

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA POLITÉCNICA

RAFAEL KENJI NISHIMURA

**ESTUDO DA INCORPORAÇÃO E LIBERAÇÃO DE ISONIAZIDA EM  
ARGILA SINTÉTICA**

São Paulo  
2022

RAFAEL KENJI NISHIMURA

**ESTUDO DA INCORPORAÇÃO E LIBERAÇÃO DE ISONIAZIDA EM  
ARGILA SINTÉTICA**

*Francisco R. Valenzuela Díaz*

Trabalho de formatura apresentado à  
Escola Politécnica da Universidade de São  
Paulo

Departamento de Engenharia Metalúrgica  
e de Materiais

Orientador: Francisco Rolando  
Valenzuela-Díaz

Coorientador: Thamyres Cardoso de  
Carvalho

São Paulo  
2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Versão final revisada pelo orientador

*Francisco R. Valenzuela Díaz*

Francisco Rolando Valenzuela-Díaz

#### Catálogo-na-publicação

Nishimura, Rafael

Estudo da incorporação e liberação de isoniazida em argila sintética / R. Nishimura – São Paulo, 2022  
47p.

Trabalho de Formatura – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Material.

1.Sistema de liberação controlada 2.Isoniazida I.Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais II.t.

## RESUMO

Com o crescimento de casos de tuberculose resistente à fármacos devido a problemas de adesão ao tratamento com regime intensivo de medicamentos, o estudo de sistemas de liberação controlada vem crescendo como um método alternativo de melhorar ao tratamento e sua adesão, além de prevenir reações adversas do alto consumo dos medicamentos indicados quando comparado ao sistema convencional. Um dos materiais utilizados em processos de sistemas de liberação controlada e considerado como tendo potencial aplicação são os argilominerais que se apresentam como uma boa alternativa por sua biocompatibilidade, disponibilidade, preço acessível e suas propriedades únicas. Entretanto, as argilas naturais apresentam inconveniências tais como, a existência de impurezas, limitando o seu uso em aplicações específicas e às vezes é necessário usar argilominerais modificados ou sintéticos. Com isso, nesse trabalho a estevensita sintética é estudada como uma alternativa em sistema de liberação controlada da isoniazida (INH), um dos medicamentos primários no tratamento da tuberculose. Para isso foram produzidas amostras distintas de híbridos de argila/INH através do método em pasta, sendo metade destas amostras adicionadas sal quartenário para a organofilização da argila. A partir das análises de caracterização dos híbridos, por difração de raio X, espectroscopia em infravermelho, análise termogravimétrica e microscopia eletrônica de varredura, foi possível identificar uma possível ocorrência da intercalação do fármaco na argila. Por meio dos estudos exploratórios de liberação, foi observado uma liberação reduzida e controlada de INH em amostras organofilizadas, indicando a possibilidade do desenvolvimento de compostos de argila sintética estevensita como sistemas de liberação controlada para isoniazida no tratamento de tuberculose.

**Palavras chaves:** Sistema de liberação controlada, isoniazida, argila estevensita sintética, liberação, caracterização

## ABSTRACT

With the growth of cases of drug-resistant tuberculosis due to problems with adherence to treatment with an intensive drug regimen, the study of drug delivery system has been growing as an alternative method to improve treatment and adherence, in addition to preventing adverse reactions from high consumption of the drugs indicated when compared to the conventional system. One of the materials used in processes of drug delivery system and considered as having potential application are the clay minerals that present themselves as a viable alternative due to their biocompatibility, availability, affordable price, and their unique properties. However, natural clays have drawbacks such as the existence of impurities, limiting their use in specific applications and sometimes it is necessary to use modified or synthetic clay minerals. Thus, in this work, synthetic stevensite was study as an alternative in a drug delivery system for isoniazid (INH), one of the primary drugs in the treatment of tuberculosis. For this purpose, different samples of clay/INH hybrids were produce using the paste method, with half of these samples added with quartenary salt for organophilization of the clay. From the characterization analyzis of the hybrids, by X-ray diffraction, infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis and scanning electron microscopy, it was possible to identify an occurrence of intercalation of the drug in the clay. Through exploratory release studies, a reduced and controlled release of Inh on organophilized samples was observed, indicating the possibility of developing synthetic stevensite clay compounds as drug delivery systems for isoniazid in the treatment of tuberculosis.

**Keywords:** Drug delivery system, isoniazid, synthetic stevensite clay, release, characterization

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Tendências globais no número estimado de mortes causadas por TB e HIV, 2000-2020 (WHO, 2021 – adaptado) .....	11
Figura 2 - Coeficiente de incidência de tuberculose geral (por 100 mil hab) 2011-2020. (Ministério da Saúde, 2021) .....	12
Figura 3 - Situação de encerramento do tratamento dos casos novos de tuberculose pulmonar confirmado por critério laboratorial, sensível e multidrogarresistente/resistente à rifampicina. Brasil, 2019 e 2018 (Ministério da Saúde, 2021).....	14
Figura 4 - Estrutura química da isoniazida (ACQUISTO, 2014) .....	15
Figura 5 - Representação esquemática da correlação entre os perfis de liberação de medicamento e concentração plasmática. (GARCÍA-VILLÉN, 2018 – adaptado).....	16
Figura 6 - Modelos de estruturas de camada 1:1 e 2:1. Ox <sub>b</sub> são átomos de oxigênio basal; T, cátions tetraédricos; O, oxigênios octaédricos; Ox <sub>a</sub> , átomos de oxigênio apical; Ox <sub>o</sub> , ânions octaédricos (OH, F, Cl) (SADOWSKI, 2010) (BRIGATTI; GALÁN; THENG, 2013 - adaptado) .....	18
Figura 7 - Padrões de DRX do composto INH/HLNT e dos seus componentes puros (CARAZO, E., 2017 - adaptado).....	20
Figura 8 - Microfotografias de HREM, análise EDS e mapas de raio X elemental de HLNT (esquerda) e INH/HLNT (direita) (CARAZO, E., 2017).....	21
Figura 9 - Espectro FTIR de INH/HLNT e seus componentes (INH e HLNT) (CARAZO, E., 2017).....	22
Figura 10 - Curvas DSC e TGA do composto INH/HLNT e dos seus componentes puros (INH e HLNT) (CARAZO, E., 2017 - adaptado).....	23
Figura 11 - Espectro FTIR de INH/PAL e seus componentes (INH e PAL) (CARAZO et al., 2018a) .....	24
Figura 12 – Curva DSC do composto INH/MMT e dos seus componentes puros (INH e MMT) (CARAZO et al., 2018a) .....	25
Figura 13 - Curva TGA do composto INH/MMT e dos seus componentes puros (INH e MMT) (CARAZO et al., 2018a) .....	25
Figura 14 - Padrões de DRX do composto INH/HLNT e dos seus componentes puros (CARAZO et al., 2018a) .....	26

Figura 15 – Microfotografias de HREM e análise de MMT (acima) e INH/MMT (abaixo) (CARAZO et al., 2018a) .....	27
Figura 16 - Microfotografias de HREM, análise EDS e mapas de raio X elemental de HLNT (esquerda) e INH/HLNT (direita) (CARAZO et al., 2018a) .....	27
Figura 17 - Curva de DRX da amostra EAC com 0,27 g de INH (preto), e curvas padrões da argila EAC (vermelho), e da droga INH (azul). .....	31
Figura 18 - Curva de DRX da amostra EAC com 0,55 g de INH (preto), e curvas padrões da argila EAC (vermelho), e da droga INH (azul). .....	32
Figura 19 - Curva de DRX da amostra EAC com 0,27 g de INH e sal quaternário ORG (preto) e as curvas padrão da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul). .....	33
Figura 20 - Curva de DRX da amostra EAC com 0,55 g de INH e sal quaternário ORG (preto) e as curvas padrão da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul). .....	34
Figura 21 – Curva de análise FTIR da amostra EAC com 0,27 g (preto) e curvas padrões da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul). .....	35
Figura 22 - Curva de análise FTIR da amostra EAC com 0,27 g e sal quaternário ORG (preto) e curvas padrões da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul). .....	36
Figura 23 - Curva de análise FTIR da amostra EAC com 0,55 g (preto) e curvas padrões da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul). .....	37
Figura 24 - Curva de análise FTIR da amostra EAC com 0,55 g e sal quaternário ORG (preto) e curvas padrões da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul). .....	38
Figura 25 – Curvas de DTG (vermelho) e TGA (preto) do INH. ....	39
Figura 26 – Curvas de DTG (vermelho) e TGA (preto) da argila EAC. ....	40
Figura 27 - Curvas de DTG (vermelho) e TGA (preto) da amostra EAC 0,27 .....	41
Figura 28 – Curvas de DTG (vermelho) e TGA (preto) da amostra EAC 0,55 .....	42
Figura 29 – Micrografia obtida em MEV da argila EAC pura. ....	43
Figura 30 – Micrografia obtida em MEV da amostra EAC com 0,27 g de INH. ....	43
Figura 31 – Micrografia obtida em MEV da amostra EAC com 0,55g de INH. ....	44
Figura 32 – Curvas de massa de isoniazida liberada para as amostras EAC 0,27 (laranja), EAC 0,27 ORG (vermelho), EAC 0,55 (azul escuro) e EAC 0,55 ORG (azul claro). ....	45

## LISTA DE SIGLAS

DDS	<i>Drug Delivery System</i>
DRX	Difração de raio X
DSC	Varredura diferencial de calorimetria
DTG	Análise termogravimétrica diferencial
EAC	Argila sintética estevensita
EDS	Espectroscopia de raio X
FTIR	Espectroscopia de infravermelho
HLNT	Haloisita
HREM	Microscopia episcópica de alta resolução
INH	Isoniazida
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MMT	Montmorillonita
OMS	Organização mundial de saúde
PM	<i>Physical Mixture</i>
TB	Tuberculose
TBDR	Tuberculose drogarresistente
TBMR	Tuberculose multidrogarresistente
TGA	Análise Termogravimétrica



## SUMÁRIO

1. Introdução	9
2. Objetivo	9
2.1. Objetivo geral	9
2.2. Objetivo específico	10
3. Revisão bibliográfica	10
3.1. Tuberculose	10
3.2. Isoniazida	14
3.3. Sistemas de liberação controlada	15
3.4. Argilominerais	17
3.5. Intercalação de isoniazida em argilominerais	19
4. Materiais e métodos	28
4.1. Materiais	28
4.2. Métodos	28
4.2.1. Preparação dos nanocompostos de INH/EAC	28
4.2.3. Ensaio exploratório de liberação de INH	30
5. Resultados e discussão	30
5.1. Ensaio no estado sólido para confirmação de intercalação	30
5.2. Ensaio exploratório de liberação de isoniazida	44
6. Conclusão	46
7. Referências Bibliográficas	48

## **1. Introdução**

A tuberculose (TB) é uma das principais doenças transmissíveis causadoras de morte no mundo. É uma doença causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis* espalhado por pessoas contaminadas por meio do ar, afetando principalmente os pulmões. Cerca de um quarto da população mundial foi infectada pela *M. tuberculosis* de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS).

A TB é uma doença que possui tratamento em torno de 85% das pessoas que desenvolvem a enfermidade podem ser tratadas com sucesso em um regime de medicamentos em um período de no mínimo de 6 meses, e é realizado por uma grande dosagem de medicamentos, como a rifampicina, a isoniazida, a pirazinamida e o etambutol (RABAH et al., 2017). Dentre os medicamentos utilizados no tratamento da tuberculose, a isoniazida (INH) é um forte e importante agente antimicrobiano que inibe o crescimento da parede celular dos bacilos de tuberculose. Entretanto, efeitos adversos, como neuropatia periférica e hepatite (“Isoniazid”, 2006), vêm sendo observados pela alta concentração do medicamento no corpo, devido à grande dosagem de INH, o que também afeta a continuidade do tratamento pelo paciente, que limita a ingestão do fármaco, provocando o surgimento e crescimento contínuo de uma epidemia de tuberculose drogarresistente (TBDR) que está se tornando um grande problema de saúde pública (SULTANA et al., 2022).

Com isso, é cada vez maior o interesse no estudo de novas tecnologia a fim de obter e desenvolver formas mais eficientes do tratamento da TB (CAVALCANTI et al., 2009), para que ocorra a melhorar da adesão ao tratamento e combater a ocorrência de TBDR, assim como reduzir efeitos colaterais. Assim, uso de sistemas de liberação controlada se apresenta como uma alternativa promissora para melhorar a biodisponibilidade do medicamento no organismo e realizar um tratamento mais eficaz altamente desejado.

## **2. Objetivo**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar a incorporação do fármaco isoniazida em argilas sintéticas estevensitas e realizar ensaios exploratórios visando determinar seu potencial no uso na liberação controlada de isoniazida.

## **2.2. Objetivo específico**

- Avaliar a obtenção de híbridos de argila sintética e isoniazida;
- Caracterizar os híbridos por difração de raios X (DRX), fluorescência de infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e o comportamento térmico, por meio da análise termogravimétrica (TGA) e termogravimétrica diferencial (DTG); efetuar ensaios exploratórios visando avaliar o potencial de uso das argilas obtidas na obtenção de compostos de argila/INH por meio da espectroscopia em UV.

## **3. Revisão bibliográfica**

### **3.1. Tuberculose**

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa, que apesar de curável acarreta grandes problemas à saúde pública sendo uma das principais causas de morte no mundo todo. De acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde), a TB era a principal causa de morte por um único agente infeccioso até a pandemia de coronavírus em 2019, em que o vírus SARS-CoV-2 agora lidera em número de mortes.

Mundialmente, estima-se 10 milhões de casos incidentes de TB em 2019, deste sendo estimado 1,2 milhões de mortes em pessoas e adicionalmente 208.000 mortes em pessoas portadoras de HIV. Em 2020, durante a pandemia foi observada uma queda substancial de caso, que reflete a perturbação de oferta e demanda de serviços de diagnóstico e tratamento de TB, como por exemplo a redução da capacidade do sistema de saúde para continuar a prestar serviço, menor disposição e capacidade para buscar atendimento em contexto de *lockdown* e preocupação sobre o risco de ir em estabelecimento de saúde durante a pandemia. Consequentemente, em 2020 foi observado um aumento de mortes causadas por TB em pessoas sem HIV, subindo para 1,3 milhões de mortes, como visto na Figura 1 (WHO, 2021). Outra grande preocupação é o crescimento na quantidade de bactérias resistentes à medicação, nomeado de tuberculose drogarresistente (TBDR), sendo estimados 600 mil casos mundiais em 2016.

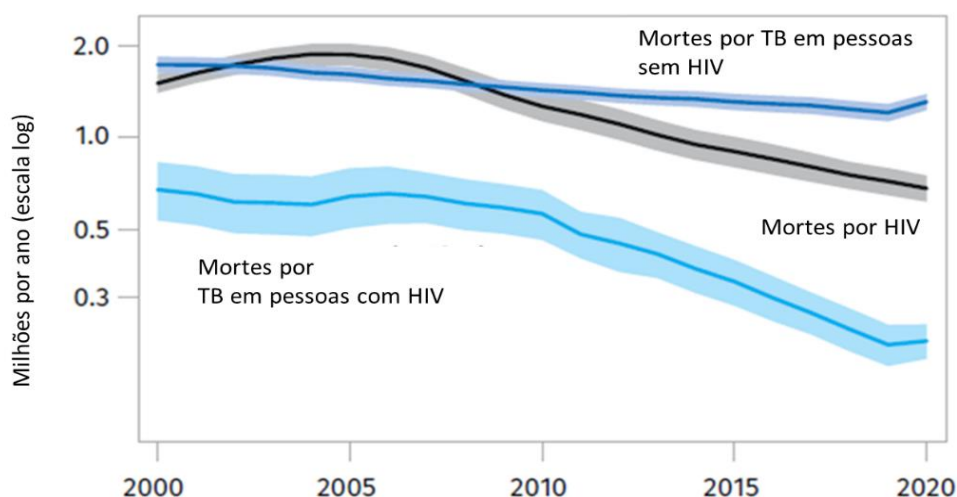


Figura 1 - Tendências globais no número estimado de mortes causadas por TB e HIV, 2000-2020 (WHO, 2021 – adaptado)

No Brasil, de acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde, em 2020 registrou-se 66.819 casos novos de TB, com um coeficiente de incidência de 31,6 casos por 100 mil habitantes. Em 2019 foram notificados cerca de 4,5 mil óbitos pela doença. Como visto na Figura 1, entre 2011 e 2016 foi observada uma tendência de queda do coeficiente de incidência, porém entre os anos 2017 e 2019 ocorreu um aumento do coeficiente. Todavia, em 2020, observou-se uma queda acentuada de incidência em momento de pandemia pela covid-19. Tal queda pode ser reflexo do impacto da pandemia nos aspectos operacionais, como sobrecarga do sistema de saúde, tendo impacto nos dados coletados. Em relação à casos de TBDR foi diagnosticado 7749 casos entre 2015 e 2020.

