_MONTMORILONITA frente aos fármacos CS e CB. Portanto, os sistemas que foram adicionados argilas, especialmente a laponita, são promissores para aplicação

na liberação de fármacos CS e CB que necessite de dose, cuja concentração permaneça por longo período na faixa terapêutica desses medicamentos.

7 REFERÊNCIAS

- ABDOLRSAOULI, H.; BABAEI, M.; KASCHTA, A.; NAZOCKDAT, J.; "Polylactide/organoclay nanocomposites: The effect of organoclay types on the structure development and the kinetic of cold crystallization". *Journal of Vinyl and Additive Technology*, **25**, 48-58, 2018.
- AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. "The combustion of starch, cellulose and cationically modified products of these compounds investigated using thermal analysis". *Thermochim. Acta*, 291, 65–72, 1997.
- AHMED, B.; BECHELANY, M.; SALAM, A.; MAKHLOUF, H. "Handbook of nanofiber". Institut Européen des Membrane, France, 2015.
- ANVISA. NORMA M2-A8, CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 22. ed. Informational Supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
- AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H.; LONGO, E. "A simple procedure for the preparation of laponite and thermoplastic starch nanocomposites: Structural, mechanical, and thermal characterizations". *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 26 (1): 109–124, 2011.
- BABU, S.S.; AUGUSTINEA, A.; NALARIKKALA, S.; THOMASA, S. "Nylon 6, 12/Cloisite 30B Electrospun Nanocomposites for Dental Applications". *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 2 (9): 198-211, 2016.
- BISWAS, N.; SAHOO, R. K. "Tapioca starch blended alginate mucoadhesive-floating beads for intragastric delivery of Metoprolol Tartrate". *International Journal of Biological Macromolecules*, **83**, 61–70, 2016.
- BUBECK, R.A., MERRINGTON, A., DUMITRASCU, A. "Thermal analyses of poly(lactic acid) PLA and micro-ground paper blends". *J Therm Anal Calorim*, **131**, 309–316 (2018).
- CAI, J.; CAI, C.; MAN, J.; ZHOU, W.; WEI, C. "Structural and functional properties of C-type starches". *Carbohydrate Polymers*, **101**, 289–300, 2014a.
- CAI, N.; DAI, Q.; WANG, Z.; LUO, X.; XUE, Y.; YU, F. "Preparation and properties of nanodiamond/poly(lactic acid) composite nanofiber scaffolds". *Fibers and Polymers*, 15 (12): 2544–2552, 2014b.
- CHAO, J.-B.; XU, M.-D.; YIN, C.-X.; HUANG, S. "Synthesis of Zn(II)-cloxacillin sodium complex and study of its interaction with calf thymus DNA". *Biochemistry (Moscow)*, 72 (2): 153–161, 2007.
- CHEN, Q., YU, H., WANG, L., UL ABDIN, Z., CHEN, Y., WANG, J.; CHEN, X. "Recent progress in chemical modification of starch and its applications". *RSC Advances*, 5 (83): 67459–67474, 2015.

CUMMINS, Z. "Liquid, glassm gel: the phases of colloidal laponite". *Journal of Non-Crystalline Solids* 353 (41): 3891–3905, 2007.

CUNHA, V. R. R.; LIMA, F. C. D. A.; SAKAI, V. Y.; VÉRAS, L. M. C.; LEITE, J. R.; PETRILLI, H. M.; CONSTANTINO, V. R. L. "LAPONITE®-pilocarpine hybrid material: experimental and theoretical evaluation of pilocarpine conformation". *RSC Advances*, 7(44): 27290–27298, 2017.

DAI, X.; LIU, J.; ZHENG, H.; WICHMANN, J.; HOPFNER, U.; SUDHOP, S.; SCHILLING, A. F. "Nano-formulated curcumin accelerates acute wound healing through Dkk-1-mediated fibroblast mobilization and MCP-1-mediated anti-inflammation". *NPG Asia Materials*, 9 (3): 368–372, 2017.

DAS, S.; ISIAH, R.; BACKIANATHAN, S.; JAGAN, L.; RAJESH, B.; SUBHASHINI, J. "Nanotechnology in oncology: Characterization and in vitro release kinetics of cisplatin-loaded albumin nanoparticles: Implications in anticancer drug delivery". *Indian Journal of Pharmacology*, 43(4): 409, 2011.

DE SANTIS, P., & KOVACS, A. J. "Molecular conformation of poly(S-lactic acid)". *Biopolymers*, 6 (3): 299–306, 1968.

DELHOM, C. D.; WHITE-GHOORAHOO, L. A.; PANG, S. S. "Development and characterization of cellulose/clay nanocomposites". *Composites Part B: Engineering*, 41(6): 475–481, 2010.

DI MASCOLO, D., COCLITE, A., GENTILE, F., & FRANCARDI, M. "Quantitative micro-Raman analysis of micro-particles in drug delivery". *Nanoscale Advances*, 1, 2019.

DING, L.; HU, Y.; LUO, Y.; ZHU, J.; WU, Y.; YU, Z.; GUO, R. "LAPONITE®-stabilized iron oxide nanoparticles for in vivo MR imaging of tumors". *Biomaterials Science*, 4 (3): 474–482, 2016.

DIRECTIVE 1999/45/EC of The European Parliament and of the council of 31 may 1999. *Oficcial Journal of the European Comunities*, 30.7.1999.

DYAB, A. K. F.; AL-LOHEDAN, H. A.; ESSAWY, H. A.; ABD EL-MAGEED, A. I. A.; TAHA, F. "Fabrication of core/shell hybrid organic–inorganic polymer microspheres via Pickering emulsion polymerization using laponite nanoparticles". *Journal of Saudi Chemical Society*, 18 (5): 610–617, 2014.

FAN, X.; ZHAO, L.; ZHANG, L.; XU, B.; WEI, C. "A new allomorph distribution of C-type starch from root tuber of *Apios fortune*". *Food Hydrocolloids*, 66, 334–342, 2017.

