



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DAYANNE TOMAZ CASIMIRO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA HÍBRIDO A PARTIR DO EXCIPIENTE
FARMACÊUTICO MONTMORILLONITA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA
DO CITRATO DE TAMOXIFENO**

Recife

2020

DAYANNE TOMAZ CASIMIRO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA HÍBRIDO A PARTIR DO EXCIPIENTE
FARMACÊUTICO MONTMORILLONITA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DO
CITRATO DE TAMOXIFENO**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientador: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Maria Gardênnia da Fonseca

Recife

2020

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4-1790

S586d Silva, Dayanne Tomaz Casimiro da
Desenvolvimento de sistema híbrido a partir do excipiente
farmacêutico montmorillonita para liberação controlada do citrato de
tamoxifeno / Dayanne Tomaz Casimiro da Silva. - 2020.
188 f.: il.

Orientador: José Lamartine Soares Sobrinho.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco,
Centro de Ciências da Saúde (CCS). Pós-graduação em Ciências
Farmacêuticas. Recife, 2020.
Inclui referências e apêndices

1. Liberação de fármacos. 2. Modelagem. 3. Toxicidade. 4.
Tamoxifeno. 5. Argilominerais. I. Soares Sobrinho, José Lamartine
(Orientador). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2020-154)

DAYANNE TOMAZ CASIMIRO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA HÍBRIDO A PARTIR DO EXCIPIENTE
FARMACÊUTICO MONTMORILLONITA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DO
CITRATO DE TAMOXIFENO**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Doutor (a) em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em: 19/02/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Fábio Rocha Formiga (Examinador Externo)
Instituto Aggeu Magalhães
Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ

Prof. Dr. Bolívar P. G. de L. Damasceno (Examinador Externo)
Universidade Estadual da Paraíba

Prof. Dr. José Alexsandro da Silva (Examinador Externo)
Universidade Estadual da Paraíba

Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho (Examinador Externo)
Universidade Federal do Piauí

Àqueles que acreditam na Educação como instrumento de mudança, social, cultural e espiritual.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

“Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra. Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, e não nos deixa, porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.” (Charles Chaplin)

Em todo esse período de Pós-Graduação, aprendi que qualquer trabalho é a extensão do que o autor carrega em si, para que algo de valor seja produzido. Pessoa e obra são constituintes com o resultado. Por esse motivo agradeço sincera e profundamente a todas as pessoas que muito encorajaram e ajudaram a produzir algo de valor. Sei que corro o risco de não dar conta desse “muitíssimo obrigado” como é merecido, porque será difícil exprimir a beleza que foi esse movimento de energias e impulsos que foram chegando e das oportunidades que surgiram. Por isso, destaca-se também, para além da mera formalidade, um sentido: o da formação e crescimento intelectual, profissional e pessoal. Digo, nisto, que foi mais pessoal.

Para maior percepção desse sentido, devo contar que esta não foi uma caminhada breve, mas uma travessia que parecia sem fim, principalmente pelas intercorrências de toda ordem, que me atropelaram. Esses percalços, longe de obscurecerem o trajeto, aumentaram-lhe o brilho. E, ao invés de me deterem, impulsionaram-me com mais força. Se o desafio era enorme, as motivações eram grandiosas, somadas às espontâneas generosidades que fizeram possível a transformação de instantâneos momentos de angústia e sofrimento em uma estrada larga, margeada de flores, frutos e frondosas árvores. Uma estrada toda verde- repleta de cheiros, cores, e sons-cujo nome é esperança e cuja base é a busca de saberes, representada por um “feixe de possíveis”, na direção de atenção mais integral à promoção da saúde e busca de terapias possíveis de integralização e minimização de efeitos nocivos para mulheres que sofrem de temida doença, o câncer.

Dedico, algumas palavras, àqueles que dela fazem parte direta ou indiretamente, ou, ainda, pelo fato de simplesmente existirem:

A Deus e ao meu pai, por me guiar, iluminar e tranquilizar para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades, e por manter a saúde, dos meus familiares para que possam, estarem hoje, acompanhando comigo esta conquista.

A minha mãe (Socorro Casimiro) e a minha avó (Anatilde Casimiro). Nem todas as palavras serão suficientes, para pedir obrigada por tanta resiliência. Eu gostaria de pedir desculpas, por toda minha ausência (física e emocional), decorrente de longos períodos de isolamento para que esse trabalho fosse feito. Eu amo vocês.

A meu tio, Alexsandro, por ter sido a primeira pessoa, a estender a oportunidade e me oferecer uma educação melhor, por meio do estudo. Por ter sido o primeiro, a me enxergar com potencial. Por ter sido mentor, na construção da minha educação, do meu caráter e da minha vida acadêmica. E a toda a minha família, irmã, tios, sobrinho e primos. A **Alba**, minha prima irmã, a quem tanto devo, toda gratidão, por tantos momentos de mão estendida, disposta a me ajudar, me acolher, me direcionar e me escutar, muito obrigada.

Ao meu noivo, Elsilac, gostaria de agradecer por ser paciente e resiliente, por saber escutar e dividir comigo as alegrias e tristezas. Por estar comigo, vivendo, há 6 anos à distância, 6 meses longe em outro país, em prol dos meus estudos, crescimento profissional e realização dos meus sonhos. Muito obrigada por tanto carinho e incentivo.

Ao Prof. José Lamartine, pelo cordial convívio e pela oportunidade de crescimento e disponibilidade de desenvolver os meus estudos e por me induzir a pensar criticamente sob diversos aspectos e ser incentivador de crescimento profissional.

A Prof. Dra. Gardênnia na qual não tenho palavras para expressar tamanha gratidão por tanto aprendizado e compromisso com a minha educação e formação. Nesse momento, eu posso citar uma frase célebre “Algumas horas conversando com um grande mestre, podem te economizar alguns anos tentando aprender sozinho”. Obrigada por tanto, e como me disse nas nossas conversas, que sou sua “filha científica”, e morro de orgulho da mãe que tenho.

Ao Prof. espanhol Dr. Claro Ignacio Sainz-Diaz meu muito obrigada por todo esforço, dedicação, compromisso, ensinamento, pensamento crítico, responsabilidade, madrugada de um domingo de Páscoa ensinado cálculos e corrigindo a escrita, sensibilidade e acolhimento. Novamente, diante de tudo que já disse, reforço o exemplo do que é ser mestre, fundamentalmente, na essência de toda humildade, fui verdadeiramente aprendiz e prossegurei no seu exemplo.

Aos outros colegas e instrutores espanhóis, **César Viseras**, pela oportunidade e conectividade do intercambio, disponibilização dos espaços para realização dos estudos, e representatividade nas análises de caracterização. A **Fátima García Villén, Ana Borrego-Sanchez, Carola Aguzzi e Rita** obrigada pela oportunidade de cada palavra e interesse em ajudar com a realização desse trabalho, seja com a vitamina D, ou com tamoxifeno.

Aos meus companheiros, que me acolheram e disponibilizaram seu tempo para escuta e dificuldades enfrentadas, bem como para diversão e alegrias, durante o período de intercâmbio espanhol, **Vlademir, Jorge, Luana, Iane e Aline**.

A minha companheira de morada espanhola, chilena, **Maria José Fuentes Kramar**, por ter sido essencial para noites difíceis e cansativas, por cada palavra e gesto singelo, por todas

as preocupações e irmandade e por tanto ensinamento. Assim como também agradeço, as minhas companheiras de morada “nova morada” brasileiras, **Daniele Rocha e Cynthia Layse**, por ter sido apoio e companheirismo em tantos momentos essenciais da vida acadêmica e da Pós Graduação.

Ao meu melhor amigo, **José Izak**, por tanto apoio, tantas conversas, tantos incentivos, tanto olhar empático, tanta energia boa, tantas vibrações boas, tantos cromatogramas, tantos picos (hahahahaha). Obrigada por ter estado do meu lado durante todo esse tempo e obrigada por permanecer.

Ao aluno de iniciação científica, **Igor Eduardo**, por todas vezes que esteve desenvolvendo comigo esse trabalho, por tantas vidrarias lavadas e por toda ajuda. Seu trabalho foi essencial para tese. Você vai longe garoto.

Aos meus colegas de trabalho, do laboratório Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos (NCQMC) **Thaís Cardoso, Carla, Yuri, Amanda, Danda, Roberta, Kayque, Mônica e Janira**, meu muito obrigada!

“Ninguém nasce feito: é experimentando-nos no mundo que nos fazemos” (FREIRE; PAULO, 1997, p.40).

RESUMO

Um novo sistema com argilomineral numa perspectiva fármaco/argila foi investigado como uma alternativa às opções terapêuticas atuais devido às limitações do tratamento convencional. Neste estudo, condições experimentais, como pH, tempo, concentração inicial do fármaco, foram avaliados através da adsorção do fármaco citrato de tamoxifeno (TMX) com o argilomineral (Veegum®) montmorillonita (VHS). Estudos de equilíbrio e cinética foram desenvolvidos para a montmorillonita VHS/TMX com valores dentro da faixa de pH 1,5 a 7,0, tempos de reação de 1 a 720 min e concentrações de 533 a 2300 mg.L⁻¹. Cálculos atomísticos desses sistemas formados por diferentes pHs foram aplicados com base em potenciais interatômicos empíricos. Simulações teóricas foram usadas para explicar a estequiometria da intercalação de TMX em VHS para entender o comportamento experimental. Liberação *in vitro* e atividade citotóxica foram avaliados. Por outro lado, parte II do trabalho, houve a modificação da argila com tensoativo fosfatidilcolina (PC) sob diferentes concentrações, 1 mmol/L e 10 mmol/L, e em seguida foram submetidos a adsorção com TMX e avaliado os parâmetros de concentração e tempo, sob mesmo processos acima descrito, para a argila sem modificação. A interação do TMX com o VHS foi dependente de pH, com maior adsorção obtida no pH 5,5. O sistema foi descrito por um modelo de pseudo-segunda ordem. No equilíbrio, houve ajuste do modelo de Langmuir. Há influência na estrutura da argila quando há o ajuste do pH, com variabilidade na intercalação. As espécies catiônicas do tamoxifeno foram adsorvidas pelo mecanismo de troca catiônica e uma adsorção adicional da molécula como par de citrato de tamoxifeno também contribuiu na interação. Há diferença da intercalação desses componentes de acordo com os pH 3,0, 4,0 e 5,0, investigados, favoráveis em termos energéticos, e tendo maior quantidade de interações pH 3,0, seguido por pH 4,0 e pH 5,0. A interação com a superfície da argila, é inversamente proporcional a quantidade de interações, a liberação sendo assim, maior para o sistema formado em pH 5,0, após 48 h, 39,27%, sendo a atividade citotóxica maior para esse híbrido, para células do glioblastoma humano. Já o sistema com argila modificada demonstrou interações inversamente proporcional a concentração PC, sendo dependente do tempo e da concentração, porém com menores capacidades de adsorção do que a argila sem modificação devido a competição pelos sítios de ligação da PC e do TMX. Portanto, a reação de adsorção de TMX e VHS foi eficaz, por dois mecanismos, tanto por troca catiônica quanto por entrada do par iônico citrato de tamoxifeno, esse último sendo mais favorável em termos energéticos. Os híbridos formados possuem controle de liberação do fármaco e dependendo da concentração tem atividade citotóxica, sem causar danos a células normais, diminuindo efeitos colaterais. Ainda, a reação do TMX com a superfície da argila

modificada foi eficaz, e pode ser esse híbrido explorado, com maior precisão, para melhoramento da farmacoterapia desse fármaco e melhoramento de suas propriedades químicas.

Palavras-chave: Liberação de fármacos. Modelagem. Toxicidade. Tamoxifeno. Argilominerais

ABSTRACT

A new system with clay mineral in a drug / clay perspective has been investigated as an alternative to current therapeutic options due to the limitations of conventional treatment. In this study, experimental conditions, such as pH, time, initial drug concentration, were evaluated by adsorption of the drug tamoxifen citrate (TMX) with the clay (Veegum®) montmorillonite (VHS). Balance and kinetics studies were developed for montmorillonite VHS / TMX with values within the pH range 1.5 to 7.0, reaction times from 1 to 720 min and concentrations from 533 to 2300 mg.L⁻¹. Atomistic calculations of these systems formed by different pHs were applied based on empirical interatomic potentials. Theoretical simulations were used to explain the stoichiometry of TMX intercalation in VHS to understand the experimental behavior. In vitro release and cytotoxic activity were evaluated. On the other hand, part II of the work, there was the modification of the clay with phosphatidylcholine (PC) surfactant under different concentrations, 1 mmol / L and 10 mmol / L, and then they were subjected to adsorption with TMX and the concentration parameters and time, under the same processes described above, for the clay without modification. The interaction of TMX with VHS was pH dependent, with greater adsorption obtained at pH 5.5. The system was described by a pseudo-second order model. In the balance, there was adjustment of the Langmuir model. There is an influence on the clay structure when the pH is adjusted, with variability in the intercalation. The cationic species of tamoxifen were adsorbed by the cation exchange mechanism and an additional adsorption of the molecule as a pair of tamoxifen citrate also contributed to the interaction. There is a difference in the intercalation of these components according to the pH 3.0, 4.0 and 5.0, investigated, favorable in terms of energy, and having a greater amount of interactions pH 3.0, followed by pH 4.0 and pH 5, 0. The interaction with the clay surface is inversely proportional to the amount of interactions, the release being, therefore, greater for the system formed at pH 5.0, after 48 h, 39.27%, the cytotoxic activity being greater for this hybrid, for human glioblastoma cells. The modified clay system, on the other hand, showed interactions inversely proportional to the PC concentration, being dependent on time and concentration, but with less adsorption capacities than the unmodified clay due to competition for the binding sites of the PC and the TMX. Therefore, the adsorption reaction of TMX and VHS was effective, by two mechanisms, both by cation exchange and by input of the tamoxifen citrate ion pair, the latter being more favorable in terms of energy. The hybrids formed have drug release control and, depending on the concentration, have cytotoxic activity, without causing damage to normal cells, reducing side effects. Still, the reaction of TMX with the modified clay surface was

effective, and this hybrid can be explored, with greater precision, to improve the pharmacotherapy of this drug and to improve its chemical properties.

Keywords: Drug release. Modeling. Toxicity. Tamoxifen. Clay minerals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Fórmula molecular do citrato de tamoxifeno.....	31
Figura 2-	Ativação metabólica do tamoxifeno para metabólitos fenólicos que possuem alta afinidade de ligação ao receptor de estrogênio humano tanto o 4-hidroxitamoxifeno quanto o endoxifeno são potentes antiestrogênicos <i>in vitro</i>	34
Figura 3-	Esquematização das estruturas que classificam os silicatos de acordo com o arranjo dos grupamentos tetraédricos SiO_4	38
Figura 4-	Unidades estruturais dos filossilicatos a) Unidades tetraédricas e respectivos átomos e b) Unidades octaédricas e respectivos átomos....	39
Figura 5-	Modelos das estruturas em camadas a) difórmicas do tipo 1:1, camadas tetraédricas/octaédricas e b) trifórmicas do tipo 2:1, camadas tetraédricas/ octaédricas/ tetraédricas.....	40
Figura 6-	Estrutura esquemática de um sólido lamelar.....	40
Figura 7-	Estrutura da Montmorillonita.....	46
Figura 8-	Estrutura 3D do tamoxifeno e suas dimensões (software Gaussview)..	81
Figura 9-	(a) Efeito do pH na adsorção do TMX em VHS (Veegum [®]) e especiação do citrato (linhas tracejadas) e tamoxifeno (linhas completas vermelhas e pretas), dentro da faixa de pH de 1,5 a 7,0 (b) 1 a 7 confórmeros das formas do citrato e 1 formas tautoméricas com base no software MarvinSketch 17.16. A dimensão do TMX foi descrita utilizando o Gaussview Software.....	91
Figura 10-	Efeito do tempo de contato na adsorção do TMX na superfície do VHS (Veegum [®]).....	92
Figura 11-	Representação gráfica dos modelos cinéticos de (i) pseudo-primeira ordem (ii) pseudo-segunda ordem e (iii) Elovich.....	93
Figura 12-	Isoterma de adsorção até atingir o equilíbrio do TMX na superfície do VHS (Veegum [®]).....	94
Figura 13-	Ajuste linear dos dados de equilíbrio para (i) Langmuir (ii) Freundlich e (iii) Temkin.....	95
Figura 14-	Ajuste não-linear aos modelos de Langmuir, Freundlich e Tenkim.....	96

Figura 15-	Padrões de DRX para os complexos VHS e TMX/V HS preparados na faixa de pH de 1,5 a 7,0.....	98
Figura 16-	Espectros de infravermelho do fármaco, VHS e do sistema formado por VHS/TMX obtido nos pHs a) 1,5 a 4,0 e b) 5,5 a 7,0.....	99
Figura 17-	Espectro de infravermelho aproximado das regiões a) 4000-2850 cm ⁻¹ e b) 900-650 cm ⁻¹ para o fármaco TMX, VHS e os sistemas VHS/TMX formados em pHs de 1,5 até 7,0.....	101
Figura 18-	Perfil TGA e DTG do (a) VHS (b) Tamoxifeno (TMX) e (c) sistema VHS/TMX obtidos a pH 5.....	102
Figura 19-	Perfis de calorimetria exploratória diferencial (DSC) dos componentes VHS (perfil laranja), TMX (perfil preto) e VHS/TMX pH 5 (perfil azul).....	103
Figura 20-	Imagens HRTEM dos complexos VHS/TMX obtidos em sistemas de pH 5 a) imagem geral da amostra com magnitude de 200 nm, com a1) região granular (presença de silício amorfo) e espectro no EDS e a2) região lamelar e seu espectro, b) região ampliada 10 nm e o respectivo EDS espectral demarcando (em linhas amarelas) as folhas de argila e o espaçamento basal de 1,03 nm, c) mapeamento elementar EDX de c1) Si-silício, c2) N-nitrogênio e c3) Al- alumínio.....	104
Figura 21-	Curvas gráficas originais, demonstrando a distribuição média das partículas em volume e número para a) VHS primitivo, e para os sistemas VHS/TMX produzidos em b) pH 3,0 c) pH 4,0 e d) pH 5,0.....	106
Figura 22-	Distribuição média do tamanho de partícula para o VHS e os sistemas formados em diferentes pHs, VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5.....	109
Figura 23-	Medidas de potencial Zeta das amostras VHS, VHS/TMX, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 e TMX, suspensas em água ultra purificada.....	109
Figura 24-	Padrão de DRX do pó cristalino citrato de tamoxifeno bruto e utilizado na formação dos sistemas híbridos experimentalmente e o padrão de DRX da estrutura cristalina do citrato de tamoxifeno simulado, otimizada com a interface PCFF com carga FF.....	112

Figura 25-	Estrutura cristalina do citrato de tamoxifeno após a otimização pelo campo de força com interface PCFF, vista dos planos (010) e (001)...	114
Figura 26-	Estrutura cristalina detalhada para destacar as interações NH...O=COcit.....	114
Figura 27-	Detalhe da estrutura cristalina para mostrar as interações OHcit...O=COcit e O=COcit...HOcit.....	115
Figura 28-	Estrutura otimizada do citrato de tamoxifeno indicando os rótulos dos anéis aromáticos (1 benz, 2 benz e 3 benz) e a molécula do citrato (cit). Os átomos de C, H, N e O são descritos pelas cores cinza, branco, azul e vermelho, respectivamente. Esses padrões de cores são mantidos no restante das figuras deste trabalho.....	115
Figura 29-	Adsorção do cátion tamoxifeno colocado paralelamente à superfície da montmorillonita após sua otimização com 12 moléculas de água VHS_1TMX_12w_5Na, vistas do plano (100).....	117
Figura 30-	Adsorção do cátion tamoxifeno colocado paralelamente à superfície da montmorillonita após sua otimização com 6 moléculas de água VHS_1TMX_6w_5Na, vistas do plano (100).....	118
Figura 31-	Adsorção dos cátions tamoxifenos colocados paralelamente à superfície da montmorillonita após sua otimização formando o modelo VHS_4TMX_6w_2Na.....	119
Figura 32-	Modelo de adsorção otimizado VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na simulando os dados experimentais para o sistema VHS/TMX formado a partir do pH 3,0.....	121
Figura 33-	a) Modelo de adsorção otimizado VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na simulando os dados experimentais para o sistema VHS/TMX formado a partir do pH 4,0, vista do plano (100) b) interação entre o TMX 2 e o TMX 3.....	122
Figura 34-	Modelo de adsorção otimizado VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na simulando os dados experimentais para o sistema VHS/TMX formado a partir do pH 5,0, vista do plano (100).....	124
Figura 35-	Modelos otimizados de adsorção VHS_2TMX_2citTMX_6w_4Na.....	126
Figura 36-	Modelos otimizados de adsorção VHS_1TMX_3citTMX_6w_5Na.....	127
Figura 37-	Modelos otimizados de adsorção VHS_4citTMX_6w_6Na.....	128

Figura 38-	Padrões experimentais de difração de raio x comparados com os simulados a partir dos modelos teóricos a) VHS/YMX pH 3 com VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na b) VHS/TMX pH 4 com VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na c) VHS/TMX pH 5 com VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na.....	132
Figura 39-	Padrões de liberação in vitro do tamoxifeno no fluido gástrico a) pH 1,2 e no fluido intestinal simulado b) pH 6,8, para os sistemas VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5, a $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$; os dados representam a média $\pm$ SD (n=3).....	133
Figura 40-	Espectros de infravermelho dos híbridos antes e após a dissolução para a) VHS/TMX H 3, b) VHS/TMX pH 4 e c) VHS/TMX pH 5, d) TMX livre e d) VHS.....	137
Figura 41-	Curvas TGA e DTG para a) fármaco livre TMX, b) VHS c) VHS/TMX pH 5, antes, e após a dissolução nos meios pH 1,2 e pH 6,8 e d) Curvas DSC para os fármaco livre TMX e VHS/TMX pH 5, antes e após a dissolução para os meios pH 1,2 e pH 6,8.....	139
Figura 42-	Microscopia de Força Atômica (AFM) da amostra VHS/TMX pH 5 após o processo de dissolução/dessorção em meios simulados a) pH 1,2- Imagem 3D-15 μm b) pH 1,2- Imagem 3D- 5 μm c) Imagem de PHASE: pH 1,2- 0,5 μm d) pH 6,8- Imagem 3D- 15 μm e) pH 6,8- Imagem 3D- 5 μm f) Imagem de PHASE: pH 6,8- 0,5 μm . Todas as imagens com resolução de 512 pixels.....	141
Figura 43-	Histograma de tamanho de partícula para a amostra VHS/TMX pH 5 após a dissolução em a) pH 1,2 e b) pH 6,8.....	142
Figura 44-	Percentual inibitório por concentração do citrato de tamoxifeno contidos nos sistemas testados em diferentes linhagens de células tumorais: HCT-116 (câncer de cólon), PC3 (câncer de próstata), SNB19 (glioblastoma), MCF7 (câncer de mama) e L922 (fibroblasto).....	145
Figura 45-	Efeito do tempo de contato na adsorção do TMX na superfície da montmorillonita (Veegum®) modificada com fosfatidilcolina 1mmol/L e 10 mmol/L formando os híbridos VHS-PC 1mmol/L/TMX e VHS-PC 10mmol/L/TMX.....	146

Figura 46-	Representação gráfica dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem para os híbridos VHS-PC 1mmol/L/TMX e VHS-PC 10mmol/L/TMX.....	147
Figura 47-	Isotermas de adsorção até atingir o equilíbrio do TMX na superfície do VHS (Veegum®) modificado com fosfatidilcolina 1mmol/L e 10mmol/L.....	148
Figura 48-	Ajuste linear dos dados de equilíbrio para Langmuir e Freundlich para os híbridos formados com 1mmol/L de fosfatidilcolina e 10mmol/L.....	149
Figura 49-	Padrões de DRX do VHS, e dos híbridos formados antes da adsorção do fármaco VHS-PC 1mmol/L e VHS-PC 10mmol/L e após adsorção do TMX.....	151
Figura 50-	a) Imagens HRTEM das amostras de VHS-PC 1mmol/L/TMX com campo de 0,2 μm b) Imagens de alta resolução com campo em 50 nm, exibindo (círculo preto) lamelas com espaçamento basal (d 001) de 2,01 nm c) espectro EDS e d) mapeamento químico da região circular, demonstrando presença do híbrido nitrogênio e fósforo.....	152

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Classificação dos filossilicatos planares.....	41
Tabela 2-	Nomes das argilas descritas nos compêndios oficiais que podem ser utilizadas para produtos farmacêuticos e cosméticos.....	42
Tabela 3-	Revisão das aplicabilidades como excipientes da argila montmorillonita para formação com amplas funcionalidades.....	43
Tabela 4-	Descrição das várias aplicações no desenvolvimento de híbridos argila montmorillonita/fármaco para liberação controlada.....	56
Tabela 5-	Descrição das várias aplicações realizadas com argilominerais e fármacos sob aspectos teóricos de modelagem molecular.....	66
Tabela 6-	Parâmetros cinéticos e coeficientes de regressão linear para adsorção do TMX na superfície do VHS (Veegum®). (Condições experimentais: 0,1g de sólido, pH 5,5 e concentração inicial do fármaco de 1660 mg.L ⁻¹).....	93
Tabela 7-	Parâmetros de adsorção de tamoxifeno em VHS (Veegum®) segundo os modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin pelo método linear e não linear.....	95
Tabela 8-	Parâmetros celulares da estrutura cristalina totalmente otimizada de citrato de tamoxifeno com diferentes cargas FF e atômicas comparados com os valores experimentais (distâncias em Å e ângulos em °).....	110
Tabela 9-	Principais características geométricas (comprimentos de ligação em Å e ângulos °) das estruturas experimentais e calculadas do cristal de citrato de tamoxifeno (Cry) e do par isolado de citrato de TMX (Isso)..	111
Tabela 10-	Modelos usados na supercélula 3x2x1 com balanço de massa e diferença entre reagentes e produtos.....	129
Tabela 11-	Parâmetros das células reticuladas e energia de adsorção (kcal/mol) dos modelos otimizados do complexo de adsorção montmorillonita/tamoxifeno (distâncias em Å e ângulos em °).....	130
Tabela 12-	Solubilidade aparente do TMX em meio HCl (pH 1,2) e tampão fosfato (pH 6,8) e quantidade de adsorção de tamoxifeno na argila montmorillonita para formação dos sistemas híbridos em (mg/g).....	133

Tabela 13-	Descrição das concentrações ($\mu\text{g/mL}$) específicas dos sistemas híbridos VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 para o ensaio de citotoxicidade com respectivas concentrações de TMX contidas em cada um dos sistemas proporcionais a cada concentração, respectivamente.....	142
Tabela 14-	Atividade citotóxica <i>in vitro</i> , valores de IC_{50} do fármaco livre tamoxifeno e dos sistemas híbridos VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 com respectivos valores da concentração de tamoxifeno contido nesses sistemas em $\mu\text{g/mL}$	143
Tabela 15-	Parâmetros cinéticos e coeficientes de regressão linear para adsorção TMX na superfície da argila modificada organicamente com tensoativo.....	147
Tabela 16-	Parâmetros da isoterma de equilíbrio da adsorção do TMX na superfície da argila modificada organicamente com tensoativo, seguindo os modelos na forma linear de Langmuir e Freundlich.....	149

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
1.1	OBJETIVOS.....	27
1.1.1	Objetivos Gerais.....	27
1.1.2	Objetivos Específicos.....	27
2	REFERENCIAL TEORICO.....	29
2.2	CÂNCER E QUIMIOTERAPIA.....	29
2.2.1	Tamoxifeno.....	31
2.2.1.1	Características químicas e físico-químicas da estrutura.	31
2.2.1.2	Propriedades biofarmacêuticas e farmacêuticas e farmacocinéticas.....	32
2.2.1.2.1	<i>Absorção.....</i>	32
2.2.1.2.2	<i>Distribuição.....</i>	33
2.2.1.2.3	<i>Metabolismo.....</i>	33
2.2.1.2.4	<i>Eliminação.....</i>	34
2.2.1.3	Propriedades farmacodinâmicas do tamoxifeno.....	34
2.2.1.3.1	<i>Efeitos adversos.....</i>	36
2.3	EXCIPIENTES INORGÂNICOS NATURAIS.....	37
2.3.1	Argilas.....	37
2.3.2	Argilominerais.....	38
2.3.2.1	Filossilicatos.....	39
2.3.2.1.1	<i>Montmorillonita.....</i>	43
2.3.3	Processos de adsorção.....	48
2.3.3.1	Isoterma de Langmuir.....	48
2.3.3.2	Isoterma de Freundlich.....	49
2.3.3.3	Isoterma de Temkin.....	50
2.3.3.4	Análise de regressão aplicada adsorção.....	50
2.3.4	Estudos cinéticos.....	52
2.3.4.1	Modelo cinético de pseudo-primeira ordem.....	52
2.3.4.2	Modelo cinético de pseudo-segunda ordem.....	53
2.3.4.3	Modelo cinético de Elovich.....	53

2.4	MONTMORILLONITA COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS.....	54
2.4.1	Organofilização.....	63
2.5	METODOLOGIA COMPUTACIONAL.....	65
2.5.1	Teorias e métodos.....	58
2.5.1.1	Mecânica Quântica (MQ).....	75
2.5.1.2	Mecânica Molecular (MM).....	76
2.5.1.2.1	<i>Campos de Forças.....</i>	<i>78</i>
	a) Condensed-Phase Optimized Molecular Potentials for Atomistic Simulation Studies (COMPASS).....	78
	b) Universal Force Field.....	78
	c) Polymer-consistent Forcefield for Interface (pcff_interface).....	78
2.5.1.3	Pacote de cálculos de modelização.....	79
3	MATERIAL E MÉTODO.....	81
3.1	MATERIAL.....	81
3.2	PREPARAÇÃO DO HÍBRIDO VHS/TMX- EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO.....	81
3.3	CARACTERIZAÇÕES.....	82
3.4	METODOLOGIA COMPUTACIONAL.....	84
3.5	MODELOS TEÓRICOS.....	84
3.6	DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE EQUILÍBRIO DO TMX.....	84
3.7	ESTUDO DE DISSOLUÇÃO.....	84
3.8	CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS PÓS PROCESSOS DE DISSOLUÇÃO.....	84
3.9	ENSAIO DE CULTURA CELULAR.....	87
3.9.1	Cultura celular.....	87
3.9.2	Cultura de células, exposição dos sistemas de liberação VHS/TMX e ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> (MTT).....	88

3.10	PREPARAÇÃO DE MONTMORILLONITA MODIFICADA COM TENSOATIVO.....	88
3.11	PREPARAÇÃO DO HÍBRIDO MONTMORILLONITA MODIFICADA COM TENSOATIVO/ADSORÇÃO DO FÁRMACO (VHS-PC/TMX).....	89
3.12	CARACTERIZAÇÕES DO SISTEMA VHS-PC/TMX.....	89
4	RESULTADOS.....	90
4.1	EFEITO DO pH NA ADSORÇÃO DO TMX EM VHS.....	90
4.2	CINÉTICA DE ADSORÇÃO.....	92
4.3	ISOTERMA DE ADSORÇÃO.....	94
4.4	AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO PROCESSO DE ADSORÇÃO VHS/TMX- CARACTERIZAÇÕES.	97
4.4.1	Difração de Raio X (DRX).....	97
4.4.2	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	98
4.4.3	Análise termogravimétrica (TGA) e calorimétrica de varredura (DSC).....	102
4.4.4	Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM).....	103
4.4.5	Análise por tamanho e distribuição de partículas e agregados em suspensão (PDS).....	106
4.5	CÁLCULOS COMPUTACIONAIS DA OTIMIZAÇÃO DO CITRATO DE TAMOXIFENO E DAS INTERAÇÕES DO CITRATO DE TAMOXIFENO COM A MONTMORILLONITA (VHS) EM NÍVEL MOLECULAR.....	110
4.5.1	Estrutura cristalina do citrato de tamoxifeno e estrutura molecular do citrato de tamoxifeno.....	110

4.5.2	Cálculos computacionais das interações do citrato de tamoxifeno e a montmorillonita (VHS) em nível molecular.....	115
4.5.2.1	Modelos com influência da água e quantidade de tamoxifeno.....	115
4.5.2.2	Modelos que simulam a influência do pH.....	120
4.5.2.3	Modelos com influência da variação do par iônico/adção de sal de citrato.....	125
4.6	DIFRAÇÃO DE RAIO-X SIMULADO.....	131
4.7	ESTUDOS DE EFICIÊNCIA DE DISSOLUÇÃO E MECANISMO DE LIBERAÇÃO.....	133
4.8	CARACTERIZAÇÃO DOS HÍBRIDOS APÓS PROCESSOS DE DISSOLUÇÃO.....	135
4.9	ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS SISTEMAS HÍBRIDOS ESTUDADOS.....	142
4.10	EFEITO DA CINÉTICA E ISOTERMA DE ADSORÇÃO PARA FORMAÇÃO DOS HÍBRIDOS FORMADOS A PARTIR DA ARGILA MODIFICADA ORGANICAMENTE COM TENSOATIVO.....	145
4.11	CARACTERIZAÇÕES DOS HÍBRIDOS.....	150
5	CONCLUSÃO.....	153
5.1	PERSPECTIVAS.....	156
	REFERÊNCIAS.....	157
	APÊNDICE-A- CERTIFICADO DE TRABALHO DO 4ª RAA.....	179
	APÊNDICE-B- CERTIFICADO DE TRABALHO DO 4ª RAA.....	179
	APÊNDICE-C- CERTIFICADO DE MINICURSO DO 4ª RAA.....	180
	APÊNDICE-D- CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO DO 4ª RAA.....	180

APÊNDICE-E- ARTIGO 1 PUBLICADO NA APPLIED CLAY SCIENCE.....	181
APÊNDICE-F- CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO 5ª RAA.....	182
APÊNDICE-G- CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO ORAL 5ª RAA.....	182
APÊNDICE-H- CERTIFICADO DE TRABALHO NA 5ª RAA.....	183
APÊNDICE-I- CERTIFICADO DE TRABALHO NA 5ª RAA.....	183
APÊNDICE-J- CERTIFICADO DE MINICURSO NA 5ª RAA.....	184
APÊNDICE-K- CERTIFICADO DE TRABALHO I WORKSHOP DE CM2019.....	184
APÊNDICE-L- CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO ORAL NO 1º EPPGCF- UFPE.....	185
APÊNDICE- M- CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO DO 1º EPPGCF- UFPE.....	185
APÊNDICE-N- PATENTE DEPOSITADA UFPE- INPI.....	186
APÊNDICE-O- ARTIGO 2 PUBLICADO MICROPOROUS AND MESOPOROUS MATERIALS.....	187
APÊNDICE-P- CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO DO SEFIG.....	188

1 INTRODUÇÃO

Uma boa ideia só pode ser considerada inovação se revertida à sociedade, seja pela divulgação do conhecimento gerado ou na oferta de produtos e serviços diferenciados que possuam um valor agregado (ISSA, 2015). Isso, voltado para área farmacêutica, pode ser transpassado para escala tecnológica na criação de arsenais terapêuticos em benefício direto ao paciente.