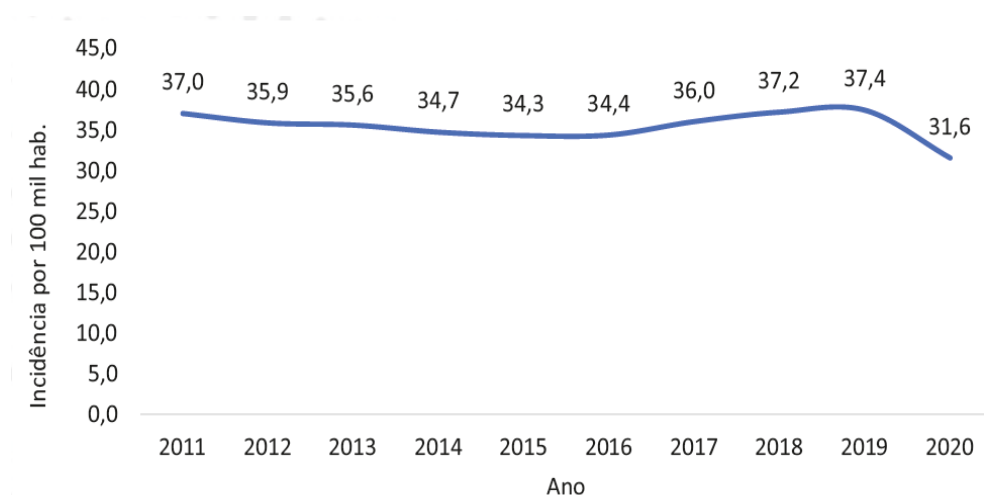


Figura 2 - Coeficiente de incidência de tuberculose geral (por 100 mil hab) 2011-2020. (Ministério da Saúde, 2021)

A tuberculose é causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* ou Bacilo de Koch (BK), sendo transmitido diretamente, de pessoa a pessoa, principalmente pelo ar, sendo emitido através da fala, espirro ou tosse. A infecção da TB pode se diferenciar em infecção primária e secundária. A infecção primária ocorre quando o sistema imunológico inibe a proliferação das bactérias, que assim permanecem inativas no corpo. No caso de baixa imunidade as bactérias não são eficientemente controladas e podem causar destruição do tecido pulmonar, disseminação da bactéria para outras partes do corpo e à morte. A infecção secundária ocorre com a reativação das bactérias ou reinfeção proveniente de fontes exógenas, causadas por uma redução da efetividade do sistema imunológico, podendo acarretar infecções crônicas que resultam na destruição pulmonar (Nogueira, 2012).

O tratamento da TB tem como objetivo a cura e a rápida redução da transmissão da doença, sendo realizada a medicação com uso de fármacos capazes de reduzir rapidamente a população bacilar (interrompendo a transmissão), prevenir a seleção e cepas naturalmente resistentes (impedindo o surgimento de resistência durante a terapia) e esterilizar a lesão (prevenindo a recidiva de doença).

Este tratamento possui uma eficácia de 95%, porém sua efetividade chega em torno de 70% no Brasil. Esta baixa efetividade é associada à falta de adesão do paciente ao tratamento, podendo ocorrer pelo abandono do tratamento, uso errado dos medicamentos ou uso irregular dos medicamentos. Tais motivos são provocados pela grande quantidade de medicamentos administrados e alta variedade de efeitos colaterais possíveis de cada medicamento. Os problemas de adesão são

responsáveis pela falência terapêutica, o reaparecimento da doença e o surgimento de resistência ao medicamento, que ocorre pelo uso indevido dos medicamentos, causando a seletividade de bactérias resistentes (Rabahi, 2017).

O caso de tuberculose resistente pode ser classificado de acordo com sua resistência aos medicamentos de primeira e segunda linha. Algumas definições sobre os termos utilizados sobre casos de tuberculose resistente (Rabahi, 2017):

- Tuberculose monoresistente: caso de tuberculose causado por um bacilo com resistência a um fármaco de primeira linha;
- Tuberculose polirresistente: caso de tuberculose causado por um bacilo com resistência a mais de um fármaco de primeira linha (exceto rifampicina e isoniazida);
- Tuberculose multidrogarresistente (TBMR): caso de tuberculose causado por um bacilo resistente à rifampicina e isoniazida;
- Tuberculose extensivamente resistente: caso de tuberculose causado por um bacilo resistente à rifampicina, isoniazida, fluoroquinolona e pelo menos um dos fármacos de segunda linha;
- Tuberculose resistente à rifampicina: resistência à rifampicina identificada por meio de teste rápido molecular para tuberculose.

O tratamento de tuberculose em adultos sem suspeita clínica de resistência é realizado com uma combinação de medicamentos: a rifampicina, a isoniazida, a pirazinamida e o etambutol (RHZE), chamado de tratamento de primeira linha. Atualmente no Brasil, o tratamento consiste em uma fase intensiva de 2 meses com o uso destes medicamentos, seguidos de uma fase de manutenção de 4 meses, sendo administrado somente isoniazida e rifampicina (RH), sendo em ambas as fases utilizados a dose fixa combinada (DFC) que são administrados em média 4 comprimidos por dia. Em caso de resistência, o tratamento dependerá do tipo de resistência.

De acordo com o Ministério da Saúde (2021), no desfecho do tratamento da TB em 2019, 70,1% dos casos novos de TB pulmonar resultaram em cura, como demonstrado na figura 3. No caso de TB multidrogarresistente e de resistência à rifampicina, identificados no gráfico por MDR e RR respectivamente, houve uma ocorrência de 51,1% de cura. Em relação ao abandono do tratamento, 12% dos casos novos de TB pulmonar confirmados abandonaram o tratamento, proporção mais de

duas vezes superior ao recomendado pela OMS (5,0%). Os maiores percentuais observados nas capitais foram em Porto Alegre (34,0%), Porto Velho (32,6%), Campo Grande (21,4) e Aracaju (20,1%).

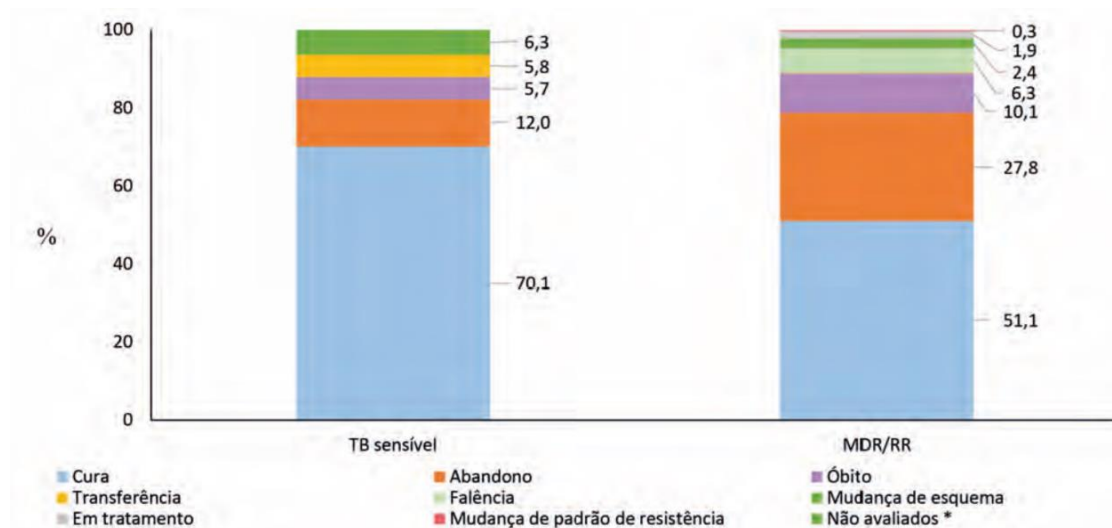
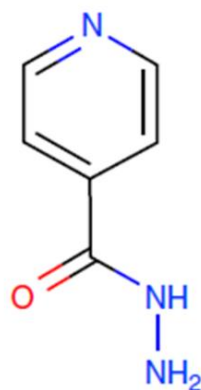


Figura 3 - Situação de encerramento do tratamento dos casos novos de tuberculose pulmonar confirmada por critério laboratorial, sensível e multidroga resistente/resistente à rifampicina. Brasil, 2019 e 2018 (Ministério da Saúde, 2021)

### 3.2. Isoniazida

Dos medicamentos utilizados no tratamento da tuberculose, a isoniazida é um potente agente antimicrobiano. Seu uso se deve ao mecanismo de ação, que inibe a síntese de DNA e lipídios das bactérias da tuberculose e resulta no bloqueio da síntese e do desenvolvimento da parede celular. A isoniazida, cujo nome IUPAC é piridina-4-carbohidrazide, possui estrutura química apresentada na Figura 4. Em relação à sua farmacocinética, quando ingerido a INH é absorvida pelo trato gastrointestinal e transportada pelo sistema porta hepático para o fígado e direcionado para o sistema sanguíneo. No fígado o medicamento pode sofrer metabolismo de primeira passagem ou ser transformada ou inativada, diminuindo sua concentração na circulação sistêmica (ERWIN, 2019).



Isoniazida

Figura 4 - Estrutura química da isoniazida (ACQUISTO, 2014)

Apesar do amplo uso, a isoniazida é tóxica. As reações adversas mais comuns são irritação na pele, febre, icterícia e neuropatia periférica, podendo também ocorrer convulsões. Dentre os efeitos colaterais, problemas associados ao fígado são os mais comumente observados, associados à farmacocinética da INH, mas já se encontraram casos de problemas no sistema nervoso, psicológicos, psiquiátricos, metabólicos, hematológicos e pancreáticos associados alta dosagem de INH (ACQUISTO, 2014; “Isoniazid”, 2006). Para tentar minimizar as desvantagens causadas pela administração desse medicamento, estudos vêm sendo realizados baseados em sistemas de liberação controlada (CARAZO et al., 2017; SIMON et al., 2019; SOUZA et al., 2021).

### 3.3. Sistemas de liberação controlada

Sistemas de liberação controlada (DDS, do inglês: *Drug Delivery Systems*) são projetadas para melhorar a biodisponibilidade dos fármacos carregados e para minimizar efeitos colaterais pelo controle da taxa, tempo e localização de liberação, em comparação com as formas convencionais de dosagem. O uso de DDS permite uma liberação que mantenha a concentração por períodos longos, sendo chamados de sistemas de liberação de ordem zero. Foi observado que métodos de administração de medicamentos tradicionais, como via oral em doses fixas, podem resultar em overdose e subdosagem, como apresentado pelas linhas pontilhadas na Figura 5, que pode causar efeitos colaterais ou nenhum efeito, respectivamente. A liberação imediata em dose única, a concentração necessária pode ser prolongada com maiores dosagens de medicamento, porém isto pode causar doses acima do



considerado tóxico, podendo ocasionar efeitos colaterais. Uma dosagem cíclica em intervalos periódicos é necessária para que seja mantido uma concentração plasmática para a efetividade do medicamento, porém isto pode afetar a adesão do paciente ao tratamento pela grande quantidade de medicamentos ingeridos. Assim, o uso de DDS permite uma administração de medicação em uma frequência menor, podendo diminuir a quantidade de comprimidos ingeridos por dia, melhorando a continuação do paciente no tratamento. As linhas preenchidas da Figura 5 demonstram como o uso de DDS permite uma liberação do fármaco de forma contínua, resultando em com concentração efetiva prolongada (GARCÍA-VILLÉN, 2018; HOFFMAN, 2013).

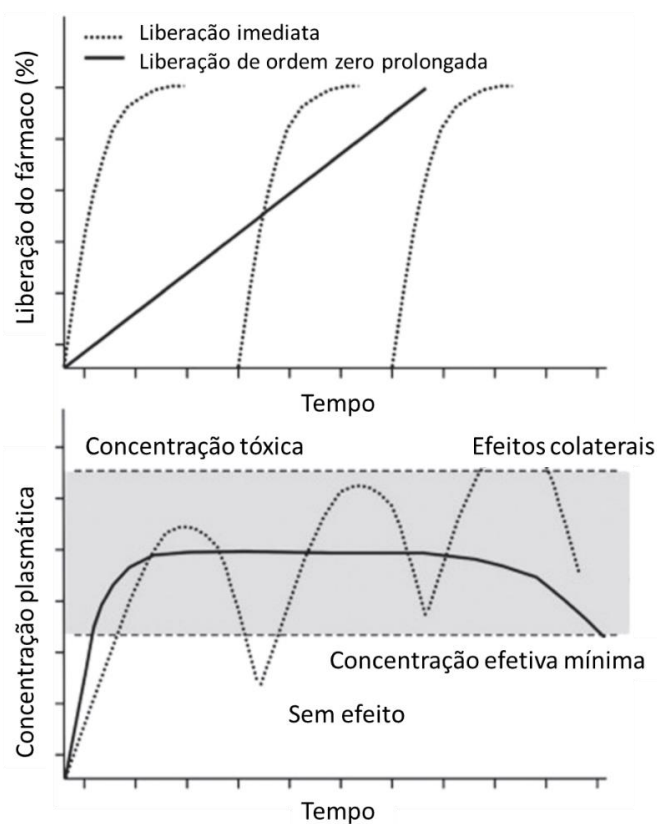


Figura 5 - Representação esquemática da correlação entre os perfis de liberação de medicamento e concentração plasmática. (GARCÍA-VILLÉN, 2018 – adaptado)

O uso de sistemas de liberação controlada é estudado para administrar isoniazida com o objetivo de melhorar a eficácia do medicamento, evitar efeitos colaterais e permitir menor ingestão de comprimidos, melhorando a adesão dos pacientes ao tratamento de tuberculose e assim diminuindo as chances de resistência ao medicamento (SHARMA, 2016). Dentre as opções encontradas para sistemas de liberação controlada em isoniazida, foram estudadas até o momento são compósitos poliméricos, cuja utilização se apresenta favorável, porém por preços elevados,

difficuldade de processamento e baixa informação sobre a metabolização do material no corpo. Neste quesito, argilominerais se apresentam como 3timas opções como recipientes em sistemas de liberação controlada (GARCÍA-VILLÉN, 2018).

### **3.4. Argilominerais**

O estudo do uso de argilas como ve3culos para sistemas de liberação controlada ocorre devido à boa interação com mol3culas de diferentes fármacos, ser inerte, capacidade de inchamento, baixa toxicidade e por ser um material com grande disponibilidade. Em alguns casos as propriedades devem ser aprimoradas, como área superficial específica, cátions trocáveis, natureza hidrofílica, potencial zeta, espaço interlamelar, ou porosidade (GARCÍA-VILLÉN, 2018).

Argilominerais pertencem à família dos filossilicatos, possuindo folhas tetraédricas bidimensionais contínuas com tetraedros ligados por três vértices comuns e com quatro vértice apontado para qualquer direção. As folhas tetraédricas estão ligadas, na unidade estrutural, a folha octaédrica. Dentre os argilominerais mais estudados para DDS estão as esmectitas e os caulins, apresentam estruturas de camada 2:1 e 1:1 respectivamente, demonstrada na figura 6.

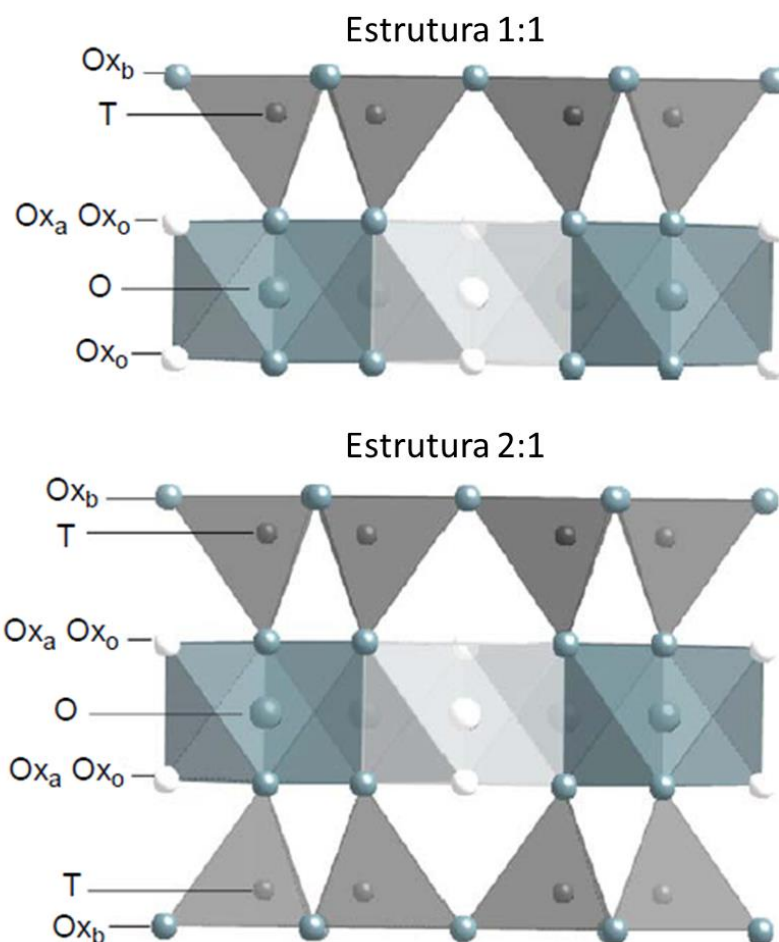


Figura 6 - Modelos de estruturas de camada 1:1 e 2:1.  $Ox_b$  são átomos de oxigênio basal; T, cátions tetraédricos; O, oxigênios octaédricos;  $Ox_a$ , átomos de oxigênio apical;  $Ox_o$ , ânions octaédricos (OH, F, Cl) (SADOWSKI, 2010) (BRIGATTI; GALÁN; THENG, 2013 - adaptado)

As esmectitas são um grupo de argilominerais que incluem a montmorillonita (MMT), que é o principal argilomineral estudado para aplicações farmacêuticas. Entre os caulins, a caulinita é o argilomineral mais comum, porém as haloisitas (HLNT) também vem sendo estudadas. Tanto a MMT e a caulinita possuem uma estrutura lamelar, enquanto a haloisita pode apresentar diferentes morfologias, como tubos, fibras, esferas, placas etc. (GARCÍA-VILLÉN, 2018).