FORMHALS, A. US Patent 1975504, 1934,

FROST, R. L.; RINTOUL, L. "Lattice vibrations of montmorillonite: an FT Raman and X-ray diffraction study". *Applied Clay Science*, 11(4): 171–183, 1996.

GARLOTTA, D. "A Literature Review of Poly(Lactic Acid)". *Journal of Polymers and the Environment*, **9**, 63–84 (2001)

GHADIRI, M.; HAU, H.; CHRZANOWSKI, W.; AGUS, H.; ROHANIZADEH, R. "Laponite clay as a carrier for in situ delivery of tetracycline". *RSC Advances*, **3** (43): 20193, 2013.

GÖK, M. K., ÖZGÜMÜŞ, S., DEMİR, K., CIRIT, Ü., PABUCCUOĞLU, S., CEVHER, E., LACINOĞLU, S. "Development of starch based mucoadhesive vaginal drug delivery systems for application in veterinary medicine". *Carbohydrate Polymers*, **136**, 63–70, 2016.

GUPTA, B.; REVAGADE, N.; HILBORN, J. "Poly(lactic acid) fiber: An overview". *Progress in Polymer Science*, **32** (4): 455–482, 2007.

HAIDER, A.; HAIDER, S.; KANG, I. "A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology". *Arabian Journal of Chemistry*, 2015.

HAN, T.; YARIN, A.L.; RENEKER, D.H. "Viscoelastic electrospun jets: Initial stresses and elongational rheometry". *Polymer*, **49**, 1651-1658, 2008.

HALL BARRIENTOS, I. J.; PALADINO, E.; SZABÓ, P.; BROZIO, S.; HALL, P. J.; OSEGHLE, C. I.; LAMPROU, D. A. "Electrospun collagen-based nanofibres: A sustainable material for improved antibiotic utilisation in tissue engineering applications". *International Journal of Pharmaceutics*, **531** (1): 67–79, 2017.

HE, C.; NIE, W.; FENG, W. "Engineering of biomimetic nanofibrous matrices for drug delivery and tissue engineering". *J. Mater. Chem. B*, **2** (45): 7828–7848, 2014.

HU, X.; LIU, S.; ZHOU, G.; HUANG, Y.; XIE, Z.; JING, X. "Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications". *Journal of Controlled Release*. **185**: 12-21, 2014.

HENTON, D.; GRUBER, P.; LUNT, J.; RANDALL, J. *Poly(lactic Acid) Technology*. In *Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites*; Mohanty, A., Misra, M., Drzal, L., Eds.; CRC Press, 2005.

HIGUCHI, W. I. "Analysis of data on the medicament release from ointments". *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **51**(8): 802, 1962

HU, C.; LIU, S.; ZHANG, Y.; LI, B.; YANG, H.; FAN, C.; CUI, W. "Long-term drug release from electrospun fibers for in vivo inflammation prevention in the prevention of peritendinous adhesions". *Acta Biomaterialia*, **9** (7): 7381–7388, 2013.

HU, Y.; WANG, Q.; TANG, M. "Preparation and properties of Starch-g-PLA/poly(vinyl alcohol) composite film". *Carbohydrate Polymers*, **96**(2): 384–388, 2013b.

HIXSON, A. W.; CROWELL, J. H. "Dependence of Reaction Velocity upon Surface and Agitation: III—Experimental Procedure in Study of Agitation" *Industrial and Engineering Chemistry*, 23(10): 1160, 1931

IANNUCELLI, V.; MARETTI, E.; MONTORSI, M.; RUSTICHELLI, C.; SACCHETTI, F.; LEO, E. "Gastroretentive montmorillonite-tetracycline nanoclay for the treatment of *Helicobacter pylori* infection". *International Journal of Pharmaceutics*, 493 (2): 295–304, 2015.

IMMICH, A. P. S.; ARIAS, M. L.; CARRERAS, N.; BOEMO, R. L.; TORNERO, J. A. "Drug delivery systems using sandwich configurations of electrospun poly(lactic acid) nanofiber membranes and ibuprofen". *Materials Science and Engineering: C*, 33 (7): 4002–4008, 2013.

ISARANKURANAAYUTTHAYA, S.; TANPICHAI, S.; SANGKHUN, W.; WOOTHIKANOKKHAN, J. "Effect of clay content on morphology and processability of electrospun keratin/poly(lactic acid) nanofiber". *International Journal of Biological Macromolecules*, **85**, 585–595, 2016.

JAITURONG, P.; SIRITHUNYALUG, B.; EITSAYEAM, S.; ASAWAHAME, C.; TIPDUANGTA, P.; SIRITHUNYALUG, J. "Preparation of glutinous rice starch/polyvinyl alcohol copolymer electrospun fibers for using as a drug delivery carrier". *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(3): 239–247, 2018.

JAYRAJSINH, S.; SHANKAR, G.; AGRAWAL, Y. K.; BAKRE, L. "Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review". *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **39**, 200–209, 2017.

JIANG, C.; NIE, J.; MA, G. "A polymer/metal core–shell nanofiber membrane by electrospinning with an electric field, and its application for catalyst support". *RSC Advances*, 6 (27): 22996–23007, 2016.

JI, Y.; LI, B.; GE, S.; SOKOLOV, J. C.; RAFAILOVICH, M. H. "Structure and nanomechanical characterization of electrospun PS/clay nanocomposite fibers," *Langmuir*, 22 (3): 1321–1328, 2006.

KADUK, J. A.; GINDHART, A. M.; BLANTON, T. N. "Crystal structure of cloxacillin sodium monohydrate, $C_{19}H_{17}ClN_3O_5SNa(H_2O)$ ". *Powder Diffraction*, 34 (4), 374–378, 2019.

KAKEGAWA, N.; OGAWA, M. The intercalation of h-carotene into the organophilic interlayer space of dialkyldimethylammonium-montmorillonites. *Applied Clay Science*, 22 (3): 137–144, 2002.