Por exemplo, o câncer de mama é a principal causa de morte por câncer, em mulheres (Shete *et al.*, 2013) e é um problema de saúde pública no Brasil (Chang *et al.*, 2019; Siegel, Miller e Jemal, 2019), que afetou, aproximadamente, 12 a cada 100.000 mil mulheres em 2011 (Figueiredo e Adami, 2018). Os 70% das pacientes são diagnosticados principalmente como receptor positivo de estrogênio (ER). Portanto, um tratamento com um antagonista de ER como o tamoxifeno, tem sido uma estratégia promissora nessa luta (Das *et al.*, 2019; Khan, Allerton e Pettit, 2015).

O tamoxifeno (TMX), ($C_{26}H_{29}NO$ - Z)-2-(para-(1,2-difenil-1-butenil)fenoxi)- N, N-dimetiletilamina, possui uma cadeia etoxi-metilamino, essencial para a sua atividade biológica antiestrogênica e é classificada na classificação biofarmacêutica como classe II (Altmeyer *et al.*, 2016). Está disponível comercialmente como um sal de citrato. Essa associação é realizada para aumentar a estabilidade e a solubilidade em meio aquoso. No entanto, seu uso como formulação de sal não é uma garantia para aumentar sua biodisponibilidade, devido às propriedades lipofílicas da molécula (Ono *et al.*, 2016; Wiedmann e Naqwi, 2016).

Em geral, o tamoxifeno apresenta inúmeras questões biofarmacêuticas e toxicológicas devido ao tratamento a longo prazo, normalmente de 3 a 5 anos. Assim, o tratamento pode resultar em vários efeitos colaterais, devido aos vários mecanismos que medeiam sua ação. Além das ações farmacológicas, devido à sua estrutura química, é provável a ocorrência de precipitação como base livre no ambiente ácido do estômago, o que reduz sua biodisponibilidade na faixa de 20 a 30 % (Shete *et al.*, 2013; Shete e Patravale, 2013).

Portanto, sistemas controlado de administração de medicamentos têm sido responsáveis por garantir melhores características físicas e químicas, bem como, afim de melhorar a taxa de dissolução de medicamentos lipossolúveis em processos biofarmacêuticos (Jena *et al.*, 2014; Shete e Patravale, 2013). Vários compostos estão disponíveis para formar vários sistemas nanocarreadores e podem ser geralmente classificados em materiais naturais ou sintéticos, incluindo polímeros, lipídios, surfactantes e híbridos inorgânicos. Esses últimos surgiram como uma alternativa, por possuírem características multifuncionais, inerentes de suas propriedades químicas, físico-químicas, biológicas e mecânicas, além de serem produtos biocompatíveis e

possuir baixa toxicidade (Davoodi *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2016). Incluindo esses, os minerais argilosos, produtos naturais ou sintéticos, têm sido amplamente aplicados como veículo para liberação prolongada de diferentes fármacos (Aguzzi *et al.*, 2010; Aguzzi, C. *et al.*, 2014; Aguzzi, Carola *et al.*, 2014; Apps *et al.*, 2014; Borrego-Sánchez, Carazo, *et al.*, 2018; Carazo *et al.*, 2018; Gil *et al.*, 2016; Trivedi *et al.*, 2018; Viseras *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2016).

Entre as argilas, a montmorillonita (MMT) é amplamente utilizada na indústria farmacêutica como excipiente, que tem sido estudada como transportadora inteligente com novos mecanismos de adsorção, permitindo a entrega controlada de fármacos (Kohay *et al.*, 2017; Ramazani Afarani, Sarvi e Akbari Alavijeh, 2018). Montmorillonita, $M_y(Si_4)(Al_{2y}Mg_y)O_{10}(OH)_2$, é um filossilicato 2:1 com uma folha octaédrica (O) entre duas folhas tetraédricas (T) (Bergaya e Lagaly, 2006; Schoonheydt e Johnston, 2006). As substituições isomórficas nas folhas de O (Al^{3+} por Mg^{2+}) e T (Si^{4+} por Al^{3+}) resultam em carga negativa que é contrabalanceada por cátions trocáveis (Na^+ e Ca^{2+}) presentes no espaço entre as camadas (Brigatti, Galan e Theng, 2013).

Portanto, a interação da montmorillonita com outros cátions em solução aquosa pode resultar na troca de íons interlamelares originais com os da solução. Além disso, o espaço entre as camadas da MMT também é acessível à água e a outras moléculas (Borrego-Sánchez, Carazo, *et al.*, 2018; Brigatti, Galan e Theng, 2013; Jayrajsinh *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017). Processos posteriores podem resultar em produtos de intercalação, nos quais as espécies químicas interagem reversivelmente com as camadas por forças de Van der Waals, interações eletrostáticas ou modificações químicas (Králík, 2014; Zhu *et al.*, 2016).

A adsorção de moléculas orgânicas em minerais argilosos pode estar na superfície externa (Sadri *et al.*, 2018) ou no espaço interlamelar (Liu *et al.*, 2015a) e depende de algumas variáveis, como concentração, temperatura, tempo de contato, pressão e pH (Bergaya e Lagaly, 2006; Hassan e Ibrahim, 2011; Mar Orta, del *et al.*, 2019; Schoonheydt e Johnston, 2006; Stanly *et al.*, 2019). Portanto, o conhecimento, dos processos de obtenção, incluindo essas variáveis, bem como das espécies em solução e da superfície dos materiais, são importantes para determinar mecanismos de interação, formação dos complexos fármaco/sólido e liberação do fármaco. Para interpretar o efeito dessas variáveis dos processos de obtenção, é extremamente necessário obter informações sobre as moléculas estudadas (Hassan e Ibrahim, 2011; Schoonheydt e Johnston, 2006). Ferramentas computacionais podem ser utilizadas para a compreensão das relações envolvidas na adsorção e na formação de sistemas adsorvente-adsorvato (Borrego-Sánchez, Gómez-Pantoja, *et al.*, 2018; Borrego-Sánchez, Awad e Sainz-Díaz, 2018; Souza, Iane M.S. *et al.*, 2020).

Também, é importante destacar que esses materiais podem ser modificados, afim de remediação ambiental, síntese de material, para maiores concentrações de adsorção de moléculas bioativas e aumento da solubilização gastrointestinal (Denning *et al.*, 2017; Feeney *et al.*, 2016). A argila pode ser modificada com surfactante anfóteros, e têm despertado um grande interesse (Liu *et al.*, 2017), a exemplo da fosfatidilcolina, por não serem tóxicos, serem biodegradáveis e utilizados seguramente para materiais biológicos, sendo biocompatíveis, e utilizadas por muitos cientistas, para construção de materiais de biointerfaces avançadas e multifuncionais, além de possuir excelente solubilidade em água (Beall e Goss, 2004; Gamba *et al.*, 2017; Wicklein, 2011).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar a eficácia do processo de adsorção da argila montmorillonita com o fármaco citrato de tamoxifeno, verificar os fenômenos interfaciais, realizar e avaliar modelagem molecular utilizando métodos em campos de força atômica e metodologia computacional, verificar o processo de liberação do híbrido obtidos por pHs diferentes, avaliar atividade celular e relatar a eficiência da adsorção do fármaco na superfície da argila organofilizada com fosfatidilcolina.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivos Gerais

Estudar a nível experimental e teórico as interações do fármaco citrato de tamoxifeno com o excipiente mineral montmorillonita para um sistema controlado com atividade anticancerígena.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Realizar estudos da influência do pH na adsorção do tamoxifeno associado a montmorillonita utilizando faixa de pH 1,5 a 7,0;
- Realizar estudos da influência do tempo e da concentração e aplicar modelos cinéticos e de equilíbrio aos sistemas estudados;
- Caracterizar os híbridos formados pelos pHs de 1,5 a 7,0 por técnicas estruturais, morfológicas e térmicas;
- Verificar a influência e importância dos cálculos teóricos e comparar com os dados experimentais;
- Reproduzir a nível teórico a estrutura molecular e cristalina do citrato de tamoxifeno e estabelecer uma metodologia computacional que descreva adequadamente a estrutura molecular e cristalina do fármaco;

- Calcular as frequências teóricas de vibração da molécula de citrato de tamoxifeno com distintos métodos e comparar os resultados com os valores de frequência experimentais;
- Obter produtos de interação tamoxifeno/argila com 6 e 12 moléculas de água, como estratégia de verificar a influência da água na adsorção do fármaco tamoxifeno utilizando modelo matemático adequado sob análise da energia de adsorção favorável;
- Obter produtos de interação tamoxifeno/argila, e avaliar a influência de entrada dos cátions tamoxifeno e do par iônico citrato de tamoxifeno e verificar a variabilidade da combinação desses elementos quando formado os híbridos sob pHs 3,0, 4,0 e 5,0 e verificar as energias de adsorção favoráveis;
- Caracterizar os produtos de interação teóricos, formados a partir das condições experimentais sob pH 3,0, 4,0 e 5,0, por simulação difração de elétrons utilizando o pacote Reflex do software Materials Studio e comparar com as difrações de raio x experimentais, observando o espaçamento interlamelar;
- Realizar estudos de liberação *in vitro* simulando os pHs 1,2 e 6,8 para verificar a eficiência de liberação dos híbridos formados em pH 3,0, 4,0 e 5,0 e verificar a influência das interações moleculares e da lixiviação do material na liberação do fármaco citrato de tamoxifeno;
- Caracterizar os híbridos, após o processo de dissolução em diferentes pHs 1,2 e 6,8, por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, análise termogravimétrica, análise calorimétrica de varredura diferencial (DSC) e microscopia de força atômica (AFM);
- Realizar estudo *in vitro* de avaliação do potencial citotóxico das amostras formadas por diferentes pHs 3,0, 4,0 e 5,0 e verificar a influência de formação, interações e dessorção do fármaco sob o potencial citotóxico frente a células cancerígenas e normais;
- Realizar a organofilização da argila montmorilonita utilizando um tensoativo anfifílico fosfatidilcolina sob diferentes molaridades;
- Realizar estudos da influência do tempo e da concentração na adsorção da argila organofilizada com o fármaco citrato de tamoxifeno e aplicar os modelos cinéticos e de equilíbrio aos sistemas estudados;
- Caracterizar os híbridos, por difração de raio x e por microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução com análise de espectroscopia de raio X por energia dispersiva (EDS) e mapeamento elementar HAADF-STEM.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.2 CÂNCER E QUIMIOTERAPIA

A carcinogênese é um fenômeno complexo que inclui etapa de iniciação, promoção e progressão. As células são expostas a agentes carcinogênicos e essas espécies interagem com o DNA, modificando seus genes, no qual se tornam genotóxicos. Diante disso, o crescimento celular fica desorganizado e, caso não detectado, pode haver a progressão e invasão das células em metástase (Barke e Freivogel, 2017; Iqbal *et al.*, 2018).

Em termos globais, excluindo os cânceres de pele não melanoma, o câncer de mama constitui o mais frequente e comum tumor maligno entre as mulheres. Para o Brasil, estimam-se 59.700 novos casos de câncer de mama, para cada ano do biênio 2018-2019, com um risco estimado de 56,33 casos para cada 100 mil mulheres (Kufe, 2003). Para o estado de Pernambuco, o INCA estimou 2450 novos casos, uma incidência de 51,64 casos a cada 100 mil mulheres em 2014. Com essa estimativa a taxa de sobrevivência aumenta com a detecção precoce e com o tratamento adequado para a doença e isso é particularmente importante para as mulheres com câncer de mama, pois segundo o National Cancer Institute (NCI) estima-se que 89,4% das mulheres diagnosticadas com câncer de mama locorregional (envolvendo os gânglios linfáticos da mama) sobrevivam além de 5 anos (Secretaria estadual de Saúde, 2016; Silva, 2016; Zdenkowski *et al.*, 2016).

Por ser uma doença heterogênea, o câncer de mama é classificado de acordo com parâmetros clínicos, histopatológicos e moleculares, a fim de predizer sobre o comportamento do tumor e fornecer estratégias terapêuticas (Franceschi, 2017). Ao nível molecular, pela presença ou ausência de receptores de estrogênio (RE), receptores de progesterona (RP) e Human Epidermal Growth Factor 2 (HER2) presentes nas células neoplásicas. É com base nesses receptores, detectados através da análise imuno-histoquímica, que são fundamentados os prognósticos e o estágio da doença, baseados nessas classes moleculares. E dessa forma, podem se dividir em tumores receptores estrogênicos positivos (RE+), tumores HER-2 positivos e tumores negativos (Furth, 2014; Silva, 2016).

Todos esses subtipos moleculares requerem um tratamento específico e que estão disponíveis algumas intervenções, tanto no contexto curativo, quando é utilizada com o objetivo de se conseguir controle completo do tumor. Neoadjuvante, que é indicada para se obter a redução parcial do tumor, visando permitir uma complementação terapêutica com a cirurgia e/ou radioterapia. Adjuvante, quando se segue à cirurgia curativa, tendo o objetivo de esterilizar células residuais locais ou circulantes, diminuindo a incidência de metástases à distância. Ou no contexto paliativo, que não tem finalidade curativa, porém é utilizada para melhorar a

qualidade de sobrevivência do paciente (Abotaleb *et al.*, 2018; Bourdeanu e Liu, 2015; Castaneda e Strasser, 2017; Cinausero *et al.*, 2018; Shah *et al.*, 2018).

A quimioterapia pode ser baseada em terapia adjuvante e neoadjuvante, e é um dos preferenciais suportes para o câncer de mama na fase de metástase. Tem como tratamento preferencial a hormonioterapia, terapia hormonal ou terapia endócrina, fornecendo eficazes opções de tratamento para esses pacientes pré e pós-menopáusicas, que tem previamente, o diagnóstico positivo, baseado na avaliação da imuno-histoquímica (Duarte Cintra *et al.*, 2012; Silva, 2016).

Alguns tumores na presença de estrógenos apresentam maior crescimento, dessa forma esses fármacos impedem a ação hormonal, podendo ser efetiva no tratamento desses pacientes, reduzindo dessa maneira a atuação desses hormônios em diferentes locais do corpo, diminuindo assim a estimulação estrogênica (hormonal) nesses tecidos (Karthik *et al.*, 2015; Silva, 2016).

De um modo geral, a terapia hormonal é realizada através do uso de substâncias semelhantes ou supressoras de hormônios, antagonistas, impedindo que os estrógenos se liguem a seus receptores para atuar como fator de crescimento das células mamárias malignas (Abotaleb *et al.*, 2018; Silva, 2016).

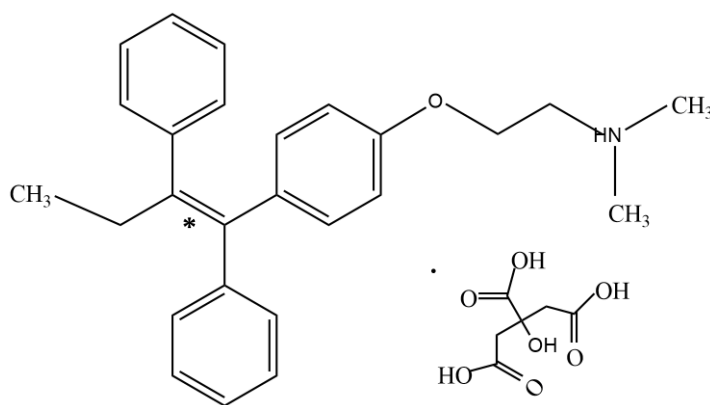
As classificações farmacológicas para as terapias endócrinas podem envolver os inibidores da aromatase, que são enzimas do citocromo P450 que age como mediador da aromatização de andrógenos em estrógenos e como exemplo dessa classe o fármaco anastrozol. Os anti-GnRH que são análogos sintéticos do hormônio liberador de gonadotrofina que controla e suprime a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH), esse último é responsável por estimular a produção ovariana de estrogênio e progesterona e um dos fármacos utilizados são goserelina. E os mais utilizados atualmente para o tratamento, como primeira linha, são os moduladores seletivos dos receptores de estrogênio (SERMs) ou antiestrogênicos, que são reguladores que atuam bloqueando os receptores de estrogênio, sendo o fármaco mais utilizado na prática clínica, como primeira linha, prescrito e aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) nos EUA em 1977, e no Brasil foi lançado como medicamento genérico pelo laboratório hexal, hoje Sandoz, em 2001, o citrato de tamoxifeno (Abotaleb *et al.*, 2018; Khan, Allerton e Pettit, 2015; Ohno, 2016; Silva, 2016).

2.2.1 Tamoxifeno

2.2.1.1 Características químicas e físico-químicas da estrutura

O tamoxifeno (TMX) ou segundo IUPAC, com nome formal, 2-[4-[(1Z)-1,2-difenil-1-buten-1-il] fenoxi]-N,N-dimetil etanamina, com número de registro no Chemical Abstracts Service (CAS) 10540-29-1, isômero Z, princípio ativo do medicamento comercial NOLVADEX[®], fabricado pela AstraZeneca, no Reino Unido, no qual está disponível na forma do sal de citrato de tamoxifeno, representado na fórmula estrutural na Figura 1 (Gamberini *et al.*, 2007; Mazumdar *et al.*, 2018).

Figura 1- Fórmula molecular do citrato de tamoxifeno



Fonte: Autoria própria utilizando o Software ChemDraw Ultra 12.0

A estrutura central do TMX é um triariletileno, molécula possuindo um sistema altamente conjugado, com o etileno * (Figura 1), que é substituído por três anéis aromáticos (Gao, 2012). Possui fórmula molecular empírica $C_{26}H_{29}NO$, que, quando associado ao seu sal com fórmula $C_6H_8O_7$, possui fórmula $C_{32}H_{37}NO_8$. O peso molecular do tamoxifeno base é 371,5 g/mol, e o peso molecular do citrato de tamoxifeno é 563,6 g/mol. É solúvel em solventes orgânicos tais como etanol, metanol, dimetilsulfóxido (DMSO) e dimetilformamida (DMF). Como observado, a sua solubilidade alta em solventes orgânicos, denota da sua baixa solubilidade em água, com valor aproximadamente 0,3 mg/L a 20°C e em HCl 0,02 mol/L é de 0,2 mg/ml a 37°C. Dessa forma, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) o TMX pertence à classe II, fármaco de baixa solubilidade e alta permeabilidade nas membranas plasmáticas (Barbieri *et al.*, 2013; Dehghani *et al.*, 2017; El-Leithy e Abdel-Rashid, 2017; Elnaggar, El-Massik e Abdallah, 2009; Gamberini *et al.*, 2007; Hu, Neoh e Kang, 2006; Mazumdar *et al.*, 2018; SreeHarsha *et al.*, 2019).

Apresenta-se na forma de pó cristalino branco e possui densidade de 0,55-0,65 g/L, com ponto de fusão em torno de 97°C e coeficiente de partição (log P) de 7,1 (Mazumdar *et al.*, 2018; Moreira, 2015; Tetko e Bruneau, 2004).

A associação ao sal citrato, na sua fórmula, é realizada para aumentar essa solubilidade em meio aquoso, sendo isso um fator crítico para avaliar a biodisponibilidade de fármacos administrados oralmente (Dehghani *et al.*, 2017; Elnaggar, El-Massik e Abdallah, 2009; Shete *et al.*, 2013; Shete e Patravale, 2013). É uma base fraca (pKa 8,85) e com a diminuição do pH, o tamoxifeno altera a sua conformação, havendo aumento na constante de dissociação (Ka), fornecendo um monócation na molécula do fármaco (TMXH⁺), no átomo de nitrogênio, gerando carga positiva (Kevadiya *et al.*, 2012; Marji, 2001; Silva, 2016).

A cadeia etoxi-metilamino lateral, observada na Figura 1, é uma característica estrutural essencial e necessária para a atividade biológica do fármaco, como principal atividade antiestrogênica. A substituição, remoção ou alteração dessa cadeia anula ou reduz a atividade antiestrogênica da molécula e o composto perde sua potência (Shagufta e Ahmad, 2018).

2.2.1.2 Propriedades biofarmacêuticas e farmacocinéticas

Dado que não existe uma formulação parenteral, por via intraovenosa humana, a biodisponibilidade absoluta do citrato de tamoxifeno não se conhece. Os estudos em animais monogástricos indicam efeito de primeira passagem hepática e absorção intestinal, com pico médio de concentração plasmática 40 ng/mL ocorrendo aproximadamente 5 horas após administração de 10 mg de um comprimido de tamoxifeno (Pereira de Santana *et al.*, 2008). Em outro estudo, envolvendo 6 homens saudáveis voluntários, após a ingestão de dose única de 20 mg, houve uma biodisponibilidade, com pico no soro de 42 ng/mL e os metabolitos foram de 12 ng/mL. As meias-vidas do fármaco e do metabolito foram de aproximadamente 4 e 9 dias, respectivamente, após uma dose única (Shahbaz, 2017).

2.2.1.2.1 Absorção

O citrato de tamoxifeno é administrado por via oral, na forma de comprimido ou solução oral, na dose de 10 mg, duas vezes ao dia, ou 20 mg, uma vez ao dia, de acordo com a necessidade do paciente (Dehghani *et al.*, 2017; Gao e Singh, 1998).

Após a administração oral, são rapidamente absorvidos pelo intestino, atingindo concentrações séricas máximas entre 3 a 7 horas (Binkhorst, Kloth, *et al.*, 2015) como pôde ser observado por (Pereira de Santana *et al.*, 2008).

2.2.1.2.2 Distribuição

Os efeitos do tamoxifeno, estão altamente ligados a distribuição nos tecidos, e a disponibilidade do fármaco e dos seus metabolitos ativos nas células alvo. No soro, mais de 98% do tamoxifeno está ligado à albumina, por possuir uma molécula lipofílica e isto aumenta a duração do efeito (Jordan, 2007; Mazumdar *et al.*, 2018; Pereira de Santana *et al.*, 2008). O volume de distribuição do tamoxifeno é alto (50 a 60 litros/kg), sugerindo extensa distribuição nos tecidos periféricos e presença de apenas uma porção menor do fármaco (0,1%) no soro. Estas propriedades farmacocinéticas do tamoxifeno podem explicar por que não há correlação entre os níveis plasmáticos e uma resposta clínica e é muitas vezes difíceis de descrevê-las em testes *in vitro*, como por exemplo observado no estudo realizado por (Etienne *et al.*, 1989; Klein *et al.*, 2014; Ueland, 1991).

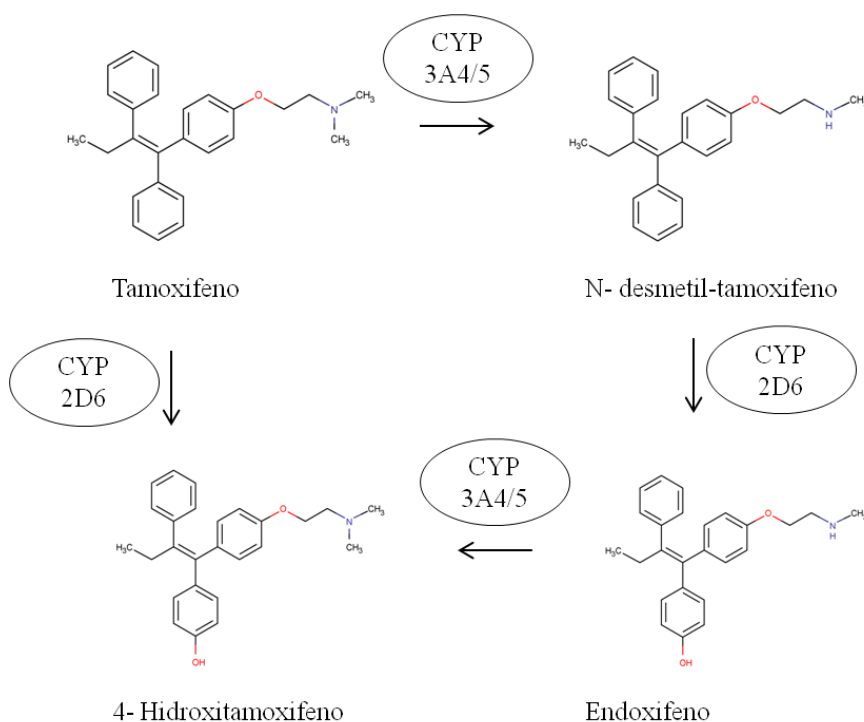
No estudo realizado por Dickschen e colaboradores (Dickschen *et al.*, 2012) foi possível observar que os níveis mais altos de distribuição foi nos pulmões e fígado, seguido por tecido adiposo, rins e útero. As concentrações do fármaco, nos tecidos, eram 8 a 70 vezes superiores às concentrações séricas correspondentes, demonstrando uma proporção que varia de 8:1 a 70:1 entre a partes de concentração presente no tecido e no soro, respectivamente. Além de demonstrarem que o tamoxifeno pode, facilmente, atravessar a barreira hematoencefálica e possuir distribuição prontamente no tecido cerebral normal.

2.2.1.2.3 Metabolismo

O tamoxifeno é classificado como um pró-fármaco e deve ser convertido em suas formas ativas para obter a máxima eficácia. Ele é inicialmente metabolizado, por via hepática, através de reações oxidativas, catalisada por várias formas do citocromo p450 (CYP), e pelas estruturas químicas desses metabólitos que podem ser ativos ou tóxicos, exibidas na Figura 2. O mais abundante desses metabólitos iniciais em humanos é o N-desmetiltamoxifeno, que é formado por meio de uma reação de oxidação, ocorrendo a desmetilação, catalisada por enzimas CYPs 2D6, 3A4/5, 1A1 e/ou 1A2. Esse metabolito não possui relevância para a atividade biológica, possuindo pouca afinidade pelos receptores de estrogênios. Dessa forma, N-desmetiltamoxifeno, sofre reação de hidroxilação, catalisada pelas CYs 2D6, para produzir 4-hidroxi-N-desmetiltamoxifeno, o chamado *endoxifeno* e o 4-hidroxitamoxifeno, respectivamente. Esses últimos são, um dos principais ativos clinicamente ativos, que é 100 vezes mais potente, como antiestrogênio, do que o próprio tamoxifeno, possuindo alta afinidade pelos receptores de estrogênio. Além disso, foi demonstrado que o endoxifeno pode direcionar os receptores de estrogênio para a degradação, bloqueando a atividade transcricional dos

receptores, além de inibir a proliferação celular induzida pelo estrogênio (Jordan, 2007; Mazumdar *et al.*, 2018; Pereira de Santana *et al.*, 2008; Shagufta e Ahmad, 2018; Squirewell, 2014). Mulheres com variantes enzimáticas que não são capazes de produzir endoxifeno, podem não ter um resultado tão bem sucedido com a terapia com tamoxifeno (Mazumdar *et al.*, 2018; Shagufta e Ahmad, 2018).

Figura 2- Ativação metabólica do tamoxifeno para metabólitos fenólicos que possuem alta afinidade de ligação ao receptor de estrogênio humano. tanto o 4-hidroxitamoxifeno quanto o endoxifeno são potentes antiestrogênicos *in vitro*



Fonte: autoria própria baseado de RIBEIRO, et al., 2015

2.2.1.2.4 Eliminação

A eliminação do tamoxifeno ocorre essencialmente pelas fezes, principalmente como metabólitos. A eliminação ocorre de maneira bifásica, com meia-vida inicial de cerca de 7 h e meia-vida terminal de 7 a 11 dias (Gajardo *et al.*, 2019; Shahbaz, 2017).

2.2.1.3 Propriedades farmacodinâmicas do tamoxifeno

Como já relatado anteriormente, o tamoxifeno é um agente antiestrogênico ou estrogênico, dependendo do tecido-alvo. Possui ação estrogênica, atuando como agonista dos receptores do estrogênio, em tecidos como endométrio, fígado e osso. Porém é fortemente antiestrogênico no epitélio mamário, portanto, seu uso na prevenção e no tratamento do câncer de mama é bastante adequado (Jordan, 2007; Shagufta e Ahmad, 2018).

É derivado do trifeniletileno, que pertence à classe dos compostos do núcleo estilbeno, possuindo ação mista, como agonista, agonista parcial ou antagonista, ligando-se a ambas isoformas do receptor de estrogênio (RE α / RE β) e afetando a capacidade de resposta de cada célula na qual interage (Jordan, 2007; Marchi, De *et al.*, 2016; Mazumdar *et al.*, 2018).