Apesar das argilas esmectitas naturais serem muito comuns na natureza e de possuírem baixo custo, existe um interesse nas esmectitas sintéticas, pois a ocorrência de esmectitas em depósitos naturais podem apresentar diversos inconvenientes como a presença de impurezas, que traz ao material uma qualidade duvidosa e baixa quantidade em forma natural, limitando seu potencial em determinadas aplicações industriais, como a indústria farmacêutica. Assim, surge como opção de argilominerais para aplicação em DDS a estevensita, uma esmectita

sintética, que apresenta um processo de produção promissor e favorável em termos econômicos em escala industrial, por se tratar de um método simples e de fácil preparação e permite um argilomineral de alta pureza e cristalinidade (HILDEBRANDO, 2014).

A estevensita é classificada no subgrupo das esmectitas trioctaédricas, representada pela fórmula  $NX;YZ+[M6-x2+\Delta x][Si8]O_{20}(OH)_4 \cdot nH_2O$ , sendo M o cátion divalente ( $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ , entre outros) localizado na folha octaédrica, N o cátion localizado no espaço interplanar das camadas 2:1, com espaçamento basal aproximado de 13 a 15 Å, n o número de moléculas de água que separam as camadas e  $\Delta x$  são as vacâncias localizadas nas camadas. Ele se encontra limitado em aplicações, sendo utilizado em catálise heterogênea em reações de hidrodesulfurização, mas se apresenta em estudos de utilização em nanocargas para obtenção de nanocompósitos e na indústria farmacêutica (THOMAS; BAKER; ZELAZNY, 2000; PRIHOD'KO, 2002; ROELOFS; BERBEN, 2006).

### **3.5. Intercalação de isoniazida em argilominerais**

O estudo de DDS para isoniazida se mostra uma boa estratégia para reduzir a frequência de administração do medicamento, aumenta a adesão ao tratamento e assim reduz a incidência de TBDR. Uma grande variedade de sistemas nanoparticulados tem sido proposto para DDS. O uso de argilominerais se apresenta como uma opção barata e biocompatível. Os argilominerais já estudados até o momento foram nanotubos de haloisita (CARAZO, 2017) e MMT (CARAZO, Esperanza, 2018; SUGUNALAKSHMI, 2014).

No estudo realizado sobre a intercalação de isoniazida em nanotubos de haloisita (CARAZO, E., 2017) foi investigado a ocorrência da intercalação do fármaco ao argilomineral. O composto obtido foi submetido a ensaios de caracterização de estado sólido, sendo realizados difração de raio X (DRX), microscopia eletrônica de alta resolução (HREM) em conjunto de espectroscopia de raio X (EDS), espectroscopia de infravermelho (FTIR) e análises térmicas, como calorimetria diferencial de varredura (DSC) e termogravimetria (TGA).

Nos resultados de ensaios de caracterização no estado sólido foi possível confirmar a intercalação de INH em HLNT. Resultados de DRX, indicados pela figura 7, demonstraram no sistema híbrido um padrão similar ao HLNT desidratado, como os

picos em 12,25° e 24,55° 2θ, porém com reflexões coerentes com a presença de cristalitos de INH sobre a monocamada adsorvida, sendo seus principais picos em 10°, 14°, 16° e 20° 2θ. Picos menos intensos no composto relativos à argila correspondem a presença de cristais de INH sobre a monocamada adsorvida.

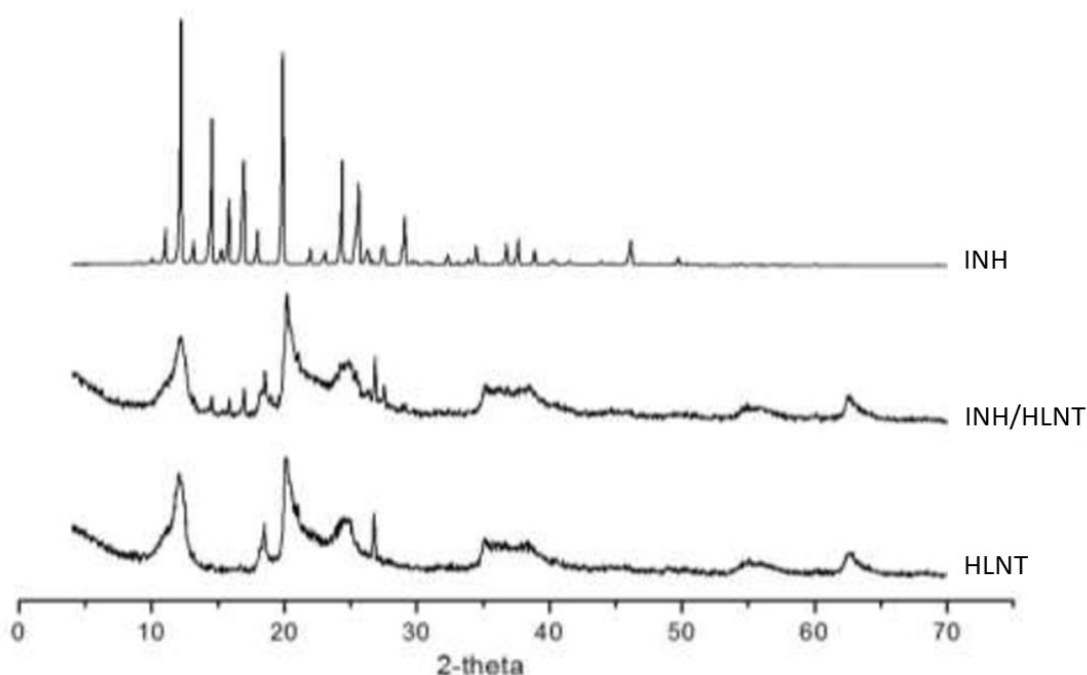


Figura 7 - Padrões de DRX do composto INH/HLNT e dos seus componentes puros (CARAZO, E., 2017 - adaptado)

Os resultados de HREM e EDS são representados na figura 8. As imagens de HREM demonstram as estruturas tubulares do HLNT nativo (Figura 8A1) e do composto híbrido (Figura 8B1). Os resultados de EDS demonstram picos relacionados aos componentes do nanotubo (O, Al e Si) e a presença de picos de urânio confirma a intercalação de INH. Os mapas de raio X de Si (Figuras 8A2 e 8B2), Al (Figuras 8A3 e 8B3) e U (Figura 8A4 e 8B4) suportam esta conclusão, demonstrando a composição do nanotubo e a distribuição homogênea de INH no sistema. O urânio observado foi adicionado em forma de urânio ( $\text{UO}_2^{2+}$ ) ao composto devido sua interação com os grupos amina do medicamento.

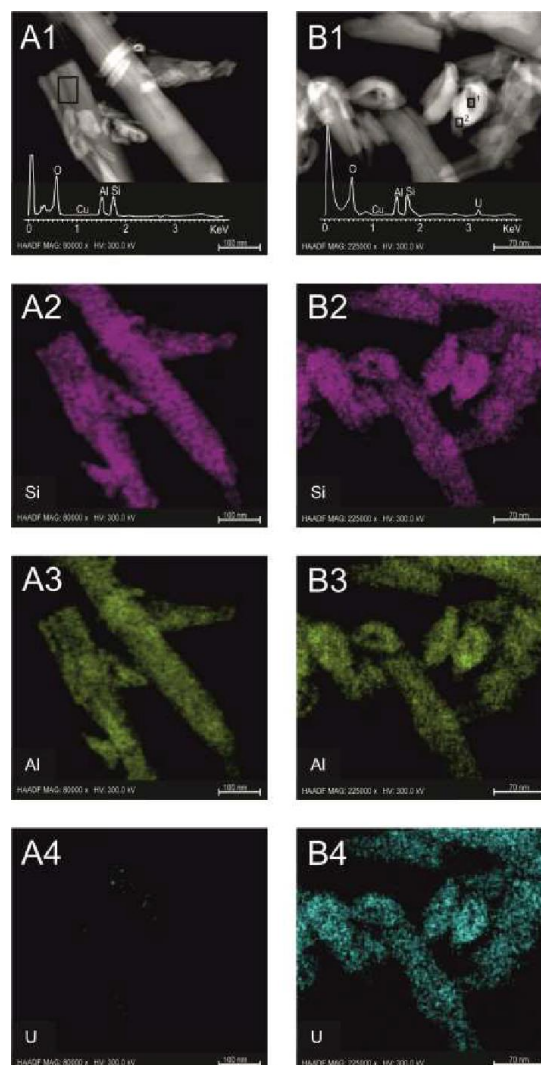


Figura 8 - Microfotografias de HREM, análise EDS e mapas de raio X elemental de HLNT (esquerda) e INH/HLNT (direita) (CARAZO, E., 2017)

Os resultados de espectro FTIR dos nanotubos carregados foram comparados com os de seus componentes para descrever o possível mecanismo de interação (Figura 10). As bandas características de HLNT e INH se apresentaram no composto híbrido, sendo que as bandas causadas pela hidroxila interior superficial em HLNTs não foi observada no composto, indicando interação por ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila internos do HLNT e o nitrogênio nas moléculas de INH.

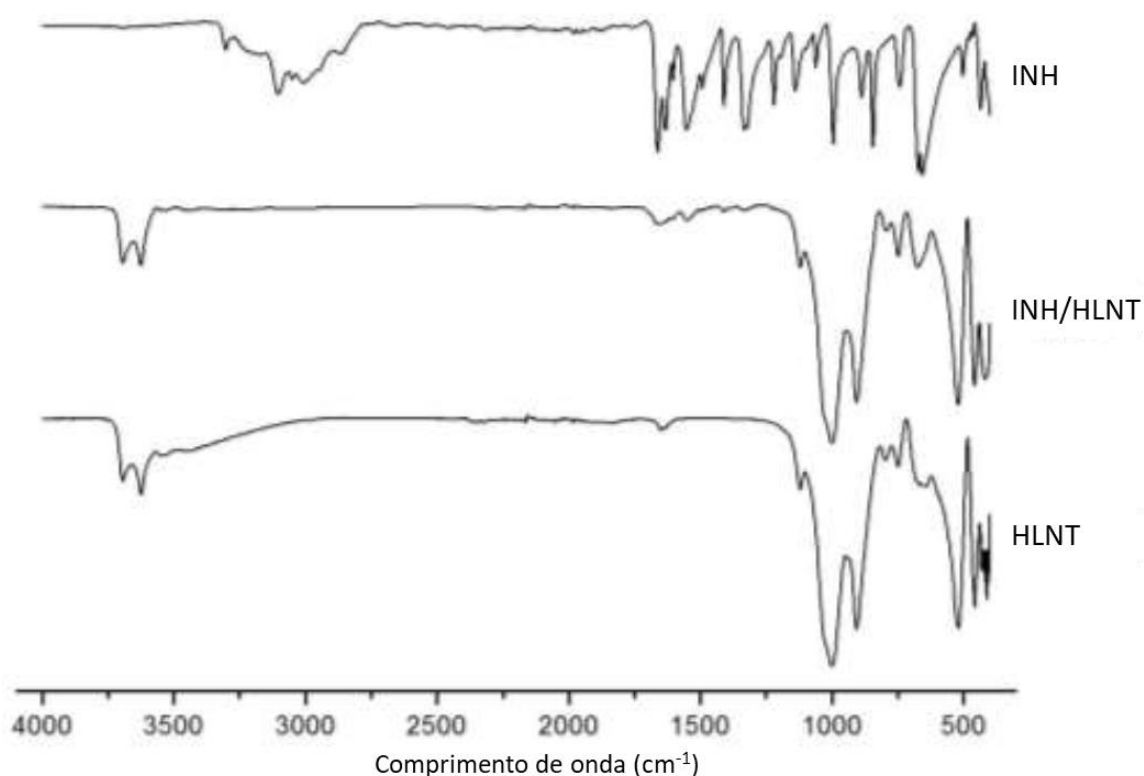


Figura 9 - Espectro FTIR de INH/HLNT e seus componentes (INH e HLNT) (CARAZO, E., 2017)

As análises térmicas estão representadas na Figura 11. A curva DSC da INH demonstra um pico endotérmico em 175°C correspondente à fusão do medicamento, seguida de um pico exotérmico em 250°C correspondente à decomposição. A análise TGA permite uma compreensão detalhada do comportamento térmico das amostras. A curva do composto INH/HLNT demonstrou a decomposição do INH e a desidroxilação da argila.

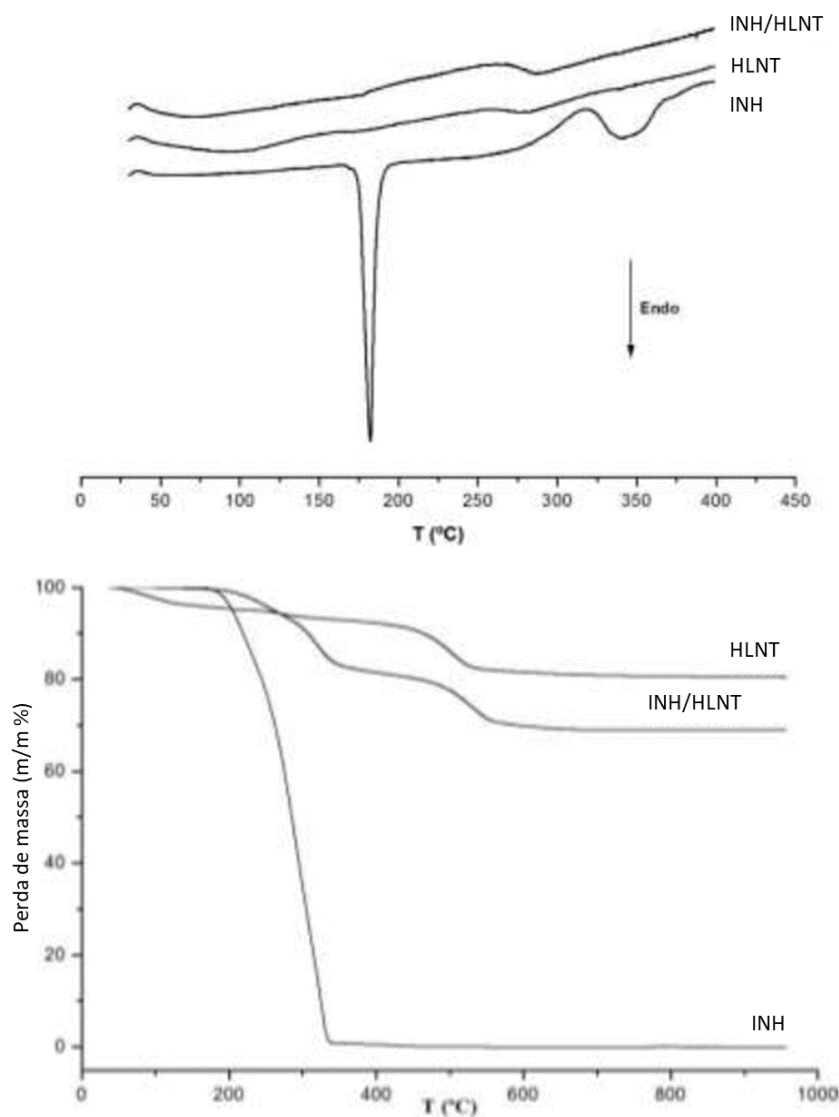


Figura 10 - Curvas DSC e TGA do composto INH/HLNT e dos seus componentes puros (INH e HLNT) (CARAZO, E., 2017 - adaptado)

Dentre os estudos realizado sobre a intercalação de isoniazida em MMT, o trabalho realizado por CARAZO, Esperanza (2018), tinha como objetivo estudar as características cinéticas e termodinâmicas da adsorção de INH em MMT. Caracterização em estado sólido do material puro e do sistema híbrido resultante foi realizada para confirmar a efetividade da intercalação do medicamento no argilomineral, avaliando quantitativamente e qualitativamente as diferentes interações envolvidas e determinar a estrutura e homogeneidade da distribuição de INH em MMT. A metodologia foi similar aos estudos realizado por CARAZO, E (2017 e 2018) sobre a intercalação de INH em nanotubos de HLNT e em PAL, sendo adicionado ao preparo das amostras uma mistura física identificada por PM (*Physical Mixture*).



Nos resultados de ensaios de caracterização no estado sólido foi possível confirmar a intercalação de INH em MMT. Os resultados de espectro FTIR apontam a natureza das interações envolvidas na adsorção das moléculas de INH em MMT. No espectro FTIR do nanohíbrido INH/MMT ocorreram bandas relacionadas à estrutura do MMT, sendo observado deslocamento de bandas, como nos comprimentos de onda 3626, 1631 e 989  $\text{cm}^{-1}$  associados a interação dos nitrogênios endocíclico e exocíclico, e oxigênios do grupo carbonila das moléculas de INH com a superfície do MMT.