KHADKA D.B.; HAYNIE D.T. "Protein- and peptide-based electrospun nanofibers in medical biomaterials". *Nanomedicine: NBM*, **8**, 1242-1262, 2012.

KHAN, E.; SHUKLA, A.; SRIVASTAVA, A.; SHWETA, S.; TANDON, P. "Molecular structure, spectral analysis and hydrogen bonding analysis of ampicillin trihydrate: a combined DFT and AIM approach". *New Journal of Chemistry*, 39 (12), 9800–9812, 2015.

KOH, J. J.; ZHANG, X.; HE, C. "Fully biodegradable Poly(lactic acid)/Starch blends: A review of toughening strategies". *International Journal of Biological Macromolecules Elsevier* 1, 2018.

KONG, L.; ZIEGLER, G.R. Fabrication of pure starch fibers by electrospinning. *Food Hydrocolloids*, 36, 20-25, 2015.

KONGKHLANG, T.; TASHIRO, K.; KOTAKI, M.; CHIRACHANCHAI, S. "Electrospinning as a new Technique to control the crystal morphology and molecular orientation of polyoxymethylene nanofibers". *Journal of the American Chemical Society*, 130(46), 2008.

KORSMEYER, R. W.; PEPPAS, N. A. "Effect of the morphology of hydrophilic polymeric matrices on the diffusion and release of water soluble drugs" *Journal of Membrane Science*, 9(3): 211, 1981

KUMAR MISHRA, R. "Synthesis and Structural Investigation Of Some Trivalent Lanthanide Complexes Of Cloxacillin". *American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences AIJRFANS*, 23 (2): 14–270, 2014.

LANCUŠKI, A.; VASILYEV, G.; PUTAUX, J.-L.; ZUSSMAN, E. "Rheological Properties and Electrospinnability of High-Amylose Starch in Formic Acid". *Biomacromolecules*, 16 (8): 2529–2536, 2015.

LAPONITE. BYK ADDITIVES&INSTRUMENTS. Disponível em: <www.laponite.com>. acessado em 02 de dezembro de 2015.

LASPRILLA, A. J. R.; MARTINEZ, G. A. R.; LUNELLI, B. H.; JARDINI, A. L.; FILHO, R. M. "Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review". *Biotechnology Advances*, 30 (1): 321–328, 2012.

LEACH, E. S. H.; HOPKINSON, A.; FRANKLIN, K.; VAN DUIJNEVELDT, J. S. "Nonaqueous Suspensions of Laponite and Montmorillonite". *Langmuir*, 21 (9): 3821–3830, 2005.

LEE, S. Y.; ESKRIDGE, K. M.; HANNA, M. A. "Effects of Extrusion Variables on Organoclay Intercalation and Properties of Tapioca Starch-Poly(Lactic Acid) Nanocomposite Foams". *International Polymer Processing*, 24(1): 59–66, 2009.

LEITE, I. F.; RAPOSO, C. M. O; SILVA, S. M. L. "Caracterização estrutural de argilas bentoníticas nacional e importada: antes e após o processo de organofilização para utilização como nanocargas". *Cerâmica*, 54, 331, 303-308, 2008.

LI, J.; WANG, Z.; BAO, Y.; WANG, J. "Solid–Liquid Phase Equilibrium and Mixing Properties of Cloxacillin Benzathine in Pure and Mixed Solvents". *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52 (8): 3019–3026, 2013.

LI, J.; RAO, J.; PU, K. "Recent progress on semiconducting polymer nanoparticles for molecular imaging and cancer phototherapy". *Biomaterials*, **155**, 217-235, 2018.

LIMA, B.N. B.; CABRAL, T. B.; NETO, R. P.; TAVARES, M.I.B.; PIERUCCI, A. P. T.. "Estudo do amido de farinhas comerciais comestíveis". *Polímeros*, 22 (5): 486-490, 2012.

LIPSA, R.; TUDORACHI, N.; VASILE, C. "Poly(α -hydroxyacids) in biomedical applications: synthesis and properties of lactic acid polymers". *e-Polymers*, 10 (1): 87, 2010.

LITCHFIELD, D. W., BAIRD, D. G. "The role of nanoclay in the generation of poly(ethylene terephthalate) fibers with improved modulus and tenacity". *Polymer*, 49(23): 5027–5036, 2008.

LIU, W.; YEE, S.; ADANUR, S. "Properties of electrospun PVA/nanoclay composites". *The Journal of the textile Institute*, **105**, 1-8, 2014.

LIU, G.; GU, Y.; CHENG, L.; LI, G. "Electrospun starch nanofibers: Recent advances, challenges, and strategies for potential pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*. 87(5): 3-54, 2017.

LIU, X.; LU, S.; GUO, W.; XI, B.; WANG, W. "Antibiotics in the aquatic environments: A review of lakes, China". *Science of The Total Environment*, **627**, 1195–1208, 2018.

LIU, X.; WANG, Y.; LONG, Y.; TONG, Z.; CHEN, L. "Thermal degradation and stability of starch under different processing conditions". *Starch/Starke*, 65, 48–60, 2013.

LU, D. R.; XIAO, C. M.; XU, S. J. "Starch-based completely biodegradable polymer materials". *Express Polymer Letters*, 3 (6): 366–375, 2009.

LUO, H.; ZHANG, Y.; YANG, Z.; ZUO, G.; ZHANG, Q.; YAO, F.; WAN, Y. "Encapsulating doxorubicin-intercalated lamellar nanohydroxyapatite into PLGA nanofibers for sustained drug release". *Current Applied Physics*, **19**, 1204-1210, 2019.

LUJAN-ACOSTA, R., SÁNCHEZ-VALDES, S., RAMÍREZ-VARGAS, E., RAMOS-DEVALLE, L. F., ESPINOZA-MARTINEZ, A. B., RODRIGUEZ-FERNANDEZ, O. S.; LAFLEUR, P. G. "Effect of Amino alcohol functionalized polyethylene as compatibilizer for LDPE/EVA/clay/flame-retardant nanocomposites". *Materials Chemistry and Physics*, 146(3): 437–445, 2014.