Nas células mamárias, o fármaco age como antagonista, bloqueando as propriedades da isoforma do RE α , pois se ligam no domínio E do receptor de estrogênio induzindo mudança na conformação e dissociação das proteínas, obtendo assim, dimerização e translocação dos receptores para o núcleo das células, impedindo assim a ação proliferativa do estrogênio no epitélio mamário (Binkhorst, Mathijssen, *et al.*, 2015; García-Hernández *et al.*, 2016; Jameera Begam, Jubie e Nanjan, 2017).

O mecanismo de ação total desse fármaco ainda é complexo, alguns pesquisadores sugerem que a ação antiproliferativa é a indução da síntese do fator de crescimento transformador de citocina β (TGF- β) que é uma proteína que controla a proliferação e diferenciação celular. Outros pesquisadores apontam que o TMX pode induzir a síntese de TGF- β no compartimento estromal (mesenquimal) dos cânceres de mama, sugerindo um mecanismo de ação parácrina e autócrina, independente da interação com o RE (Kufe *et al.*, 2003).

Ainda, devido as suas propriedades de atividade frente aos receptores de estrógeno, vários estudos relataram que o TMX mostrou atividade anti-glioma *in vitro* e *in vivo*, inclusive pela expressão de um subtipo desse receptor, que são expressados nessas células, o RE- $\alpha 6$, uma variante do receptor de estrogênio, presente predominantemente no citoplasma e na membrana plasmática dessas células e contribui para inibição da proliferação celular do glioma e indução da apoptose através de múltiplas vias (Qu *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2015).

Por outro lado, o tamoxifeno possui outras atividades, como atividades antifúngicas, contra algumas leveduras patogênicas, como espécies de *Candida*, bem como *Cryptococcus neoformans*. O fármaco age interferindo na calmodulina, levando ao aumento do cálcio dentro das células e afetando o crescimento polarizado. Para a *Cryptococcus*, essa interferência impede a ativação de uma fosfatase serina-treonina, denominada calcineurina, que é um fator de virulência (Levinson, 2017).

2.2.1.3.1 Efeitos adversos

O risco associado à administração frequente do TMX está correlacionado devido ao modo de ação misto, pois possuindo ação estrogênica no epitélio uterino, daí a controvérsia em relação a sua segurança na prevenção do câncer, especialmente porque, há um aumento da incidência de carcinoma endometrial em mulheres tratadas cronicamente com esse fármaco (Kufe *et al.*, 2003; Lockhart *et al.*, 2015; Silva, 2016).

Outros efeitos estão atrelados ao uso e estão associados à sua ação, como náuseas, vômitos, ondas de calor. Além de menos frequentes, porém observados, estão inclusos efeitos como irregularidades menstruais, sangramento e rispidez vaginal, dermatites, distúrbios da libido e retenção de líquidos. Envolvidos também em alguns aspectos como risco de osteoporose em pacientes de uso, dor nas articulações e doenças cardiovasculares (Sá *et al.*, 2016).

Segundo Onitilo *et al.* (2012) o uso de tamoxifeno parece aumentar os riscos de eventos de tromboembolismo venoso no início do tratamento, esse mesmo resultado foi encontrado por Bricola, 2009, que diz que tanto no grupo de mulheres pré-menopausadas, quanto nas mulheres menopausadas o risco aumenta conforme o tratamento utilizado.

Outros autores afirmam que o uso de tamoxifeno pode causar estresse oxidativo, hepatotoxicidade, necrose hepática submaciça, anemia hemolítica, trombocitopenia, embolismo pulmonar, leucopenia, ototoxicidade, catarata, retinopatia e redução à cognição (Altmeyer *et al.*, 2016; Jameera Begam, Jubie e Nanjan, 2017; Mazumdar *et al.*, 2018; Shagufta e Ahmad, 2018).

Billon *et al.* (2017) em um estudo de coorte retrospectivo analisando todos os pacientes submetidos à reconstrução mamária entre janeiro de 2012 e dezembro de 2013, que fizeram uso de terapia hormonal tamoxifeno, verificou que o uso desse fármaco pode estar associado a um risco aumentado de complicações na cicatrização das feridas, observando complicações como necrose gordurosa, infecções, cicatrização tardia de feridas e contratatura capsular grau III/IV.

Entre todos esses efeitos, como mencionado também, anteriormente, o TMX possui biodisponibilidade diminuída devido a sua insolubilidade em água e com isso ocorre sua precipitação como base livre no ambiente ácido do estômago, levando a um aumento da dose e consequente, maiores efeitos secundários (Moreira, 2015). Vários estudos sugerem que o mesmo efeito aumenta os riscos de ocorrência de câncer estomacal (Chandanos *et al.*, 2008; Huh *et al.*, 2012; Shagufta e Ahmad, 2018).

2.3 EXCIPIENTES INORGÂNICOS NATURAIS

Excipiente é todo componente de um medicamento distinto do princípio ativo e do material de acondicionamento. O excipiente serve de veículo do princípio ativo e possibilita a preparação de uma forma farmacêutica. Podem ser utilizados para aumentar a velocidade de dissolução, controlar e liberar o fármaco no seu local de absorção e/ou alvo biológico, ter propriedades organolépticas, ajudar na conservação do fármaco, entre outras propriedades (Borrego-Sánchez, Carazo, *et al.*, 2018; Carazo *et al.*, 2017; Mangoni, 2014).

Hoje em dia, muitos excipientes são utilizados com essas propriedades e os argilominerais, tem atraído bastante atenção para a área farmacêutica, por diversas propriedades que podem incluir em melhorias nas terapias dos fármacos.

2.3.1 Argilas

O termo “argila” ou “material argiloso” é utilizado em vários aspectos e de acordo com a área na qual o conhecimento precisa ser fundamentado. Por exemplo: para os ceramistas, refere-se a um material, que ocorre de maneira natural e é composto, principalmente, de matéria, com partículas finas, com diâmetro inferior a 2 μ m, que quando em contato com água tornam-se plásticas, ou seja, possuem capacidade de serem moldadas e endurecem quando secam (Bergaya e Lagaly, 2006; Guggenheim *et al.*, 1995). Já para os mineralogistas, as argilas podem ser descritas como a mistura de minerais, ou seja, formado por um ou mais “argilominerais” que diferem entre si pelas frações existentes desses minerais e o tamanho das partículas (Oliveira, Alcântara e Pergher, 2017; Pereira, 2008).

A definição de “argila” foi formalizada pela primeira vez em 1546 e foi revisado várias vezes desde então. Segundo os Comitês de Nomenclatura Conjunta (JNC), da Associação Internacional para os Estudos de Argilas (AIPEA) e a Sociedade de Minerais de Argila (Clay Mineral Society, CMS), definem argila como “Um material de ocorrência natural, composto principalmente de granulação fina de minerais, que geralmente são plásticos em conteúdo de água e endurece quando seco ou queimado”(Guggenheim, Formoso e Bish, 1995).

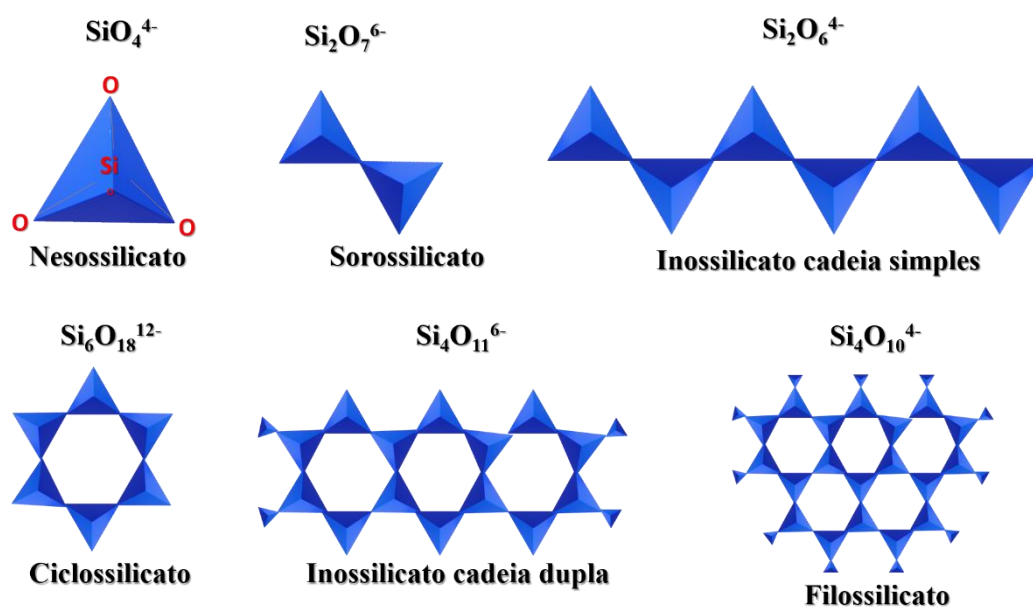
As argilas podem ser formadas por minerais suplementares provenientes do processo de transformação e desgaste das rochas, ou seja, intemperismo, ocorrendo modificações de caráter físico (degradação) e químico (decomposição) que as rochas podem sofrer, da ação hidrotérmica, ou ainda, podem se depositarem como sedimentos fluviais, marinhos, lacustres ou eólicos e podem variar de composição de acordo com o local que são formadas (Ferreira, 2015; Oliveira e Oliveira, 2012; Pereira, 2008).

2.3.2 Argilominerais

Os chamados argilominerais, são minerais constituídos por silicatos hidratados de alumínio (Al), ferro (Fe) ou magnésio (Mg), podendo conter elementos alcalinos como, sódio, potássio e alcalinos terrosos, como cálcio e magnésio. Entre si, esses átomos quando ligados firmemente, podem formar estruturas, e assim formar camadas em formato de folha. O todo, que é o material “argila”, contendo um ou mais argilominerais, podem também conter outros materiais e minerais, como matéria orgânica, sais solúveis, partículas de quartzo, pirita, mica, calcita, dolomita e outros minerais residuais (Sales, 2013; Viseras *et al.*, 2007).

Os argilominerais, são silicatos, de estrutura lamelar ou fibrosa. Sua classificação está relacionada com a estrutura na qual os átomos de silício são circundados por átomos de oxigênio em um arranjo tetraédrico (SiO_4^{4-}) de dimensões quase constantes, e que depende das proporções existentes entre esses átomos, como é possível verificar na Figura 3.

Figura 3- Esquematização das estruturas que classificam os silicatos de acordo com o arranjo dos grupamentos tetraédricos SiO_4



Fonte: autoria própria adaptado de (Rodrigues, 2009)

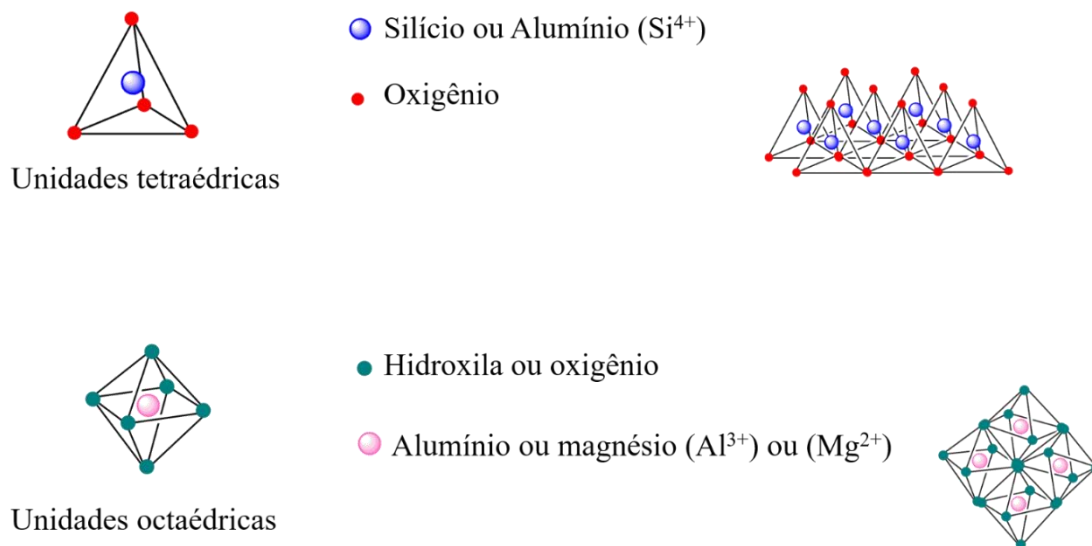
Dessa forma, a estrutura dos silicatos pode estar espacialmente arranjada em tetraedros independentes, em arranjos de grupamento tetraedros múltiplos, independentes, cadeias simples, cadeias duplas ou em faixas, folhas ou armações tridimensionais (Fonseca e Airolti, 2003).

Dentro dessa classificação e devido as estruturas peculiares, os filossilicatos, são bem estudados e avaliados, possuindo na sua estrutura o empilhamento de folhas ou camadas, que podem ser chamadas lamelas (Flávia e Farias, 2016; Moscofian, 2009).

2.3.2.1 Filossilicatos

Phyllon do grego, significa folha, ou seja, silicatos em folha, que constituem folhas contínuas de tetraedros (SiO_4)⁴⁻ combinada a folhas contínuas octaédricas (Figura 4). Como relatado, as folhas tetraédricas consistem em um cátion coordenado tetraedricamente, como Si^{4+} , Al^{3+} ou Fe^{3+} unidas ao oxigênio. E pela camada octaédrica de hidroxilas metálicos que possuem valências livres, e apontam em sentido oposto, a camada tetraédrica, comumente formada por íons Al^{3+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} ou Fe^{2+} , são circundados por seis átomos de oxigênio ou hidroxilas, como ilustrado na Figura 4 (Flávia e Farias, 2016; Fonseca e Airolidi, 2003).

Figura 4- Unidades estruturais dos filossilicatos a) Unidades tetraédricas e respectivos átomos e b) Unidades octaédricas e respectivos átomos

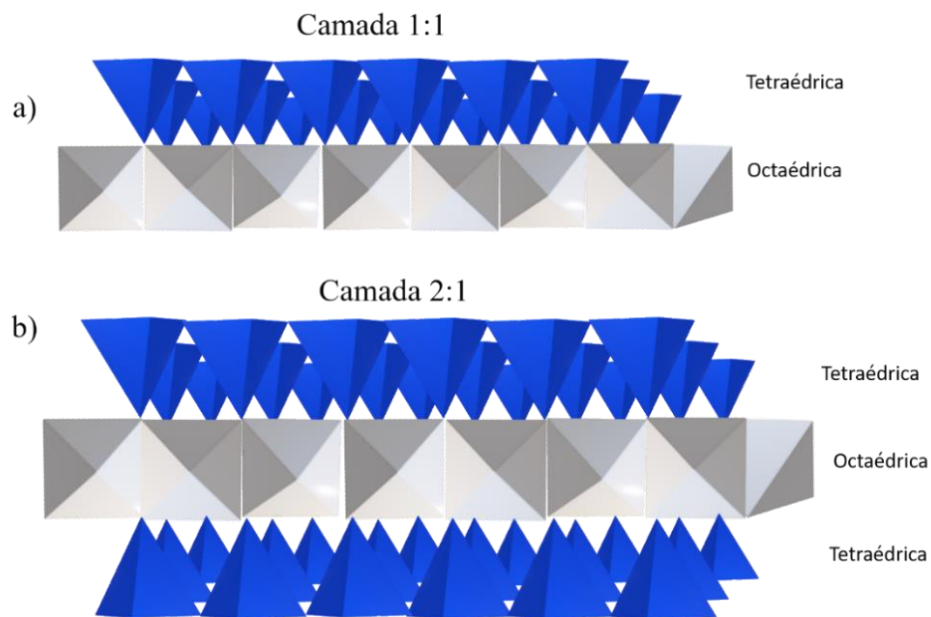


Fonte: Autoria própria adaptado de (Alves, 2009; Flávia e Farias, 2016; Fonseca e Airolidi, 2003).

A união dessas camadas tetraédricas e octaédricas estão associadas aos oxigênios apicais de cada uma delas, formando assim estruturas em camadas que podem ser estruturas difórmicas, podendo formar bicamada do tipo 1:1 e estruturas trifórmicas, podendo formar camadas do tipo 2:1, como esquematizado na Figura 5. As ligações envolvidas por essas regiões apicais são

ligações do tipo covalentes, ou seja, ligações fortes (Fonseca e Airolodi, 2003; Pereira, 2014; Xu *et al.*, 2017).

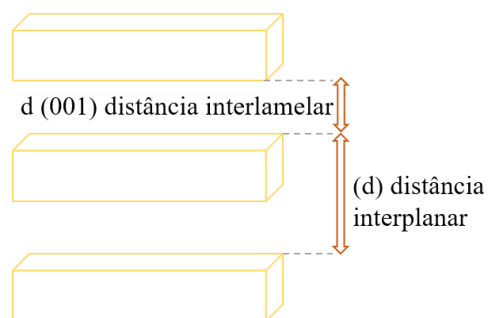
Figura 5- Modelos das estruturas em camadas a) difórmicas do tipo 1:1, camadas tetraédricas/ octaédricas e b) trifórmicas do tipo 2:1, camadas tetraédricas/ octaédricas/ tetraédricas.



Fonte: Autoria própria adaptado de (Pereira, 2014).

A combinação dessas estruturas em complexos cristalinos, empilhadas entre si poderá ser organizada, formando as camadas em formato de folha, as lamelas, irão possuir espaços entre uma lamela e outra, que estão unidas por átomos fracamente ligados em direção perpendicular. A região de interação entre as lamelas é conhecida como região interlamelar, como ilustrado na Figura 6 (Oliveira, 2011).

Figura 6-Estrutura esquemática de um sólido lamelar



Fonte: Autoria própria adaptado de (Alves, 2004)

Nesse empilhamento e organização, os átomos presentes nas folhas de tetraedros e octaedros, sofrem substituições isomórficas de íons de carga distinta e faz com que as camadas 1:1 e 2:1 não estejam eletricamente neutras. Dessa forma, o excesso de carga é neutralizado por vários tipos de espécies catiônicas que ficam localizadas nas regiões interlamelares, sejam eles cátions hidratados, cátions individuais ou grupamentos de hidróxidos (Fonseca e Airolidi, 2003; Xu *et al.*, 2017). Também, é importante considerar, que há uma ordenação das estruturas octaédricas, ou seja, a menor unidade estrutural contém três octaedros, se todos estiverem coordenados, o classifica como trioctaédrica, porém se apenas dois estiverem coordenados e o terceiro estiver sem coordenação, é classificado como dioctaédrica (Fonseca e Airolidi, 2003).

Isto posto, os filossilicatos são classificados convenientemente com base no tipo de lamela, se possui forma de bicamada 1:1 ou trifórmicas 2:1, do tipo de coordenação e da carga dessas lamelas, todas estão descritas na Tabela 1 (Fonseca e Airolidi, 2003; Pereira, 2014; Xu *et al.*, 2017).

Tabela 1-Classificação dos filossilicatos planares

Tipo de Camada	Grupo (z= carga por fórmula unitária*)	Coordenação octaédrica	Espécie
1:1	Serpentina-Caolin (z=0)	Tri Di	Crisotila, Lizardita, Antigorita Caolinita, nocrita, halloisita
	Talco- pirofilita (z=0)	Tri Di	Talco Pirofilita
	Esmeclita (z=0,2/0,6)	Tri Di	Saponita, Hectorita, Stevencita Montmorillonita, beidelita, nontronita
2:1	Vermiculita (z=0,6/0,9)	Di Tri	
	Illita (z=0,6/0,9)	Tri Di	Illita, Fe-illita, glauconita, NH ₄ - illita
	Mica (z=1)	Tri Di	Biotita, flogopita, wonesita, Muscovita, paragonita, phengita, celadonita
	Mica frágil (z =2)	Di	Margarita
	Clorita (z variável)	Tri, tri Di, di Di, tri	Chamosita, nimita Donbasita Cookeita, sudoita
2:1 Estruturas moduladas	Sepiolita-palygorskita (z variável)		Sepiolita, loughlinita, palygorskita

*z se refere a carga para fórmula unitária O₁₀(OH)₂

Fonte: (Bergaya e Lagaly, 2006; Parolo, 2010)

Há uma grande variedade da classe dos filossilicatos, e suas estruturas têm sido bastante estudadas para diversas finalidades e funções, projetando assim um campo diverso de aplicações. Têm sido objeto de estudos em áreas como geologia, ciência dos materiais, ciências farmacêuticas, cosmetologia, medicina, ciências dos alimentos e biotecnologia. Em particular, esmectitas, como saponita e montmorillonita, palygorsquita, sepiolita, caulinita, talco e mica, têm sido utilizada atualmente nas indústrias farmacêuticas e cosméticas, inclusive são descritas nos compêndios oficiais, como a farmacopeia Europeia (EP), farmacopeia Americana (USP) e farmacopeia Britânica (BP), na qual possuem denominações específicas, observado na Tabela 2. A existência desses registros é adequado não só pelo seu uso extensivo na indústria, mas também pela sua conformidade com certos padrões que são necessários para o uso humano.

Tabela 2- Nomes das argilas descritas nos compêndios oficiais que podem ser utilizadas para produtos farmacêuticos e cosméticas

Estrutura	Argila	Argilomineral	Nome na Farmacopeia	Farmacopeia
1:1		Caulinita	Caulim	Europeia (EP 9th)
			Caulin	Americana (USP 40)
2:1	Esmectitas	Talco	Talco	Europeia (EP 9th)
				Americana (USP 40)
		Montmorillonita	Bentonita	Europeia (EP 9th)
			Bentonita Purificada	Americana (USP 40)
		Saponita	Silicato de Alumínio Magnésio	Europeia (EP 9th)
			Silicato de Alumínio Magnésio	Americana (USP 40)
2:1 Estruturas moduladas	Argilas fibrosas	Palygorsquita	Hectorita	
			Atapulgita	Britânica (BP 2017)
		Sepiolita	Atapulgita coloidal ou ativada	Americana (USP 40)
			Tricilicato de Magnésio	Europeia (EP 9th)
				Americana (USP 40)

(EP)- Farmacopeia Europeia; (USP)- Farmacopeia Americana; (BP)- Farmacopeia Britânica.

Fonte: Atualização baseado em LÓPEZ-GALINDO; VISERAS; CEREZO, 2007.

As utilizações como excipientes envolvem às suas propriedades físicas e físico-químicas que estão atreladas a sua estrutura espacial (Carretero e Pozo, 2010; Viseras *et al.*, 2010). Possuindo alta capacidade de troca iônica, grande área superficial, não abrasividade, maciez e tamanho pequeno de suas partículas, têm envolvido esses sólidos no estudo para carrear substâncias (Moraes *et al.*, 2017; Viseras *et al.*, 2010).

Um dos filossilicatos mais estudados segundo Anderson *et al.* (2010), envolve o grupo das esmectitas que incorpora a montmorillonita (MMT), hectorita e a beidelite, porém, a

montmorilonita tem sido destacada devido a sua estrutura química e composição, que dão, a essa classe, propriedades inerentes para a área farmacêutica (Modabberi *et al.*, 2015). É mais amplamente utilizada na indústria cosmética e tem sido utilizada como agente de suspensão e emulsão, agente que impede a coalescência, permitindo modificar o comportamento reológico das formulações, adsorventes, anti-aglomerantes, agentes de revestimento, estabilizadores, agentes terapêuticos, etc (López-Galindo, Viseras e Cerezo, 2007).

2.3.2.1.1 Montmorillonita

Conforme listado na Tabela 3, a MMT pode fazer parte em formulações como excipientes ou como próprio ativo diferindo para uma ampla variedade de usos. A pesquisa envolveu a seleção de autores que estudaram a eficácia da formulação após a inserção da argila e produtos já existentes e patenteados no mercado em um suporte de design, que demonstrasse excelência em resposta nos parâmetros de utilização dessa argila.

Tabela 3- Revisão das aplicabilidades como excipientes da argila montmorillonita para formação de produtos com amplas funcionalidades

Design de aplicabilidade	Utilização e fins	Referência
Suspensão farmacêutica estável com viscosidade desejável formada a partir de um complexo de silicato de alumínio	Produto patenteado com finalidades industriais	Zentner (1972)
Particionamento de partículas de argila utilizada em emulsões de O/A	Com uma maior concentração de argila na água resultou na maior formação de gotículas com menores tamanhos, maior estabilidade da formulação	Yan; Masliyah (1995)
Utilização do produto loção de bentonita Quaternium-18 para prevenção por dermatite de contato	A utilização do produto dermatológico mostrou-se eficaz na diminuição de dermatite de contato alérgica quando utilizada em 211 indivíduos com histórico da doença	(Jr <i>et al.</i> , 1995) (Fowler, 2001)
Uso da argila esmectitas para tratamento da pele depois de intumescido em água salina e uso por peloterapia	Devido a sua capacidade de absorção/adsorção e alta capacidade de troca catiônica, propriedades plásticas podem ser utilizadas para diversas afecções dermatológicas	(Carretero ; Pozo, 2010)
Produto formado por esmectitas bentonitas patenteado com nome Smecta®	Eficácia no tratamento de diarreia infecciosa, por redução da duração e frequência das fezes	(López-Galindo, 2004)

	líquidas por mecanismos que incluem a absorção de água e eletrólitos no intestino	
Utilização da bentonita sódica (BS) como promotor de dissolução em comprimidos de Clorpropamida preparados por granulação via úmida	Ideal incremento de dissolução foram apresentados na dissolução do comprimido preparado mesmo quando comparado ao medicamento de marca utilizado.	(Lira; Dornelas; Cabral, 2008)
Montmorillonita e suas propriedades em comprimidos de griseofulvina	Os comprimidos apresentaram-se uniformes e consistentes e houve melhor dissolução na formulação contendo a argila comparados a formulações comerciais	(W. McGinity; R. Harris, 2008)
Dispersões de argila para suspensões de acetaminofeno	A argila proporcionou maior floculação e um menor valor de redispersibilidade das suspensões com o fármaco em comparação com as dispersões de polímeros puros (alginato, carboximetilcelulose e metilcelulose)	(PongjanyakuL; Puttipipatkha Chorn, 2009)
Utilização de esmectitas dioctaédrica para tratamento de diarreia, produto por ingestão da argila	Reduziu a diarreia de crianças indianas e impediu o curso prolongado da afecção, particularmente para sintomas relacionados a dor	(Chang et al., 2007)
Produção de loção solar a base de minerais de argila para proteção da pele dos riscos da radiação eletromagnética	Foram capazes de absorver o nível mais alto de luz UV comparado com a loção solar comercial disponível no mercado	(Movahedi, 2014)
Utilização de bentonita sódica na formulação de comprimidos por compressão direta de paracetamol, diclofenaco e metformina	Para os comprimidos contendo diclofenaco e paracetamol em tampão pH 6,8 e pH 4,5 exibiram liberação prolongada. E a metformina exibiu liberação imediata nos diferentes pH.	(Alkrad et al., 2017)

Fonte: autoria própria

A MMT, cujo nome é derivado do francês Montmorillon, lugar da França onde foi encontrado a argila, em 1847 (Viseras *et al.*, 2007). Como observado na Tabela 1, MMT é um silicato, pertencente à subclasse dos filossilicatos 2:1, os quais estão distribuídos na forma de folhas. Cada folha consiste na junção de duas placas, na forma de “sanduíche”, unidas entre si por cátions interlamelares. A união desse empilhamento é regida por forças polares relativamente fracas e por forças de Van der Waals. A espessura é de aproximadamente 1 nm,

enquanto que suas dimensões laterais podem variar de 0,2-2 μm (Jayrajsinh *et al.*, 2017; Moraes *et al.*, 2017; Silva, 2017; Teixeira, 2011).

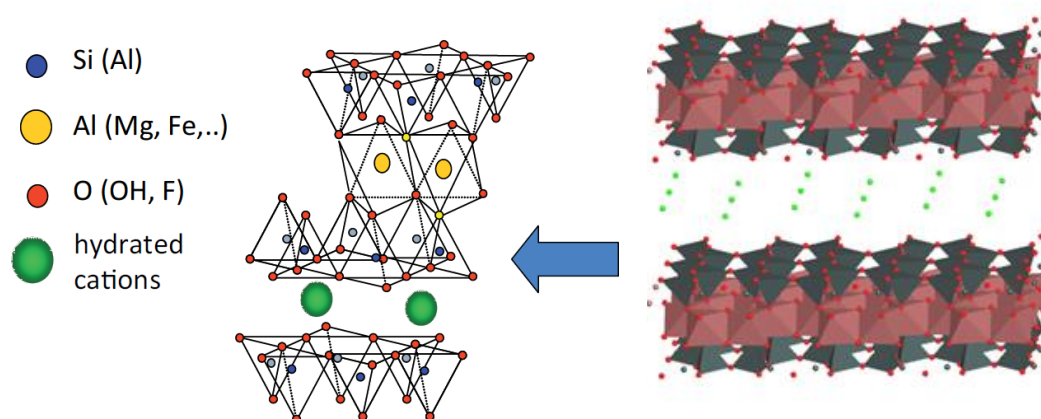
Arelados a estrutura de um silicato e espacialmente sendo um filossilicato, a montmorillonita possui fórmula geral da célula unitária $(\text{M}^+_{y \cdot n}\text{H}_2\text{O})(\text{Al}^{3+}_{2-y}\text{Mg}^{2+}_y) \text{Si}^{4+}_4 \text{O}_{10}(\text{OH})_2$, onde y é a carga resultante das camadas dos sítios octaédricos e M^+ é o cátion monovalente da interlamela. Sua composição teórica é 66,7% de SiO_2 , 28,3% de Al_2O_3 e 5% de H_2O . A água está presente na região interlamelar e concerne a essa argila a capacidade de inchamento quando expostas, uma vez possuindo boa capacidade de deslamelação, as superfícies são separadas umas das outras. Esse inchamento interlamelar é controlado pelo cátion predominante que na grande maioria pode ser Na^+ e/ou Ca^{2+} e pela quantidade de água. Há algumas diferenças da presença desses cátions, por exemplo, se a montmorillonita sódica, há uma menor força de atração, o que permite que haja uma maior quantidade de água que penetra entre as camadas e seja então adsorvida. Porém para a cálcica há uma maior força de atração, o que impede que uma quantidade de água seja adsorvida, tendo a dificuldade de inchamento (Silva e Ferreira, 2008; Silva, 2017; Vinati, Mahanty e Behera, 2015; Xia *et al.*, 2010).

A Montmorillonita é a fase principal da bentonitas, que contêm pelo menos 50% de esmectitas, e sua estrutura é representada na Figura 7. Na literatura farmacêutica “bentonita”, é utilizada para se referir a um silicato de alumínio natural, coloidal e hidratado, porém não se considera a sua origem, tendo uma estrutura cristalina básica de esmectitas, permitindo várias substituições dentro da rede em termos de posição e composição do elemento, é portanto uma mistura de minerais e nenhuma fórmula “molecular” pode ser dada (López-Galindo, Viseras e Cerezo, 2007; Modabberi *et al.*, 2015).

A descompensação eletrônica, pela presença de diferentes átomos na rede cristalina da MMT, faz com que uma carga permanente seja resultante, por conta da substituição isomórfica dos cátions de maior valência pelos cátions de menor valência na estrutura do mineral argiloso, uma propriedade relevante para esses sólidos. Há uma substituição dos cátions Al^{3+} por Si^{4+} nas folhas tetraédricas devido a diferença dos comprimentos de ligação do Si-O e do Al-O cujos valores são 0,162 e 0,177 nm, respectivamente, resultando em carga negativa. Já nas folhas octaédricas há uma substituição dos cátions Mg^{2+} por Al^{3+} . Esse desequilíbrio de carga, é por volta de 0,2-0,66 unidades por fórmula. E essa variabilidade de carga nas superfícies é contrabalanceada pela prevalência de carga nos planos basais das partículas, na região interlamelar (Figura 7) que no caso é positiva. Essa carga é atrelada aqueles cátions, discutidos

anteriormente, Na^+ e Ca^{2+} e são acessíveis a moléculas de água (Carazo *et al.*, 2018; Oliveira e Oliveira, 2012; Pereira, 2014; Silva, 2011; Wu *et al.*, 2017).