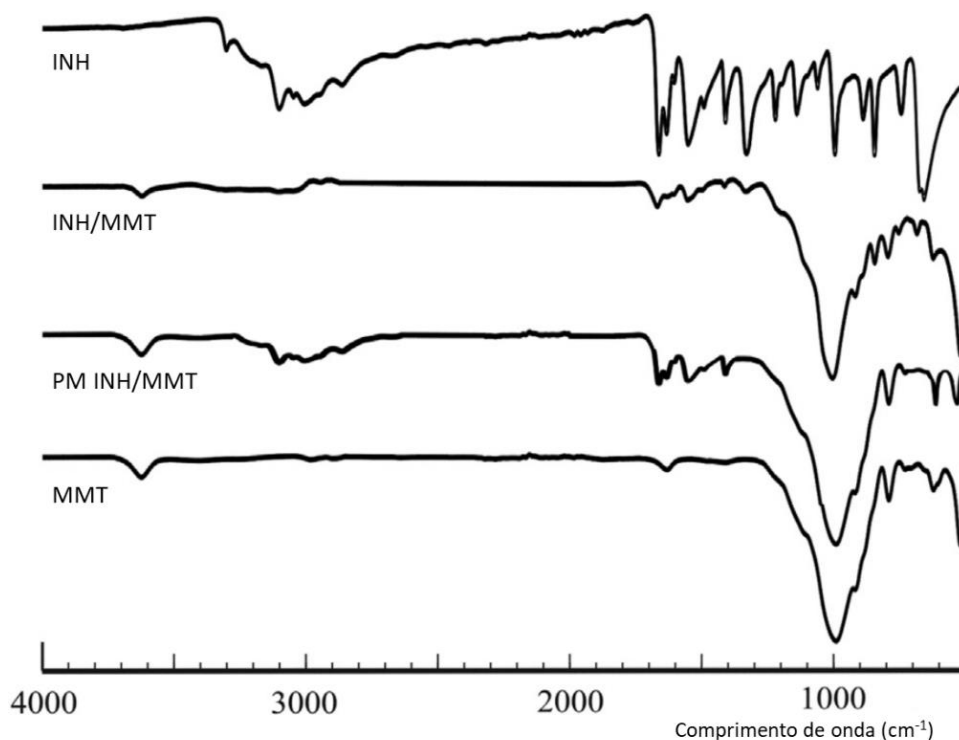


Figura 11 - Espectro FTIR de INH/PAL e seus componentes (INH e PAL) (CARAZO et al., 2018a)

As análises térmicas estão representadas nas figuras 19 e 20. Como demonstrado por Carazo, E. (2017), INH funde à aproximadamente 177°C e se decompõem no intervalo de 250-350°C, como visto na curva DSC pelos picos endotérmicos e exotérmicos correspondentes. MMT apresentou perda de água livre e interlamelar no intervalo de 50-250°C, seguido da desidroxilação (500-1000°C). A curva TGA do nanohíbrido apresentou um declive relacionado a decomposição da INH menor comparado ao INH próprio, indicando um efeito protetor do argilomineral sobre a degradação térmica do medicamento, porém isto não foi observado na amostra misturada fisicamente (PM). A massa intercalada foi medida, indicando intercalação de 20% m/m, coerente com os valores obtidos pelo estudo de adsorção.

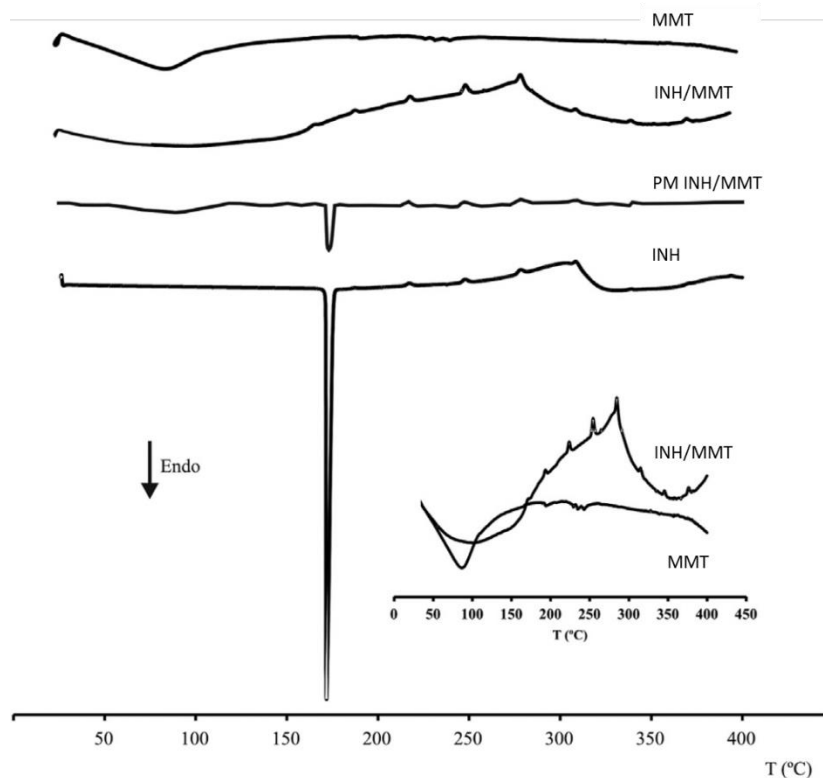


Figura 12 – Curva DSC do composto INH/MMT e dos seus componentes puros (INH e MMT) (CARAZO et al., 2018a)

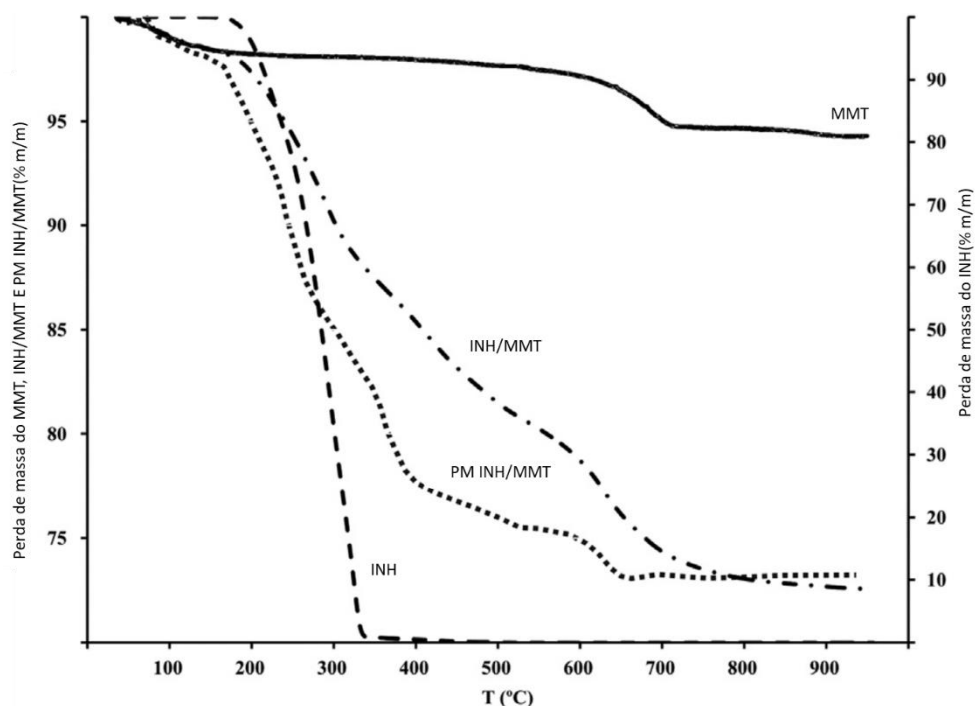


Figura 13 - Curva TGA do composto INH/MMT e dos seus componentes puros (INH e MMT) (CARAZO et al., 2018a)

No resultado de DRX apresentado na figura 21, a curva do nanohíbrido apresentou um padrão similar ao do argilomineral. O deslocamento do pico em  $7^\circ 2\theta$ , que está relacionado à esmectita  $\text{Na}^+$  com espaço basal de  $12 \text{ \AA}$ , revela a intercalação

de moléculas de INH em MMT, que levou ao aumento do espaçamento para 14,8 Å. As principais reflexões de INH foram observadas no composto PM, sendo observados reflexões fracas no nanohíbrido INH/MMT, em linha com a precipitação indicada pelo estudo de adsorção.

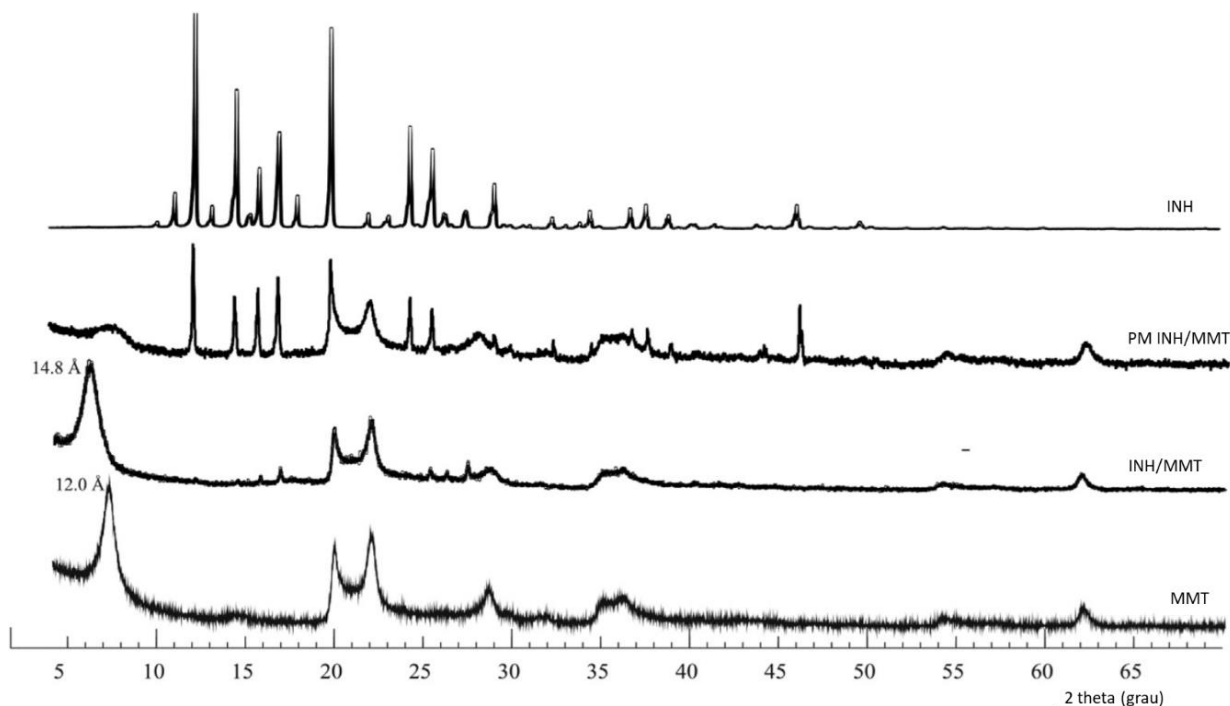


Figura 14 - Padrões de DRX do composto INH/HLNT e dos seus componentes puros (CARAZO et al., 2018a)

As imagens de HREM e EDS apresentadas nas figuras 22 e 23 foram realizados para obter conhecimento qualitativo da estrutura do nanohíbrido obtido e fornecendo informações adicionais sobre caracterização em estado sólido. O espectro de EDS do composto nanohíbrido demonstrou a ausência de sódio (Na) e apresentou pico de nitrogênio (N), indicando a troca catiônica das moléculas do medicamento com os cátions Na presentes no espaço interlamelar do MMT. Os mapas de raio X elementais confirmam a presença de INH no nanocomposto e demonstra uma distribuição homogênea.

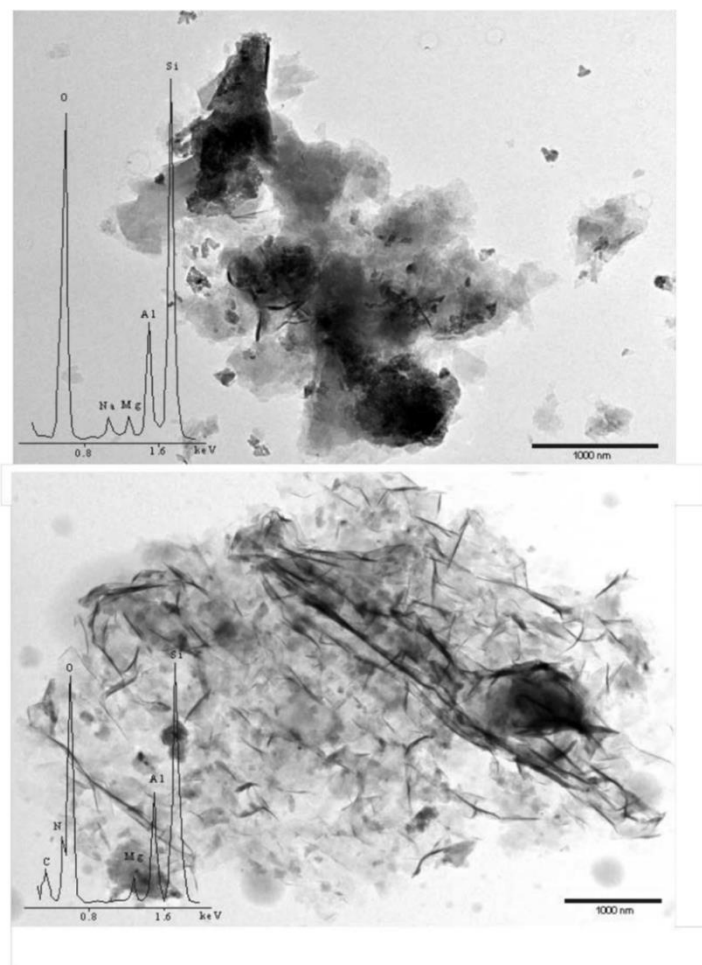


Figura 15 – Microfotografias de HREM e análise de MMT (acima) e INH/MMT (abaixo) (CARAZO et al., 2018a)

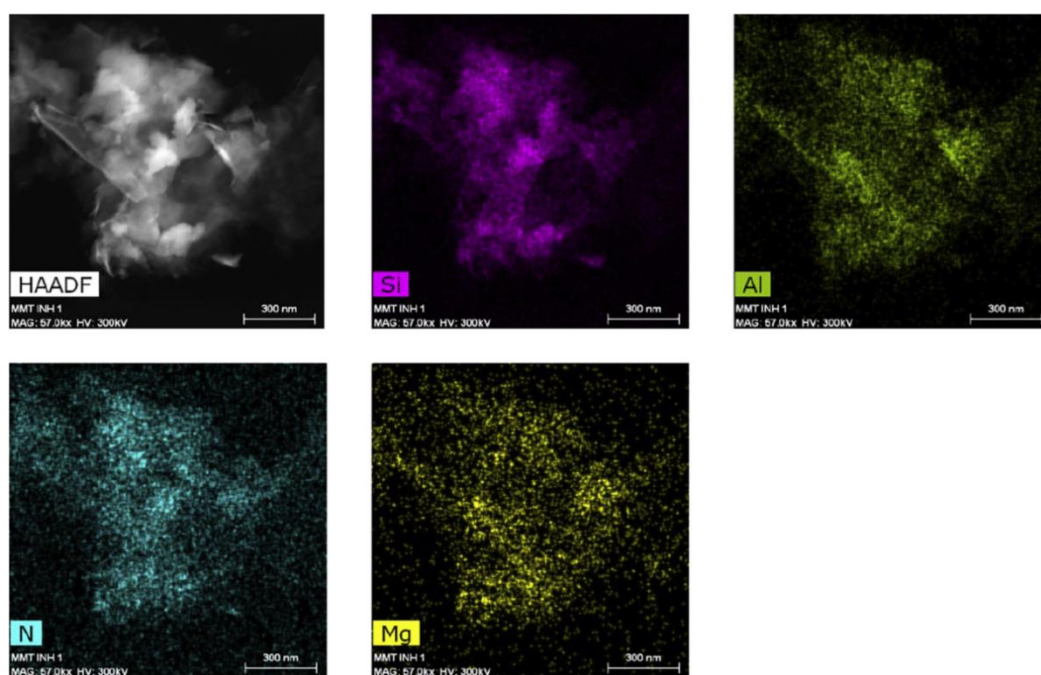


Figura 16 - Microfotografias de HREM, análise EDS e mapas de raio X elemental de HLNT (esquerda) e INH/HLNT (direita) (CARAZO et al., 2018a)

O outro estudo realizado por Sugunalakshmi (2014) teve o objetivo de estudar a liberação de INH pelo nanocomposto INH/MMT, focando na liberação no intestino. A preparação das amostras foi realizada utilizando MMT coloide com água, sendo adicionado INH e os misturando por sonicação. O ensaio de liberação de INH foi conduzido em um banho termostático com uma solução tampão, pH 7,4 para simular fluido intestinal, por técnica de tubo de diálise, que é um recipiente com uma membrana semipermeável que permite a passagem de INH para a solução. Em intervalos de tempo determinados foram retirados uma fração pequena da solução para ser analisado o conteúdo de INH, sendo repostos a solução tampão para manter a quantidade inicial. Disto foi realizado a confirmação da liberação de medicamento e estudado a cinética da liberação, sendo determinado a cinética e mecanismo de liberação.