MALAFATTI, J. O. Obtenção do sistema biodegradável PLA: amido para a incorporação do micronutriente manganês. Programa de Pós Graduação em Química, UFSCar, São Carlos, 2016. Dissertação de Mestrado, 81p.

MARTINEZ, E. J. T., BRAVO, J. M. C., MEDINA, A. S., PEREZ-GONZALEZ, G. L., & GOMEZ, L. J. V. "A Summary of Electrospun Nanofibers as Drug Delivery System: Drugs Loaded and Biopolymers Used as Matrices". *Current Drug Delivery*, **15**, 2018.

MESTORINO, N.; ERRECALDE, J.O. Pharmacokinetic – pharmacodynamic considerations for bovine mastitis treatment. In: *A Bird's Eye of Veterinary Medicine*. Intechpen, Argentina, 2012.

MILLEN, R. P.; FARIA, D. L.; TEMPERINI, M. L.A. "Modelos para dispersão Raman em polímeros conjugados". *Química Nova*, 28 (2): 289-295, 2005.

NAGELSCHMIDT, G. "On the lattice shrinkage and structure of montmorillonite". *Z KristCryst Mater*, **93**, 481-487, 1936.

NASIRUDDIN, M; NEYAZ, M. K.; DAS, S. "Nanotechnology-Based Approach in Tuberculosis Treatment". *Tuberculosis Research and Treatment*, 20, 12, 2017.

NEUMANN, B.S.; SANSOM, K. G "The formation of Stable Sols from Laponite, a synthetic Hectorite – like Clay". *Clay Minerals*, **8**, 389, 1970a.

NEUMANN, B.S.; SANSOM, K.G. Laponte Clay – a synthetic inorganic gelling agente for aqueous solutions of polar organic compounds. *J. Soc. Chemists*, **21**, 237-258, 1970.

OECD. Pharmaceutical Residues in Freshwater: Hazards and Policy Responses, OECD Studies on Water, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/c936f42d-en>, 2019.

OLIVEIRA, J.; BRICHI, G. S.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G. M.; MEDEIROS, E. S. "Effect of Solvent on the Physical and Morphological Properties of Poly(Lactic Acid) Nanofibers Obtained by Solution Blow Spinning". *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 9 (4), 2014.

OUAZIB, F.; BOUSLAH MOKHNACHI, N.; HADDADINE, N.; BARILLE, R. "Role of polymer/polymer and polymer/drug specific interactions in drug delivery systems". *Journal of Polymer Engineering, J Polym Eng*, 39 (6): 534–544, 2019.

PAIVA, L.B.; MORALES, J.A.R.; DÍAZ, F.R.V. "Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização". *Cerâmica*, **54**, 213-226, 2008.

PAJANDER, J.; KORHONEN, O.; LAAMANEN, M.; RYYNÄNEN, E.-L.; GRIMSEY, I.; VAN VEEN, B.; KETOLAINEN, J. "Effect of formulation parameters and drug–polymer interactions on drug release from starch acetate matrix tablets". *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(10), 3676–3690, 2009.

PARAKALAN, K.; JIAN, Z.; JIANZHONG, L.; JIZHONG, Y.; LEONARD, U. "Biodegradable Poly(Lactic Acid)/Clay Nanocomposites by Melt Intercalation: A Study of Morphological, Thermal, and Mechanical Properties". *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 14 (4): 336-350, 2009.

PATTNAIK, S.; SWAIN, K.; MANASWINI, P.; DIVYAVANI, E.; RAO, J. V.; TALLA, V.; SUBUDHI, S. K. "Fabrication of aceclofenac nanocrystals for improved dissolution: Process optimization and physicochemical characterization". *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 29, 199–209, 2015.

PAN, P.; INOUE, Y. "Polymorphism and isomorphism in biodegradable polyesters". *Progress in Polymer Science*, 34 (7): 605-640, 2009

POZO, C., RODRÍGUEZ-LLAMAZARES, S., BOUZA, R., BARRAL, L., CASTAÑO, J., MÜLLER, N., & RESTREPO, I. "Study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis". *Journal of Polymer Research*, 25(12): 266-274, 2018.

PRASAD, M., LAMBE, U. P., BRAR, B., SHAH, I., J. M., RANJAN, K., RAO, R.; KUMARC, S.; MAHANTD, S.; KHURANAE, S. IQBALF, H., DHAMAG, K., MISRIH, K.; PRASAD, G. "Nanotherapeutics: An insight into healthcare and multi-dimensional applications in medical sector of the modern world". *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **97**, 1521–1537, 2018.

QIAO, M.; YING, G.-G.; SINGER, A. C.; ZHU, Y.-G. "Review of antibiotic resistance in China and its environment". *Environment International*, **110**, 160–172, 2018.

RAMÍREZ-HERRERA, C. A.; FLORES-VELA, A. I.; TORRES-HUERTA, A. M.; DOMÍNGUEZ-CRESPO, M. A.; PALMA-RAMÍREZ, D. "PLA degradation pathway obtained from direct polycondensation of 2-hydroxypropanoic acid using different chain extenders". *Journal of Materials Science*, 53 (15): 10846–10871, 2018.

REN, Z.; DONG, L.; YANG, Y. "Dynamic mechanical and thermal properties of plasticized poly(lactic acid)". *Journal of Applied Polymer Science*, 101 (3): 1583–1590, 2006.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. "A simple equation for description of solute release I: FICKIAN AND NON-FICKIAN RELEASE FROM NON-SWELLIABLE DEVICES IN THE FORM OF SLABS, SPHERES, CYLINDERS OR DISCS" *Journal of Controlled Release*, 5 (23), 1987.

RSC Green Chemistry. "Heterogeneous Catalysis for Today's Challenges: Synthesis, Characterization and Applications". Edited by Brian Trewyn: The Royal Society of Chemistry, **33**, 2015.