Figura 7- Estrutura da Montmorillonita



Fonte: Discovery Studio Visualizer 3.5, adaptado de (Wicklein, 2011)

Como resultado do inchamento em meio aquoso, esse material exibe um comportamento reológico conhecido como tixotrópico, o que é desejável para algumas formulações farmacêuticas que irão possuir redução da viscosidade quando sofrerem agitação (Abu-Jdayil, 2011; Souza *et al.*, 2017).

Esses materiais, são coletados dos nichos específicos, encontrados no solo, e podem vir com uma composição química variável. A grande maioria de produtos que possuem finalidade industrial para produção de medicamentos, precisam preencher os requisitos farmacêuticos. Dessa forma devem possuir na sua composição, substâncias ou traços permissíveis. Por exemplo, traços de chumbo (Pb) e Arsênio (As), possuem limites aceitáveis e devem ser considerados, além de outros elementos presentes nessa composição e descritos no Guia de Qualidade de Produtos Naturais da Saúde e no guia ICH Q3D para elementos impuros (ICH-Q3D-quality, 2014; López-Galindo, Viseras e Cerezo, 2007; Modabberi *et al.*, 2015; NHPD, 2015).

Em uma grande maioria, quando são utilizadas para serem adotadas para uso farmacêuticos são submetidos a tratamentos que garantem a máxima pureza, controle microbiológico e facilidade de uso, sendo submetidos por processos de dessecação, pulverização, peneiramento e separação por via úmida da fração de outros componentes e

esterilização por calor ou exposição à radiação gama (Favero *et al.*, 2016; López-Galindo, Viseras e Cerezo, 2007).

Várias argilas com quantidades de montmorillonita maiores, têm sido utilizadas para uso farmacêutico como “Mineral soap”, “Clay soap”, “taylorite”, “wilkinite”, “Albagel”, “Mineral colloid” e “Veegum HS” (Iborra *et al.*, 2006; López-Galindo, Viseras e Cerezo, 2007; WHO, 2005). A empresa Vanderbilt Ltd. comercializa a bentonita purificada (fração coloidal processada para remover os compostos de grão de minério que não são dilatáveis, com maior fração de montmorillonita presente), chamando assim argila de grau farmacêutico, sob nome comercial de Veegum® HS (VHS). São obtidas através de reservas minerais do sudoeste dos EUA como base de uniformidade mineralógica no processo de desenvolvimento do produto (Vanderbilt Minerals, 2014).

Segundo Aguzzi, *et al.* (2005), essa argila é bastante homogênea na proporção de montmorillonita (85%), porém quantidades de opala (15%) e traços de calcita foi identificado na amostra analisada. Também foi verificado no estudo uma natural predominância do cátion interlamelar Na^+ . Na sua composição típica, foi possível verificar, com os resultados de uma microanálise, tendo como fórmula geral da célula unitária $(\text{Si}_{3,93}\text{Al}_{0,07})\text{O}_{10}(\text{Al}_{1,42}\text{Mg}_{0,41}\text{Fe}_{0,18})(\text{OH})_2(\text{K}_{0,04}\text{Na}_{0,27}\text{Ca}_{0,08})$. Esses dados são compatíveis com a monografia de “Bentonita purificada” presente no compêndio oficial USP e válida para uso industrial (USP, 2017).

Outra propriedade muito importante desses argilominerais é a capacidade de troca catiônica (CTC), pois esta indica a disponibilidade de sítios trocáveis necessária à inserção de cátions, moléculas orgânicas ou inorgânicas, o que pode influenciar suas propriedades físico-químicas e definir suas aplicações tecnológicas. A CTC geralmente é expressa em meq/100 g de argila calcinada e pode ser determinada por diferentes métodos. Em uma análise das capacidades de troca catiônica foi confirmado para o Veegum® HS uma CTC de 80,64 meq/100 g de capacidade (Aguzzi *et al.*, 2005; Galimberti, 2011; Zhu *et al.*, 2016).

Essas propriedades atreladas às suas composições químicas permitem a MMT interagirem com diversas espécies químicas e podem ser realizadas de duas maneiras: por intercalação, em que a espécie química interage reversivelmente por forças intermoleculares do tipo ligação de hidrogênio, forças de Van Der Waals ou interações eletrostáticas, havendo fisissorção. A segunda maneira é por modificação química, em que se processa pela inserção de espécies na superfície da lamela através de ligações fortes predominantemente covalentes, havendo quimissorção (Pereira, 2014; Thommes *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2016).

Essas interações se dão por processos envoltivos de captação/imobilização de componentes chamados adsorventes sobre as superfícies dos sólidos, chamados de adsorbatos,

terminologia utilizada no “*Handbook of clay Science*”. A formação de uma camada adsorvida nessas superfícies não é um processo instantâneo, mas é geralmente governada pela velocidade de difusão da substância através da solução em direção à interface do adsorbato (Chorover, 2008; Schoonheydt e Johnston, 2006).

2.3.3 Processos de adsorção

De acordo com Thommes *et al.*, 2015 a adsorção é definida como o enriquecimento de moléculas, átomos ou íons nas proximidades de uma interface. O material no estado adsorvido é conhecido como o adsorbato, enquanto o material que possui a interface é conhecido como adsorvente.

Podem ser formadas curvas úteis de entendimento do processo, de como o adsorbato está realmente interagindo com o adsorvente. Dessa maneira modelos podem descrever as isotermas de adsorção. Curvas que descrevem os fenômenos que regem a retenção, por exemplo, de mobilidade de uma substância para fase sólida, a uma temperatura constante. Podem ser divididos em modelo de Langmuir e modelo de Freundlich, sendo esses os mais frequentemente utilizados, segundo Monteiro (2009).

2.3.3.1 Isoterma de Langmuir

O modelo de Langmuir é um dos mais utilizados para representação de processo de adsorção. É um modelo de isoterma de dois parâmetros e propõe que o sistema é ideal, onde todos os sítios de adsorção são equivalentes e a superfície é homogênea, ou seja, a adsorção ocorre até a formação de uma monocamada, cada sítio pode acomodar apenas uma molécula (Langmuir, 1918). Essa molécula adsorvida possui a mesma energia em todos os sítios e independe da presença de outras moléculas adsorvidas nos sítios vizinhos (Cintra, 2016; Gomes, 2014; Nascimento *et al.*, 2014).

A equação (1) de isoterma de Langmuir pode ser expressa como:

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{Q_{máx}} C_e + \frac{C_e}{K_l Q_{máx}} \quad (1)$$

Em que:

Q_e : quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio (mg.g^{-1});

$Q_{máx}$: capacidade máxima de adsorção (mg.g^{-1});

K_l : constante de interação adsorvato-adsorvente (L. mg^{-1});

C_e : concentração do adsorvato no equilíbrio (mg.L^{-1}).

O modo explicável para a ocorrência desse equilíbrio diz respeito a igualdade da velocidade que ocorre entre o processo de adsorção e dessorção na superfície do adsorvente, ou seja, as suas velocidades (taxas) que se igualam.

Ao ser determinado q_e , a linearidade existente em um gráfico de C_e/Q_e em função de C_e determina se os dados obedecem à isoterma de Langmuir, ou seja, possui as características descritas anteriormente, definido pelo coeficiente de determinação (r^2), atrelado a porcentagem da variável dependente que explica a variável independente. Quanto mais próximo da unidade, melhor é a qualidade do modelo. A partir desse coeficiente obtém-se inclinação em $1/(K_L \cdot Q_{máx})$ e interceptação em $1/Q_{máx}$, tendo conhecimento desses valores, K_L e $Q_{máx}$ são descobertos (Gomes, 2011; Monteiro, 2009).

2.3.3.2 Isoterma de Freundlich

O modelo de Freundlich, também avalia dois parâmetros, Equação (2), e diferentemente do de Langmuir, segundo Adelodun et al. (2016), admite uma distribuição logarítmica dos sítios ativos sem uniformidade, descrevendo superfícies heterogêneas e de adsorção reversível em multicamada. Nascimento (2014) considera o sólido heterogêneo, ao passo que aplica uma distribuição exponencial para caracterizar os vários tipos de sítios de adsorção, os quais possuem diferentes energias adsorptivas, e, portanto, admitindo uma equação (Adelodun *et al.*, 2016; Cintra, 2016; Freundlich, 1906; Gomes, 2011):

$$\log Q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \cdot \log C_e \quad (2)$$

Em que:

Q_e : quantidade de soluto adsorvido (mg.g^{-1})

C_e : concentração de equilíbrio em solução (mg.L^{-1})

$1/n$: constante relacionada à heterogeneidade da superfície

K_f : constante de capacidade de adsorção de Freundlich (L.mg^{-1})

Para obtenção das componentes, a linearidade do gráfico $\ln Q_e$ em função de $\ln C_e$ dirá se os dados se adequam a isoterma de Freundlich. A determinação dos parâmetros K_f e $1/n$ a

partir da regressão linear, fornecerá uma inclinação em $1/n$ e um intercepto em $\log K_f$ (Nascimento *et al.*, 2014; Santos, 2017).

2.3.3.3 Isoterma de Temkin

O modelo isotérmico de Temkin leva em consideração os efeitos das interações indiretas adsorvente/adsorvente no processo de adsorção. Também assume que o calor de adsorção de todas as moléculas na camada diminui linearmente como resultado do aumento da cobertura superficial, ou seja, com a diminuição do número de sítios de adsorção. Relata que a isoterma de Temkin é válida apenas para uma faixa intermediária de concentração, dessa forma o modelo isotérmico linear de Temkin é dado pela seguinte equação (3) (Temkin, 1979; Allen *et al.*, 2003; A.O, 2012; Ayawei; Ebelegi; Wankasi, 2017).

$$Q_e = \frac{RT}{bt} \ln a_T + \left(\frac{RT}{b} \right) \ln C_e \quad (3)$$

Onde a_T é a constante de ligação isotérmico de Temkin no equilíbrio (L/g), b_t é a constante da isoterma de Temkin, R é a constante universal dos gases (8,314 J/mol/K), T é a temperatura em kelvin (298K).

2.3.3.4 Análise de regressão aplicada a adsorção

O processo no qual se encontra a relação entre duas variáveis, onde uma é dependente e a outra é independente é chamado de regressão. Segundo Cintra (2016) os modelos de regressão podem ser classificados em lineares e não lineares, e os modelos não lineares são linearizados para que haja um ajuste do polinômio de primeiro grau (reta), com o objetivo de facilitar o processo de estimativa dos parâmetros.

É chamado de modelo não linear se pelo menos uma das derivadas parciais da função não linear em relação aos parâmetros depende de pelo menos um dos parâmetros do modelo. Aproximá-los para os modelos normais lineares, mesmo que sejam alcançados ajustes satisfatórios, prejudicaria bastante a obtenção de estimativas mais realistas dos parâmetros de interesse (Mattos, 2013).

Embora a regressão linear ainda seja muito comumente utilizada para determinar a isoterma de adsorção de melhor ajuste, quantificando a distribuição dos adsorbatos, e analisando matematicamente os sistemas de adsorção, verificando a consistência e os pressupostos teóricos de um modelo isotérmico. De Oliveira *et al.* (2014), verifica que a

utilização desses modelos podem causar dificuldades estatísticas, pois em alguns casos se pode perder a independência entre as variáveis, resultantes da transformação de acordo com os valores das abcissas e ordenadas (Mouta, 2008; Nascimento *et al.*, 2014).

Como alternativa, otimizações não lineares podem ser usadas para estimar os parâmetros envolvendo a etapa de minimizar a distribuição de erro entre os dados experimentais e a isoterma prevista. Nanta et al. (2018) estudou processo de adsorção de águas residuais contendo polissacarídeos, e obteve baixos valores de coeficiente de determinação r^2 para o método linearizado e melhor ajuste para a regressão não linear, estimando que, esse método de cálculos dos parâmetros, seria mais apropriado para tal determinação.

Dessa forma, as Equações 1 ,2 e 3 aplicadas aos modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin, respectivamente, podem ser descritas na forma não linearizadas, Equações 4, 5 e 6 expressas como:

$$Q_e = \frac{Q_{m\acute{a}x} \cdot K_l \cdot C_e}{1 + K_l \cdot C_e} \quad (4)$$

$$Q_e = K_f \cdot C_e^{1/n} \quad (5)$$

$$Q_e = \frac{RT}{b_t} \ln aT \cdot C_e \quad (6)$$

Outros autores, como Nebaghe et al. (2016) estudaram os processos de adsorção e verificaram que os parâmetros de acordo com os valores de erro indicaram que o método não linear é a melhor maneira de obter os parâmetros isotérmicos que descrevem a adsorção de Cu (II) em areia de Martil tratada. Já Vilardi, et al. (2018), adotou como parâmetro os valores baseados no valor médio de erro percentual mínimo e máximo e os valores do coeficiente r^2 proposto, verificando que a adequabilidade utilizando isotermas de dois parâmetros como Langmuir e Freundlich não foram suficientes para representar o comportamento de saturação do material adsorvente, porém modelos de isotermas utilizando três parâmetros como o modelo de Koble-Corrigan resultou na única isoterma capaz de representar o valor assintótico de ambos os conjuntos de dados experimentais atrelados a regressão não linear.

2.3.4 Estudos cinéticos

A cinética de adsorção descreve a velocidade com a qual as moléculas do adsorbato são adsorvidas pelo adsorvente, verificando as concentrações das espécies envolvidas bem como o tempo de equilíbrio do processo de acordo com o tempo estudado (Gomes, 2011; Sarmento, 2017). Envolve a transferência de massa de um ou mais componentes contidos em uma massa líquida externa para o interior da partícula do adsorbato (Nascimento *et al.*, 2014). Do mesmo modo da isoterma, todo o mecanismo envolvido depende das características físico-química do adsorbato, do adsorvente e do sistema envolvido no processo experimental (pH, temperatura, tempo de agitação, concentração inicial do adsorbato, dose do adsorvente, força iônica, tamanho das partículas e distribuição dos poros) (Abdul Manap *et al.*, 2018; Galvão *et al.*, 2016; Nascimento *et al.*, 2014; Silva, 2017).

Diversos modelos cinéticos lineares são utilizados para examinar o mecanismo controlador do processo de adsorção para explicar a cinética de reação e analisar a transferência do processo de adsorção. Os modelos mais utilizados de acordo com Nascimento, et al. (2014) são os de pseudo-primeira ordem, o de pseudo-segunda ordem e Elovich. O ajuste da correlação dos dados cinéticos irá demonstrar qual modelo se adequa ao mecanismo envolvido (Nascimento *et al.*, 2014; Syafiuddin *et al.*, 2018).

2.3.4.1 Modelo cinético de pseudo-primeira ordem

Em 1898, Lagergren (Lagergren and Svenska, 1898) propôs um modelo para descrever a taxa de adsorção em sistemas com fase líquida-sólida (Syafiuddin *et al.*, 2018). O modelo assume que a taxa de variação de captação do adsorvente com o tempo é diretamente proporcional à diferença entre a quantidade adsorvida no equilíbrio e a quantidade adsorvida no tempo t (Silva, 2017).

A reação de pseudo-primeira ordem é apresentada como na equação 7:

$$\ln(Q_{exp} - Q_t) = \ln Q_{e,cal} - K_1 t \quad (7)$$

Em que:

K_1 : é a constante de velocidade da pseudo-primeira ordem (min^{-1})

Q_e : é a quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio (mg/g)

Q_t : é a quantidade adsorvida no tempo t (mg/g)

t : é o tempo (min)

Para calcular o valor da constante de velocidade desse modelo (K_1) uma curva linear entre $\ln(Q_e - Q_t)$ versus t é determinada. Esse valor depende da concentração inicial do adsorvato que varia de um sistema para outro, sendo que em geral diminui com o aumento da concentração inicial do adsorvato.

Alguns autores descrevem que a equação de ordem de Lagergren (Lagergren and Svenska, 1898) não se ajusta bem para toda a faixa de tempo e geralmente é aplicável apenas para os 20-30 minutos iniciais do processo de adsorção (Galvão *et al.*, 2016; Silva, 2017).

2.3.4.2 Modelo cinético de pseudo-segunda ordem

Esse modelo baseia-se na capacidade de adsorção do adsorvente e sugere que o número de sítios na superfície do adsorvente seja diretamente proporcional à taxa de adsorção das espécies iônicas envolvidas (Ho e McKay, 1999). Ao contrário do modelo de pseudo-primeira ordem, esse modelo prediz o comportamento cinético sobre toda a faixa de tempo (Galvão *et al.*, 2016; Silva, 2017; Syafiuddin *et al.*, 2018). Pode ser calculada de acordo com a Equação 8:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{K_2 Q_{e,cal}^2} + \frac{1}{Q_{e,cal}} t \quad (8)$$

Em que:

Q_e : é a quantidade de adsorvato retido no sólido no equilíbrio (mg.g^{-1})

Q_t : quantidade de adsorvato retido no tempo t (mg.g^{-1})

K_2 : é a constante de velocidade de reação de pseudo-segunda ordem ($\text{g.mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)

Os valores de Q_e e K_2 podem ser obtidos através da curva obtida do gráfico (t/q_t) versus t , onde o intercepto e a inclinação da curva são exportados para calcular ambos valores. Quanto mais próximo, a relação linear, da unidade, mais o modelo é aplicável a segunda ordem.

2.3.4.3 Modelo cinético de Elovich

A equação de Elovich (Elovich and Larinov, 1962; S. McIntock, 1967), segundo Nascimento *et al.* (2014) tem sido aplicada para adsorção de diferentes espécies químicas em meio aquoso. Podem ser também empregadas para sistemas que são observadas superfícies heterogêneas, assim como, para verificar o mecanismo cinético por quimiossorção. Têm sido aplicadas satisfatoriamente em alguns processos de cinética de adsorção lenta (Cardoso, 2010; Geus, 2017; Leal, 2016; Silva, 2015). Considera que a dessorção e as interações entre as

moléculas adsorvidas não afetam a cinética de adsorção e assume que a taxa de adsorção diminui exponencialmente com o aumento da quantidade adsorvida

Dessa forma é expressa pela Equação 9, como:

$$Q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln(t) \quad (9)$$

Em que:

α : taxa de adsorção inicial (mg. g⁻¹. min⁻¹);

β : constante de dessorção (mg. g⁻¹);

Q_t : quantidade de adsorvente adsorvido por quantidade de biomassa (mg. g⁻¹)

t: tempo (min)

Após obtenção dos valores o gráfico (q) versus $\ln(t)$ a curva linear extrai-se os valores de α e β , a partir do coeficiente linear e angular da reta, respectivamente (Fideles, 2017; Nascimento *et al.*, 2014).

2.4 MONTMORILLONITA COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

Sistemas de liberação de fármacos são formas ou dispositivos que conduz, de modo seguro e a uma velocidade determinada, um agente terapêutico a uma região específica do organismo de modo que este contenha concentração efetiva no local de absorção ou ação e manutenção durante todo o tratamento (Aguzzi *et al.*, 2007; Viseras *et al.*, 2007; Youssef *et al.*, 2017). O desenvolvimento dessas formas de uso prolongado resulta em regime posológico mais conveniente ao paciente, pois reduz o número de dosagens por dia, tendo o paciente, maior aderência ao tratamento, por uma forma mais aceitável e com maior efetividade (Hassan *et al.*, 2017; Jafarbeglou *et al.*, 2016).

Atualmente, os sistemas de liberação de fármacos podem atingir esses objetivos, assim como aumentar de forma significativa a eficácia dos fármacos através das suas propriedades físico-químicas e, dessa forma, limitando seus efeitos colaterais e tóxicos (Jacob *et al.*, 2018; Viseras *et al.*, 2007). Esses sistemas são melhores adaptados à prática clínica no tratamento dos pacientes diferentemente das formas de dosagem convencionais, com pouco ou nenhum controle de liberação (Viseras *et al.*, 2008).

Como já mencionado, as argilas são comumente usadas na indústria farmacêutica como excipientes ou substâncias ativas e a montmorillonita tem sido amplamente utilizada como matéria prima farmacêutica e adequada para formas farmacêuticas. Dessa forma, o desempenho

dessas aplicações tem evoluído de maneira que, estudos têm demonstrado a efetividade como um agente para liberação de fármacos, devido à sua capacidade de intercalar substâncias de maneira eficiente conduzindo a uma liberação controlada desses fármacos (Jayrajsinh *et al.*, 2017). Estas aplicações refletem dos processos adsorptivos que envolvem as características físicas e químicas da própria argila, demonstrados na sessão 3.2.2.1.1 (Yang *et al.*, 2016).

Inicialmente algumas propriedades são importantes para serem estudadas para formação desses sistemas. Um estudo realizado por Oliveira; Alcântara; Pergher (2017) verificando a intercalação da olanzapina, demonstrou que o total de cargas que existem na molécula do fármaco interfere no modo como essa interage com a argila, de acordo com o pH, e verificou que houve um controle de liberação da olanzapina, baixa liberação a pH 1,2 e liberação controlada liberação a pH 7,4. Já Wu *et al.* (2017) verificou que para o ciprofloxacino, a intercalação ocorreu em meio ácido pois a molécula do fármaco possui carga catiônica nesse meio e permitia assim a troca com os cátions interlamelares, obtendo uma liberação baseada em difusão, controlada, devido as interações.

Aguzzi *et al.* (2007) descreve que entre as várias abordagens para alcançar formulações de liberação controlada, com o uso de argilas, o processo de troca iônica tem recebido considerável atenção dos pesquisadores. Isso se deve ao fato do intercâmbio reversível de íons existentes entre uma fase líquida e uma sólida, podendo não envolver mudanças radicais na estrutura e nas propriedades do sólido, é um dos principais mecanismos que podem formar tais sistemas, sendo um dos mecanismos que regeu os estudos anteriormente citados.

Na prática o fármaco é misturado com um sólido apropriado para formar um complexo e esse complexo pode ser controlado, para obtenção do maior desempenho por vários fatores como: pH, temperatura da solução do fármaco, peso molecular, intensidade de carga do fármaco e da argila, geometria dessas moléculas, velocidade de mistura (agitação), força iônica da solução do fármaco, grau de reticulação e tamanho das partículas da argila, natureza do solvente e o tempo de contato entre as espécies do fármaco com a argila (Anand, Kandarapu e Garg, 2001).

Na Tabela 4, são demonstrados alguns estudos da adsorção de fármacos com a montmorillonita utilizada com finalidade de formação de híbridos com possíveis aplicações para sistemas de liberação de fármacos, excluindo-se sistemas formados a partir de outros componentes (polímeros, tensoativos, proteínas etc.). Os processos adsorptivos foram predominantes para formação desses complexos sendo o entendimento desses mecanismos de suma importância para reconhecimento da formação dos compostos. Pois, é a partir desses

conhecimentos, que é possível prever e explicar as liberações e atividades, assim como o envolvimento na melhoria dos processos biofarmacêuticos, que ainda são pouco explorados.

Tabela 4- Descrição das várias aplicações no desenvolvimento de híbridos argila Montmorillonita/fármaco para liberação controlada

Design de aplicabilidade do fármaco utilizado	Categoria farmacológica	Conclusão	Referência
Liberação prolongada da clorpromazina (CPZ)	Antipsicótico	A adsorção foi dependente de pH, na faixa de 2 a 10, com maior adsorção em pH 6, com tempo de contato, atingindo o equilíbrio em 24 h, na temperatura a 37°C. Os sólidos foram intercalados e houve prolongamento da liberação do fármaco no ambiente gástrico, atingindo liberação de 75% somente após 780 min.	Djebbi et al. (2018)
Melhoria biofarmacêutica do praziquantel	Antiparasitário	Houve intercalação do fármaco na interlamela. A taxa de dissolução foi maior em meio ácido, do que no intestinal, porém, houve aumento da taxa de dissolução (solubilidade) do fármaco, em pH intestinal, ambiente preferencial de absorção desse fármaco.	Borrego-Sánchez et al. (2017)
Nanodispositivos para liberação do metronidazol no cólon	Antiparasitário	A adsorção foi dependente de pH, reproduzindo melhor em pH 5,0, com maior adsorção. O modo de preparo do	Calabrese et al. (2013)

		sistema, com quantidade de fármaco e pH, influencia na liberação, sendo apenas 10% liberado em ambiente gástrico e uma liberação prolongada em pH 6,8. Demonstrando a afinidade do fármaco pela região interlamelar comparado ao perfil de uma formulação comercial do fármaco.	
Intercalação e liberação <i>in vitro</i> do maleato de timolol (MT)	Beta-bloqueador	Houve a intercalação do MT de 17% de fármaco, com formação do híbrido em 1 h. Ocorreu liberação em meio ácido e básico de 43% e 48%, respectivamente em 9 horas de estudo.	Joshi et al. (2009)
Liberação <i>in vitro</i> e atividade antimicrobiana do complexo com gentamicina	Antibiótico	O fármaco foi intercalado eficiente sob 50°C e 20°C, mais eficaz quando a argila não era hidratada. O método de obtenção interfere na liberação. No complexo intercalado a 50°C, a liberação foi acima de 41% após 4 dias, e a menor taxa de liberação, foi observada para o complexo intercalado a 20°C, com cerca de 30% após 4 dias, com atividade para <i>E. coli</i>.	Rapacz-Kmita et al. (2017)
Formação de híbrido para liberação	Analgésico de ação central	O TH foi intercalado por troca catiônica, com capacidade	Chen et al. (2010)

controlada do cloridrato de tramadol (TH)		máxima de adsorção a 60°C/ 2 horas. A taxa de adsorção aumenta com o aumento da temperatura, sugerindo que a adsorção seja de natureza endotérmica. A liberação <i>in vitro</i> do fármaco foi dependente do pH, após 120 min, 72,8% e 41,8% foram liberados no ambiente gástrico e intestinal, respectivamente.	
Formação de sistema a partir da vitamina B₁	Suplemento alimentar	A vitamina obteve adsorção máxima em pH 7, por troca catiônica, com concentração máxima de 23,5 mg/g a 323K/ 1h. Houve ajuste a Langmuir, sendo um processo espontâneo e endotérmico. A taxa de liberação <i>in vitro</i> foi dependente do pH do meio, 34% e 64% foi liberado, após 600 min em meio gástrico e intestinal, respectivamente. Podendo consideram um sistema de controle de liberação.	Joshi et al. (2009)
Estudo de liberação e atividade do acetato de clorexidina (AC)	Antimicrobiano	Houve adsorção do fármaco e intercalação demonstrados pelo DRX. O fármaco interagiu fracamente com a superfície das partículas da argila. Houve aumento do controle de liberação do	Meng et al. (2009)

		fármaco, com 50% de liberação, em solução, após 40 h. Os híbridos apresentaram atividade antibacteriana	
Obtenção do híbrido clorexidina (CA) com montmorillonita	Antimicrobiano	A quantidade de CA carregado nas argilas foi alta, de 22,5% em peso para MMT. Houve aumento do espaçamento interlamelar. Houve liberação controlada nas primeiras 5 horas.	Lobato-Aguilar et al. (2018)
Obtenção de nanocarreador com controle inteligente na atividade antimicrobiana da tetraciclina	Antimicrobiano	A montmorillonita foi modificada utilizando força centrífuga e soluções de NaOH e HCl e estudada. Houve adsorção de fármaco em todas as amostras, porém com o aumento do pH, a quantidade de tetraciclina diminui, tendo maior quantidade adsorvida em pH 2,4 (amostra tratada com HCl), porém mais lenta a difusão. No estudo de liberação <i>in vitro</i> uma quantidade ligeiramente menor foi desorvida em pH gástrico comparado ao intestinal, para todas as amostras.	Chahardah masoumi et al., (2019)
Investigação da aplicação de bentonita de sódio	Anti-inflamatório; hipoglicemiante	O diclofenaco de sódio em tampão 6,8 e o paracetamol nos tampões de pH 6,8 e pH	Alkrad et al., (2017)

como excipiente em uma formulação de comprimido para liberação do paracetamol, diclofenaco e metformina		4,5, apresentaram liberação prolongada. Contudo, metformina HCl mostrou liberação imediata nos diferentes valores de pH. É possível utilizar bentonita de sódio para preparar comprimidos com diferentes perfis de liberação.	
Montmorillonita como agente de imagem e sistema de liberação de fármaco para terapia do câncer	Anticancerígeno	Os vasos arteriais ao redor do tumor foram bloqueados com partículas de argila (embolização arterial transcatereter). Tanto o material de contraste (amidotrizoato de sódio/ amidotrizoato de meglumina/ cálcio edetato) e o fármaco cloridrato de doxorubicina foram intercalados no espaço interlamelar. O material de contraste brilhou ao redor da área de embolização e permitiu a geração de imagens. O fármaco antitumoral adsorvido (97,03% m/m) causou a desvascularização e a liberação controlada de 20 dias com liberação de 20,5% em torno do local do tumor que pode resultar no desaparecimento desse tumor.	Bekaroğlu, Nurili e İşçi,(2018)

Preparação de liberação sustentada com montmorillonita ativada por ácido para liberação do dexibuprofeno <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	Anti-inflamatório não esteroidal	Com a adição de ácido na superfície da montmorillonita, houve aumento do tamanho dos poros e capacidade de adsorção aumentou de 190 mg/g para 298 mg/g após o tratamento. Cerca de 92% do fármaco foi liberado em 12 h de estudo, no fluido intestinal, o que significa um controle de liberação. Por outro lado apenas 19% foi liberado em pH 1,2. Portanto a liberação foi dependente de pH. A AUC 0-24, obteve liberação de $644.49 \pm 73,26 \mu\text{g/mL/h}$ em $5,58 \pm 0,55\text{h}$, comparado a suspensão do fármaco livre $493,88 \pm 84,41\mu\text{g/mL/h}$, em $2,36 \pm 0,05 \text{ h}$, respectivamente. Sugerindo que os híbridos podem formar um sistema de liberação sustentada do fármaco.
Estudo da adsorção do acetato de clorexidina (AC) e do cloridrato de terbinafina (TBH) na superfície da montmorillonita como sistema de liberação	Antibiótico e antifúngico	Foi confirmado que houve a intercalação dos dois fármacos na interlamela da argila, com deslocamento do espaçamento basal, no DRX de 1,23 antes, para 2,97 Å, após a intercalação. Houve uma liberação de 35% nas primeiras 24 h, em meio

0,9% de NaCl, seguindo um declínio constante de CA e TBH em solução, com apenas 50% de CA e TBH liberados após 40h. Isso indica a interação entre CA e TBH entre as camadas de hidróxido da montmorilonita carregadas negativamente e o NH^+ de cada molécula e só pode ser liberada quando todas as ligações de NH^+ , forem substituídas por Na^+ . Dessa forma, sendo um eficaz sistema de controle de liberação desses dois fármacos.

Fonte: autoria própria

De maneira geral, a formação de complexos com as argilas, podem envolver interações por ligações de hidrogênio, onde grupamentos funcionais como aminas, carbonilas, carboxilas, podem interagir com a argila, nas superfícies que contém oxigênio. Mecanismo de protonação, onde grupos funcionais como aminas, carbonila, carboxilato, podem interagir com a argila, formado por aluminossilicatos, óxidos de Fe e Al. Mecanismo de troca de ligantes por carboxilato e fenolatos podem interagir com locais de aluminossilicatos, óxidos de Fe e Al. Por troca catiônica, onde grupamentos de aminas, anel amina, nitrogênio heterocíclico pode interagir com argilas esmectitas, vermiculitas ou illita. E, além disso pode ser regido por mecanismo de locais de carga dependente do pH (e geralmente troca de cátions) que podem, através de trocas por carboxilato, aminas, anel amino, troca por nitrogênio heterocíclico interagir, nos locais do aluminossilicatos, óxidos de Fe e Al (Ngulube *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2013).