Dos resultados foi observado uma cinética de primeira ordem, ou seja, a cinética de liberação é dependente da concentração de medicamento dentro do recipiente, sendo uma liberação alta inicial, em que a concentração é maior. Como mecanismo foi determinado que a liberação ocorre por difusão fickiana, concluindo a adequação das nanopartículas INH/MMT como sistema de liberação controlada para ingestão oral.

## **4. Materiais e métodos**

### **4.1. Materiais**

Para a preparação dos compostos de argila/INH foram utilizados a argila estevensita sintética (EAC) fornecida pelo Laboratório de Argila - LARG, da Escola Politécnica de São Paulo, a isoniazida (INH) fornecida pela Sigma Aldrich e o sal quaternário de amônio para aumentar o espaçamento entre as folhas de argila. Para os ensaios de liberação de isoniazida será utilizado uma solução tampão preparada com hidróxido de sódio (NaOH) e fosfato de monopotássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) de pH 6,8, simulando a região do intestino do corpo humano.

### **4.2. Métodos**

#### **4.2.1. Preparação dos nanocompostos de INH/EAC**

Para a preparação dos compostos EAC/INH foi realizada a mistura dos materiais, variando a quantidade de isoniazida, adição de sal quaternário.

As amostras de híbridos foram preparadas com 2 g de argila estevensita, em variações de adição de 0,27 g e 0,55 g de isoniazida, separando em amostras que foram organofilizadas com 1,28 mL de sal quaternário e amostra não organofilizadas. Foram adicionadas 5 mL de água para facilitar a homogeneização, agitando manualmente e tornando a mistura pastosa, que foi deixada em estufa de 60°C para retirar a umidade. Assim foram obtidas 4 amostras identificadas das seguintes formas:

Amostra EAC 0,27 – compostos de EAC/INH com 0,27 g de INH;

Amostra EAC 0,27 ORG – compostos de EAC/INH com 0,27 g de INH organofílica;

Amostra EAC 0,55 – compostos de EAC/INH com 0,55 g de INH;

Amostra EAC 0,55 ORG – compostos de EAC/INH com 0,55 g de INH organofílica.

#### **4.2.2. Caracterizações**

##### **4.2.2.1. Ensaio de difração de raio X (DRX)**

Os ensaios de DRX foram realizados em um equipamento da Rigaku utilizando radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ), tensão de 40 kV, corrente de 30 mA, varredura entre 5° a 70° 2 $\theta$  e velocidade de varredura de 2°/min. Este ensaio tem como objetivo analisar a presença da isoniazida na estrutura da argila estevensita pela comparação dos picos característicos da estrutura de cada componente.

##### **4.2.2.2. Ensaio de espectroscopia de infravermelho (FTIR)**

Os ensaios em espectro foram obtidos em pastilhas de KBr com varredura de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  em um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR Tensor 27). Este ensaio tem como objetivo analisar a presença da isoniazida na estrutura da argila estevensita pela comparação das bandas características das ligações estruturais de cada componente.,

##### **4.2.2.3. Ensaio termogravimétrico (TGA/DTG)**

A análise termogravimétrica (TGA) e a análise diferencial (DTG) das amostras foram realizadas em um equipamento STA 449 F1 Jupiter da NETZSCH, sob fluxo de ar sintético (20 mL/minuto), na faixa de temperatura de 25°C a 800°C e com taxa de

aquecimento de 10°C/minuto. Este ensaio tem como objetivo analisar as interações dos compostos com a temperatura.

#### **4.2.2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (MEV-FEG)**

As análises de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura com canhão de efeito de campo - FEG - Inspect 50, com detectores de elétrons secundários. As superfícies das amostras foram revestidas com ouro com o objetivo de evitar o acúmulo de carga negativa. Este ensaio tem como objetivo observar a presença da isoniazida através das micrografias.

#### **4.2.3. Ensaio exploratório de liberação de INH**

O ensaio de liberação de INH foi realizado em solução tampão de pH 6,8, preparada com 3,4 g de fosfato de monopotássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) e 0,47 g de hidróxido de sódio (NaOH) em 250 mL de água destilada. O ensaio foi realizado pela mistura constante em agitador magnético com 50 mL de solução tampão e 1 g do composto de EAC/INH, sendo retirado alíquotas 0,5 mL da solução em tempos determinados de 1, 2, 3, 6 e 24 horas de agitação, sendo centrifugadas por 30 minutos.

Após a centrifugação, cerca de 3 mL das amostras foram analisadas em espectroscopia de UV-vis para determinação da quantidade de isoniazida liberada pelo composto argila/INH, em  $\lambda \sim 262$  nm. Para determinar a quantidade de isoniazida liberada nos híbridos, foi utilizada uma curva de calibração, com seis pontos, na faixa de concentração 0,002–0,01 g/100 mL de solução tampão, determinada na absorbância  $\lambda \sim 262$  nm. E com coeficiente de correlação ( $R^2$ ) de 0,998.

### **5. Resultados e discussão**

#### **5.1. Ensaios no estado sólido para confirmação de intercalação**

##### **5.1.1. Ensaio de difração de raio X (DRX)**

Os resultados dos ensaios de DRX obtidos para os híbridos EAC 0,27, EAC 0,55, EAC 0,27 ORG, e EAC 0,55 ORG, estão apresentados nas figuras 17, 18, 19 e 20 respectivamente, sendo cada amostra comparada com as curvas padrões de INH e a argila estevensita (EAC).

Através dos difratogramas é possível observar que a argila EAC, apresenta um comportamento de uma argila estevensita sintética com os principais picos são visualizados em  $2\theta = 5,8^\circ$ ,  $19,8^\circ$ ,  $34,6^\circ$  e  $60,6^\circ$  (CARVALHO et al., 2022). Os picos característicos da isoniazida são aproximadamente em  $10^\circ$ ,  $14^\circ$ ,  $16^\circ$  e  $20^\circ$  em  $2\theta$ , corroborando com a literatura (CARAZO et al., 2017). Nas curvas dos híbridos de EAC/INH pode-se observar os picos característicos da argila EAC, porém também foi possível observar a presença de outros picos em torno de  $2\theta = 27^\circ$  e  $29^\circ$ , provavelmente relacionados a INH, possivelmente indicando a presença da isoniazida entre as camadas da argila.

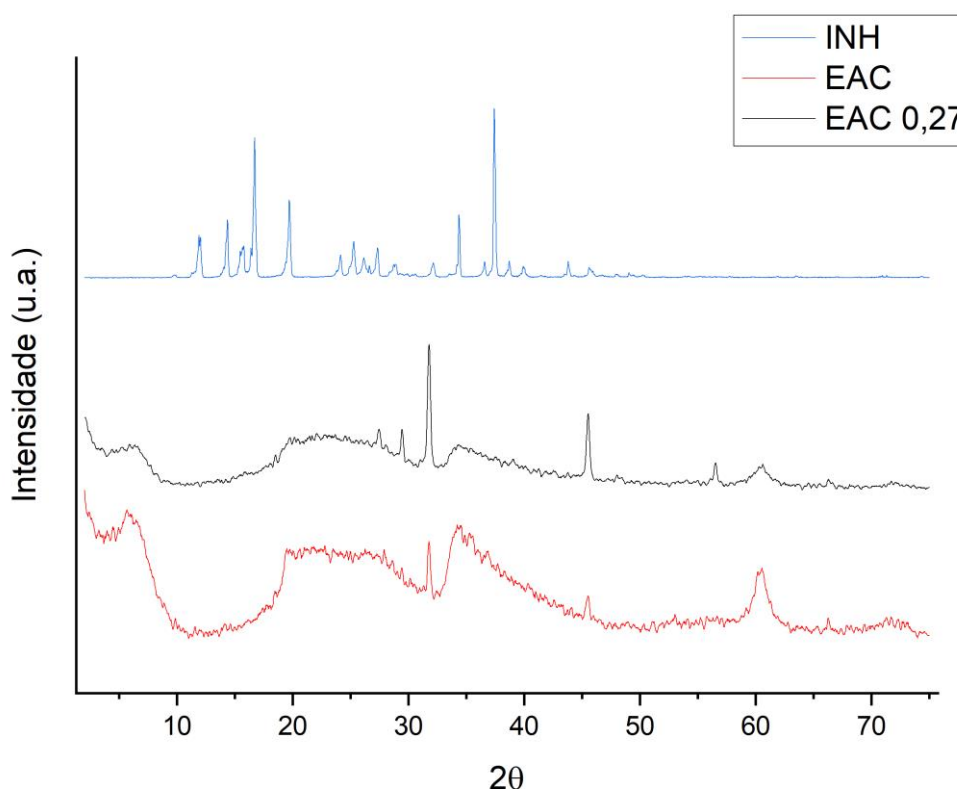


Figura 17 - Curva de DRX da amostra EAC com 0,27 g de INH (preto), e curvas padrões da argila EAC (vermelho), e da droga INH (azul).

No difratograma da amostra EAC 0,55 de INH (Figura 18), foram visualizados os principais picos da INH além dos picos secundários entre  $20^\circ$  e  $30^\circ$ . Nestes casos os picos de argila apresentaram menores intensidade e um aumento do aparecimento dos picos da INH, demonstrando a presença do medicamento na monocamada da argila, como observado no estudo de Carazo (2017).



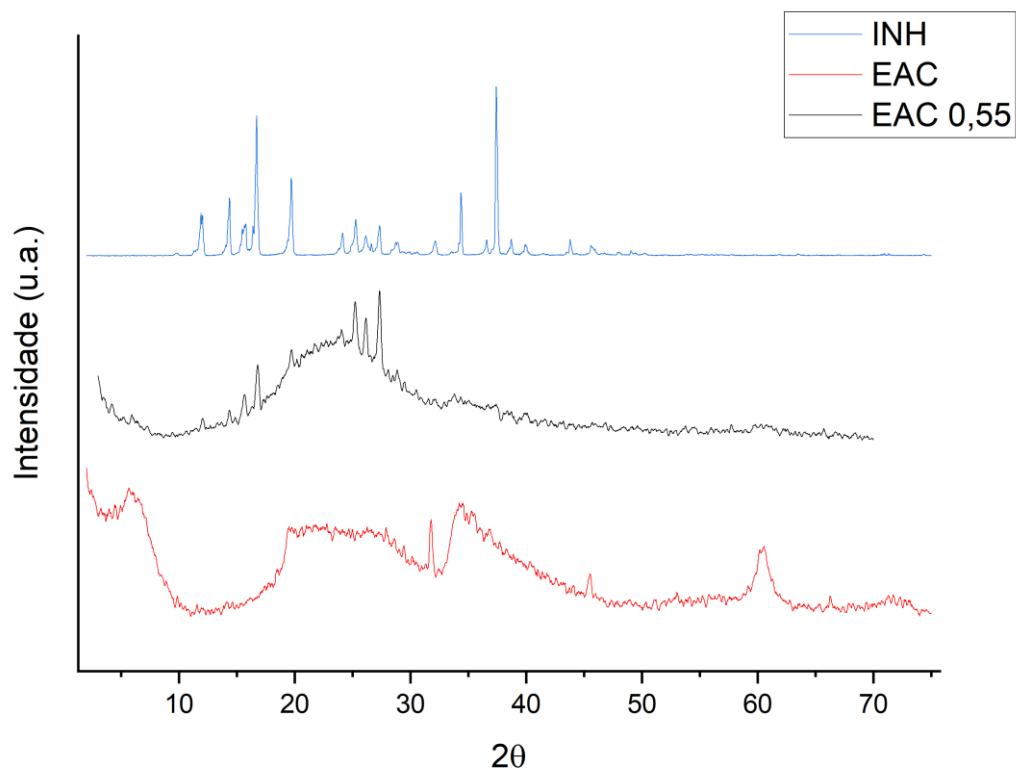


Figura 18 - Curva de DRX da amostra EAC com 0,55 g de INH (preto), e curvas padrões da argila EAC (vermelho), e da droga INH (azul).

Para amostra EAC 0,27 ORG (Figura 19), foi observado uma desestruturação dos picos principais da argila estevensita e um deslocamento do pico  $d_{001}$ , possivelmente devido a uma maior intercalação da INH nas monocamadas de estevensita, aumentando o plano basal com este preenchimento (CARAZO et al., 2018). Esse comportamento pode estar associado com a presença do sal quaternário que provocou uma melhora na adsorção do medicamento na argila.

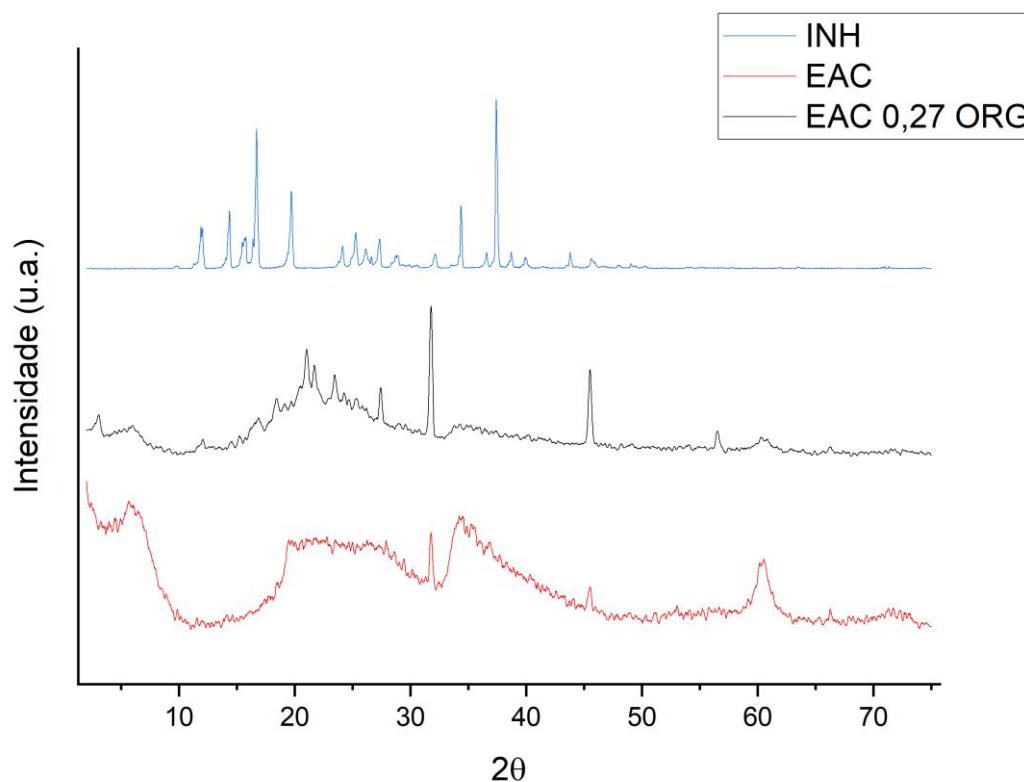


Figura 19 - Curva de DRX da amostra EAC com 0,27 g de INH e sal quaternário ORG (preto) e as curvas padrão da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul).

Para amostra EAC 0,55 ORG (Figura 20), apresentou os picos principais de INH além de picos secundários. Nestes casos os picos de argila se apresentam e menores intensidades na curva do composto indicando grandes mudanças na estrutura da argila, possivelmente devido a adsorção do medicamento nas monocamadas, como estudado por Carazo (2017).

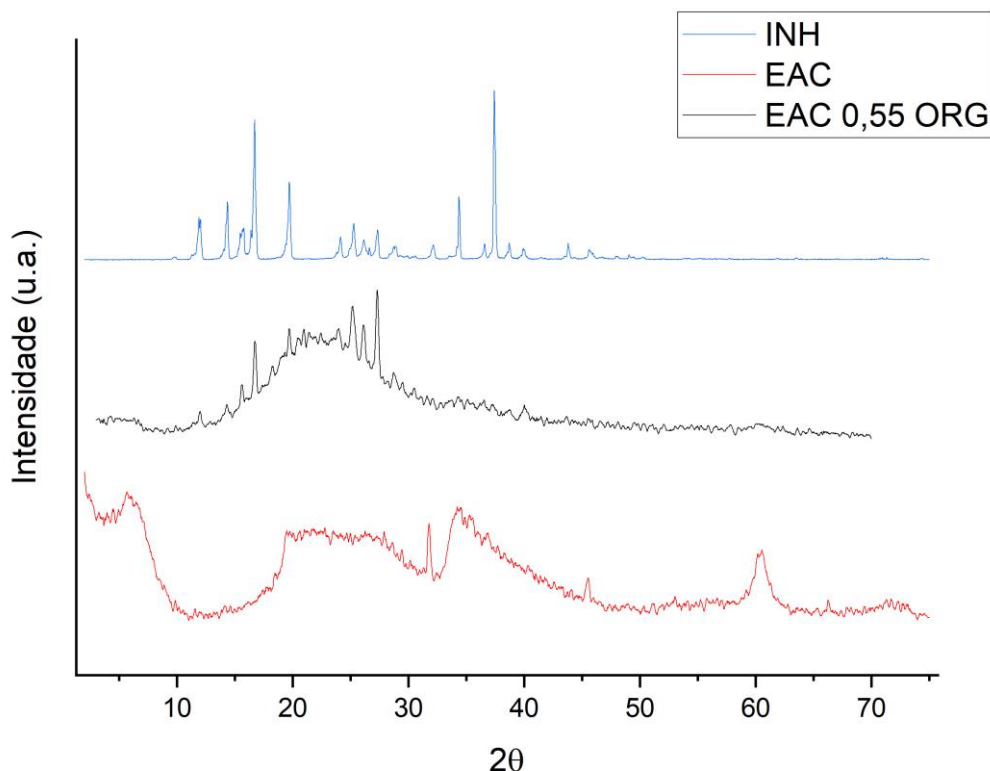


Figura 20 - Curva de DRX da amostra EAC com 0,55 g de INH e sal quaternário ORG (preto) e as curvas padrão da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul).