RUDNIK, E.; MATUSCHEK, G.; MILANOV, N.; KETTRUP, A. "Thermal properties of starch succinates". *Thermochim. Acta*, 427, 163–166, 2005.

SAEIDLOU, S.; HUNEAULT, M. A.; LI, H.; PARK, C. B. "Poly(lactic acid) crystallization". *Progress in Polymer Science*, 37 (12), 1657–1677, 2012.

SANTANDER-ORTEGA, M.; STAUNER, T.; LORETZ, B.; ORTEGA-VINUESA, J.; BASTOS-GONZÁLEZ, D.; WENZ, G.; SCHAEFER, U.; LEHR, C. "Nanoparticles made from novel starch derivatives for transdermal drug delivery. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. **141**. 85-92, 2010.

SCHLEMMER, D.; SALES, M. J. A.; RESCK, I. S. "Preparação, Caracterização e Degradação de Blendas PS/TPS usando Glicerol e Óleo de Buriti como Plastificantes". *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 20, (1): 6–13, 2010.

SHAO, S., HU, Y., CHENG, J., CHEN, Y. "Research progress on distribution, migration, transformation of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) in aquatic environment". *Crit. Rev. Biotechnol.* **38**, 1195-1208, 2018.

SILL, T. J.; VON RECUM, H. A. "Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering". *Biomaterials*, 29 (13), 1989–2006, 2008.

SONGSURANG, K.; PAKDEEBUMRUNG, J.; PRAPHAIRAKSIT, N.; MUANGSIN, N. "Sustained Release of Amoxicillin from Ethyl Cellulose-Coated Amoxicillin/Chitosan–Cyclodextrin-Based Tablets". *AAPS PharmSciTech*, 12(1): 35–45, 2010.

SUN, Y.; CHENG, S.; LU, W.; WANG, Y.; ZHANG, P.; YAO, Q. "Electrospun fibers and their application in drug controlled release, biological dressings, tissue repair, and enzyme immobilization". *RSC Advances*, 9 (44): 25712–25729, 2019.

SUTJARITTANGTHAM, K.; Jaiturong, P.; Intatha, U.; Pengpat, K.; Eitssayeam, J.; Sirithunyalug, J. "Fabrication of Natural Tapioca Starch Fibers by a Modified Electrospinning Technique". *Chiang Mai J. Sci.* 41 (1): 213- 223, 2014.

SZABÓ, L., TÓTH, T., ENGELHARDT, T., RÁCZ, G., MOHÁCSI-FARKAS, C., TAKÁCS, E., & WOJNÁROVITS, L. "Change in hydrophilicity of penicillins during advanced oxidation by radiolytically generated OH compromises the elimination of selective pressure on bacterial strains". *Science of The Total Environment*, **551**, 393–403, 2016.

TIPDUANGTA, P.; BELTON, P.; FÁBIÁN, L.; WANG, L. Y.; TANG, H., EDDLESTON, M.; QI, S. "Electrospun Polymer Blend Nanofibers for Tunable Drug Delivery: The Role of Transformative Phase Separation on Controlling the Release Rate". *Molecular Pharmaceutics*, 13 (1): 25–39, 2015.

TAYLOR, G. "Electrically driven jets". *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 313 (1515): 453–475, 1969.

TYLER, B.; GULLOTTI, D.; MANGRAVITI, A.; UTSUKI, T.; BREM, H. "Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications". *Advanced Drug Delivery Reviews*, **107**, 163–175, 2016.

TORRES, E.; CORNEJO-BRAVO, J.; SERRANO-MEDINA, A.; PEREZ GONZALEZ, L.; VILLARREAL-GÓMEZ, LUIS. "A Summary of Electrospun Nanofibers as Drug Delivery System: Drugs Loaded and Biopolymers Used as Matrices". *Current Drug Delivery*. **15**, 1360-1374, 2018.

UL-ISLAM, M.; KHAN, T.; PARK, J. K. "Nanoreinforced bacterial cellulose–montmorillonite composites for biomedical applications". *Carbohydrate Polymers*, 89 (4), 1189–1197, 2012.

VALAREZO, E.; STANZIONE, M.; TAMMARO, L.; CARTUCHE, L.; MALAGÓN, O.; VITTORIA, V. "Preparation, Characterization and Antibacterial Activity of Poly(ϵ -caprolactone) Electrospun Fibers Loaded with Amoxicillin for Controlled Release in Biomedical Applications". *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 13(3): 1717–1726, 2013.

WANG, S.; CASTRO, R.; AN, X.; SONG, C.; LUO, Y.; SHEN, M.; SHI, X. "Electrospun laponite-doped poly(lactic-co-glycolic acid) nanofibers for osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells". *Journal of Materials Chemistry*, 22 (44): 23357, 2012.

WANG, X.; CHEN, H.; LUO, Z.; FU, X. "Preparation of starch nanoparticles in water in oil microemulsion system and their drug delivery properties". *Carbohydrate Polymers*, **138**, 192–200, 2016.

WANG, X.; YIN, R.; ZENG, L.; ZHU, M. "A review of graphene-based nanomaterials for removal of antibiotics from aqueous environments". *Environmental Pollution*. *Environmental Pollution*, **253**, 100, 2010, 2019.

WHO report on surveillance of antibiotic consumption: 2016-2018 early implementation. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2018.

XU, S.-C.; QIN, C.-C.; YU, M.; DONG, R.-H.; YAN, X.; ZHAO, H.; LONG, Y.-Z. "A battery-operated portable handheld electrospinning apparatus. *Nanoscale*", 7 (29): 12351–12355, 2015.

XIE, J.; TAN, R.; WANG, C. "Biodegradable microparticles and fiber fabrics for sustained delivery of cisplatin to treat C6 glioma in vitro". *Journal of biomedical materials research*. Part A. 85. 897-908. 2008.