Djebbi *et al.* (2018) demonstrou que o processo de formação do sistema híbrido da clorpromazina com a argila montmorillonita foi formado por processo de troca catiônica e que a propriedade do fármaco ser catiônico, definiu o mecanismo, sendo diferente a eficiência a

partir da força iônica, tempo de contato e pH. Outra propriedade importante atrelada a esses conhecimentos foi relatado por McGinity; Lach (1976) que confirmou que as moléculas básicas ou ácidos fracos se ligam fortemente à montmorillonita e que complexos com drogas aniônicas e não iônicas exibem ligações de interações muito mais fracas e uma cinética de dessorção mais rápida.

Em continuidade a esses mecanismos de entendimento dos processos de adsorção, algumas técnicas na análise de materiais são fundamentais. A exemplo, utiliza-se a difração de raios X (DRX) que foi uma ferramenta útil para análise da orientação dos fármacos catiônicos estudados (Borrego-Sánchez, et al., 2018; Calabrese, et al., 2013; Joshi, et al., 2009; Rapacz-Kmita, et al., 2017; Iliescu, et al., 2011; Chen, et al., 2010; Baek, 2012; Turker, et al., 2017; Joshi, et al., 2009 b). Pois, foi possível verificar a pureza das fases, o tipo de estrutura e o espaçamento entre as camadas da argila (d), espaço interlamelar (d_{001}), verificando um aumento desse espaçamento depois da intercalação do fármaco. Pois, a montmorillonita possui uma típica reflexão 001 em 2θ , que variam de ângulo dependendo do tipo da argila e do local de coleta, além do pré-processamento da argila antes do uso. Depois de intercalado, essa região 001 tende a deslocar a reflexão em 2θ para valores menores. Esse aumento no espaçamento d é sugerido como presença de intercalação do fármaco no espaço interlamelar, confirmando assim eficiência do método adsortivo na presença de fármacos (Djebbi, et al., 2018).

2.4.1 Organofilização

Desde a introdução de argilas organofílicas por Jordan, 1949 vem crescendo cada vez mais a utilização para diversas aplicabilidades. Argilas organofílicas contém componentes orgânicos, que possam modificar a interface hidrofílica para hidrofóbica, através de substituições dos cátions da argila, por cátions orgânicos, ou mesmo moléculas presentes na interface, como os tensoativos, de modo a obter maior expansão entre os planos d (001) da argila (Paiva, Morales e Díaz, 2008).

Essas aplicabilidades têm sido recentemente introduzido para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos, onde algumas modificações podem ser realizadas na superfície da argila montmorillonita, para que o material possa dispor do aumento das suas propriedades, e assim acomodar as moléculas bioativas no seu espaço interlamelar, aumentar a solubilização gastrointestinal e a possível adsorção de fármacos pouco solúveis em água e controlar a liberação desses compostos, como tem sido realizado em estudos de formulações baseadas em lipídios (Dening *et al.*, 2017; Feeney *et al.*, 2016).

Para as argilas, segundo Balcerzak et al. (2015), a presença de material orgânico, a exemplo de surfactantes, intercalados no material argiloso, altera o caráter superficial do material. Como a montmorillonita possui caráter hidrofílico interlamelar, devido à presença de água disposta nessa estrutura, o caráter hidrofóbico dos tensoativos, para expansão desses materiais, pode tornar a montmorillonita mais facilmente dispersa em solventes orgânicos, além de melhorar a afinidade por compostos também da mesma natureza (Jayrajsinh *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017; Ouellet-plamondon, 2014).

O tipo de surfactante utilizado para a modificação da argila é importante pois influência no processo expansivo estrutural para aumento do espaçamento basal entre as camadas do material, no processo de adsorção de certos fármacos, bem como, no processo de liberação controlada (Amirianshoja *et al.*, 2013; Sánchez-Martín *et al.*, 2008; Xi, Mallavarapu e Naidu, 2010).

Segundo Sánchez-Martín et al. (2008) fez um estudo comparando surfactantes aniônicos, neutros e catiônicos em quatro argilas diferentes e com a montmorillonita e verificou que as maiores adsorções ocorreram na sequência do tensoativo catiônico, seguida pelo neutro e após o aniônico.

Já um estudo realizado por Ouellet-Plamondon (2014), verificou que os agentes neutros obtiveram uma menor intercalação comparado aos surfactantes catiônico, que obtiveram menor intercalação, comparado aos anfifílicos, nessa ordem. Segundo o mesmo, deve-se ao fato de que, para os agentes não iônicos estudados (polipropilenoglicóis), os átomos de oxigênio podem quelar com alguns cátions não deslocado da argila, que associado a alta hidrofobicidade, contribuem para redução do intumescimento. Já para o tensoativo catiônico (hexadeciltrimetilamônio), a intercalação ocorreu movendo-se gradualmente pelas camadas, por trocas catiônicas, aumentando sua expansão com o aumento da concentração desses agentes. Para a lecitina e topcitina, agentes anfifílicos estudados, ocorreu expansão de até 5 x mais, comparado a argila sem modificação, tendo um arranjo em monocamada e arranjo em bicamada de acordo com a configuração molecular do surfactante, e deve-se, ao arranjo e orientação desordenada dessas cadeias nas intercamadas, sugerindo moléculas que estejam intercaladas e esfoliadas dentro da lamela.

Os agentes catiônicos podem ser uma das escolhas para obtenção de maiores expansões na argila, tornando-a organofílica e sendo um excelente material para adsorção de espécies orgânicas pouco solúveis em água. Os surfactantes catiônicos trocam o sódio lamelar e outros cátions presentes na argila, seguido pela diminuição da tensão superficial entre as superfícies das intercamadas e faz com que as lamelas sejam mais facilmente intercaladas e esfoliadas. E

isso depende da estrutura química do surfactante e da estrutura da argila com diferentes espessuras (Jayrajsinh *et al.*, 2017).

Um estudo feito por He *et al.* (2010), verificou a utilização da montmorillonita, com diferentes concentrações de troca catiônica (CTC), e utilizou diferentes surfactantes catiônicos, com diferentes comprimentos de cadeia. Foi possível verificar que a CTC, tem pouca influência no espaçamento basal máximo de intercalação do surfactante e que a obtenção de maior intercalação ocorreu com o surfactante de maior cadeia, com maior organização estrutural e que para argila com menor CTC é exigido menos concentração de surfactante, para atingir um espaçamento basal máximo e para argila com maior CTC é exigido uma maior concentração de surfactante.

Dessa forma, é possível compreender que para uma quantidade mínima de surfactante, se pode ter resultados desejados e isso é bastante aceitável quando se relaciona à segurança efetiva tratando-se de produtos farmacêuticos (Amirianshoja *et al.*, 2013; Jayrajsinh *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017). Diante disso, dependendo da densidade de cargas e dos íons dos surfactantes, diferentes arranjos podem ser obtidos na estrutura da argila organofílica.

Porém, é preciso investigar as suas aplicações pois, a utilização para materiais farmacêuticos com tensoativos catiônicos, desfavorece a sua aplicabilidade por serem tóxicos por via oral. Em sua grande maioria, são formados por grupamentos de amônio quaternário, piridínio ou imidazólio que não são biodegradáveis e possuem resíduos tóxicos mesmo após sua degradação (Beall e Goss, 2004; Chou, 1969; Häckl *et al.*, 2018). Dessa forma a utilização e modificação com surfactantes iônicos ou zwitteriônico são preferíveis, uma vez que podem oferecer estabilidades térmicas e químicas, não toxicidade, na grande maioria, biodegradabilidade, biocompatibilidade, e menos riscos inerentes. Essas são as qualidades que tornam esse tipo de substância, no interesse dos cientistas, para construção de materiais de biointerfaces avançadas e multifuncionais (Beall e Goss, 2004; Gamba *et al.*, 2017; Wicklein, 2011).

2.5 METODOLOGIA COMPUTACIONAL

Neste trabalho de tese de Doutorado se empregou dois tipos gerais de técnicas e metodologias: a experimental e a teórica. O uso combinado de ambas permite uma compreensão mais aprofundada dos problemas do estudo. Assim, enquanto o estudo experimental tem uma visão prática do que ocorreu com o material, analisando de maneira mais externa, por medição das propriedades reais do sistema de uma maneira macro, a teoria, parte para princípios internos, numa visão profunda do conhecimento do material estudado, com compreensão dos

aspectos físicos e químicos, construindo modelos moleculares que permitem estimar as propriedades do material e compara-las com as medidas experimentais.

Por uma parte, o estudo somente da parte teórica por si só, permite ser capaz de explicar e descrever o que reflete o material, sob aspectos moleculares e/ou atômicos. E essa utilização dos conhecimentos têm avançado nas últimas décadas, devido as tecnologias da informática, e o desenvolvimento de métodos capazes de abordar problemas de maior complexidade, com suficientemente precisão. Nesse campo, dos estudos das interações, têm sido avaliados diversos materiais, incluindo as argilas e obtidos resultados de relevância mediante a modelização computacional, que pode ser aplicado com bastante relevância e multidisciplinaridade, para a química, a física, a matemática, a geologia, as ciências da computação, etc. (Bello *et al.*, 2015; Rebitski *et al.*, 2020; Rohr, 2011; Souza, Iane M S *et al.*, 2020)

Dessa forma, denomina-se química computacional, o campo teórico, que tem como objetivo a obtenção de informações estruturais de sistemas químicos, através de cálculos matemáticos baseados em leis fundamentais da física. Fornece uma compreensão quantitativa das variações estruturais e energéticas dos materiais estudados, podendo atuar como ferramenta de apoio na análise e interpretação de dados experimentais, através de informações, que muitas vezes, não são possíveis de serem obtidas diretamente dos experimentos (Cygan, 2015; Rohr, 2011).

A Tabela 5 exhibe alguns trabalhos que foram utilizados com argilominerais para o entendimento dos processos associados a insumos farmacêuticos ativos.

Tabela 5- Descrição das várias aplicações realizadas com argilominerais e fármacos sob aspectos teóricos de modelagem molecular

Design de aplicabilidade do fármaco utilizado	Materiais envolvidos Software utilizado	Conclusão teórica	Referência
Avaliação teórica e experimental sobre a intercalação da metformina (MF) na argila Cloisita®Na e Laponita®XLG	- Montmorillonita e hectorita; -Materials Studio.	A metformina foi intercalada nos dois minerais de argila, pelo mecanismo de troca catiônica, que foi energeticamente favorável, como observado pelos	Rebitski et al., (2020)

		cálculos teóricos. A protonação do MF ocorre no grupamento amino com uma ligação no carbono 2. A MF forma ligações de hidrogênio, com o O da superfície da argila, e também, com os átomos de água (O), através do átomo de H, os grupos CH₃ terminal e NH₂ central e terminal com distâncias de 1,95 nm a 2,50 nm. A MF altera sua conformação após a intercalação.
Mecanismos de ligação do ácido salicílico adsorvido na argila ilita: um estudo do orbital molecular	-Ilita; -Gaussian 92	Há um aumento da adsorção de ácidos orgânicos com a diminuição do pH da solução e sugerem que haja ligações como Al-O-C (Al³⁺ da superfície da argila e -O-C da molécula do fármaco) se formem. R-COO- do fármaco substitui H₂O da superfície da argila. Em condições neutras, um complexo monodentados (ligam-se apenas a um átomo doador) envolva um oxigênio carboxilato, já em condições de pH mais baixo, um complexo bidentado envolva átomo de

[Apitz,\(1997\)](#)

		oxigênio carboxilato e dois octaedros vicinais de Al^{3+} .
Estudo da interação da montmorillonita de sódio e fármacos contendo amina: 5-fluorouracil, aciclovir, clorexidina, gluconato, dapsona, doxazosina, mesilato, nistatina, rivastigmina, esulizol	- Montmorillonita e caulinita - Materials Studio	Todos os fármacos adsorveram na superfície da argila, exceto aciclovir. Os grupamentos aminas protonada da rivastigmina, doxazosina, clorexidina, dapsona e nistatina foi o principal mecanismo envolvido para intercalação, pela ligação íon-dipolo e por ligação de hidrogênio na superfície da montmorillonita. O composto esulizol mostrou-se predominantemente sob a forma desprotonada, indicando que não possui forma favorável de intercalação. Já o aciclovir, mesmo na sua forma protonada, não houve evidências de intercalação, provavelmente devido à influência das condições ácidas presentes no experimento da reação. O 5-fluorouracil, mostrou-se na forma neutra, sendo evidenciado intercalação, sugerindo que este processo

Bello et al.,
(2015)

		é provavelmente devido a adsorção livre ou por ligação de hidrogênio.
Estudo da adsorção de Ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) no nanotubo de haloisita	- Haloisita - Materials Studio	Em todos os modelos formados a adsorção da molécula do fármaco é energeticamente favorável. A energia de adsorção é independente da orientação do grupamento carboxílico (do fármaco) em relação ao substituinte hidroxil (da argila), exibindo o mesmo comportamento. A presença de água favorece a adsorção do fármaco, formando ligações de hidrogênio com a molécula. A orientação perpendicular é improvável. As principais interações é π entre o anel aromático do fármaco e a superfície do mineral. Além de interações eletrostáticas entre os átomos carregados positivamente (do fármaco) e os átomos de O, carregados negativamente (da argila).

Borrego-Sánchez, Awad e Sainz-Díaz, (2018)

Estudo da estrutura e do mecanismo de adsorção de antimicrobianos do grupo das fluoroquinolonas como ciprofloxacino (CFX) e moxifloxacino (MFX) na superfície de argila	- Montmorillonita -Materials Studio	Foi observado que para os dois fármacos houve orientações diferentes dentro da interlamela da argila. Para a CFX a estrutura foi paralela à superfície, enquanto, para a MFX, a estrutura era inclinada. Essas conformações resultaram em complexos, com capacidade de troca com Na^+ , mais rapidamente para a CFX e mais lentamente para MFX, interferindo na capacidade de adsorção.	Okaikue-woodi et al., (2018)
--	---	--	--

Estudo de nanotubos de haloisita como portador do fármaco irinotecano	-Haloisita -Materials Studio	As moléculas do fármaco (catiônico) permanecem mais próximas da parte externa dos nanotubos de haloisita. Os eixos longitudinais, dos cátions, dos fármacos adjacentes, são posicionados ao longo do eixo longitudinal dos túbulos e, com base nos cálculos, essas posições são energeticamente preferidas. Com base na mecânica molecular e nas simulações da dinâmica molecular, o número preferido de cátions de fármacos carregados em um modelo de tubo são 5, com comprimento de 25,35 Å, e esse número de cátions está de acordo com a razão de peso molar dos componentes medidos em amostras reais.	(Gianni <i>et al.</i> , 2019)
Avaliação da capacidade adsorção de isoniazida em zeolitas	-Faujasita-Y -Mordenita -Zeolita beta -Materials Studio	Após a otimização a molécula de isoniazida mostrou um pequeno aumento no comprimento da ligação $\text{H}_2\text{N}-\text{NHCO}$ e a energia de adsorção foi de -9,51 kcal/mol, sendo uma adsorção favorável. Para a Faujasite-Y houve uma	Souza <i>et al.</i> , (2020)

maior adsorção, confirmando o experimental. A energia de adsorção foi de -47,98 kcal/mol, devido a alta proporção de cátions Na, aumentando assim as interações eletrostáticas entre o adsorbato e a superfície da argila. Já para adsorção do zeólito beta, o fármaco foi incorporado nos canais, observando, após otimização, mudança de conformação da molécula, no tamanho da ligação citada acima. Há uma interação entre os grupamentos H da ligação NH_2 com a superfície do mineral. Os complexos apresentaram energia de adsorção para ambos canais de -52,92 kcal/mol e -39,73 kcal/mol, indicando o processo favorável energeticamente. Para os três zeólitos, há uma capacidade de adsorção da isoniazida e serem portadores de fármaco.

Estudo da força motriz para o inchamento da montmorilonita (MMT) e influência dos cátions trocáveis	- Montmorillonita -Material Studio Em contraste com as camadas da MMT com cargas superficiais negativas, os cátions trocáveis têm uma afinidade muito mais forte com as moléculas de água e, portanto, fornecem a força motriz dominante para o inchamento da MMT. Com o aumento da carga superficial, o número de cátions trocáveis aumenta, e quanto mais forte a capacidade de hidratação dos cátions, maior a contribuição deles para a força motriz total para o inchaço do MMT.
--	--

Fonte: autoria própria

Um material, que exibe ordenamento de átomos, com ordem de curto alcance e um arranjo espacial de átomos e outros materiais mais complexos, podem exibir uma ordem de longo alcance, com átomos ou íons desses materiais formando um padrão repetitivo regular, semelhante a uma grade, em três dimensões. Dessa forma, vale chamar esses materiais de materiais cristalinos (Sark, 2002).

Na modelagem molecular, para se obter informações sobre as estruturas cristalinas dos materiais, e essas, serem inseridas, como base inicial da estrutura de trabalho, alguns recursos como publicações ou algumas bases de dados, são utilizadas para extração do arquivo cif. do cristal (da molécula de estudo). Abrange um grande arsenal de moléculas cujas estruturas podem ser incluídas em materiais orgânicos ou inorgânicos e podemos citar: BMCD (Biological Macromolecule Crystallization Database), CRYSTMET (Metal and intermetallic Structures), CSD (Cambridge Structural Database of organic and metal-organic structures), ICSD (Inorganic Structural Database), NDB (Nucleic Acid Database), LipidBank (lipídios), PDB

(Protein Data Bank), PDF (Powder Diffraction File of the International Center for Diffraction Data). Essas, são bases de dados cristalográficas primárias e são os principais bancos de dados públicos de estrutura cristalina e dados relacionados, sobre estruturas de compostos macromoleculares inorgânicos, orgânicos, metal-orgânicos e biológicos de imenso valor para uma ampla gama de ciência estruturais, que geralmente são mantidos por grandes organizações e são recursos valiosos para o benefício da ciência como um todo (Barreiro *et al.*, 1997; Bruno *et al.*, 2017; Groom *et al.*, 2016).

Dessa maneira, uma abordagem atomística acontece com a criação de um modelo, a partir de uma estrutura formada, a inclusão de condições de contorno periódicas em 3D, a escolha de uma propriedade experimental, da melhor metodologia computacional para extrair essa propriedade do modelo e daí ajustar as configurações e os valores experimentais (Baco *et al.*, 2019; Bargmann *et al.*, 2018). Para cada metodologia computacional, somente aparecem descritos os detalhes mais específicos utilizados em cada artigo, têm-se como objetivo nesse parte do capítulo, ao menos de forma resumida, descrever os principais aspectos das teorias e métodos e as principais estratégias computacionais e pacotes de cálculo específicos para a modelização das estruturas moleculares e sólidos, assim como, a determinação de certas propriedades de interesse para obter uma descrição molecular dos sistemas híbridos.

2.5.1 Teorias e métodos

O trabalho com modelos teóricos empregados na química computacional, para estudar as estruturas e a reatividade das moléculas, se distinguem em dois grandes grupos: modelos quânticos, baseados em mecânica quântica (MQ) e modelos clássicos, derivados da mecânica molecular (MM). Para eleger uma ou outra, no momento de realização dos estudos de modelização molecular computacional, deve-se considerar alguns principais fatores, como, tamanho do sistema, custo computacional requerido e a precisão desejada. Nenhum método para cálculo é provável que seja ideal para todas as aplicações e a melhor escolha dos métodos, baseia-se em um equilíbrio entre a precisão e o custo (Borrego-Sánchez *et al.*, 2016; Carazo *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2019).

2.5.1.1 Mecânica Quântica (MQ)

Para sistemas reais, há uma energia cinética dos átomos que faz com que colisões intermoleculares aconteçam a todo momento, incluindo as mudanças conformacionais. Para esses sistemas, existe uma função matemática, de modo que nessa função, contenha todas as informações significativas do sistema. Essas informações se dão pelo conhecimento da distribuição eletrônica e se inclui explicitamente mediante sua codificação em função de onda, relacionada com a energia e pode ser verificada através da equação de Schrödinger, independentemente do tempo (Anna e Carlos, 2017; Braun *et al.*, 2019):

$$H\Psi(r) = E\Psi(r) \quad (10)$$

Onde o operador hamiltoniano (H) inclui na energia cinética e potencial de núcleos eletrônicos, E é a energia, e Ψ é a função de onda. Para resolver esta equação, é necessário introduzir diversas aproximações (Born-Oppenheimer, combinações lineares de orbitais atômicos etc.). Não contempla nenhum tipo de parametrização empírica externa, e se conhece esse método, de *método ab initio*.

Dessa forma, são estudados os átomos como sistemas formados por núcleos e elétrons. O que difere de outros métodos, é que nesse método, se considera os átomos como pontos carregados e dessa forma se estudam as interações entre núcleos, entre elétrons e entre núcleos e elétrons, com foco na densidade de elétrons, geometria orbital, química das reações e estados de transição, utilizando exatamente a equação anteriormente citada. Considerando que, cada sistema contém presente, diversos elétrons, que podem ser calculadas, sendo elas, a energia cinética dos elétrons, a energia cinética dos núcleos, as repulsões elétron-elétron, núcleo-núcleo, e as atrações entre elétrons e núcleos. Então, um sistema que possui n elétrons e x núcleos, a equação base 10, reformula-se, devido ao potencial de repulsão entre elétrons e daí considera-se cada particularidade, como a massa do elétron, os núcleos, as cargas nucleares, as distâncias eletrônicas, as distâncias entre os núcleos, as distâncias entre os elétrons e os núcleos etc (Aichelin, 1991; Egorov, 2019; Nourmoradi *et al.*, 2016; Rohr, 2011; Wolters e Bickelhaupt, 2015).

Dessa forma, outros métodos da química quântica são aplicados, como o método de Hartree-Fock (HF), teoria do funcional da densidade (DFT). A aplicabilidade da química quântica pode ser utilizada, para resoluções de problemas e conhecimentos do comportamento eletrônico dos átomos, moléculas íons e redes cristalinas, de ligações ou mudanças drásticas na distribuição eletrônica, que podem ocorrer com os materiais de interações, podem possuir maior precisão, porém, são computacionalmente mais caros. (Landeros-Martinez, L. L.; Glossman-

Mitnik, D.; Orrantia-Borunda, 2017; Sainz-Daz, Francisco-Mrquez e Vivier-Bunge, 2011; Wolters e Bickelhaupt, 2015)

2.5.1.2 Mecânica Molecular (MM)

É um método clássico que está baseado em expressões analíticas da energia que se deriva da mecânica newtoniana. Considera a molécula como um conjunto de átomos, conectados, por ligações, cujo movimento pode ser descrito pelas leis da física clássica, através de funções de energia potencial. A simplificação dessas funções potenciais de energia, é que consideram apenas os núcleos dos átomos e não há tratamento explícito de elétrons. O tratamento de átomos e ligações, é definida com campos de força ou campos de força que incluem os parâmetros e equações que os descrevem. Aqui, os átomos se apresentam como cargas pontuais e as interações entre os átomos do sistema, se determina mediante as funções de energia (Hehre, [s.d.]), cujos parâmetros (empíricos) se ajustam para reproduzir alguns dados experimentais e/ou dados teóricos, que foram provenientes de cálculos quânticos de maior precisão. As simulações atomísticas clássicas tendem a ser um milhão de vezes mais rápido em comparação com os cálculos de DFT para o mesmo tamanho do sistema (Barreiro *et al.*, 1997; Cygan, 2015; Harlow, 2011; Heinz e Ramezani-dakhel, 2016)

O sucesso dos modelos da mecânica molecular, depende do alto grau de transferibilidade dos parâmetros geométricos de uma molécula para outra, bem como dependência previsível dos parâmetros em hibridação atômica. Por exemplo, comprimentos de ligação simples carbono-carbono, geralmente estão na pequena faixa de 1,45 a 1,55 Å, e aumenta em comprimento com o aumento do “caráter” dos híbridos. Assim, é possível fornecer um palpite, bastante preciso, da geometria molecular em termos de comprimento de ligação, ângulos de ligação e ângulos de torção, desde que a molécula já tenha representado em termos de uma estrutura, uma valência específica (Hehre, 2002) .

Então, a “energia” da mecânica molecular de uma molécula é descrita em termos de uma soma de contribuições decorrentes de distorções de vínculo das distâncias ideais de ligação (“contribuições de alongamento”), ângulos de ligações (“contribuições de flexão”) e ângulos de torção (“contribuições de torção”), juntamente com contribuições devido as interações “não vinculadas”, átomos não ligados a estrutura (interações Van der Waals e Coulombic). É comumente referida como “energia de tensão”, o que significa que reflete a “tensão” inerente a uma molécula “real” em relação a alguma forma idealizada (Anna e Carlos, 2017; Barreiro *et al.*, 1997).

$$E^{Tensão} = \sum_A^{ligações} E^{Alongamento} + \sum_A^{Ângulos\ de\ Ligação} E^{Flexão} + \sum_A^{Ângulos\ de\ Torção} E^{Torção} + \sum_{AB}^{Átomos\ não\ ligados} E^{não\ ligação} \quad (11)$$

Para os três primeiros somatórios da equação 11, diz respeito a todas as “ligações”, todos os “ângulos de ligação” e todos os “ângulos de torção”, respectivamente. Assim, as informações sobre as ligações são “parte da entrada” no cálculo da mecânica molecular, em contraste com um cálculo químico quântico em que é “ parte da saída”. O último somatório da equação 1 é sobre todos os pares de átomos que não estão ligados a estrutura da molécula principal (Anna e Carlos, 2017; Cygan, 2015).

Dessa forma, o conjunto dessa expressão 11, e seus parâmetros constituem o que se denomina campo de força (*forcefield*, FF). Esses campos de força estimam a energia potencial do sistema em estudo e calculam as forças de interação que atuam nos átomos envolvidos. Então, a diferença entre os vários campos de força utilizados, está em sua forma funcional de aplicação dos parâmetros empíricos utilizados. E a principal vantagem dos modelos de mecânica molecular (sobre qualquer modelo químico quântico, descrito anteriormente), é sua simplicidade (Jaillet, Artemova e Redon, 2017; Sun, 1998).

Excluindo-se os sistemas muito pequenos, o custo da computação é completamente dominado pela avaliação de forças de Van der Waals e Coulombic, por átomos não ligados, cujo número é dado pelo quadrado do número de átomos. No entanto, a magnitude desses termos diminui rapidamente com o aumento da distância interatômicas e, na prática, o custo da computação varia linearmente com o tamanho das moléculas (Backe e Backe, 2014; Savin e Mazo, 2020).

Os cálculos de mecânica molecular podem ser facilmente realizados em moléculas compreendendo milhares de átomos e são suficientemente rápidos, permitindo uma extensa pesquisa conformacional em moléculas contendo mais de 100-200 átomos e a análise conformacional é, talvez, a aplicação mais importante da mecânica molecular. Dessa forma, a maioria dos campos de forças são desenvolvidos, em especial, para moléculas orgânicas, e ainda existem outros que foram desenvolvidos para reproduzirem melhor os sistemas inorgânicos e minerais. É difícil encontrar um campo de força que reproduza adequadamente ambos sistemas de uma só vez, orgânico e inorgânico, porém muito têm se desenvolvido para alcançar esses requisitos. Na presente tese, têm sido utilizado os campos de forças apresentados na continuação (Backe e Backe, 2014; Heinz e Ramezani-dakhel, 2016).

2.5.1.2.1 *Campos de Forças*

a) **Condensed-Phase Optimized Molecular Potentials for Atomistic Simulation Studies (COMPASS)**

COMPASS é um poderoso campo de força que suporta simulações atomísticas de fase condensada e foi o primeiro campo de força *ab initio* que foi parametrizado e validado utilizando as propriedades de fase condensada, para uma ampla gama de compostos orgânicos contendo H, C, N, O, S, e P, átomos e íons halogênio, cátions de metais alcalinos e vários cátions metálicos divalentes. O que permite a previsão precisa e simultânea de estruturas, propriedades conformacionais, vibracionais e termofísicas, que existem, para uma ampla quantidade de moléculas que podem estar isoladas ou em fases condensadas e sob várias condições de temperatura e pressão. É possível prever propriedades das moléculas, tanto isoladamente quanto na fase condensada, com precisão e comparar com o dado da molécula experimental (Savin e Mazo, 2020; Sun, 1998)

b) **Universal Force Field**

É um campo de força que possuem parametrizações para cada átomo da tabela periódica, com número atômico menor que 103. Isso torna esse campo de força aplicável a um amplo espectro de sistemas, moléculas orgânicas e complexos metálicos. Porém, essa universalidade vem naturalmente à custa de uma menor precisão, e podem assumir a invariância topológica, podendo ser categorizado entre os campos de força não reativos, onde permitem que haja alterações geométricas na molécula ou no sistema (Jaillet, Artemova e Redon, 2017; Rappe, Iii e Qa, 1991).

c) **Polymer-consistent Forcefield for Interface (pcff_interface)**

É um campo de força que foi desenvolvido por (Hill e Sauer, 1994), modificado por (Heinz, Vaia e Farmer, 2006), para compostos orgânicos e inorgânicos, compatível com a força consistente de valência CVFF (consistente-valence forcefield for phyllosilicates), que é outro modelo, de onde o primeiro foi derivado. O modelo reproduz energias de superfície, estruturas cristalinas e frequências de vibração, de acordo com a molécula experimental (Heinz, Vaia e Farmer, 2006) e pode ser utilizado para silicatos em camadas, como mica, diferentes montmorilonita, pirofilitos, incluindo superfícies de diferentes distribuições de CTC, metais como Al, Au, Ni, Pb, Pd, Pt, sílica e superfícies com diferentes graus de ionização para valores de pH específicos, sulfatos de cálcio, sulfato de cálcio hemi-hidratado, silicato tricálcio, aluminato tricálcico, hidroxiapatita (Heinz, 2010; Heinz e Ramezani-dakhel, 2016; Lin, Heinz e Engineering, 2006; Mishra, Flatt e Heinz, 2013).

2.5.1.3 Pacote de cálculos de modelização

O Materials Studio® é um software completo de modelagem e simulação, projetado para permitir que pesquisadores de materiais, prevejam e entendam as relações da estrutura atômica e molecular de um material com suas propriedades e comportamento. É integrado à plataforma aberta, escalável e com conhecimento científico da BIOVIA (BIOVIA, 2016). Oferece suporte completo para simulações com ferramentas para cálculos quânticos, atomísticos, de mesoescala, estatísticas, analíticas e de cristalização, além de simulações clássicas. Conta com uma interface gráfica relativamente simples e uma grande quantidade de métodos disponíveis, com alguns módulos com funções específicas para distintos problemas que podem ser resolvidos teoricamente (Backe e Backe, 2014).

Entre eles, está o módulo FORCITE, que segundo (BIOVIA, 2016), inclui uma ampla variedade de ferramentas para os cálculos de mecânica molecular, permitindo a otimização dos parâmetros celulares juntamente com as coordenadas moleculares, para diversos tipos de sistemas. Na otimização geométrica de uma estrutura cristalina, a simetria definida pelo grupo espacial é mantida e a estrutura cristalina é otimizada em relação a todos os graus estruturais de liberdade ou pode ser aplicado restrições de célula, nas quais as distâncias relativas entre os átomos são fixas. Dessa forma, há a aplicação de um campo de força, que pode ser aplicado para obter a energia. Os campos de força que podem ser aplicados ao utilizar esse módulo são COMPASS, Dreiding, Universal, cvff e pcff. Além disso, caso seja de interesse do sistema de trabalho, se pode adicionar a esse módulo outros campos de força (Backe e Backe, 2014).