### 5.1.2. Ensaio de espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Os resultados de FTIR dos híbridos de argila com 0,27 g e 0,55 g de INH e os híbridos com a presença de sal quaternário se apresentam nas Figuras 21, 22, 23 e 24.

A INH apresenta uma banda em  $3303\text{ cm}^{-1}$ , devido as vibrações de estiramento da ligação N-H. As bandas em  $1552\text{ cm}^{-1}$  e  $1410\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento da ligação C=N e ao estiramento do anel C=C, respectivamente. Deformações assimétricas de anel são notadas nas bandas em  $1193\text{ cm}^{-1}$  para o anel na deformação de C-C-H e em  $745\text{ cm}^{-1}$  na deformação de C-C-C. A banda observada em  $886\text{ cm}^{-1}$  confirma deformação de anel C-N-C. A banda em  $1661\text{ cm}^{-1}$  corresponde as vibrações de estiramento do grupo das carbonilas das amidas, enquanto a banda em  $1631\text{ cm}^{-1}$  indica a deformação de  $\text{NH}_2$ . Outra banda em  $1331\text{ cm}^{-1}$  é atribuída às vibrações de estiramento da ligação C-N, enquanto a banda em  $1556\text{ cm}^{-1}$  corresponde às vibrações de deformação da ligação N-H (CARAZO et al., 2017).

Para a argila EAC ocorrem bandas entre  $1000\text{-}1060\text{ cm}^{-1}$  correspondentes à vibração de estiramento das ligações Si-O e a banda em  $660\text{ cm}^{-1}$  corresponde à

vibração da ligação Si-O-Zn nas camadas tetraédricas. A banda em  $1624\text{ cm}^{-1}$  corresponde à vibração de estiramento do grupo OH, relacionado à água adsorvida presente na esmectita (CARVALHO et al., 2022).

A curva resultante da amostra EAC 0,27, demonstrada na figura 21, apresenta as bandas características à argila EAC nas bandas em  $660\text{ cm}^{-1}$ ,  $1624\text{ cm}^{-1}$  e entre  $1200$  e  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Além disto, apresenta algumas bandas características da INH nas bandas  $1661\text{ cm}^{-1}$ ,  $1631\text{ cm}^{-1}$ ,  $1552\text{ cm}^{-1}$ ,  $1410\text{ cm}^{-1}$ . Isto possivelmente indica a presença de INH na estrutura do composto, corroborando com o resultado de DRX desta amostra.

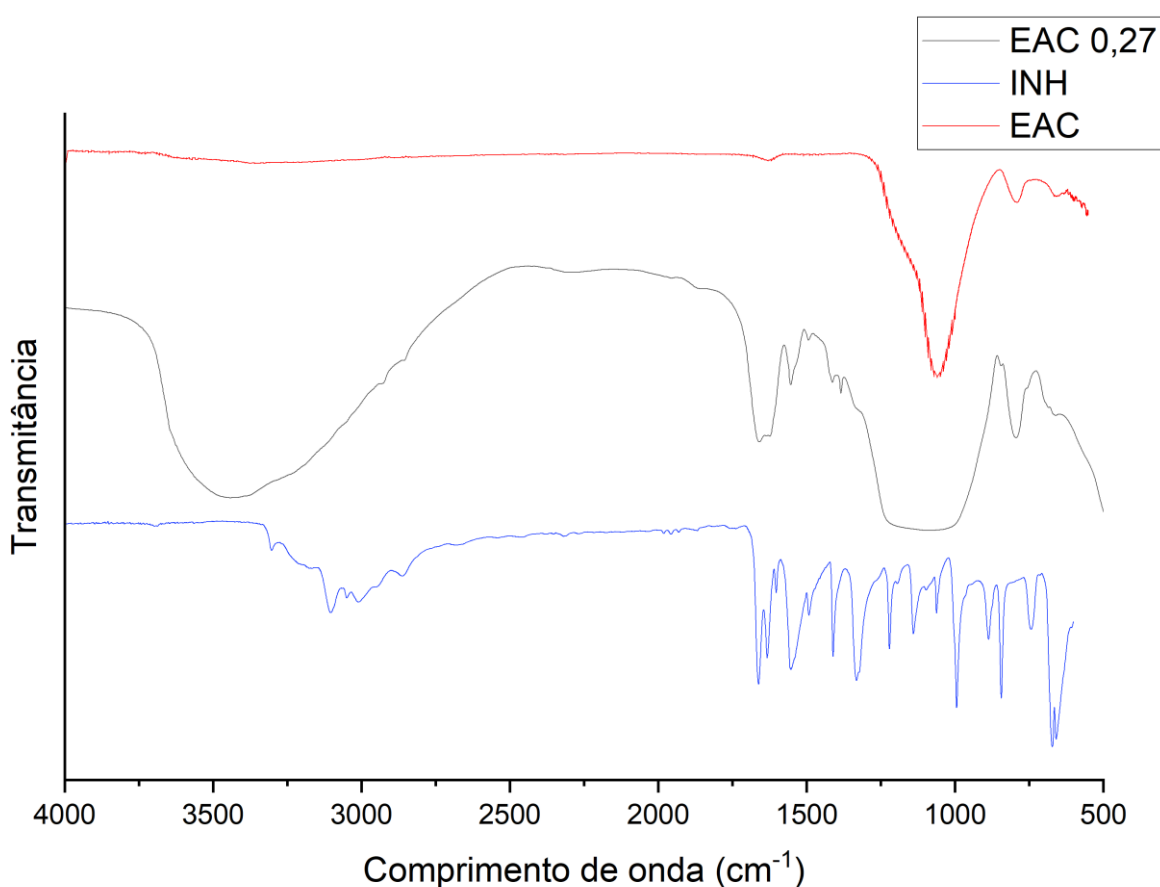


Figura 21 – Curva de análise FTIR da amostra EAC com 0,27 g (preto) e curvas padrões da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul).

A curva resultante da amostra EAC 0,27 ORG, demonstrada na figura 22, apresenta as bandas características à argila EAC nas bandas em  $660\text{ cm}^{-1}$ ,  $1624\text{ cm}^{-1}$  e entre  $1200$  e  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Além disto, ele apresenta algumas bandas características do medicamento INH nas bandas  $1661\text{ cm}^{-1}$ ,  $1631\text{ cm}^{-1}$ ,  $1552\text{ cm}^{-1}$ ,  $1410\text{ cm}^{-1}$ , indicando provavelmente a presença de INH entre as camadas da argila. Alguns picos

adicionais em  $2852\text{ cm}^{-1}$  e  $2920\text{ cm}^{-1}$  podem representar a presença do sal quaternário para a organofilização da amostra.

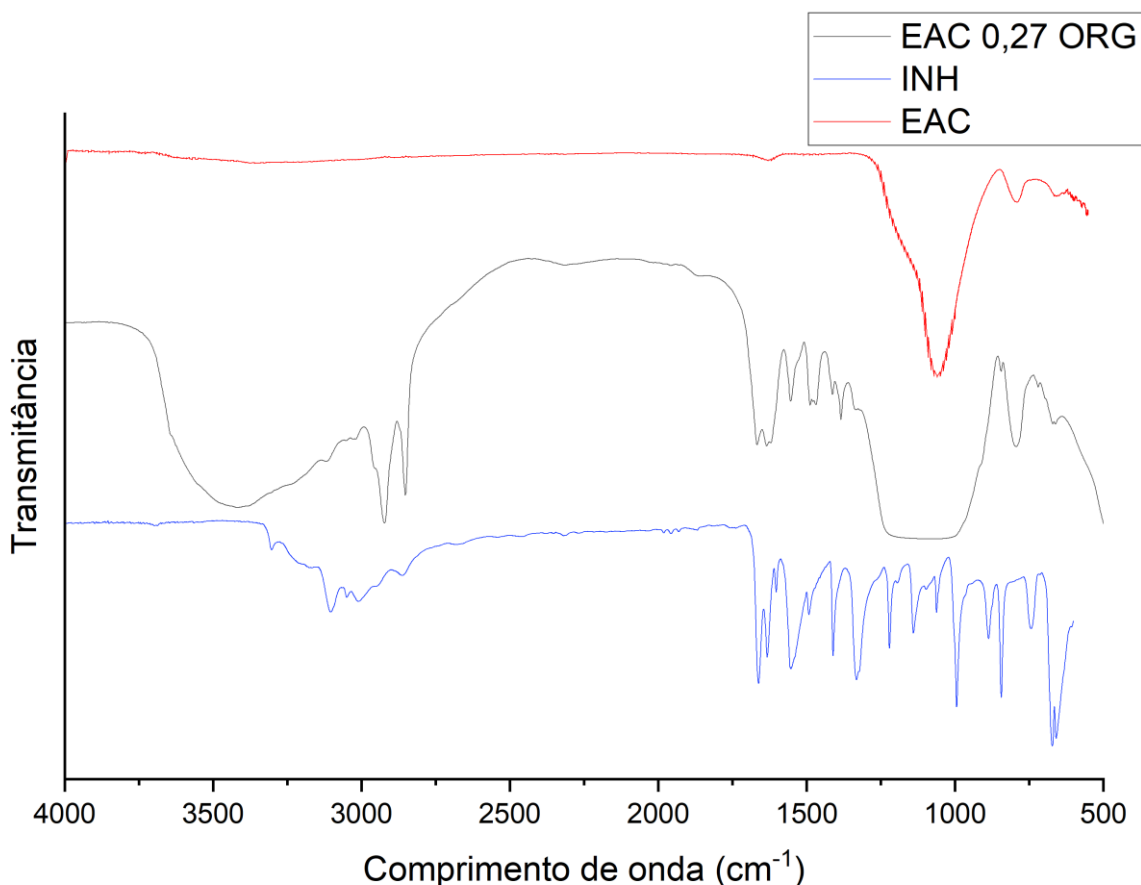


Figura 22 - Curva de análise FTIR da amostra EAC com 0,27 g e sal quaternário ORG (preto) e curvas padrões da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul).

A curva resultante da amostra EAC 0,55, demonstrada na figura 23, apresenta as bandas características à argila EAC nas bandas em  $660\text{ cm}^{-1}$ ,  $1624\text{ cm}^{-1}$  e entre  $1200$  e  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Além disto, ele apresenta algumas bandas características do medicamento INH nas bandas  $1661\text{ cm}^{-1}$ ,  $1631\text{ cm}^{-1}$ ,  $1552\text{ cm}^{-1}$ ,  $1410\text{ cm}^{-1}$  e adicionalmente  $1331\text{ cm}^{-1}$  e  $886\text{ cm}^{-1}$  em comparação as amostras anteriores, indicando possivelmente a presença de INH na estrutura do medicamento, corroborando com o resultado de DRX desta amostra.

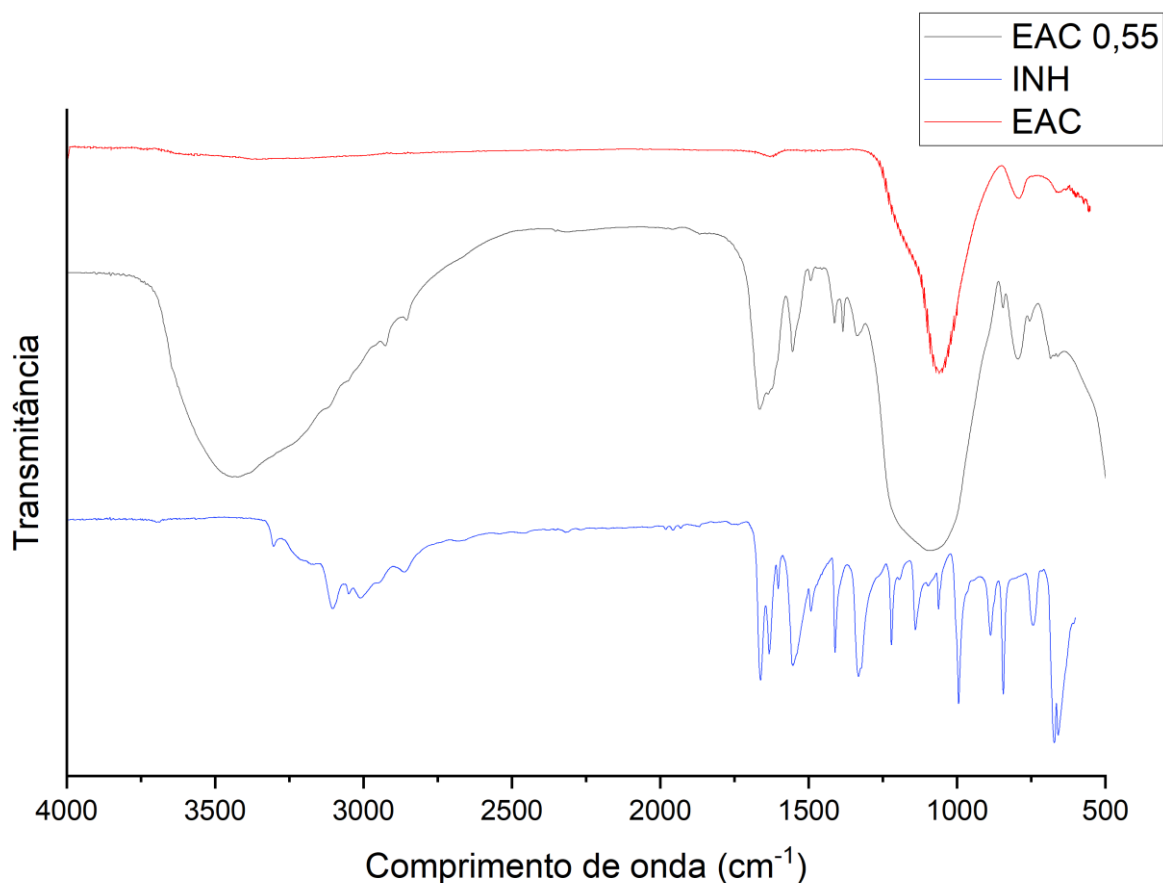


Figura 23 - Curva de análise FTIR da amostra EAC com 0,55 g (preto) e curvas padrões da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul).

A curva resultante da amostra EAC 0,55 ORG, demonstrada na figura 24, apresenta as bandas características à argila EAC nas bandas em  $660\text{ cm}^{-1}$ ,  $1624\text{ cm}^{-1}$  e entre  $1200$  e  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Além disto, ele apresenta algumas bandas características do medicamento INH nas bandas  $1661\text{ cm}^{-1}$ ,  $1631\text{ cm}^{-1}$ ,  $1552\text{ cm}^{-1}$ ,  $1410\text{ cm}^{-1}$ , e adicionalmente  $1331\text{ cm}^{-1}$  e  $886\text{ cm}^{-1}$  em comparação as amostras anteriores, podendo indicar a presença de INH na estrutura da argila, como foi observado no resultado de DRX desta amostra. Alguns picos adicionais em  $2852\text{ cm}^{-1}$  e  $2920\text{ cm}^{-1}$  podem representar a presença do sal quaternário para a organofilização da amostra.