XU, W.; YANG, W. "Electrospun starch acetate nanofibers: development, properties and potential applications in drug delivery". *Biotechnol Prog*, 25 (6), 2009.

ZAHMATKESHAN, M., ADEL, M., BAHRAMI, S., ESMAEILI, F., REZAYAT, S. M., SAEEDI, Y. ASHTARI, K. "Structural Multifunctional Nanofibers and Their Emerging Applications". *Handbook of Nanofibers*, 1–47, 2018.

ZHANG, J.; WILKIE, C.A. "Fire retardancy of polyethylene alumina trihydrate containing clay as a synergist," *Polymers for Advanced Technologies*, 16, (7): 549–553, 2005.

ZHANG, Q.; YING, G.; PAN, C.; LIU, Y.; ZHAO, J. "Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance". *Environ. Sci. Technol.* **49**, 6772-6782, 2015.

ZHANG, S.; CAMPAGNE, C.; SALAÜN, F. "Influence of Solvent Selection in the Electro spraying Process of Polycaprolactone". *Applied Sciences*, 9 (3): 402, 2019.

ZHANG, T.; ZHAO, K.; YU, J.; JIN, J.; QI, Y.; LI, H.; HOU, X.; LIU, G. "Photocatalytic water splitting for hydrogen generation on cubic, orthorhombic, and tetragonal KNbO₃ microcubes". *Nanoscale*, 5 (18): 8375-8383, 2013.

ZHAO, Y. Y.; YANG, Q. B.; LU, X. F.; WANG, C.; WEI, Y. "Study on correlation of morphology of electrospun products of polyacrylamide with ultrahigh molecular weight". *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 43 (16): 2190–2195, 2005.

ZHI, M.; WANG, J.; WANG, Y.; GONG, J.; XIE, C. "Degradation Kinetics and Aqueous Degradation Pathway of Cloxacillin Sodium". *Chemical Engineering & Technology*, 35 (6): 986–990, 2012.

ZHU, S.; CHEN, H.; LI, J. "Sources, distribution and potential risks of pharmaceuticals and personal care products in Qingshan Lake basin, Eastern China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **96**, 154–159, 2013.

ZUO, Y.; GUO, J.; CAO, J.; WEI, S.; TAN, H.; ZHANG, Y. "Effect of Starch/Poly lactic Acid Ratio on the Interdependence of Two-Phase and the Properties of Composites". 30 (5): 1108- 115, 2015.

ANEXOS

PERMISSÃO DE USO DAS ILUSTRAÇÕES APRESENTADAS NESSA TESE

A Tabela 01 apresenta a lista de ilustrações que foram adaptadas de artigos publicados que foram concedidas uso na tese de doutorado desenvolvida por Mayara Coelho Sá.

TABELA 01 – Ilustrações que foram concedidas permissão de uso na tese de doutorado com os seus respectivos autores.

ILUSTRAÇÕES	TÍTULO DAS ILUSTRAÇÕES USADOS NA TESE	AUTORES
FIGURA 1.1	Ilustração esquemática do sistema de eletrofiação	HE et al (2014)
FIGURA 1.2	Representação gráfica de várias estratégias para a preparação de fibras carregadas com fármacos	HE et al (2014)
FIGURA 1.4	a) Imagem da manta de fibras de PLA; b) imagem de microscopia eletrônica de varredura das fibras do PLA	XU et al (2015)
FIGURA 1.5	Estrutura química do amido: a) amilose e b) amilopectina	CHEN et al (2015)
FIGURA 7.1	Representação esquemática da laponita: a) composição atômica; b) estrutura cristalina e b) formato da laponita em disco.	CUMMINS (2007)
FIGURA 1.8	Rotas de Impactos dos fármacos no ambiente	OECD, 2019

ANEXO A – FIGURA 1.1; REFERÊNCIA HE et al (2014)

RightsLink Printable License		RightsLink Printable License	
https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=de36f5dd-ac...		https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=de36f5dd-ac...	
ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS Dec 30, 2021 This Agreement between Federal University of São Carlos/São Paulo -- Mayara Sá ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center. License Number 5218761290163 License date Dec 30, 2021 Licensed Content Publisher Elsevier Licensed Content Publication Journal of Controlled Release Licensed Content Title Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications Licensed Content Author Xiuli Hu, Shi Liu, Guangyuan Zhou, Yubin Huang, Zhigang Xie, Xiabin Jing Licensed Content Date Jul 10, 2014 Licensed Content Volume 185 Licensed Content Issue n/a Licensed Content Pages 10 Start Page 12 End Page 21		Type of Use reuse in a thesis/dissertation Portion figures/tables/illustrations Number of figures/tables /illustrations 2 Format both print and electronic Are you the author of this Elsevier article? No Will you be translating? Yes, without English rights Number of languages 1 Title OBTAINING POLY (LACTIC ACID) FIBERS: CERAMIC FOR CLOXACILLIN PROLONGED RELEASE SYSTEMS Institution name Federal University of São Carlos/ São Paulo/BR Expected presentation date Dec 2021 Portions Figure 1 and Figure 2 Specific Languages Portuguese Requestor Location Federal University of São Carlos/São Paulo Rua 06 nº 18 Residencial Planalto Anil São Luis, Maranhão 65050849 Brazil Attn: Federal University of São Carlos/São Paulo Publisher Tax ID GB 494 6272 12 Total 0.00 USD	

ANEXO B - FIGURA 1.2; REFERÊNCIA HE et al (2014)

Manage Account
https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/manage_account/orders/...

Order Number: 1171257
Order Date: 22 Dec 2021

Payment Information

Mayara Sá
Mayara.sa@ifma.edu.br
Payment method: Invoice

Billing Address:
Ms. Mayara Sá
Federal University of São Carlos/São Paulo
Rua 06 nº 18 Residencial Pí analto Anil
São Luis, Maranhão 65050-849
Brazil
+55 (98)984780732
mayara.sa@ifma.edu.br

Customer Location:
Ms. Mayara Sá
Federal University of São Carlos/São Paulo
Rua 06 nº 18 Residencial Pí analto Anil
São Luis, Maranhão 65050-849
Brazil

Order Details

1. Journal of materials chemistry. B, Materials for biology and medicine

Article: Engineering of biomimetic nanofibrous matrices for drug delivery and tissue engineering.