De maneira ainda mais realística, com média a alta qualidade, esse software pode permitir a caracterização dos sistemas teóricos, por dados de difração de raio X, de elétrons e de nêutrons, o que permite obter informações cristalinas, por padrões, para cristais orgânicos, inorgânicos, organometálicos e biológicos. Caso o trabalho seja comparativo com o experimental, os dados podem concluir resultados bastante interessantes, quanto a realidade do modelo formado e o material formulado (Dudenko *et al.*, 2013; Qingqing *et al.*, 2012; Teteruk, Gorelik e Schmidt, 2014).

Outros módulos existem no Materials Studio, como o DMOL3 que permite a modelização químico-quântica da estrutura eletrônica e da energia de moléculas orgânicas e inorgânicas, utilizando campos de força como o DFT. O CASTEP, utiliza o campo de força DFT com ondas planas, no qual permite explorar as propriedades geométricas e eletrônicas dos cristais e as superfícies dos materiais. O DISCOVER pode fazer uso de campos de força que incluem o CVFF, dito anteriormente, para calcular dados de mecânica molecular. CRYSTAL BUILDER nesse módulo pode ser criado ou construído cristais com condições periódicas de

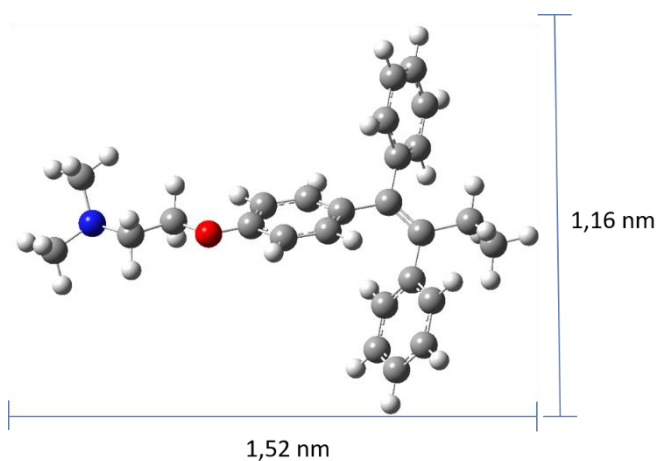
contorno, além de poder criar uma caixa com o material repetido periodicamente, formando um supercristal artificial. ADSORPTION LOCATOR este modulo pode identificar configurações de adsorção, pesquisando informações do espaço configuracional do sistema substrato-adsorbato, utilizando um esquema de aumento de diminuição da temperatura.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 MATERIAL

O citrato de tamoxifeno (CAS 10540-29-1, pKa 8.85) foi fornecido pela FAGRON (lote 148/2016-2017) no padrão USP (pureza 99%). Metanol (Vetec, 99%) foi usado como solvente. HCl e NaOH foram adquiridos da Química Moderna e da Vetec (Brasil), respectivamente. A água ultrapura foi obtida de um sistema de purificação de água Mili-Q® Merck. A montmorillonita de sódio, Veegum® Magnesium Aluminium Silicate (VHS), foi fornecida pela Vanderbilt Minerals (EUA), apresenta qualidade farmacêutica e foi utilizada sem pré-tratamento. A meia célula unitária, $(\text{Na})_{0,7} (\text{Al}_{3,3}\text{Mg}_{0,7}) \text{SiO}_{20} (\text{OH})_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, com CEC de 80,06 meq/100g e as caracterizações de VHS foram relatadas anteriormente (Aguzzi *et al.*, 2005; Mura *et al.*, 2016). Fosfatidilcolina de soja (PC) (Lipoid® S100) foi obtido pela Lipoid GmbH (Ludwigshafen Germany).

Figura 8- Estrutura 3D do tamoxifeno e suas dimensões (Software Gaussview)



Fonte: autoria própria

3.2 PREPARAÇÃO DO HÍBRIDO VHS/TMX- EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO

A preparação do híbrido foi estudada de acordo com o pH, tempo de contato e concentração máxima de equilíbrio em uma massa fixa do VHS. Os valores de pH foram selecionados com base nas informações computacionais de pKa para a molécula de citrato e tamoxifeno obtido no software MarvinSketch™ versão 17.16. Para estudar o pH, 0,1 g de VHS foi suspenso em 30 mL de água e sonificado por 15 min. A suspensão foi centrifugada e a fração sólida foi separada e ressuspensa em 30 mL de uma solução de 1660 mg.L⁻¹ TMX/metanol em um balão de Erlenmeyer de vidro. O pH da solução foi ajustado com volumes desprezíveis de 0,1M HCl ou NaOH na faixa de 1,5 a 7,0, medidos utilizando um eletrodo orgânico Sensoglass® SC04R.

Posteriormente, o Erlenmeyer foi selado e agitado em uma incubadora (Shake SL22-Solab) por 12 horas a 200 rpm. No tempo final da reação, os sólidos foram recuperados por centrifugação, secos a 25°C e moídos em uma argamassa. A solução restante após a centrifugação foi coletada e o TMX foi quantificado por espectrofotometria UV-Vis (Shimadzu UV TCC-240, Jap) a 274 nm. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

A quantidade de TMX adsorvido no VHS foi calculada pela diferença entre a concentração inicial e a concentração de equilíbrio de acordo com a Equação 1 (Djebbi *et al.*, 2018; Türker *et al.*, 2017).

$$q = \frac{(C_i - C_e) * V}{m} \quad (12)$$

Onde C_i e C_e são concentrações da solução TMX antes e após a adsorção (mol.L^{-1}), respectivamente; V é o volume da solução (L) e m é a massa da argila (g).

Os estudos cinéticos foram realizados monitorando a reação entre 30 mL de 1660 mg.L^{-1} de TMX e 0,1 g de VHS seco. A suspensão foi mantida sob agitação constante a um tempo predeterminando de 1,3,6,9,10,30,60,120,180,240,360,480 e 720 min. O mesmo procedimento foi adotado para determinar o efeito do pH após cada reação.

Para os estudos de equilíbrio isotérmico, o VHS seco foi interagido com 30 mL de TMX em concentrações variando de $533,3$ a 2300 mg.L^{-1} TMX nas mesmas condições descritas acima.

Para quantificar a constante da taxa de adsorção e o mecanismo do fármaco no VHS, os modelos cinéticos foram avaliados utilizando a pseudo-primeira ordem (Lagergren and Svenska, 1898) (Equação 7), pseudo-segunda ordem (Ho e McKay, 1999) (Equação 8) e a equação de Elovich (Elovich and Larinov, 1962; McLintock 1967) (Equação 9) em sua forma linear (Chien and Clayton, 1984). Já os dados das isotermas de equilíbrio foram ajustados aos modelos de Langmuir (Langmuir, 1916) (Equação 1), Freundlich (Freundlich, 1906) (Equação 2) e Tenkim (Temkin, M.I., 1979) (Equação 3), para o modelos lineares e Equação 4, 5 e 6, respectivamente, para os modelos não lineares.

3.3 CARACTERIZAÇÕES

A difração de raios-X em pó foi realizada em um difratômetro de raio-X Siemens D5000 (Siemens Electronical Equipment, Toronto, CA) equipado com ânodo de cobre ($\text{CuK}\alpha$) ($\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$). As amostras foram preparadas em suportes de vidro com uma fina camada de pó

sem solvente e analisadas na faixa 2θ entre 3° e 70° a uma taxa de $0,05^\circ/\text{s}$ e temperatura ambiente a 40 kV e 30 mA.

As medidas por espectroscopia de infravermelho médio (MIR) ($650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) foram realizadas em espectrofotômetro, FTIR PerkinElmer 400, utilizando diamante através da técnica de reflexão total atenuada (ATR).

As concentrações finais de sódio para as soluções remanescentes dos híbridos preparados nos pHs 3,0, 4,0 e 5,0, (VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5), foram quantificados por espectroscopia de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP/OES) utilizando um espectrômetro Spectro Arcos.

Para os mesmos híbridos, foi realizado as análises subsequentes. A análise termogravimétrica (TGA) e a análise calorimétrica de varredura diferencial (DSC) foram realizadas com um equipamento Mettler Toledo, equipado com um sensor, uma microbalança FRS5 (precisão de $0,1\text{ }\mu\text{g}$) e o pacote de software FP89. Amostras de VHS, VHS/TMX e TMX com aproximadamente 42,1 mg foram colocadas em panela de alumínio e aquecidas de 30 a 700°C por $5^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ sob fluxo de nitrogênio de $50\text{ mL}.\text{min}^{-1}$.

A microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM) foi realizada em um FEI TITAN G2, acoplado a um detector EDX com espectroscopia de raios-X sem energia dispersiva super-X silício. As amostras foram desidratadas a 40°C e subsequentemente embebidas em uma resina epóxi por 2h (Embed 812. SEM Ltd. UK) e incluídas em resina pura (24h). Em seguida, as amostras foram submetidas à polimerização por aquecimento a 37 e 70°C por 24 h de cada etapa. O bloco resultante foi cortado em fatias de espessura de aproximadamente $900\text{ }\text{\AA}$ e montado em uma grade de cobre de 300 malhas.

O tamanho e a distribuição de partículas/colóides e agregados em suspensão foram investigados por espectroscopia de dispersão dinâmica da luz (DLS), utilizando um Malvern Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Instruments Ltd.). Também a carga superficial foi medida no mesmo equipamento por eletroforese doppler a laser e as medições foram realizadas em uma célula de eletroforese capilar dobrada. As medições foram realizadas em triplicata a 25°C , com um ângulo de detecção de 90° . Os resultados foram apresentados como distribuição média do tamanho de partícula e potencial zeta para VHS e VHS/TMX preparados em meio pH 3,0, 4,0 e 5,0, com concentração de $10\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$. Todas as amostras foram preparadas em água ultrapura.

3.4 METODOLOGIA COMPUTACIONAL

Vários campos de força (FF) baseados em potenciais interatômicos empíricos foram utilizados, como Universal, Compass (BIOVIA, 2016) e interface PCFF (Heinz, Vaia e Farmer, 2006). Este último campo de força (FF) foi utilizado anteriormente satisfatoriamente em interações de superfícies orgânicas com superfícies inorgânicas de silicatos (Awad *et al.*, 2019; Borrego-Sánchez *et al.*, 2016; Martos-Villa *et al.*, 2013; Sainz-Daz, Francisco-Mrquez e Vivier-Bunge, 2011). Os cálculos de otimização foram realizados utilizando o código Forcite (BIOVIA, 2016), aplicando condições de contorno periódicas. As otimizações da geometria foram calculadas com tolerâncias de convergência de energia e força de $2,0 \times 10^{-5}$ kcal.mol⁻¹ e 10^{-3} kcal/mol/Å, respectivamente. As interações eletrostáticas e as não-ligações de Van der Waals foram calculadas pelo método de Ewald com um ponto de corte de 15,5 Å (Wells e Chaffee, 2015). A carga dos átomos foi calculada por dois métodos: Método de Equilibração de carga (QEq) e a atribuição pelo próprio FF (BIOVIA, 2016). O trabalho computacional foi realizado com a interface gráfica e pacote de cálculo Materials Studio 6.0 (BIOVIA, 2016). Os padrões de difração de raios-X do pó com base nas posições atômicas das redes cristalinas foram simulados com o código Reflex (BIOVIA, 2016) utilizando um domínio cristalino de 200x 200x 200 Å.

3.5 MODELOS TEÓRICOS

A estrutura cristalina do citrato de tamoxifeno foi obtida no Cambridge Structural Database (ref. 1161341) (Borrego-Sánchez *et al.*, 2016). As estruturas do citrato de tamoxifeno e o cátion de tamoxifeno (TMX⁺) foram otimizados, incluindo cada um em uma caixa periódica cúbica de 30Å para evitar interações intermoleculares adicionais com moléculas vizinhas.

A estrutura cristalina de montmorillonita foi extraída, com as coordenadas atômicas e cargas, de um trabalho anterior (Borrego-Sánchez, Carazo, *et al.*, 2018). Para os cálculos de adsorção, foi gerada uma supercélula 3x2x1 de montmorillonita, levando em consideração o tamanho molecular dos adsorbatos (fármaco) com os parâmetros de rede de $a = 15,48$ Å, $b = 17,89$ Å, $c = 14,33$ Å, $\alpha = 90,6^\circ$, $\beta = 101,7^\circ$ e $\gamma = 90,1^\circ$ e 282 átomos.

Várias substituições de cátions isomórficos foram incluídos para obter um modelo com estequiometria atômica semelhante do mineral experimental, sendo essa estequiometria Na (Al_{3,17}Mg_{0,83}) (Si_{7,83}Al_{0,17}) O₂₀ (OH)₄ que no modelo de supercélula a composição química é Na₆ (Al₁₉Mg₅) (Si₄₇Al₁) O₁₂₀ (OH)₂₄, considerando a dispersão máxima de cátions Mg na

camada octaédrica de acordo com os estudos anteriores (Chen *et al.*, 2018; Lycourghiotis *et al.*, 2019).

Após a otimização da estrutura do fármaco e da argila, foram avaliados vários modelos de intercalação do cátion tamoxifeno e citrato de tamoxifeno no espaço entre camadas da montmorillonita. Esses modelos são baseados nos dados experimentais de adsorção em diferentes pHs. Modelos de adsorção no meio aquoso externo também foram considerados para calcular a energia de adsorção.

De acordo com a estequiometria da composição química do mineral experimental, o peso molecular da montmorillonita é de 740, 6 g/unidade de célula. Considerando a proporção da montmorillonita (85%) na argila experimental, que foi obtida a partir da Vanderbilts (VHS), pode-se considerar um peso molecular de sólido de 892,29 g/unidade de célula. O estudo experimental da TGA indicou um teor de água de 2-4%. Portanto, dois modelos foram gerados: um com uma molécula de água por unidade de célula (2% de água) e outro com duas moléculas de água por unidade de célula (4% de água). Na supercélula 3x2x1, teremos 6 e 12 moléculas de água no espaço interlamelar coordenando os cátions Na^+ , respectivamente. Várias proporções de moléculas de água foram incluídas no espaço entre camadas do modelo da montmorillonita. Em seguida, os cátions tamoxifeno substituíram os cátions Na^+ por um processo de troca catiônica e a intercalação adicional de TMX foi realizada intercalando um complexo neutro de citrato de tamoxifeno.

3.6 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE EQUILÍBRIO DO TMX

Uma amostra de 30 mL da solução saturada de TMX foi inserida em um Erlenmeyer cujo pH foi ajustado com HCl para pH 1,2 e com tampão fosfato para pH 6,8. A solução permaneceu sob agitação vigorosa a 250 rpm e $37^\circ \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 h (Jena *et al.*, 2014). No final, a solução foi centrifugada (14000 rpm por 10 min) e o sobrenadante foi quantificado por HPLC. Esse experimento foi realizado em triplicata.

3.7 ESTUDO DE DISSOLUÇÃO

As dissoluções do TMX, VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 foram avaliadas com uma quantidade dispersa desses materiais em um meio simulado. O meio simulado foi o pH 1,2 (ácido clorídrico) e o meio pH 6,8 (tampão fosfato), utilizando um aparelho de dissolução Erweka (Erweka, Heusenstamm, Alemanha), adaptado para níveis mais baixos de volume, para que fosse possível realizar testes utilizando volumes entre 25 e 100 mL,

conforme utilizado anteriormente (Danda *et al.*, 2019). O equivalente a 100 mg de TMX, contido no híbrido, foi colocado em cada cuba de dissolução contendo 100 mL de tampão, mantido a $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e agitado por 100 rpm. Alíquotas de 2 mL foram coletadas periodicamente e substituídas por um novo volume igual do meio de dissolução fresco, para manter as condições de afundamento. As amostras foram centrifugadas a 14000 rpm e depois diluídas e colocadas em frascos para leitura. O TMX foi quantificado por HPLC, seguindo a metodologia com algumas modificações segundo (Jena *et al.*, 2014), em um cromatógrafo Shimadzu (Kyoto, Japão) equipado com um detector de matriz de diodos SPD-M10A (DAD). A amostra foi injetada em um volume de 80 μL , em uma coluna Discovery® C18 (250x 4,6 mm, tamanho de partícula de 5 μm ; Sigma-Aldrich; St. Louis, EUA) 25-30°C. A fase móvel consistiu em metanol e acetato de amônio a 1,5 % nas proporções 85:15 (v/v), mantida a uma vazão de 1,0 mL.min⁻¹. O fármaco foi quantificado a 274 nm, possuindo uma curva de calibração com o meio de dissolução com valor de r^2 de 0,99. O efeito de diluição progressiva (liberação cumulativa) do meio de dissolução na concentração do fármaco, foi calculado de acordo com a equação 13:

$$C_{icorr} = C_n + \frac{V_s}{V_t} \sum_{i=1}^{n-1} C_i \quad (13)$$

Onde C_n é a concentração no ponto de coleta n ; V_t é o volume total inicial; V_s é o volume de coleta e C_i é a concentração de amostras nos pontos anteriores a n .

A quantidade de fármaco foi calculada a partir da área sob a curva de concentração de saturação do fármaco (concentração de equilíbrio) expressa em 100%, considerando a máxima solubilidade envolvida no meio. A curva de emissão foi expressa em função da quantidade de fármaco liberado (média de quatro determinações) nos vários tempos.

3.8 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS PÓS PROCESSOS DE DISSOLUÇÃO

Os sistemas, após o estudo de dissolução, foram caracterizados utilizando as seguintes técnicas: Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) na faixa de 4000 a 650 cm⁻¹, foram coletados em um espectrômetro PerkinElmer® 400 FTIR, utilizando a técnica de ATR de refletância total atenuada de diamante. Análise termogravimétrica (TGA) foram realizadas em uma termobalança (TA-60WS, Shimadzu) com fluxo de atmosfera de nitrogênio de 100 mL.min⁻¹, onde aproximadamente $3 \pm 0,5$ mg das amostras foram condicionadas em um cadinho

de platina e analisado em uma faixa de temperatura de 30-600° C com taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹. A termobalança foi previamente calibrada utilizando o cadinho de latina vazio.

As curvas de calorimetria diferencial (DSC) foram registradas em um equipamento DSC modelo Q2000 da TA Instruments, EUA, equipado com o software Universal® 2000 Analysis versão 4.5. As amostras de 2 a 5 mg foram colocadas em uma panela de alumínio e aquecidas na faixa de 25 a 130 °C a uma taxa de 10°C/min em atmosfera de nitrogênio gasoso (40 mL/min). O DCS foi calibrado por uma linha de base utilizando panelas de índio.

A Microscopia de Força Atômica (AFM) foi realizada utilizando o equipamento TT-AFM (AFM Workshop- EUA) no modo contato intermitente, com pontas TED PELLA (TAP300-G10) em uma frequência de amplitude aproximadamente 232 kHz. A suspensão foi preparada na concentração de 5 mg/mL e deixada por 30 min em banho de ultrassom. Posteriormente, uma alíquota de 10 µL das amostras de VHS/TMX pH 5 após dissolução em pH 1,2 e VHS/TMX pH 5 após dissolução em pH 6,8, foram depositadas em uma superfície de mica e deixada por 15 minutos em temperatura ambiente para a secagem, seguida de duas lavagens com água Milli-Q e posterior secagem para realização da análise (Macht *et al.*, 2011). O programa Gwyddion 2.45, foi utilizado para tratar as imagens e obter o histograma dos materiais analisados.

3.9 ENSAIO DE CULTURA CELULAR

3.9.1 Cultura celular

As linhagens de células tumorais utilizadas foram o HCT-116 (cólon humano), SNB-19 (glioblastoma), PC3 (próstata) e MCF7 (mama). Assim como cepas tumorais, uma cepa não tumoral como as cepas L929 (fibroblastos não tumorais), também foi estudada. As cepas das células tumorais foram fornecidas pelo Instituto Nacional de Câncer (EUA), enquanto as não tumorais (fibroblastos não tumorais) foram obtidas pelo banco de células do Rio de Janeiro (Brasil). Todas as linhas de tumor de células cancerígenas foram cultivadas em meio nutrientes RPMI-1640. As células L929 foram cultivadas em condições padrão em DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's médium). Todos os meios de cultura foram suplementados com 10% de soro fetal bovino, 2 mmol. L⁻¹ de L-glutamina, 100 UI. mL⁻¹ de penicilina e 100 mg.mL⁻¹ de estreptomicina. Os meios foram mantidos em estufa a 37°C e em atmosfera controlada contendo 5% de CO₂, de acordo com o *datasheet* recomendada para cada linhagem celular. As células foram tripsinizadas, foram ressuspensa em meios frescos para diluição em placas de 96 poços de 0,7 x 10⁵ células/poço para linhagem HCT-116 e 0,1 x 10⁶ células/poço para linhagens SNB-

19, PC3, MCF7 e L929 e crescidas para atingir mais de 80% de confluência, antes da exposição aos fármacos e as formulações carregadas de fármacos.

3.9.2 Cultura de células, exposição dos sistemas de liberação VHS/TMX e ensaio de citotoxicidade *in vitro* (MTT).

A amostra de tamoxifeno foi diluída em DMSO para concentrações de estoque de 2 mg/mL e a concentração mais alta testada foi de 10 µg/mL. Já as amostras de VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 foram suspensas em água ultrapura e cada híbrido foi avaliado nas concentrações que variaram de 10,15 µg/mL a 650 µg/mL enquanto que as concentrações de fármaco TMX contido nos sistemas VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 foram de 3,44; 3,47 e 3,74 µg/mL a 223,60; 225,55 e 243,1 µg/mL, respectivamente. Cada concentração de suspensão do híbrido uma concentração proporcional de TMX foi mensurada, de acordo com a quantidade adsorvida descrita na seção 3.2.

Todas as amostras foram diluídas seriadamente com fator de diluição dois, em curva de oito pontos. As culturas, como mencionadas acima, foram expostas aos sistemas híbridos e ao fármaco isolado, por 72 h em uma estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Após a incubação, foram centrifugadas e o meio foi substituído por meio fresco. Em seguida, foram adicionadas de 100 µL da solução de MTT (3- (4,5- brometo de dimetil-2-tiazol) -2,5-difenil-2H-tetrazólio), e as placas foram incubadas por 3 h. Após a incubação, as placas foram novamente centrifugadas para retirada da solução de MTT. O precipitado com MTT foi dissolvido em DMSO (150 µL) e a absorbância foi medida utilizando um leitor de múltiplas placas (DTX 880 Multimode Detector, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, Califórnia, EUA), quantificado como a porcentagem de absorbância do controle do corante reduzido, a 595 nm. Os dados são apresentados como inibição do crescimento (%), analisados segundo a média ± desvio padrão (DP). Cada amostra foi testada em triplicata em duas experiências independentes, seguidos da regressão não linear do log das concentrações testadas para avaliação das IC₅₀, utilizando o programa *GraphPadPrism 6.01*.

PARTE II- Organofilização

3.10 PREPARAÇÃO DE MONTMORILLONITA MODIFICADA COM TENSOATIVO

A modificação da montmorilonita por fosfatidilcolina, foi realizada como descrito a seguir: uma solução de 1mmol/L (VHS-PC 1 mmol/L) e 10mmol/L (VHS-PC 10 mmol/L) de fosfatidilcolina foi preparada em metanol, e após foi adicionado 100 mg VHS. A suspensão resultante foi agitada por 24 horas e em seguida centrifugada e lavada com água ultrapura, por

3 vezes, para remover as moléculas orgânicas residuais. Os produtos foram secos em estufa a 25 °C e indicados como VHS-PC, triturados manualmente e em seguida armazenados.

3.11 PREPARAÇÃO DO HÍBRIDO MONTMORILLONITA MODIFICADA COM TENSOATIVO/ ADSORÇÃO DO FÁRMACO (VHS-PC/TMX)

A cinética da formação do híbrido, foi investigada a partir do material orgânico fosfatidilcolina, nas concentrações de 1mmol/L e 10 mmol/L formado junto com a montmorilonita (VHS-PC), foi suspenso numa quantidade de 0,1 g em uma solução metanólica (30 mL) de TMX de concentração 1660 mg.L⁻¹ e foi mantida sob agitação constante em um agitador de banho termostático (New Lab SL 222) para formação dos híbridos, VHS-PC 1mmol/L/TMX e VHS-PC 10 mmol/L/TMX. A cada tempo predeterminado 1, 3, 6, 9, 10, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480 e 720 min, as suspensões foram analisadas e centrifugadas e do sobrenadante foi quantificado o fármaco. Também foi realizado lavagem água ultrapura, por centrifugação, de três vez, do material. Após isso, o estudo de equilíbrio isotérmico, do material organofilizado seco, foi interagido com 30 mL de TMX em concentrações variando de 533,3 a 2300 mg.L⁻¹ TMX nas mesmas condições descritas acima. A quantidade de TMX foi quantificada na solução de equilíbrio (solução antes da lavagem) por espectrofotometria UV-Vis (Shimadzu UV TCC-240, Jap) a 274 nm. Essa quantidade em mg/g foi calculada pela equação 12, acima descrita. Foram avaliados os modelos cinéticos utilizando modelos de pseudo-primeira ordem (Lagergren and Svenska, 1898) (Equação 7) e pseudo-segunda ordem (Ho e McKay, 1999) (Equação 8). Já as isotermas de equilíbrio foram ajustados aos modelos de Langmuir (Langmuir, 1916) (Equação 1) e Freundlich (Freundlich, 1906) (Equação 2).

3.12 CARACTERIZAÇÕES DO SISTEMA VHS-PC/TMX

A difração de raio-x em pó foi realizada em um difratômetro de raio-X Siemens D5000 (Siemens Electronical Equipment, Toronto, CA) equipado com ânodo de cobre (CuK α). As amostras foram preparadas em suportes de vidro com uma fina cama de pó sem solvente e analisadas na faixa 2 θ entre 3° e 70° a uma taxa de 0,05°/s.

A microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM) foi realizada em um FEI TITAN G2, acoplado a um detector EDX com espectroscopia de raios- X sem energia dispersiva super-X silício. As amostras foram desidratadas a 40°C e subsequentemente embebidas em uma resina epóxi por 2h (Embed 812. SEM Ltd. UK) e incluídas em resina pura (24h). Em seguida, as amostras foram submetidas à polimerização por aquecimento a 37 e 70°C

por 24 h de cada etapa. O bloco resultante foi cortado em fatias de espessura de aproximadamente 900 Å e montado em uma grade de cobre de 300 malhas.

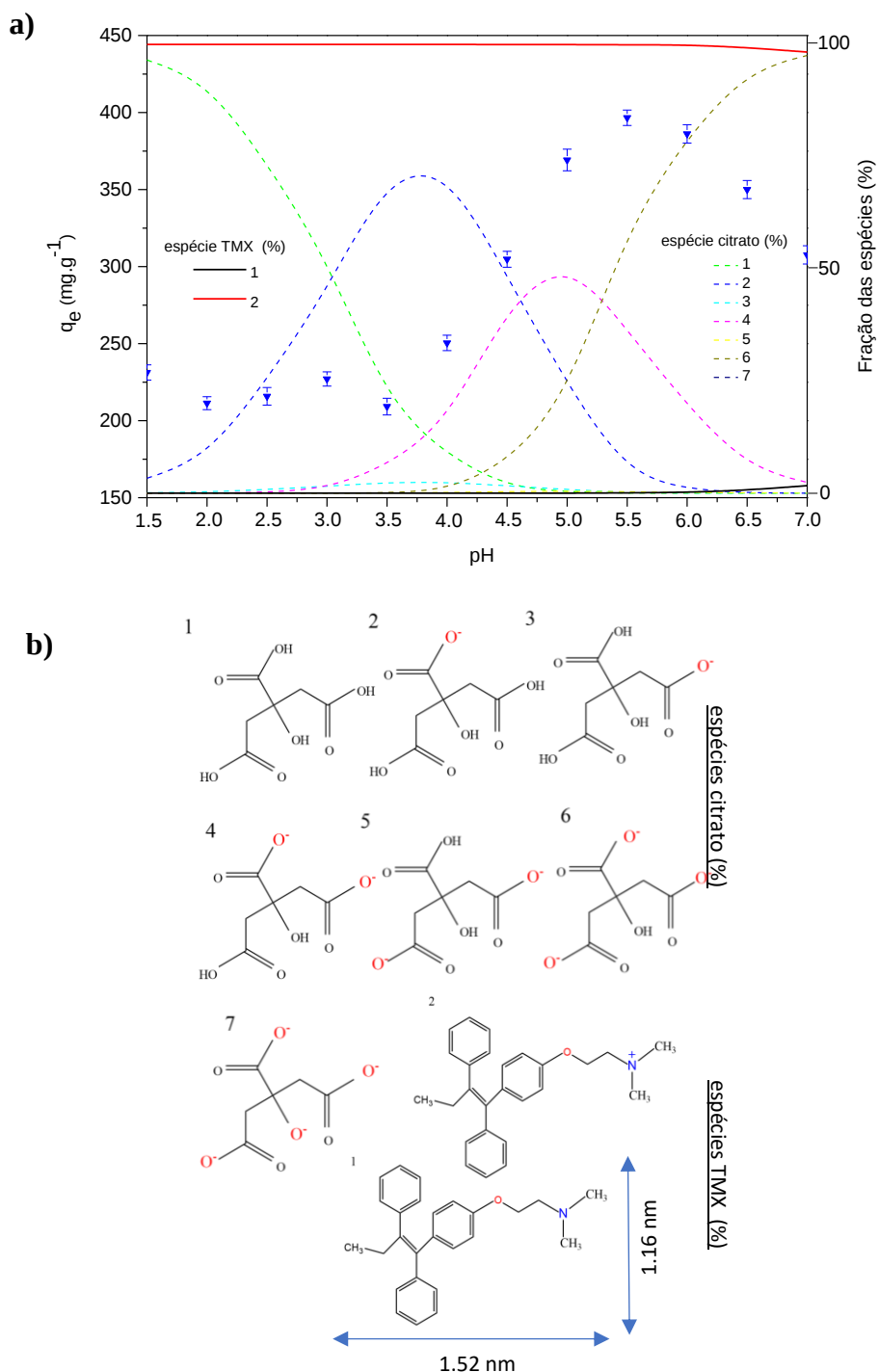
4 RESULTADOS

4.1 EFEITO DO pH NA ADSORÇÃO DO TMX EM VHS

Os efeitos do pH inicial na adsorção do TMX no VHS são exibidos na Figura 9. A adsorção do TMX no VHS é dependente do pH e foi influenciada pelas espécies de citrato e fármaco presente em solução. A quantidade máxima de TMX no VHS foi de 402,63 mg.g⁻¹ a pH 5,5 após 720 min. O pKa do TMX é 8,9, o que indica que a molécula é um ácido fraco e é completamente carregada positivamente em toda a faixa de valores de pH estudados. Em um valor mais baixo de pH, a adsorção diminuiu devido à competição entre o H₃O⁺ e as moléculas catiônicas do fármaco pelos locais de adsorção na montmorillonita.

Resultados semelhantes foram observados por Kevadiya *et al.* (2012), para adsorção TMX em uma amostra de Mt purificada indiana. Os íons sódio na solução de equilíbrio foram quantificados para as amostras obtidas em pH 3, 4 e 5 e os resultados foram de 0,46, 0,57 e 0,57 mmol por grama de sólido, respectivamente. As quantidades adsorvidas de TMX foram de 0,62, 0,67 e 0,99 mmol de TMX por grama de amostra de argila. Os dados sugeriram que o principal mecanismo de interação envolvida é a troca catiônica entre o fármaco carregado carga positiva (TMX⁺) e o sódio interlamelar e a entrada do par iônico TMX:citrato, considerando que a quantidade de sódio após a interação foi menor que a quantidade do fármaco adsorvido.