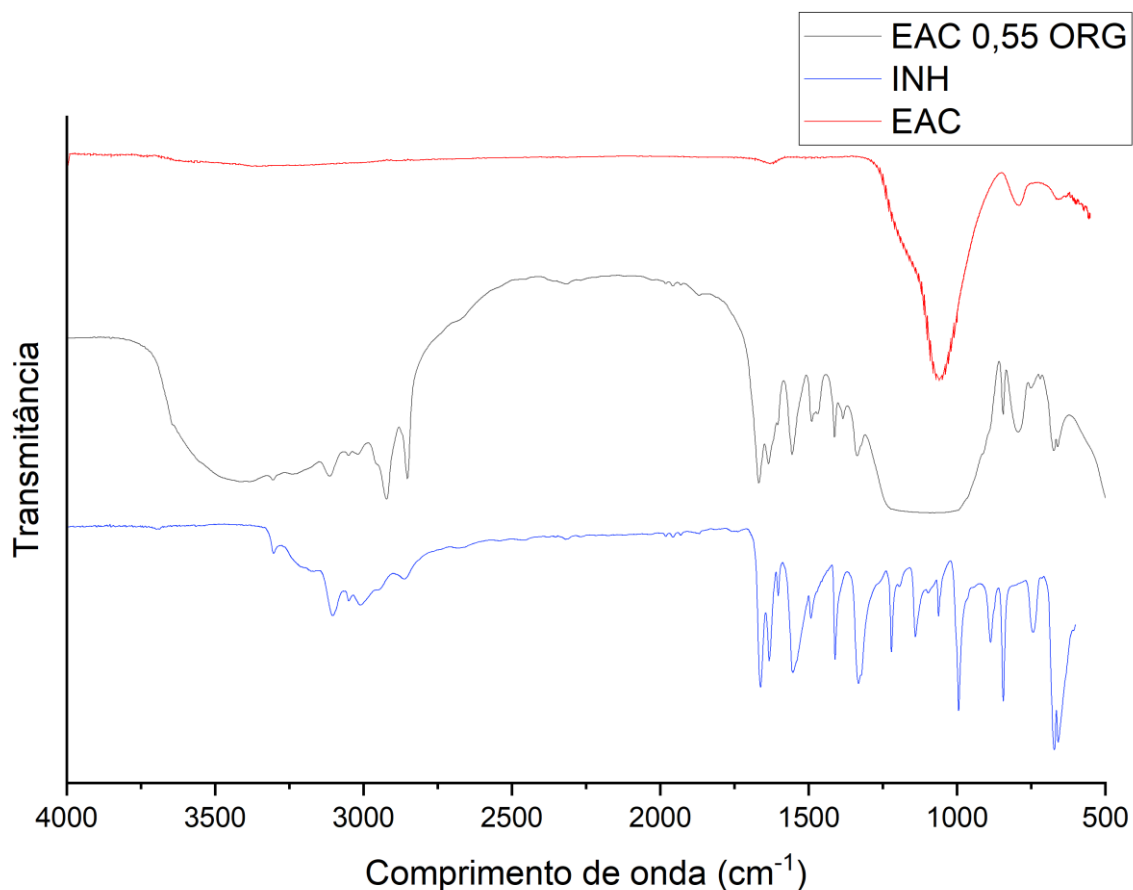


Figura 24 - Curva de análise FTIR da amostra EAC com 0,55 g e sal quartenário ORG (preto) e curvas padrões da argila EAC (vermelho) e da droga INH (azul).

### 5.1.3. Ensaio termogravimétrico (TGA/DTG)

Os resultados padrões de TGA e DTG para o medicamento INH e a argila EAC puras seguem nas figuras abaixo:

A curva DTG da INH, na figura 25, indica um pico que inicia em 200°C e finaliza em 400°C, com picos em 317,2°C e 351,8°C, devido a fusão e decomposição do medicamento, respectivamente. A curva TGA da INH, (Figura 25), indica uma queda entre 200°C e 370°C, devido a decomposição, ocorrendo em 100% da massa do medicamento.

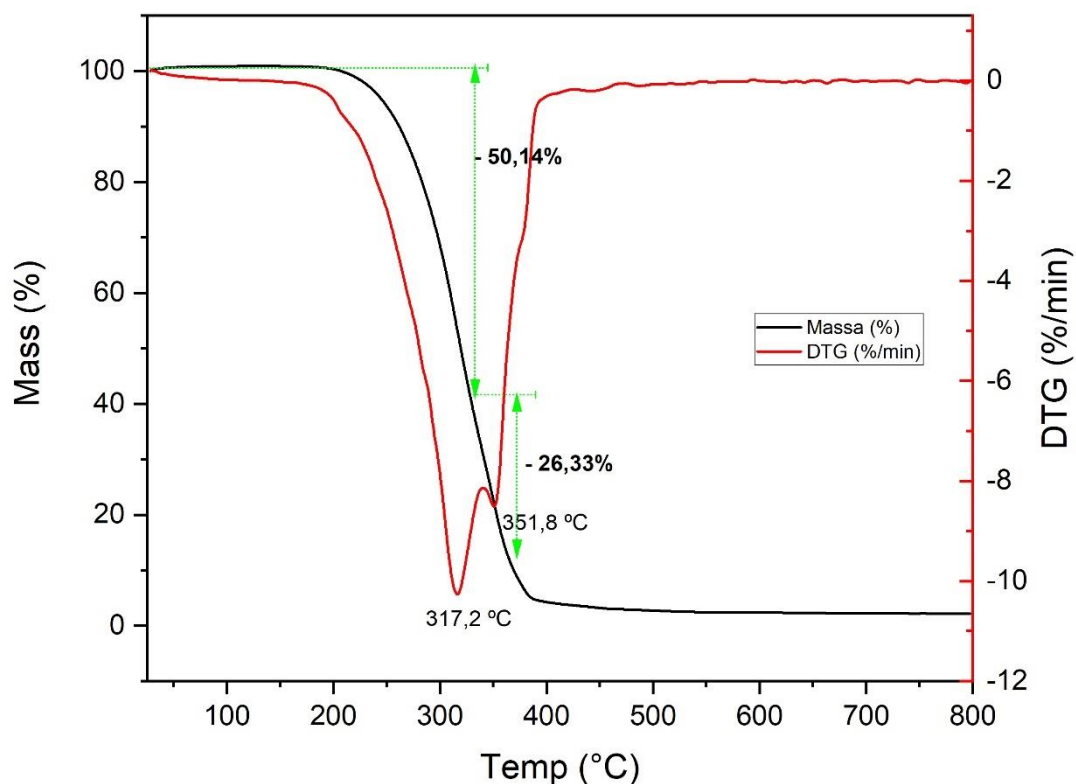


Figura 25 – Curvas de DTG (vermelho) e TGA (preto) do INH.

A curva DTG da argila EAC na (Figura 26), indica um pico em 81,1°C, devido a perda de água absorvida na argila. Outro pico ocorre em 238,4°C, representando a perda de água coordenada com os cátions interlamelares.



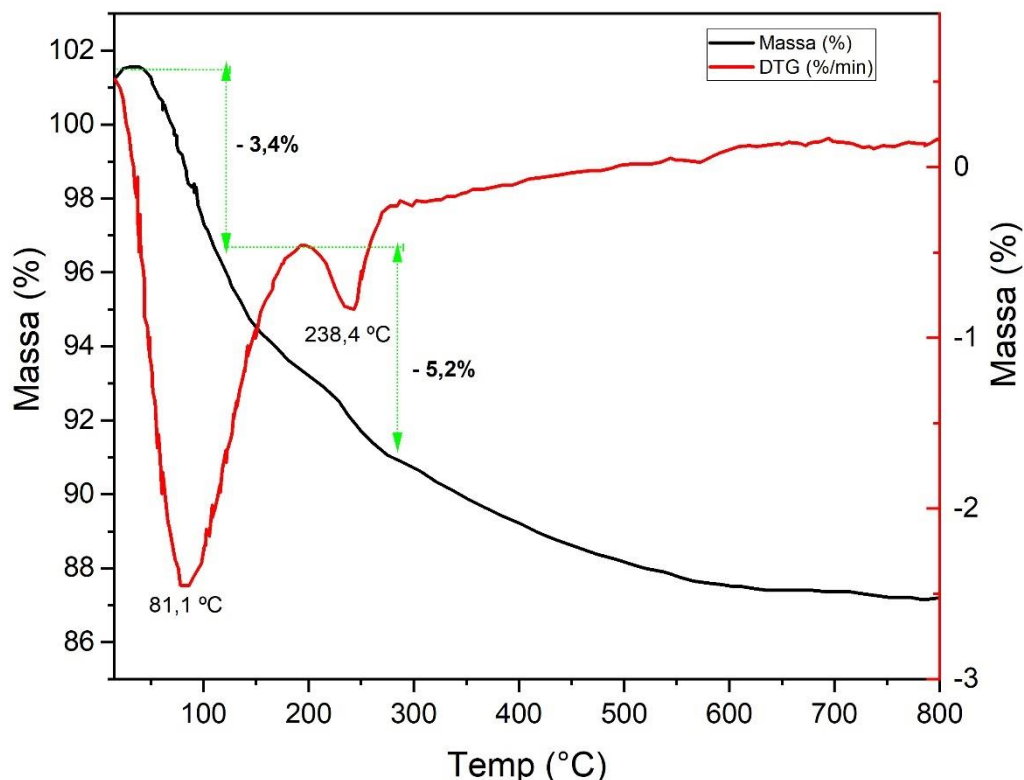


Figura 26 – Curvas de DTG (vermelho) e TGA (preto) da argila EAC.

Os resultados dos ensaios de TGA e DTG realizados nas amostras de EAC 0,27 e EAC 0,55, se apresentam nas figuras 27 e 28, respectivamente.

A curva DTG da amostra EAC 0,27, na Figura 27, indica um pico em 85,7°C, devido a perda de água absorvida pela argila, um pico que inicia em 290,5°C, que pode representar a perda de água coordenada entre os cátions interlamelares, característico da curva da argila EAC. Em 365,2°C ocorre um pico intenso, que pode indicar a decomposição da isoniazida. O pico em 500°C possivelmente representa a decomposição da isoniazida em uma temperatura maior, indicando uma possível proteção térmica da argila ao medicamento.

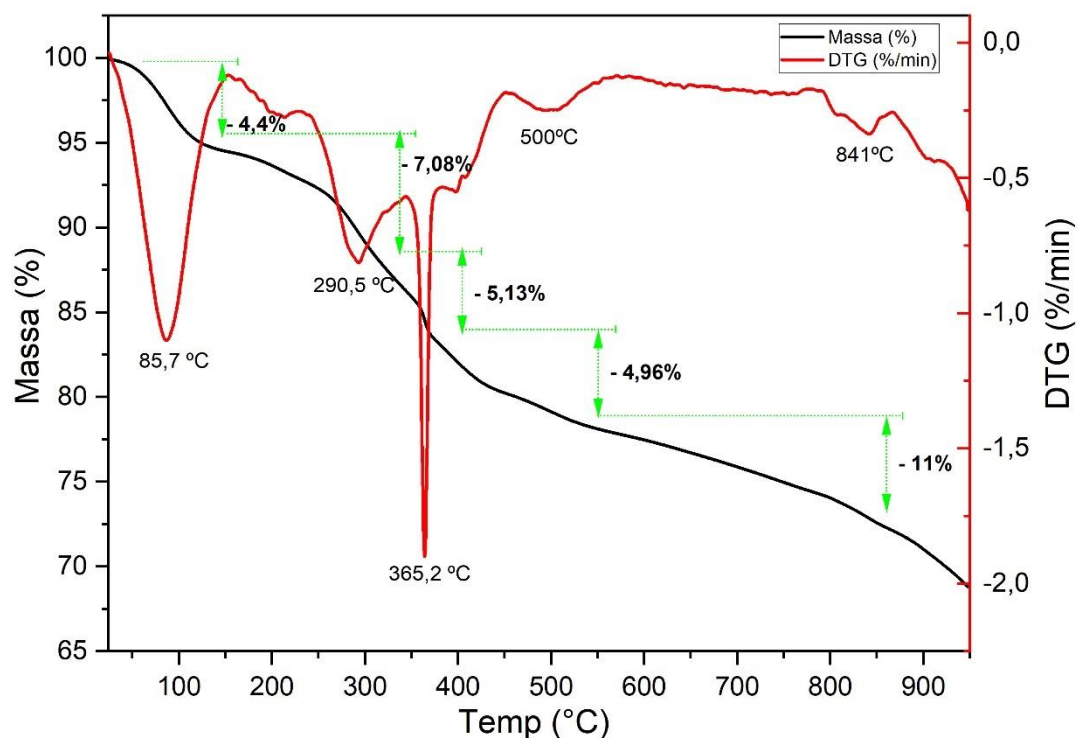


Figura 27 - Curvas de DTG (vermelho) e TGA (preto) da amostra EAC 0,27

A curva DTG da amostra EAC 0,55, em vermelho na figura 28, apresentou comportamento semelhante à amostra EAC 0,27, com picos distintos em 82,7°C, devido a perda de água absorvida pela argila, um pico que inicia em 235,5°C, representado pela perda de água coordenada entre os cátions interlamelares, característico da curva da argila EAC. Diferentemente da amostra EAC 0,27, o pico de degradação inicial de INH ocorre em 357,8°C sendo alto e mais largo. Os picos seguintes de 509,1°C e 556°C podem estar relacionados a degradação, sugerindo novamente uma propriedade protetora da argila em relação a degradação térmica do medicamento.

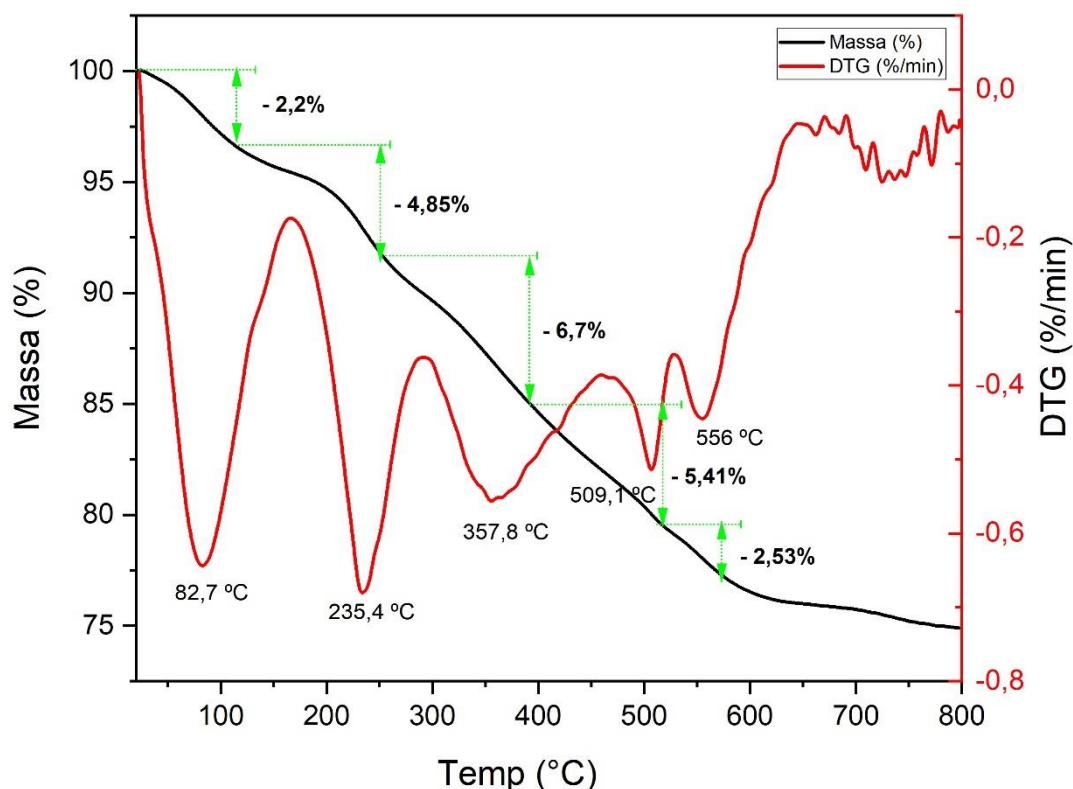


Figura 28 – Curvas de DTG (vermelho) e TGA (preto) da amostra EAC 0,55

#### 5.1.4. Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (MEV-FEG)

As figuras 29, 30 e 31 apresentam as imagens do ensaio de MEV realizados na argila EAC pura e nas amostras EAC 0,27 e EAC 0,55, respectivamente.

Através das imagens de MEV é possível observar a morfologia da argila estevensita, caracterizada com aglomerados de pequenas partículas de perfil regular e uniforme (HILDEBRANDO et al., 2014, CARVALHO et al. 2022). Comparando as imagens dos híbridos com a imagem da argila pura, não é perceptível uma mudança significativa na morfologia da argila, não sendo possível identificar a presença de isoniazida nas argilas, o que pode indicar que uma boa homogeneização do fármaco na argila, tal que os ensaios de DRX e FTIR apontam sua presença na estrutura, demonstrando que possivelmente o método de incorporação da foi eficiente e homogêneo.

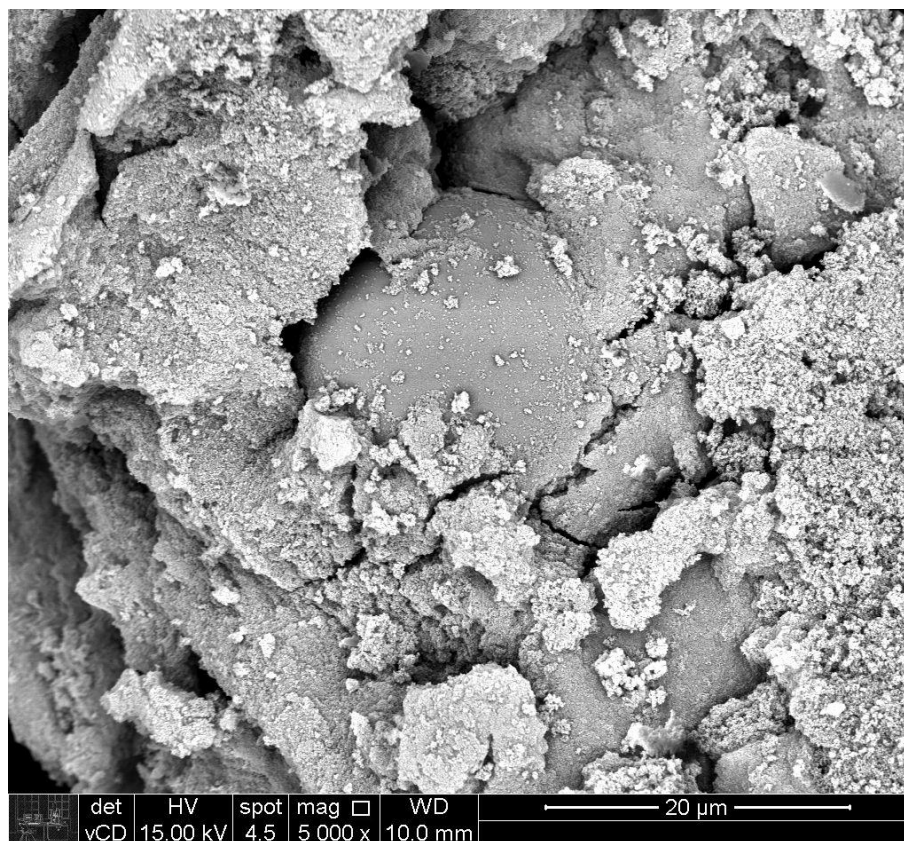


Figura 29 – Micrografia obtida em MEV da argila EAC pura.