Order License ID 1171257-1 **Type of use** Republish in a thesis/dissertation
Order detail status Completed **Publisher** Royal Society of Chemistry
ISSN 2050-750X **Portion** Chart/graph/table /figure

0.00 USD
Republication Permission

LICENSED CONTENT

Publication Title	Journal of materials chemistry. B, Materials for biology and medicine	Rightsholder	Royal Society of Chemistry
Article Title	Engineering of biomimetic nanofibrous matrices for drug delivery and tissue engineering.	Publication Type	Journal
Author/Editor	Royal Society of Chemistry (Great Britain)	Start Page	7828
Date	01/01/2012	End Page	7848
Language	English	Issue	45
		Volume	2

Manage Account
https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/manage_account/orders/...

Country
United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland

REQUEST DETAILS

Portion Type	Chart/graph/table /figure	Distribution	Worldwide
Number of charts / graphs / tables / figures requested	1	Translation	Original language plus one translation
Format (select all that apply)	Print	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Academic institution	Minor editing privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 44,999	Currency	USD
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Obtaining Poly (Lactic acid) Fibers: Ceramic for Cloxacillin Prolonged Release Systems	Institution name	Federal University of São Carlos
Instructor name	Elaine Cristina Paris	Expected presentation date	2021-12-22

ADDITIONAL DETAILS

The requesting person / organization to appear on the license: Mayara Coelho Sa

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Figure 6	Title of the article/chapter the portion is from	Engineering of biomimetic nanofibrous matrices for drug delivery and tissue engineering.
Editor of portion(s)	He, Chuanglong; Nie, Wei; Feng, Wei	Author of portion(s)	He, Chuanglong; Nie, Wei; Feng, Wei
Volume of serial or monograph	2	Issue, if republishing an article from a serial	45
Page or page range of portion	7828-7848	Publication date of portion	2014-10-29

Total Items: 1

Subtotal: 0.00 USD
Order Total: 0.00 USD

1 of 2

28/12/2021 16:36/2 of 2

28/12/2021 16:36

1 of 2

ANEXO D - FIGURA 1.5; REFERÊNCIA CHEN et al (2015)

Manage Account		https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/manage_account/orders/...		Manage Account		https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/manage_account/orders/...	
							
Order Number: 1171261 Order Date: 22 Dec 2021							
Payment Information							
Mayara Sá Mayara.sa@ifma.edu.br Payment method: invoice		Billing Address: Ms. Mayara Sá Federal University of São Carlos/São Paulo Rua 06 n° 18 Residencial Pí analto Anil São Luis, Maranhão 65050-849 Brazil +55 (98)984780732 mayara.sa@ifma.edu.br		Customer Location: Ms. Mayara Sá Federal University of São Carlos/São Paulo Rua 06 n° 18 Residencial Pí analto Anil São Luis, Maranhão 65050-849 Brazil			
Order Details							
1. RSC advances							
Article: Recent progress in chemical modification of starch and its applications				Billing Status: Open			
Order License ID	1171261-1	Type of use	Republish in a thesis/dissertation				
Order detail status	Completed	Publisher	RSC Publishing				
ISSN	2046-2069	Portion	Chart/graph/table /figure				
			0.00 USD				
			Republication Permission				
LICENSED CONTENT							
Publication Title	RSC advances	Publication Type	e-Journal				
Article Title	Recent progress in chemical modification of starch and its applications	Start Page	67459				
		End Page	67474				
		Issue	83				
Date	01/01/2011	Volume	5				
Language	English	URL	http://pubs.rsc.org/journals/journalissues/RA				
Country	United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland						
Rightholder	Royal Society of Chemistry						
REQUEST DETAILS							
Portion Type	Chart/graph/table /figure	Distribution	Worldwide				
		Translation	Original language plus one translation				
Number of charts / graphs / tables / figures requested 1							
Format (select all that apply) Print							
Who will republish the content? Publisher, not-for-profit							
Duration of Use Life of current edition							
Lifetime Unit Quantity Up to 4,999							
Rights Requested Main product and any product related to main product							
Copies for the disabled? No							
Minor editing privileges? No							
Incidental promotional use? No							
Currency USD							
NEW WORK DETAILS							
Title	Obtaining Poly (Lactic acid) Fibers: Ceramic For Cloxacillin Prolonged Release systems	Institution name	Federal University of São Carlos				
		Expected presentation date	2021-12-22				
Instructor name	Elaine Cristina Paris						
ADDITIONAL DETAILS							
The requesting person / organization to appear on the license Mayara Coelho Sá							
REUSE CONTENT DETAILS							
Title, description or numeric reference of the portion(s)	Figure 1	Title of the article/chapter the portion is from	Recent progress in chemical modification of starch and its applications				
Editor of portion(s)	Chen, Qing; Yu, Haojie; Wang, Li; ul Abidin, Zain; Chen, Yongsheng; Wang, Junhua; Zhou, Weidong; Yang, Xianpeng; Khan, Rizwan Ullah; Zhang, Hongtao; Chen, Xiao	Author of portion(s)	Chen, Qing; Yu, Haojie; Wang, Li; ul Abidin, Zain; Chen, Yongsheng; Wang, Junhua; Zhou, Weidong; Yang, Xianpeng; Khan, Rizwan Ullah; Zhang, Hongtao; Chen, Xiao				
Volume of serial or monograph	5	Issue, if republishing an article from a serial	83				
Page or page range of portion	67459-67474	Publication date of portion	2015-01-01				
Total Items: 1							
						Subtotal:	0.00 USD
						Order Total:	0.00 USD

ANEXO E - FIGURA 1.6; REFERÊNCIA CUMMINS (2007)

Rightslink® by Copyright Clearance Center
https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet
Rightslink® by Copyright Clearance Center
https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet

? Help
Email Support
Moyara Sá

Liquid, glass, gel: The phases of colloidal Laponite
Author: Herman Z. Cummins
Publication: Journal of Non-Crystalline Solids
Publisher: Elsevier
Date: 1 November 2007
Copyright © 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Order Completed

Thank you for your order.