Figura 9- (a) Efeito do pH na adsorção do TMX em VHS (Veegum®) e especiação do citrato (linhas tracejadas) e tamoxifeno (linhas completas vermelhas e pretas), dentro da faixa de pH de 1,5 a 7,0 (b) 1 a 7 conforméros das formas do citrato e 1 formas tautoméricas com base no software MarvinSketch 17.16. A dimensão do TMX foi descrita utilizando o Gaussview Software.

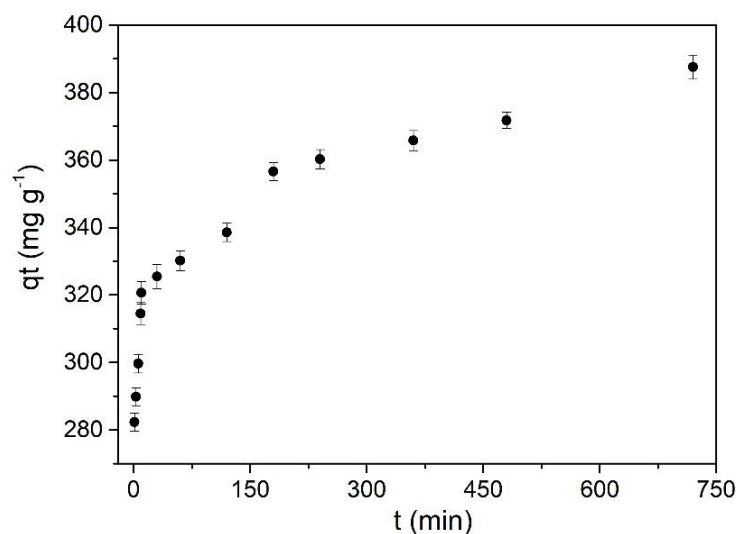


Fonte: autoria própria

4.2 CINÉTICA DE ADSORÇÃO

A Figura 10 mostra a adsorção do TMX na superfície do VHS em função do tempo de contato. A adsorção do tamoxifeno ocorreu em três etapas, uma primeira etapa rápida (até 180 min), uma segunda etapa lenta (240 a 480 min), onde foi observado um platô, e uma terceira fase acima de 480 min. No início da reação (até 60 min), a adsorção foi próxima a 330,15 mg de TMX por grama de VHS e aumentou para 387,5 mg.g⁻¹ aos 720 min. A alta adsorção de tamoxifeno no primeiro estágio pode ser correlacionada a uma boa afinidade do fármaco pelos locais ativos da argila, o que pode estar associado à retenção do fármaco nos locais externos da superfície ou na intercalação. Portanto, em tempos de reação mais curtos, uma rápida competição por locais ativos levou a uma diminuição nos locais disponíveis gratuitos, e uma saturação foi observada em tempos de reação mais longos, resultando em um processo de adsorção mais lento (Rafati *et al.*, 2016).

Figura 10- Efeito do tempo de contato na adsorção do TMX na superfície do VHS (Veegum®).



Fonte: autoria própria

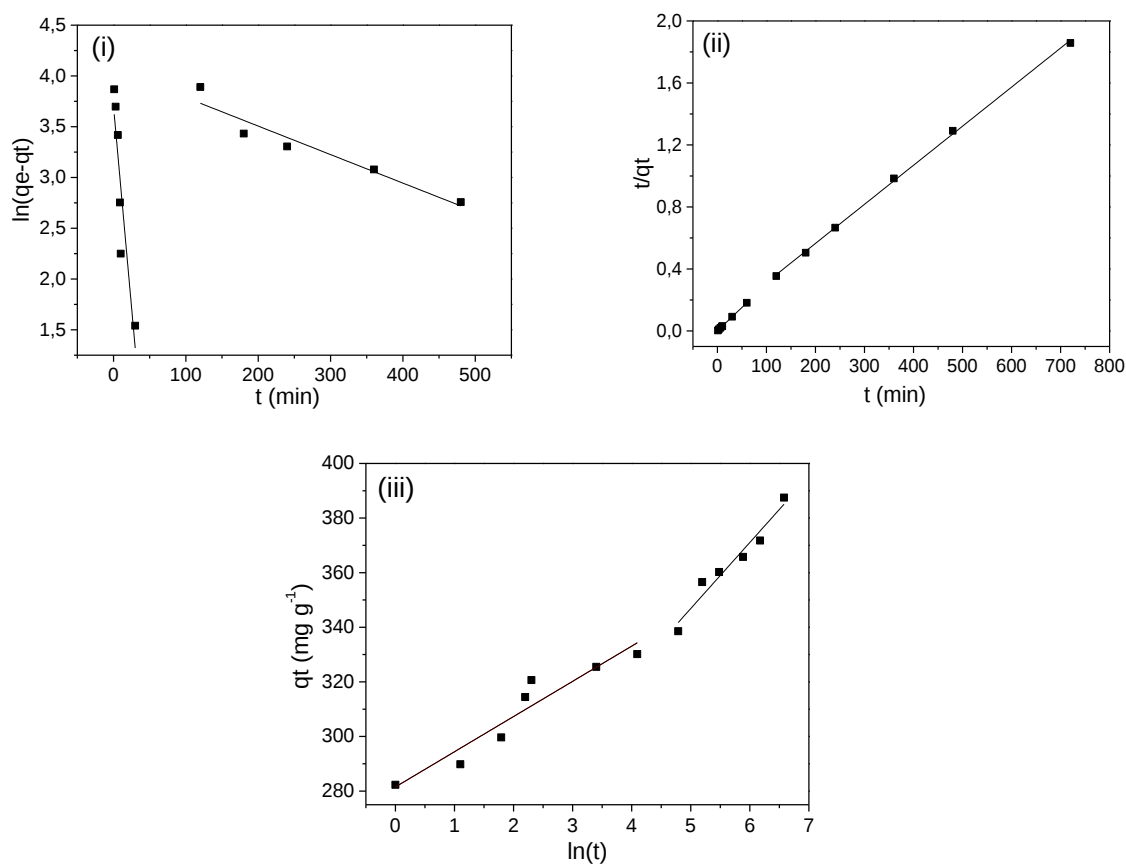
Para determinar os processos dinâmicos de adsorção do fármaco no mineral argiloso, os modelos pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich foram avaliados em duas etapas. Os resultados são apresentados na Tabela 6 e expressados graficamente na Figura 11, onde os dados para os dois estágios ($t \leq 60$ min e $t \geq 60$ min) foram ajustados a um modelo de pseudo-segunda ordem em que r^2 é 0,999. Esse resultado sugere que a quimiossorção foi o principal mecanismo de interação (Liu *et al.*, 2015b; Wu, Li e Hong, 2013).

Tabela 6- Parâmetros cinéticos e coeficientes de regressão linear para adsorção TMX na superfície do VHS (Veegum®). (Condições experimentais: 0,1 g de sólido, pH 5,5 e concentração inicial do fármaco de 1660 mg.L⁻¹).

Pseudo-primeira ordem				
	$Q_{e(exp)}$ (mg g ⁻¹)	K_1 (10 ⁻¹ min ⁻¹)	$Q_{e(cal)}$ (mg g ⁻¹)	r^2
t ≤ 60	330.2	7.936	40.50	0.7919
t > 60	387.5	0.0281	58.43	0.9018
Pseudo-segunda ordem				
	$Q_{e(exp)}$ (mg g ⁻¹)	K_2 (10 ⁻³ g mg ⁻¹ min ⁻¹)	$Q_{e(cal)}$ (mg g ⁻¹)	r^2
t ≤ 60	330.2	6.9	332.2	0.9999
t > 60	387.5	0.1	396.8	0.9991
Elovich				
	α (10 ⁵ mg g ⁻¹ min ⁻¹)	β (10 ⁻² g mg ⁻¹)	r^2	
t ≤ 60	393027.75	7.76	0.89028	
t > 60	2.75	4.13	0.94074	

Fonte: autoria própria

Figura 11- Representação gráfica dos modelos cinéticos de (i) pseudo-primeira ordem (ii) pseudo-segunda ordem e (iii) Elovich



Fonte: autoria própria

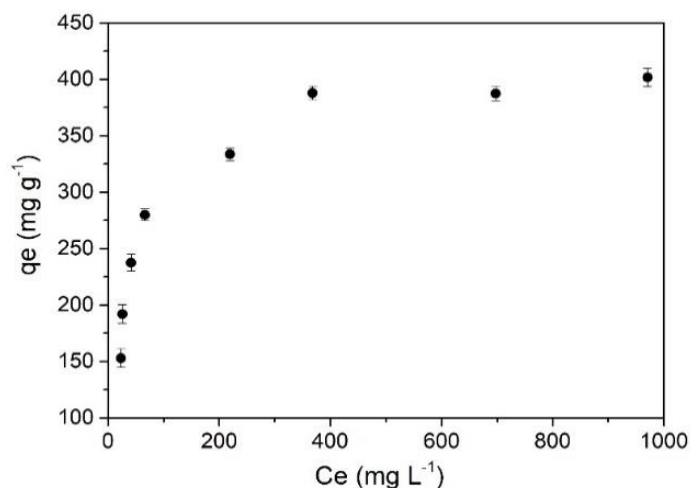
O q_e teórico ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) foi próximo ao valor experimental, o que indicou o ajuste dos dados ao modelo de pseudo-segunda ordem. Além disso, o parâmetro K_2 foi de $7 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ para o primeiro estágio e $0,1 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, para os tempos superiores a 60 min, o que reflete dessa maneira um estágio rápido, demonstrando a eficácia desse material para adsorção com o TMX, nos primeiros minutos.

4.3 ISOTERMA DE ADSORÇÃO

O efeito da concentração inicial do fármaco na adsorção foi avaliado ilustrado na Figura 12, e os dados experimentais foram ajustados aos modelos de Langmuir, Freundlich e Tenkim descritos na Tabela 7 e expressados graficamente na Figura 13 para os modelos lineares. A fim de verificar uma melhor estimativa com maior precisão entre os parâmetros que empregam um processo iterativo das variáveis, otimizações foram feitas no ajuste do método pelo cálculo não-linear, também para os três modelos, ilustrado na figura 14 (Brown, 2001).

A quantidade de fármaco adsorvido no sólido VHS foi dependente da concentração inicial. E a capacidade de adsorção variou progressivamente após o aumento da concentração de TMX até alcançar um equilíbrio.

Figura 12- Isoterma de adsorção até atingir o equilíbrio do TMX na superfície do VHS (Veegum®).



Fonte: autoria própria

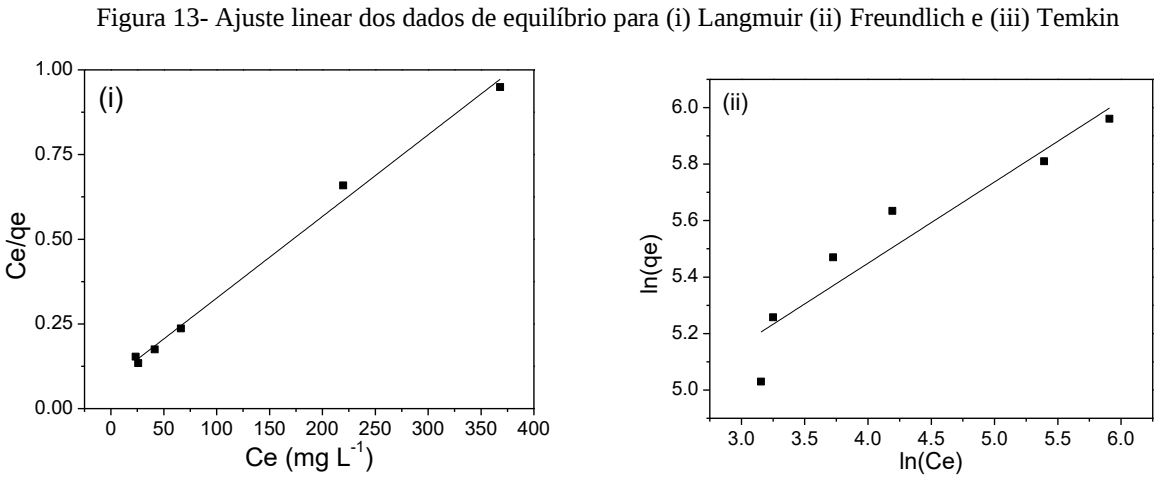
Tabela 7- Parâmetros de adsorção de tamoxifeno em VHS (Veegum®) segundo os modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin pelo método linear e não linear

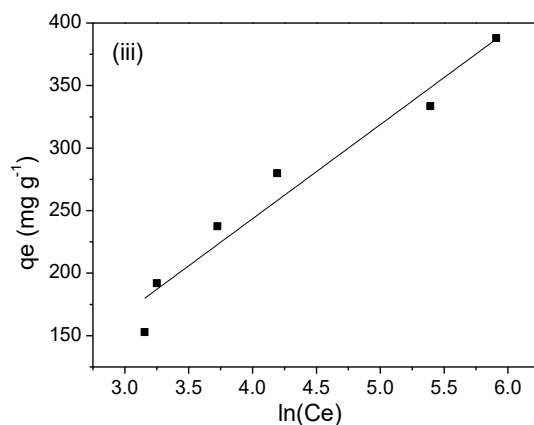
Langmuir					
Linear			Não linear		
$q_{\text{máx}}$ (mg g ⁻¹)	K_L (10 ⁻² L mg ⁻¹)	R^2	$Q_{\text{máx}}$ (mg g ⁻¹)	K_L (10 ⁻² L mg ⁻¹)	R^2
414.94	2.82	0.9935	408.90	3.07	0.9770

Freundlich					
Linear			Não linear		
n_f	K_f (mg g ⁻¹)(mg L ⁻¹) ^{-1/n}	R^2	n_f	K_f (mg g ⁻¹)(mg L ⁻¹) ^{-1/n}	R^2
3.47	73.47	0.8727	4.97	107.06	0.8898

Temkin					
Linear			Não linear		
b_T (J mol ⁻¹)	a_T (L mg ⁻¹)	R^2	b_T (J mol ⁻¹)	A_T (L mg ⁻¹)	R^2
32.91	0.46	0.9463	39.55	0.86	0.9371

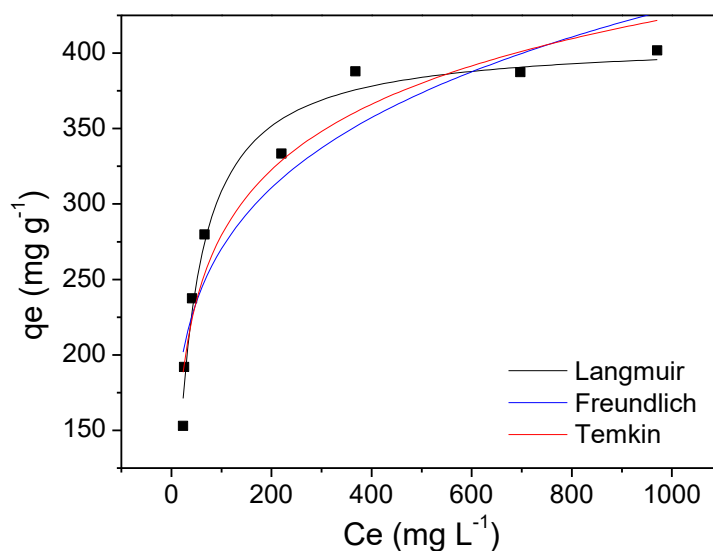
Fonte: autoria própria





Fonte: autoria própria

Figura 14- Ajuste não-linear aos modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin



Fonte: autoria própria

O ajuste linear e não linear dos dados experimentais mostrou altos valores de r^2 para o modelo de isoterma de Langmuir, propõem formação de monocamada do fármaco sobre a superfície da argila. Comparando a quantidade máxima adsorvida ($414,94 \text{ mg.g}^{-1}$ para método linear e $408,90 \text{ mg.g}^{-1}$ para método não linear) pelo modelo de Langmuir com o valor experimental de $387,5 \text{ mg.g}^{-1}$, os valores relativamente semelhantes sugeriram que o sistema é definido por esse modelo de Langmuir aplicado.

4.4 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO PROCESSO DE ADSORÇÃO VHS/TMX- CARACTERIZAÇÕES

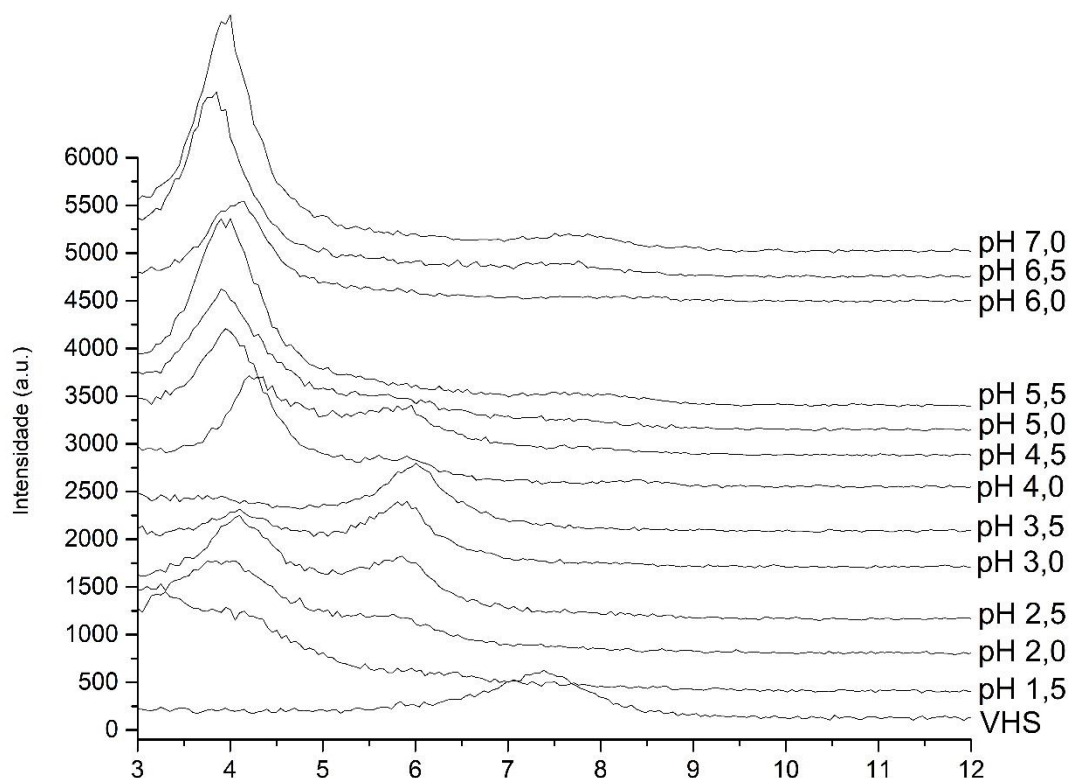
4.4.1 Difração de Raio X (DRX)

Os padrões de difração de raio X (DRX) dos sólidos antes e após a interação do fármaco com o VHS são apresentados na Figura 15. O sólido cristalino VHS mostrou um padrão de raio X com uma reflexão típica em 2θ de $7,37^\circ$, essa reflexão está associada ao espaçamento basal, da região interlamelar da argila, que calculado de acordo com a Lei de Bragg, produz um espaçamento com distância $d = 1,2$ nm, o que está de acordo com a literatura para uma montmorillonita de sódio (Aguzzi *et al.*, 2005; Bu *et al.*, 2017; Jalil, M. E. R.; Baschini, M.; Sapag, 2015). A adsorção do fármaco TMX com o VHS resultou em uma alteração desse espaçamento basal da argila, sugerindo diferenças na intercalação quando o pH é variado. Esse comportamento foi associado à porcentagem dos diferentes tipos conformacionais e variação da quantidade de fármaco adsorvido, na qual o TMX e o seu sal estão presentes. Além também, de que há um processo competitivo entre os locais de ligação e interação diferentes em toda faixa de pH, principalmente na faixa de adsorção mais baixa, que foi associado a pH menores que 5,0, conforme ilustrado na Figura 9.

Na faixa de pH $\sim 2,0$ a pH 4,5, os padrões de DRX mostraram duas reflexões 2θ a $4,17^\circ$ com distância $d = 2,12$ nm e $5,83^\circ$ com distância $d = 1,5$ nm. A primeira reflexão pode estar associada à alteração na hidratação e íons no espaçamento entre as folhas, uma vez que há redução da regularidade da estrutura mineral em pH ácido e o aumento da desordem do empilhamento das folhas após a intercalação do fármaco. A última reflexão pode estar associado a montmorilonita que foi tratada com ácido (Jozefaciuk e Bowanko, 2002), e é atribuída à lixiviação dos cátions octaédricos de alumínio e magnésio (Akpomie e Dawodu, 2016) e aumento da razão Si/Al devido à produção de sílica amorfa (Fonseca *et al.*, 2018; Pálková *et al.*, 2013; Steudel *et al.*, 2009). A extensão das modificações estruturais é dependente do pH, ou seja, da quantidade de ácido que é adicionado para ajustar o pH para valores menores (Steudel *et al.*, 2009). Portanto, os reflexos da perda ou da amplitude da amostra obtida em pH 1,5 é uma forte indicação da presença de fase amorfa nessa condição de pH, e mais adiante também confirmado no espectro do infravermelho.

Quando a faixa de pH é aumentada (5,0, 5,5, 6,0 6,5 e 7,0), foi observada uma única reflexão associada ao plano 001, refletindo em espaçamentos basais (d) de 2,25, 2,25, 2,16, 2,14 e 2,23 nm, respectivamente. Isso demonstrou uma intercalação significativa de TMX em uma disposição de monocamada, considerando o tamanho da molécula (1,16 nm) (Figura 9b).

Figura 15- Padrões de DRX para os complexos VHS e TMX/VHS preparados na faixa de pH de 1,5 a 7,0



Fonte: autoria própria

4.4.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia vibracional (infravermelho médio) (MIR) foi útil para identificar alterações nas espécies orgânicas após intercalação e/ou adsorção na superfície da argila (Akyuz e Akyuz, 2017; Almasri *et al.*, 2018).

Os espectros MIR do VHS, VHS/TMX em pH 1,5 a 7,0 e TMX estão representados na Figura 16 e Figura 17. O espectro da molécula livre foi investigado, considerando os efeitos de coordenação das principais bandas do tamoxifeno.

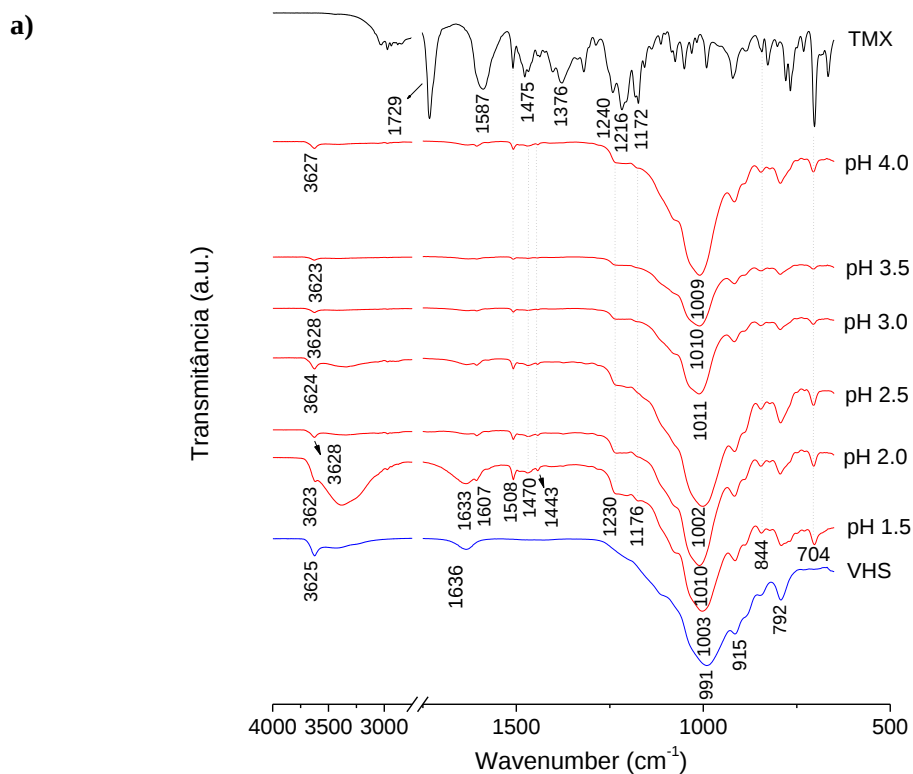
O espectro de FTIR do VHS sólido apresenta absorção a 3625 cm^{-1} , atribuída ao OH interno que se estende dentro da estrutura da argila, e as faixas a 3446 cm^{-1} correspondem às vibrações de OH das moléculas de água e Si-OH (Carazo *et al.*, 2018). A banda de 1636 cm^{-1} foi atribuída à vibração da água por flexão. A banda mais intensiva próxima a 991 cm^{-1} foi atribuída às vibrações de estiramento de Si-O da camada tetraédrica. Dois picos na região de flexão de hidroxila em 915 cm^{-1} (Al_2OH) e 839 cm^{-1} (AlMgOH) refletem que o Al octaédrico é parcialmente substituído por Mg (Aguzzi, C. *et al.*, 2014; Etcheverry *et al.*, 2017).

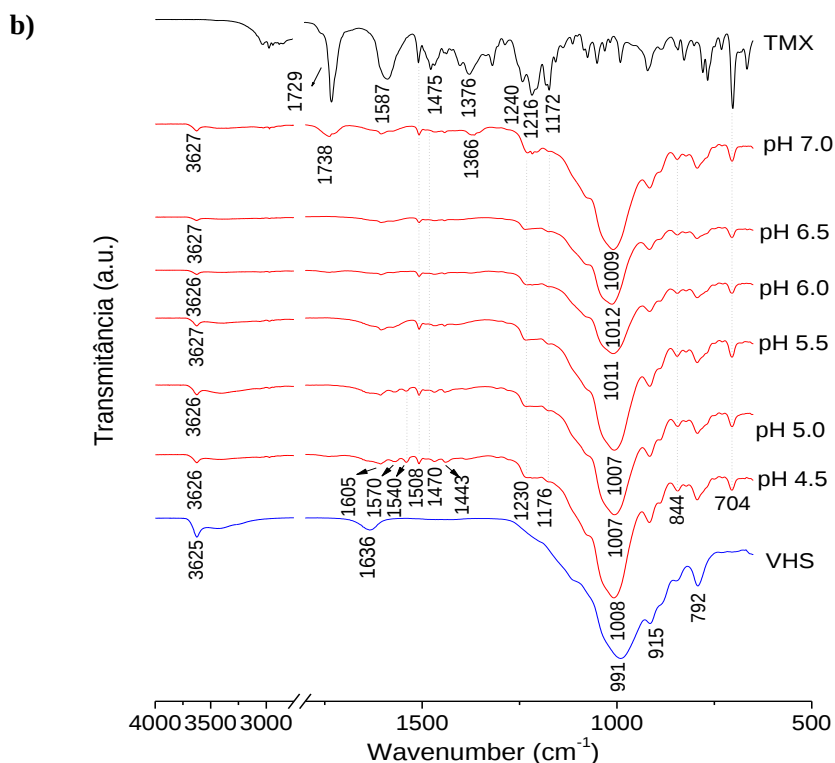
O espectro para o TMX livre mostra as bandas atribuídas da seguinte forma: 3019 cm^{-1} e 2966 cm^{-1} atribuídas às faixas de alongamento CH, 1729 cm^{-1} atribuídas ao alongamento do

anel C=C e 1587 e 1475 cm^{-1} atribuídas a antissimetria e simetria do alongamento do íon carboxilado e flexões do anel em 847,827 e 702 cm^{-1} (Badawi e Khan, 2016; Landeros–Martinez *et al.*, 2017).

Os espectros para os complexos TMX/VHS (Figura 16 e 17), apresentam bandas características da argila e do fármaco, sugerindo que o fármaco está presente na matriz da argila. Bandas atribuídas ao TMX foram observadas nos espectros associados ao alongamento C-H (3000-2930 cm^{-1}) e à flexão do anel (843, 827 e 704 cm^{-1}).

Figura 16- Espectros de infravermelho do fármaco, VHS e do sistema formado por VHS/TMX obtido nos pHs a) 1,5 a 4,0 e b) 5,5- 7,0.



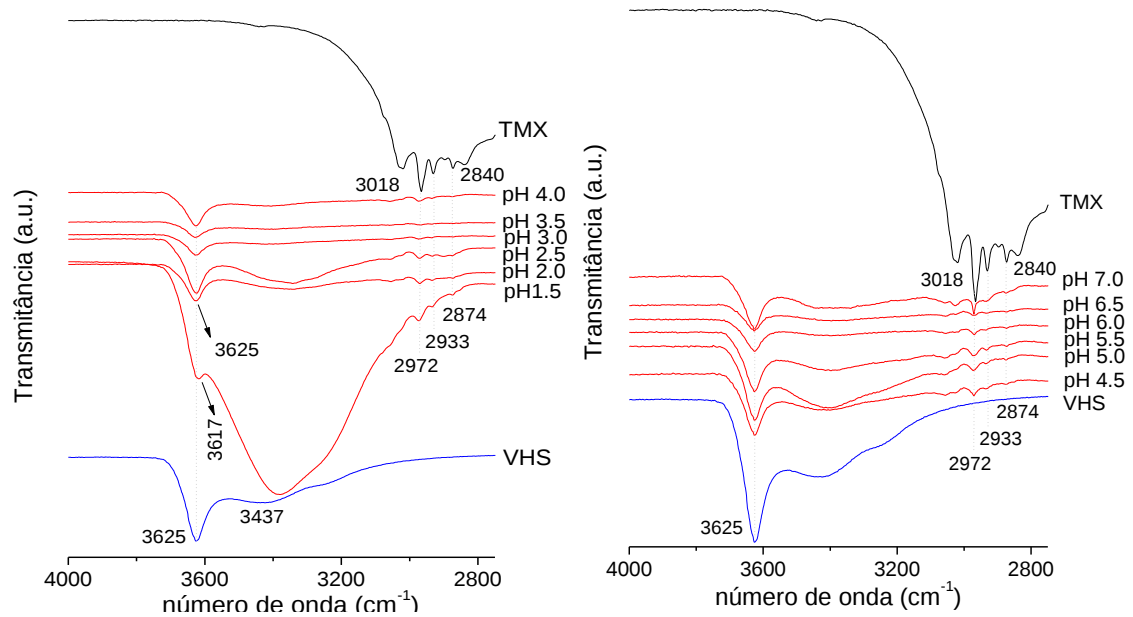


Fonte: autoria própria

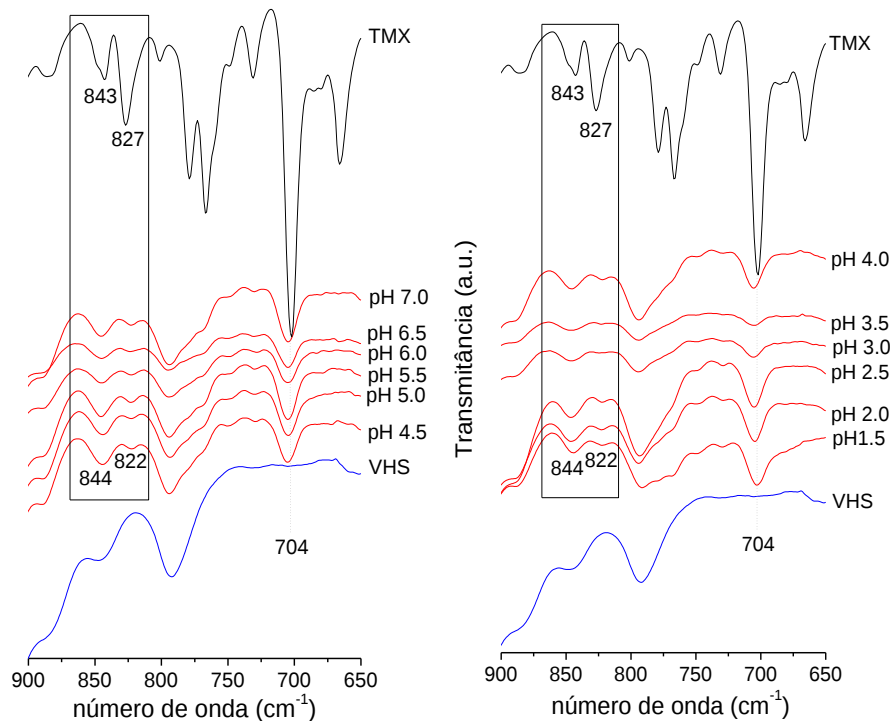
A banda muito baixa em $1604\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$ designada às faixas de alongamento do ânion citrato, e foi atribuída à baixa concentração do íon nos sólidos, é visível apenas para as amostras obtidas em pHs 4,5-5,5. Não foram observadas alterações na posição das bandas associadas aos grupos da argila, como o alongamento estrutural do OH, sugerindo uma interação fraca na superfície externa. No entanto, mudanças nas vibrações da água (OH) foram observadas para a amostra obtida em pH 1,5 e é uma indicação de superfície mais hidrofílica. De fato, uma banda larga centrada em 3405 cm^{-1} e uma acentuada em 1633 cm^{-1} foi atribuída ao alongamento e flexão do OH da água, respectivamente, e são indicações dos grupos hidroxila na superfície da argila, possivelmente devido a lixiviação dos cátions octaédricos e tetraédricos e a concomitante formação de sílica amorfa (Akpomie e Dawodu, 2016; Etcheverry *et al.*, 2017; Klopogge, 2006; Santos *et al.*, 2015a; Steudel *et al.*, 2009). A banda larga nessa região foi atribuída ao alongamento de $\text{N}\cdots\text{H}_2\text{O}$, indicando a ligação de hidrogênio entre o OH da água e o N do fármaco (Badawi e Khan, 2016). Além disso, o deslocamento do alongamento de Si-O para valores superiores a 1000 cm^{-1} e a faixa de 800 cm^{-1} foram associados à sílica amorfa com uma estrutura tridimensional, conforme relatado anteriormente (Madejová *et al.*, 2009; Ritz, Zdráľková e Valášková, 2014; Santos *et al.*, 2015a).