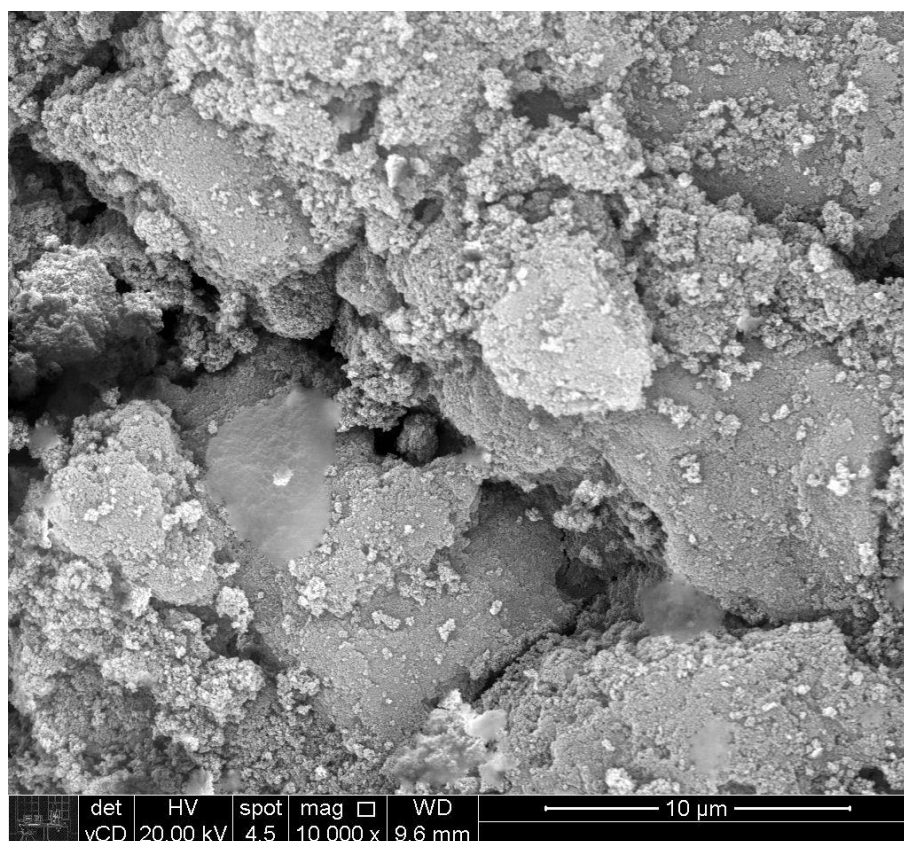


Figura 30 – Micrografia obtida em MEV da amostra EAC com 0,27 g de INH.

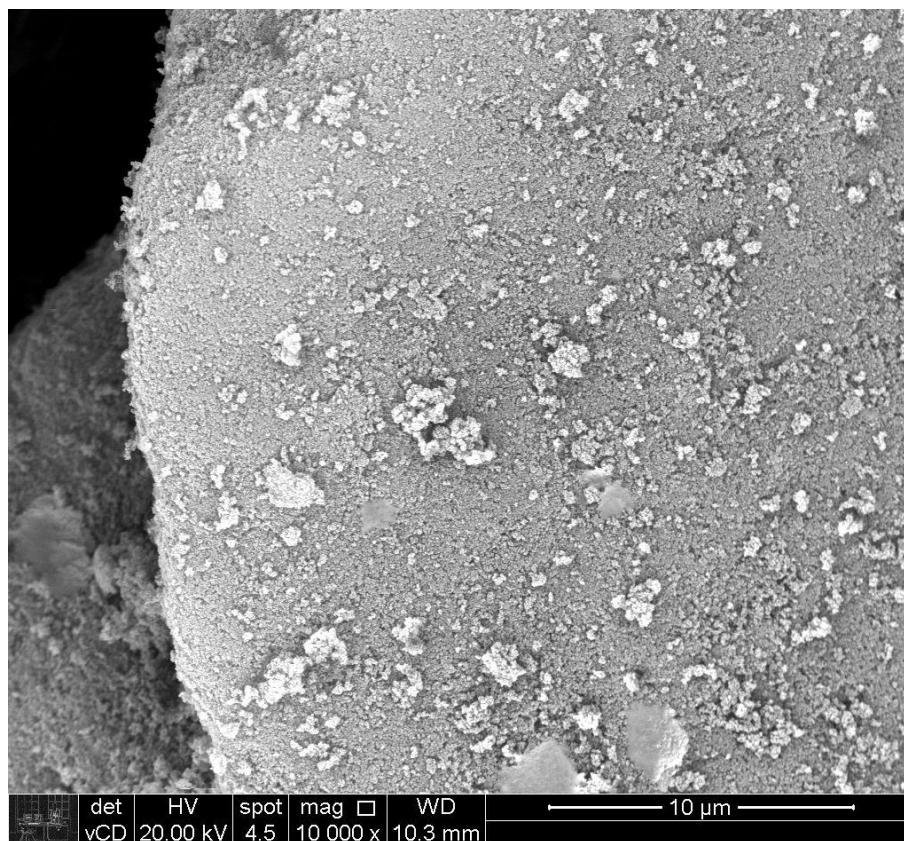


Figura 31 – Micrografia obtida em MEV da amostra EAC com 0,55g de INH.

## 5.2. Ensaio exploratório de liberação de isoniazida

Na figura 32 são apresentados os resultados de liberação de INH em solução tampão para cada amostra, apontando a massa de medicamento liberado por tempo de agitação.

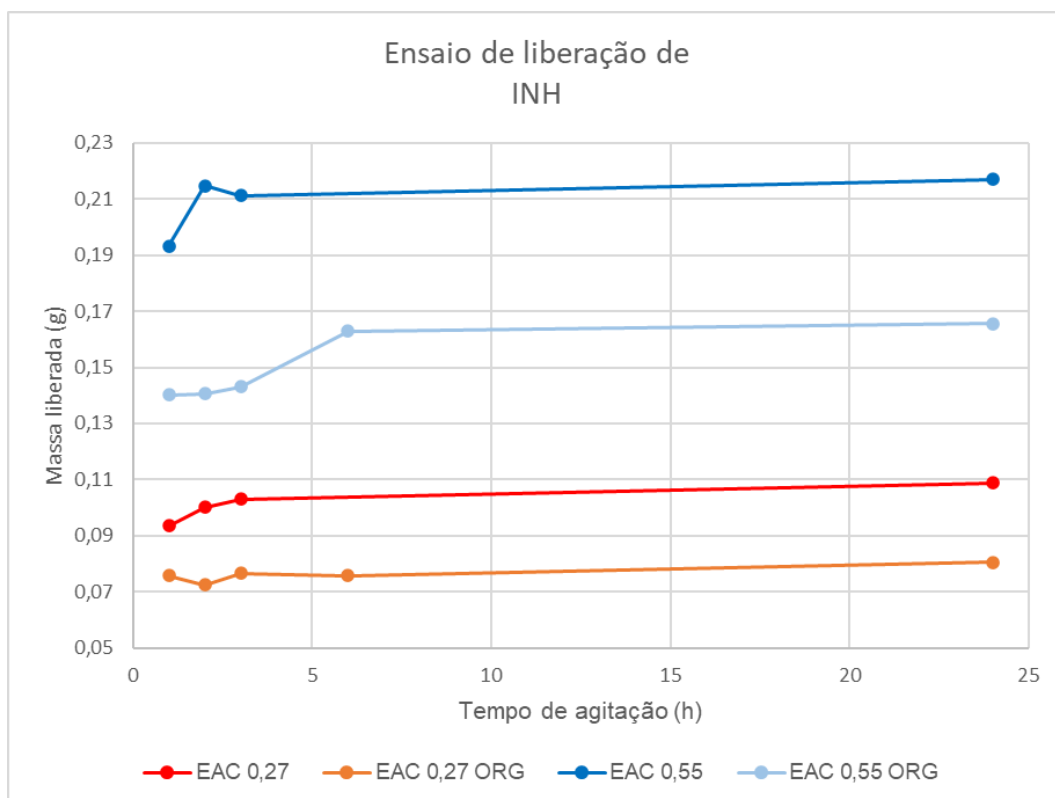


Figura 32 – Curvas de massa de isoniazida liberada para as amostras EAC 0,27 (laranja), EAC 0,27 ORG (vermelho), EAC 0,55 (azul escuro) e EAC 0,55 ORG (azul claro).

A tabela 1, estão dispostos os dados utilizados para obtenção dos gráficos para uma melhor visualização.

Tabela 1 – Massa de medicamento liberado em cada amostra por tempo de agitação

Amostras	Tempo de agitação				
	1H	2H	3H	6H	24H
EAC 0,27	0,094	0,100	0,103	0,172	0,109
EAC 0,27 ORG	0,076	0,072	0,077	0,076	0,080
EAC 0,55	0,193	0,215	0,211	0,203	0,217
EAC 0,55 ORG	0,140	0,141	0,143	0,163	0,166

Dentre os resultados obtidos no ensaio apresentados na tabela 1, as medidas de massa em 6 horas da amostra EAC 0,27 e EAC 0,55 foram desconsideradas, sendo resultados que passam do padrão por serem valores respectivamente acima e abaixo do padrão, possivelmente causadas por erros de medida durante o ensaio.

Os resultados de liberação do medicamento indicam uma grande liberação, logo na primeira hora de ensaio, indicando uma liberação diretamente relacionada

com a concentração da INH na argila. Além disso, após as 6 horas de ensaio ocorreu uma estabilidade na liberação, sendo liberado pouco entre 6 e 24 horas.

Comparando as amostras, pode-se observar que as amostras de argila organofílica liberaram menores massas da droga em comparação as suas amostras de mesma concentração, mas sem passar pela organofilização. Considerando os resultados obtidos pelo ensaio de difração de raio X, pode-se sugerir que as amostras EAC 0,27 ORG e EAC 0,55 ORG obtiveram uma intercalação mais homogênea entre o fármaco e a argila, demonstrado pelas mudanças dos picos da argila, como discutido anteriormente. Assim essa menor liberação do INH pode ser indicação de uma forte interação do medicamento com a argila devido a presença do sal quartenário, ou uma maior dificuldade de percorrer a argila para sua liberação.

Além disto, as amostras organofílicas apresentaram uma taxa de liberação menor no início, principalmente na amostra EAC 0,55 ORG, apresentada na Figura 32, o maior aumento de massa liberada ocorre entre 3 e 6 horas de ensaio. Isto pode indicar que esta amostra organofílica retardou mais a liberação da INH, apresentando um fator importante para um sistema de liberação controlada pela sua liberação reduzida, característica importante para um sistema de liberação controlada, sugerindo que o desenvolvimento de composto de argila estevensita sintética e isoniazida no tratamento para tuberculose é possível.

Vale apontar que algumas melhorias devem ser realizadas para a obtenção de resultados mais precisos. A retirada de amostras de solução de liberação continha parte do composto, tal que era feito em meio a mistura que estava livre pela solução tampão. A presença do composto, principalmente da argila, pode alterar a leitura do equipamento de espectroscopia de raios UV, visto os resultados em 6 horas das amostras de EAC 0,27 e EAC 0,55. Outras condições da solução durante liberação da também devem ser exploradas.

## **6. Conclusão**

Os estudos de caracterização do composto demonstram a possibilidade de intercalação da isoniazida em argila estevensita. Ensaios de difração de raio X e espectroscopia no infravermelho apontam a presença da isoniazida no composto, destacando os compostos os produzidos com a presença de sal quaternário. As curvas de termogravimétrica e a análise termogravimétrica diferencial demonstraram

que a argila possivelmente demonstrou ter uma propriedade protetora para a degradação térmica do medicamento. As micrografias geradas em microscópio eletrônico de varredura demonstram uma superfície homogênea, podendo indicar uma distribuição uniforme do fármaco nas camadas da argila.

O ensaio exploratório de liberação de isoniazida demonstram que o composto EAC/INH se apresenta como uma alternativa para sistema de liberação controlada de INH em pH 6,8, similar ao sistema intestinal. A liberação ocorre em função da concentração de medicamento presente, sendo maior no início da liberação e reduzido conforme o fármaco for liberado. As amostras organofilizadas apresentaram liberação reduzida devido as interações maiores entre o medicamento e possivelmente o sal quartenário adicionado, e um liberação retardada, característica importante que possibilita o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de isoniazida para o tratamento de tuberculose com compostos de argila estevensita sintética.



## 7. Referências Bibliográficas

ACQUISTO, N. M. Isoniazid. **ENCYCLOPEDIA of Toxicology: Third Edition**. [S. l.: s. n.], p. 1135-1137. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Tuberculose 2021**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br>>. Acesso em 1 de jun de 2022

CARAZO, E. et al. Assessment of halloysite nanotubes as vehicles of isoniazid. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 160, p. 337–344, 2017.

CARAZO, E. et al. Adsorption and characterization of palygorskite-isoniazid nanohybrids. **Applied Clay Science**, v. 160, n. December 2017, p. 180–185, 2018.

CARAZO, E. et al. Applied Clay Science Kinetic and thermodynamic assessment on isoniazid / montmorillonite adsorption. v. 165, n. August, p. 82–90, 2018.

CARAZO, E. et al. Kinetic and thermodynamic assessment on isoniazid/montmorillonite adsorption. **Applied Clay Science**, v. 165, n. August, p. 82–90, 2018.

CARVALHO, T. C., MICHEL, B. B., SILVA-VALENZUELA, M. G., HILDEBRANDO, E., NEVES, R. F., VALENZUELA-DIAZ, F. R. (2022). Simple and fast process using hydrochloric acid for producing synthetic zinc-rich stevensite. *Cerâmica*, 68 (387), 285–293.

CAVALCANTI, A. C.; ALBUQUERQUE, M. M.; De Medeiros, F. P. M.; LAVRA, Z. M. M.; SANTANA, A. K. M. Novas formas farmacêuticas como alternativa para o tratamento da tuberculose visando a diminuição de casos de multi-droga resistência. *Lat. Am. J. Pharm*, v. 28, n. 6, p. 945–8, 2009.

DE OLIVEIRA PINHEIRO, G., BATISTA, J., CARVALHO, T., ARJONA, J., DE OLIVEIRA NASCIMENTO, V. S., GAVIRIA, M., & DIAZ, F. R. V. Incorporation of isoniazid in clay minerals: a study review Incorporação de isoniazida em minerais argilosos: uma revisão do estudo. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 4595-4612, mar./apr., 2022

ERWIN, E. R. et al. Pharmacokinetics of isoniazid: The good, the bad, and the alternatives. *Tuberculosis*, v. 116, p. S66–S70, 1 maio 2019.

GARCÍA-VILLÉN, F. Clay minerals in drug delivery systems. In: **Modified Clay and Zeolite Nanocomposite Materials: Environmental and Pharmaceutical Applications**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 129–166.

HOFFMAN, A. S. Drug Delivery Systems. In: **Biomaterials Science: An Introduction to Materials: Third Edition**. [s.l.] Elsevier Inc., 2013. p. 1024–1027.

NOGUEIRA, A. F., FACCHINETTI, V., SOUZA, M. V. N. D., & VASCONCELOS, T. R. A. Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos. **Rev. Bras. Farm**, 93(1), 3-9. 2012

PRIHOD'KO, R. et al. Preparation, characterization and catalytic activity of non-hydrothermally synthesized saponite-like materials. **Studies in Surface Science and Catalysis. Anais...**Elsevier Inc., 1 jan. 2002.

RABAHI, M. F. Tratamento da tuberculose. **Jornal brasileiro de pneumologia**, v. 43, p. 472-486, 2017.

ROELOFS, J. C. A. A.; BERBEN, P. H. Preparation and performance of synthetic organoclays. **Applied Clay Science**, v. 33, n. 1, p. 13–20, 2006.

SHARMA, R. et al. Nano-Based Anti-Tubercular Drug Delivery and Therapeutic Interventions in Tuberculosis. **Current Drug Targets**, v. 18, n. 1, p. 72–86, 19 dez. 2016.

WHO. World Health Organization. **Global tuberculosis report 2021**. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>>. Acesso em 1 de jun. de 2022.