This Agreement between Moyara C. Sá ("you") and Elsevier ("Elsevier") consists of your order details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License number	Reference confirmation email for license number		
License date	Dec. 18 2021		

Licensed Content		Order Details	
Licensed Content	Elsevier	Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Licensed Content	Journal of Non-Crystalline Solids	Portion	figures/tables/illustrations
Licensed Content	Publication	Number of	figures/tables/illustrations
Licensed Content	Liquid, glass, gel: The phases of colloidal Laponite	Format	both print and electronic
Licensed Content	Author	Are you the author of this Elsevier article?	No
Licensed Content	Date	Will you be translating?	Yes, including English rights
Licensed Content	Volume	Number of languages	1
Licensed Content	Issue		
Licensed Content	Pages		

About Your Work		Additional Data	
Title	OBTAINING POLY (LACTIC ACID) FIBERS: CERAMIC FOR CLOAKING PROLONGED RELEASE SYSTEMS	Portions	Figure 1
Institution name	Federal University of São Carlos/ São Paulo/BR	Specific Languages	Portuguese
Expected presentation date	Dec 2021		

Requestor Location		Tax Details	
	Federal University of São Carlos Rod. Washington Luís km 235 SP-310 - São Carlos	Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Requestor Location	São Carlos, São Paulo 13565-905 Brazil Attn: Federal University of São Carlos/São Paulo		

Billing Information
Price

Billing Type	Invoice	Total	0.00 USD
Billing address	Federal University of São Carlos/São Paulo Rua DE nº 18 Residencial Planalto And São Luis, Brazil 65050849 Attn: Federal University of São Carlos/São Paulo		
		Total:	0.00 USD
CLOSE WINDOW			

© 2021 Copyright - All Rights Reserved | Copyright Clearance Center, Inc. | Privacy statement | Terms and Conditions

Comments? We would like to hear from you. E mail us at customerservice@copyright.com

1 of 2
18/12/2021 19:16
2 of 2
18/12/2021 19:16

ANEXO F - FIGURA 1.8; REFERÊNCIA OECD, 2019

Manage Account
https://marketplace.copyright.com/ts-ai-web/manage_account/orders/

Order Number: 1172601
Order Date: 28 Dec 2021

Payment Information

Mayara Sá Mayara.sa@ifma.edu.br Payment method: Invoice	Billing Address: Ms. Mayara Sá Federal University of São Carlos/São Paulo Rua 06 nº 18 Residencial Pí analto Anil São Luis, Maranhão 65050 849 Brazil +55 (98)984780732 mayara.sa@ifma.edu.br	Customer Location: Ms. Mayara Sá Federal University of São Carlos/São Paulo Rua 06 nº 18 Residencial Pí analto Anil São Luis, Maranhão 65050 849 Brazil
---	---	---

Order Details

1. OECD Studies on Water Pharmaceutical Residues in Freshwater Hazards and Policy Responses

Order License ID	1172601-1	Type of use	Republish in a thesis/dissertation	Billing Status:	Open
Order detail status	Completed	Publisher	Éditions OCDE, OECD Publishing		
ISBN-13	9789264977419	Portion	Chart/graph/table /figure		
				0.00 USD	Republishing Permission

LICENSED CONTENT

Publication Title	OECD Studies on Water Pharmaceutical Residues in Freshwater Hazards and Policy Responses	Country	France
Date	11/13/2019	Rightsholder	OECD
Language	English	Publication Type	e-Book

REQUEST DETAILS

Portion Type	Chart/graph/table /figure	Distribution	Worldwide
Number of charts / graphs / tables / figures requested	1	Translation	Original language plus one translation
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Academic institution	Minor editing privileges?	No

Manage Account
https://marketplace.copyright.com/ts-ai-web/manage_account/orders/

Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 4,999	Currency	USD
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	OBTAINING POLY (LACTIC ACID) FIBERS: CERAMIC FOR CLOXACILLIN PROLONGED RELEASE SYSTEMS	Institution name	Federal University of São Carlos/SP
		Expected presentation date	2021-12-28
Instructor name	Dra. Elaine Cristina Paris		

ADDITIONAL DETAILS

The requesting person / organization to appear on the license: Mayara Coelho Sá

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Figure 1	Title of the article/chapter the portion is from	Sources and trends of pharmaceuticals in the environment
Editor of portion(s)	OECD (2019). Pharmaceutical Residues in Freshwater: Hazards and Policy Responses	Author of portion(s)	OECD (2019). Pharmaceutical Residues in Freshwater: Hazards and Policy Responses
Volume of serial or monograph	OECD Studies on Water, OECD Publishing, Paris	Publication date of portion	2019-11-13
Page or page range of portion	Page 4		

OECD Terms and Conditions

Special Publisher terms apply: any dispute, controversy or claim arising out of or relating to the interpretation or implementation of this licence, including its existence, validity or termination, which cannot be settled by mutual agreement, shall be settled by final and binding arbitration in accordance with the Permanent Court of Arbitration Optional Rules for Arbitrations Involving International Organizations and Private Parties, as in effect on the date of this licence. The number of arbitrators shall be one. The language to be used in the arbitral proceedings shall be English. The appointing authority shall be the Secretary-General of the Permanent Court of Arbitration. The place of arbitration shall be Paris, France. This translation was not created by the OECD and should not be considered an official OECD translation. The OECD shall not be liable for any content or error in this translation.

Total Items: 1	Subtotal: 0.00 USD
	Order Total: 0.00 USD

1 of 2
28/12/2021 16:39
2 of 2
28/12/2021 16:39