Figura 17- Espectro de infravermelho aproximado das regiões a) 4000-2850 cm^{-1} e b) 900-650 cm^{-1} para o fármaco TMX, VHS e os sistemas VHS/TMX formados em pHs de 1,5 até 7,0.

a)



b)

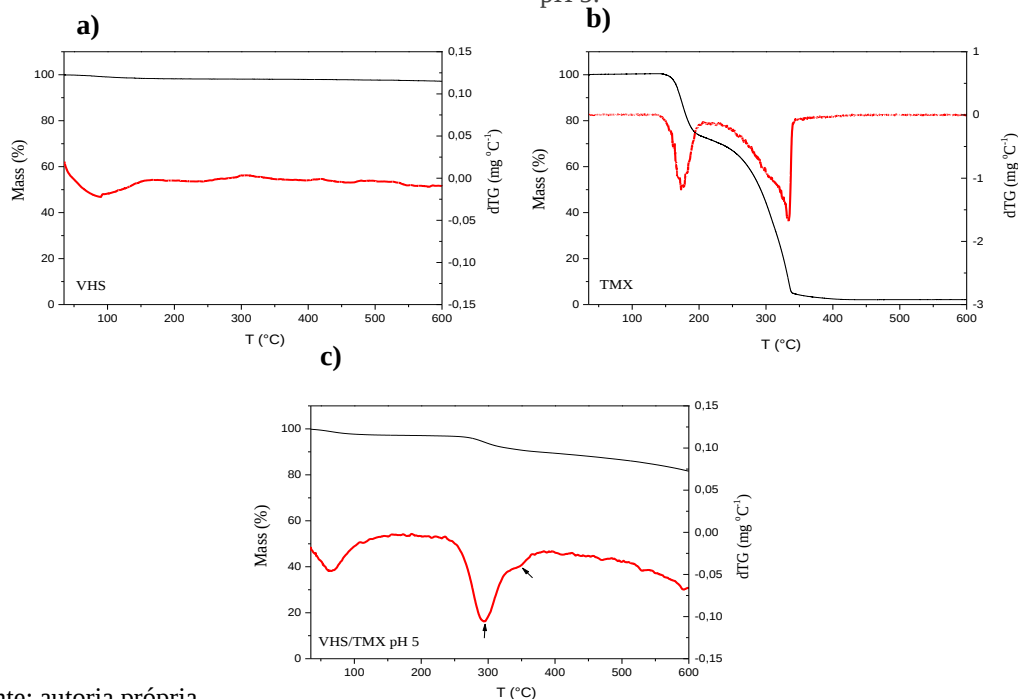


Fonte: autoria própria

4.4.3 Análise termogravimétrica (TGA) e calorimétrica de varredura (DSC)

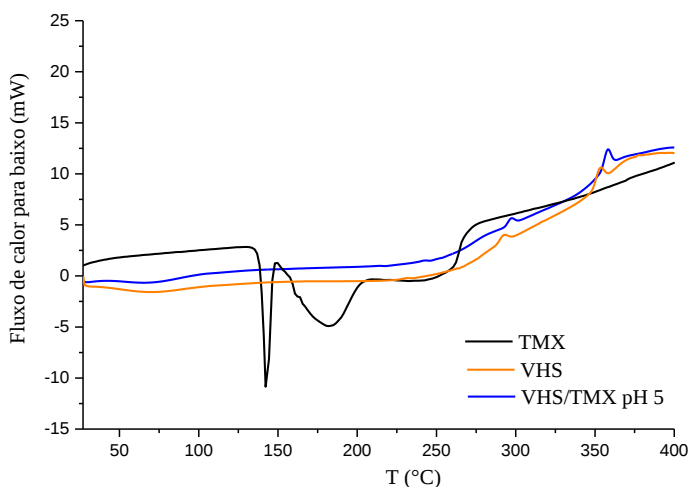
Os perfis termogravimétricos e DSC da amostra de VHS/TMX e dos híbridos formados a partir do pH 5,0 são mostrados nas Figuras 18 e Figura 19. Essa amostra foi escolhida com base do estudo anterior que demonstrou uma alta adsorção do TMX no VHS nesse pH (Silva *et al.*, 2019). A amostra da argila VHS primitiva (Figura 18 a) apresentou uma pequena perda de peso (2% p/p) na faixa de 50-120°C, atribuída à perda de água adsorvida e intercalada (Chen *et al.*, 2017), esse perfil é também presente na curva DSC (Figura 19). O perfil TMX livre, pelo perfil TGA mostrou dois estágios de degradação térmica: o primeiro a 144-193°C (27,32% p/p) e o segundo a 257-341 °C (72,18% p/p) (Figura 18 b) (Chevalier *et al.*, 2017). O DSC indicou que o ponto de fusão do TMX a 132-147°C, sendo a forma B do cristal de citrato de tamoxifeno como verificado anteriormente (Goldberg e Becker, 1987), seguido pelo primeiro passo de degradação a 148-202°C e um segundo estágio a 206-269°C. Já para o sistema VHS/TMX (Figura 18 c), a curva TGA mostra desidratação a 41-106°C (2,52% p/p), seguida por um segundo evento mais intenso a 226-323°C e um terceiro evento mais sutil a 327-358°C atribuído à degradação do fármaco. No DSC, dois eventos menores de degradação do fármaco foram observados a 293-302°C e 353-362°C (Figura 19), sem aparecimento do pico de fusão. Esses resultados demonstram que o TMX alterou sua forma cristalina após interação com a amostra do mineral argiloso.

Figura 18- Figura 18. Perfil TGA e DTG do (a) VHS, (b) Tamoxifeno (TMX) e (c) sistema VHS/TMX obtidos a pH 5.



Fonte: autoria própria

Figura 19- Perfis de calorimetria exploratória diferencial (DSC) dos componentes VHS (perfil laranja), TMX (perfil preto) e VHS/TMX pH 5 (perfil azul).



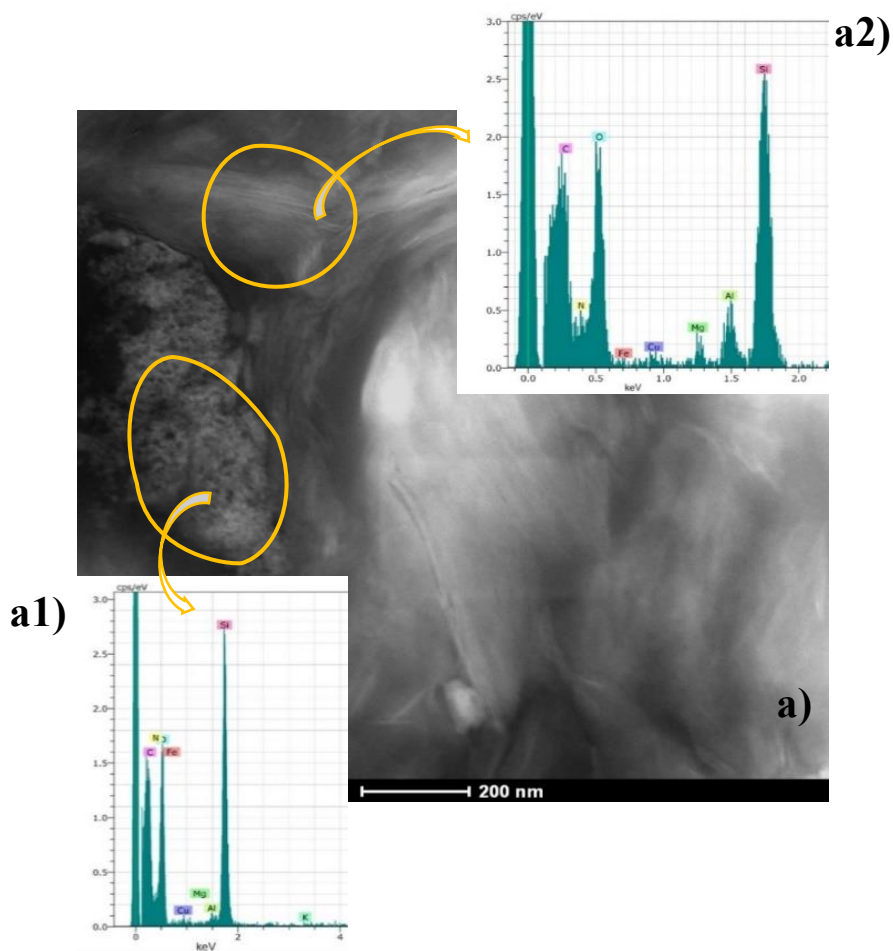
Fonte: autoria própria

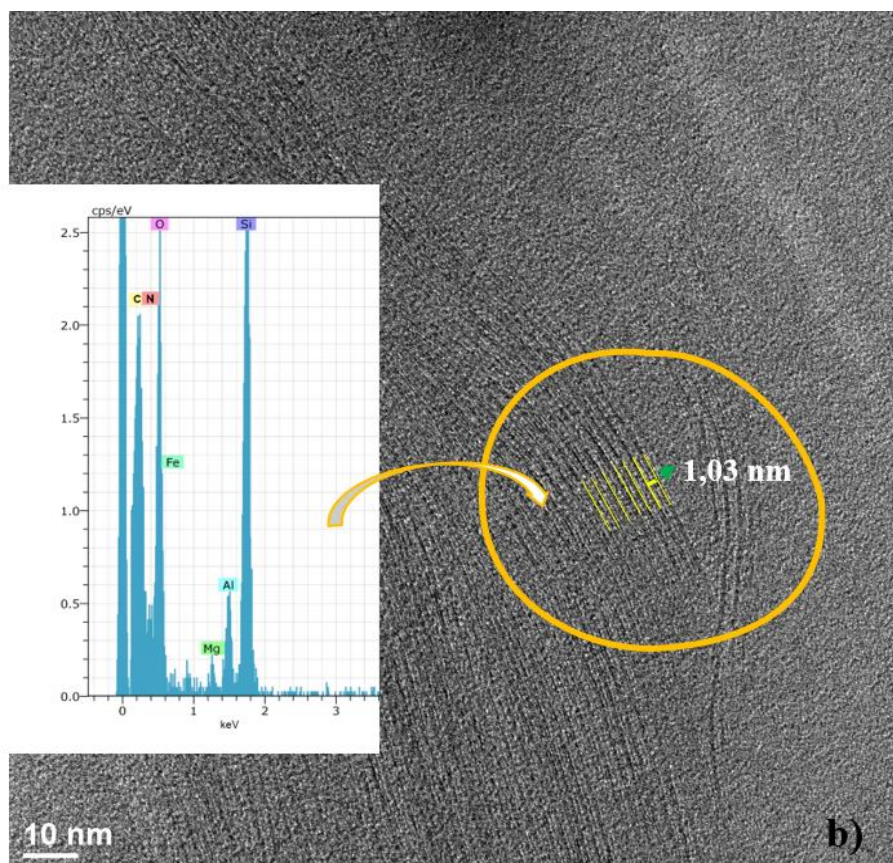
4.4.4 Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM)

As imagens da microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM- High Resolution Transmisson Electron Microscopy), exibidas na Figura 20, mostram a morfologia em camadas do VHS/TMX obtidas pelo pH 5,0. É possível observar pontos de massa negra (granular), no espectro dessa região (Figura 20 a1), a ligeira diminuição na quantidade de íons magnésio e o ligeiro aumento na relação Si, que indica que houve remoção de Mg^{2+} e Al^{3+} da folha octaédrica devido a preparação a pH mais baixo, por adição do ácido na formação do híbrido, o que é atribuído à formação de sílica amorfa, esses dados corroboram com dados encontrados anteriormente (Krupskaya *et al.*, 2019; Lycourghiotis *et al.*, 2019).

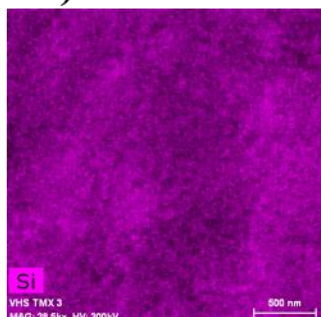
Em outra região da imagem, foi observada a estrutura em camadas da amostra, e o espectro resultante dessa região, apresentou um pequeno aumento na quantidade de íons Mg^{2+} e Al^{3+} (Figura 20 a2), indicando que a estrutura em camadas não foi totalmente afetada. Em outra região da amostra, em alta resolução, é possível medir a distância entre as camadas.

Figura 20- Imagens HRTEM dos complexos VHS/TMX obtidos em sistemas de pH 5 a) imagem geral da amostra com magnitude de 200 nm, com a1) região granular (presença de silício amorfo) e espectro no EDS e a2) região lamelar e seu espectro, b) região ampliada 10 nm e o respectivo EDS espectral demarcando (em linhas amarelas) as folhas de argila e o espaçamento basal de 1,03 nm, c) mapeamento elementar EDX de c1) Si-silício, c2) N-nitrogênio e c3) Al-alumínio

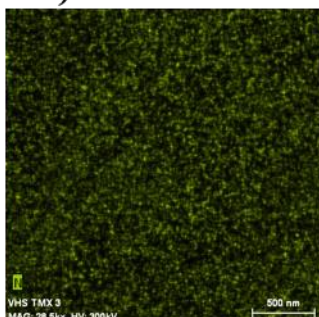




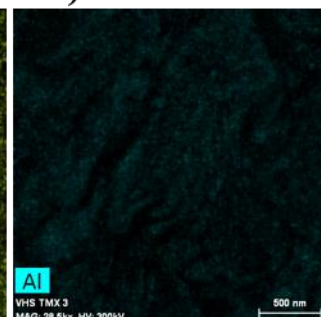
c1)



c2)



c3)



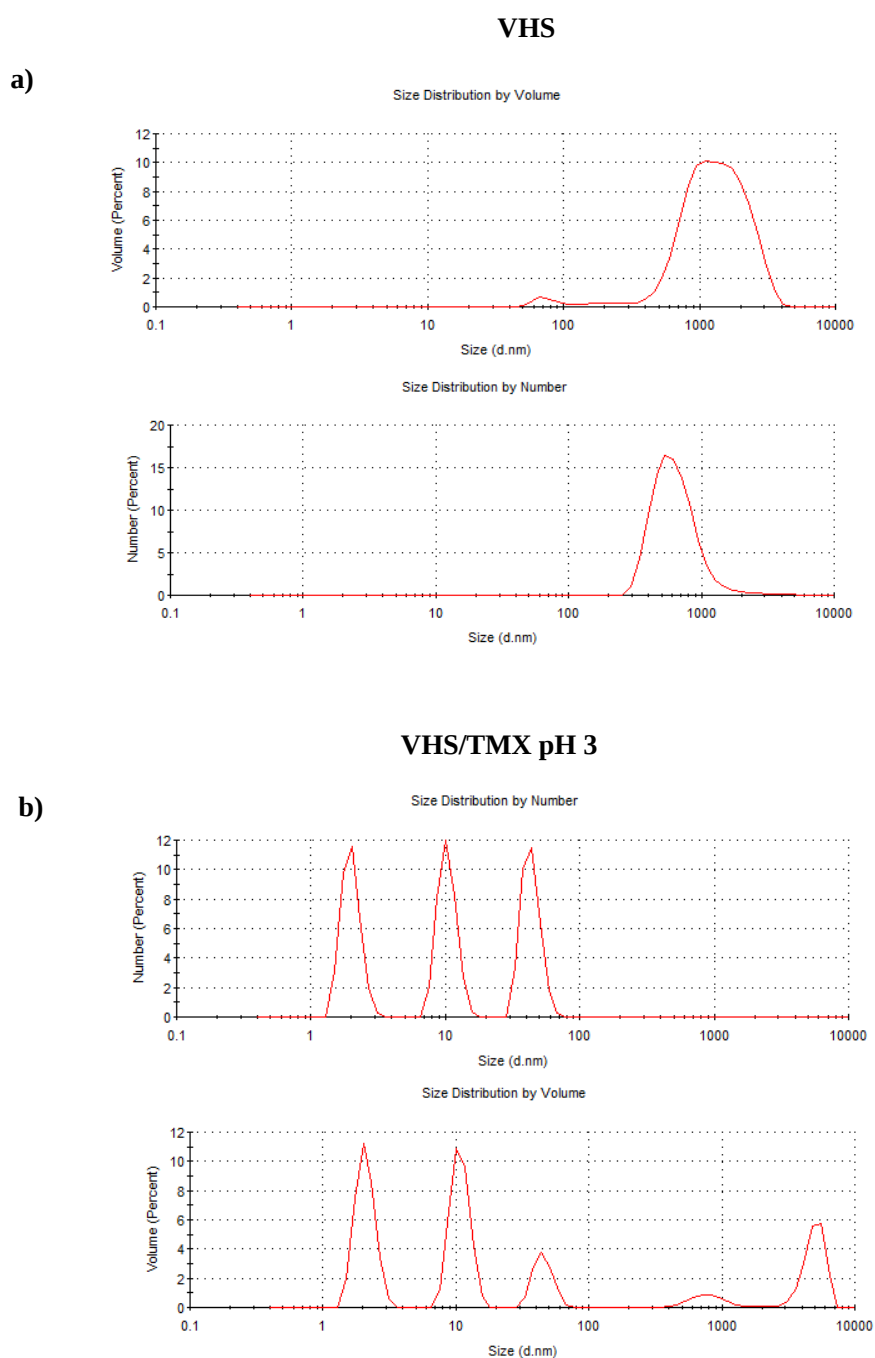
Fonte: autoria própria

O valor foi de 1,03 nm e correspondeu à fase da montmorillonita sem intercalação de TMX. O valor $d(001)$ menor que 1,2 nm era esperado, uma vez que as esmectitas geralmente perdem água entre as camadas em alto vácuo da análise. A área selecionada da região em camadas foi ampliada e um espectro de EDS foi realizado. As camadas de argila aparecem como linhas escuras (Figura 20 b), contornando os espaços entre as camadas, em espaço livre, que é menor que o valor de referência medido pelo DRX, veja anteriormente (Silva *et al.*, 2019). A presença dos sinais de nitrogênio e carbono no espectro de EDS (Figura 20 b), na região circundada, confirmou a presença de TMX. O mapeamento químico revelou uma distribuição homogênea de Si (Figura 20 c1), com presença de N (Figura 20 c2) e Al (Figura 20 c3).

4.4.5 Análise por tamanho e distribuição de partículas e agregados em suspensão (PDS)

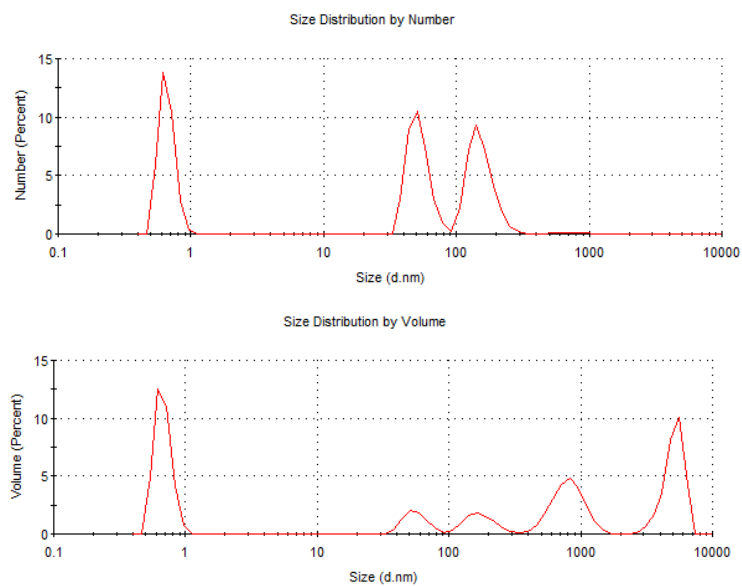
Na análise do tamanho das partículas, o número de partículas e o volume expresso em porcentagem (Figura 21 a), foi observado em relação ao VHS primitivo, uma distribuição monomodal, tendo o tamanho médio de 973 nm (Figura 22).

Figura 21- Curvas gráficas originais, demonstrando a distribuição média das partículas em volume e número para a) VHS primitivo, e para os sistemas VHS/TMX produzidos em b) pH 3,0 c) pH 4,0 e d) pH 5,0



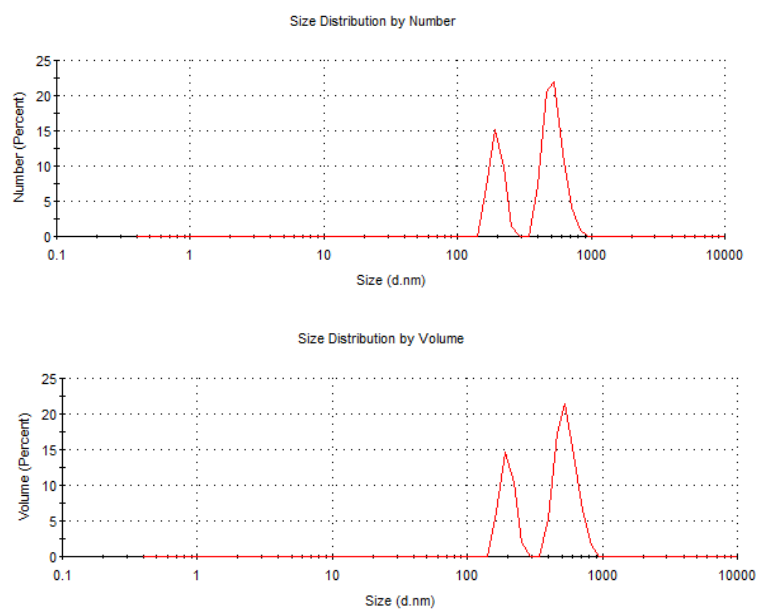
VHS/TMX pH 4

c)



VHS/TMX pH 5

d)



Fonte: autoria própria

Após a adsorção, as amostras exibiram um perfil trimodal para número de partículas e polimodal para volume de partículas para o sistema preparado em pH 3,0 (Figura 21 b) e pH 4,0 (Figura 21 c), com diâmetros modais centrados em 373 e 438,6 (Figura 22),

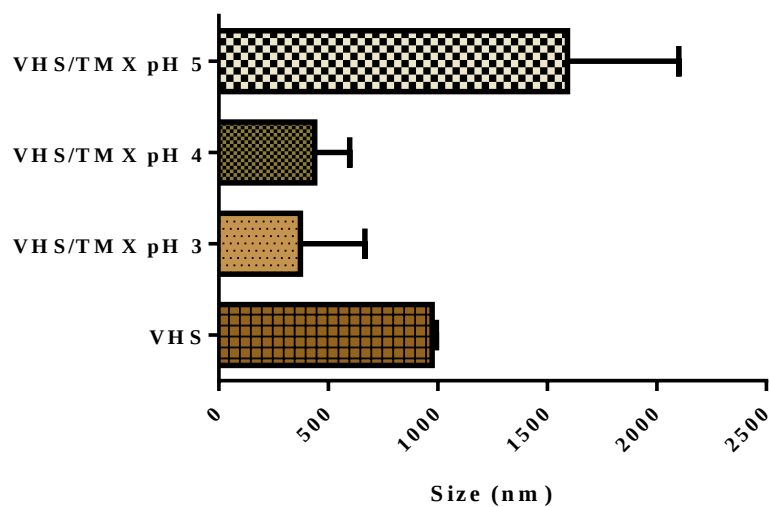
respectivamente. Para o sistema preparado em pH 5,0 (Figura 21 d), número e volume de partículas, foi obtida uma distribuição bimodal com diâmetro modal centrado em 1593 nm.

Ocorreu um alto aumento no índice de polidispersividade, verificado por alto desvio padrão (Figura 22), dos sistemas após a adsorção. Essa alteração pode estar associada a modificações estruturais devido à adição de ácido nas preparações, conforme observado anteriormente (Krupskaya *et al.*, 2019). O menor tamanho das partículas e a maior variação no volume e número de partículas com pH mais baixo, reduz consequentemente a carga superficial (Figura 23), devido a lixiviação dos cátions octaédricos e à formação de pequenos agregados. No entanto, para amostras preparadas com pH mais alto (VHS/TMX pH 5), as partículas maiores formam agregados maiores, porém mais uniformes, devido à menor lixiviação dos cátions estruturais.

No entanto, esses materiais são suspensões, ou seja, colóides, além de agregados, não esféricos e essa medida é uma estimativa aproximada do tamanho relativo, que possui uma distribuição de tamanho ampla, conforme verificado por grande desvio padrão, interferência do tratamento que a amostra recebe.

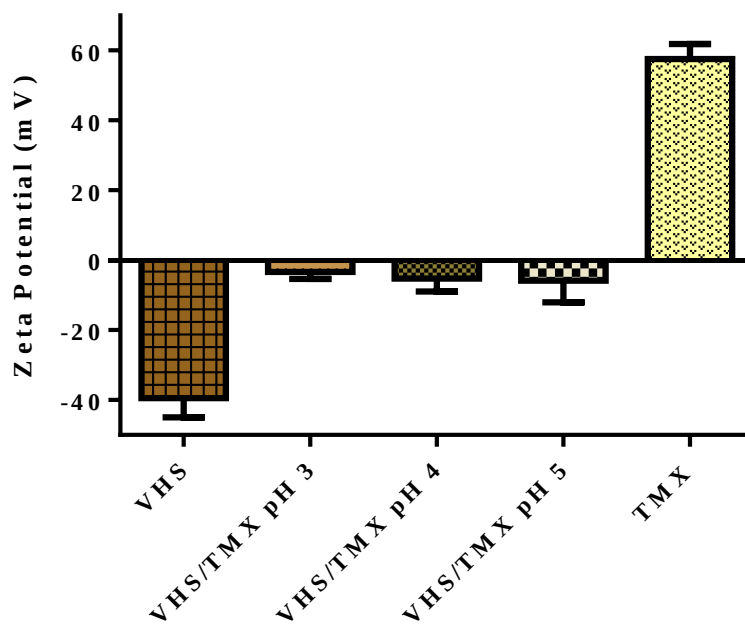
Os valores do potencial Zeta (Figura 23), foram negativos e os valores negativos mais baixos foram obtidos após a adsorção do TMX, indicando diminuição da carga da superfície da adsorção positiva do fármaco.

Figura 22- Distribuição média do tamanho de partícula para o VHS e os sistemas formados em diferentes pHs, VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5.



Fonte: autoria própria

Figura 23- Medidas de potencial Zeta das amostras VHS, VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 e TMX, suspensas em água ultra purificada.



Fonte: autoria própria

4.5 CÁLCULOS COMPUTACIONAIS DA OTIMIZAÇÃO DO CITRATO DE TAMOXIFENO E DAS INTERAÇÕES DO CITRATO DE TAMOXIFENO COM A MONTMORILLONITA (VHS) EM NÍVEL MOLECULAR

4.5.1 Estrutura cristalina do citrato de tamoxifeno e estrutura molecular do citrato de tamoxifeno

A estrutura cristalina do citrato de tamoxifeno foi totalmente otimizada, incluindo as posições atômicas e os parâmetros de célula da estrutura cristalina. A célula unitária contém 312 átomos, 4 cátions de TMXH^+ e 4 ânions de citrato. Vários conjuntos de cargas atômicas e de FF foram utilizados para comparações com os dados experimentais (Tabela 8). Em geral, todos os campos de força reproduzem a estrutura cristalina experimental com apenas pequenas diferenças. Todos FF produziram formação de cristal favorável e altos valores de energia de empacotamento, exceto o Universal. Que não descreve adequadamente as interações entre o cátion TMXH^+ e o contra-íon citrato. A interface PCFF com carga FF apresentou a maior energia de empacotamento no cristal do citrato de tamoxifeno (Tabela 8). O melhor método foi então, o que se utiliza da interface PCFF utilizando cargas atômicas atribuídas pelo mesmo FF, produzindo as menores diferenças em relação aos valores experimentais dos parâmetros celulares (Tabela 9). Isso valida esse método para este trabalho e será utilizado nas simulações abaixo, para as interações VHS com o fármaco citrato de tamoxifeno.

Tabela 8-Parâmetros celulares da estrutura cristalina totalmente otimizada do citrato de tamoxifeno com diferentes cargas FF e atômicas comparados com os valores experimentais (distâncias em Å e ângulos em °).

Parâmetros	Experimental	COMPASS		UNIVERSAL	PCFF-interface	
		FF ^a	QEq ^b		FF ^a	QEq ^b
a	16.0	16.10	15.67	16.05	16.16	15.70
b	21.96	21.69	21.80	22.05	21.87	22.17
c	8.62	8.35	8.49	9.04	8.55	8.70
β (α=γ= 90°)	96.3	97.9	96.7	90.4	97.4	95.4
E empacotamento^c		-77.28	-64.12	+41.3	-79.98	-59.20

^a Cargas atômicas fornecidas pelo FF. ^b Cargas atômicas calculadas com o método Qeq. ^c Energia de empacotamento (diferença entre a energia do cristal e a energia de 4 pares iônicos isolados do citrato de TMX) do cristal do citrato de TMX. Esses valores estão em kcal/mol por célula unitária e por molécula de TMX.

Fonte: autoria própria

Tabela 9- Principais características geométricas (comprimentos de ligação em Å e ângulos°) das estruturas experimentais e calculadas do cristal de citrato de tamoxifeno (Cry) e do par isolado de citrato de TMX (Iso).

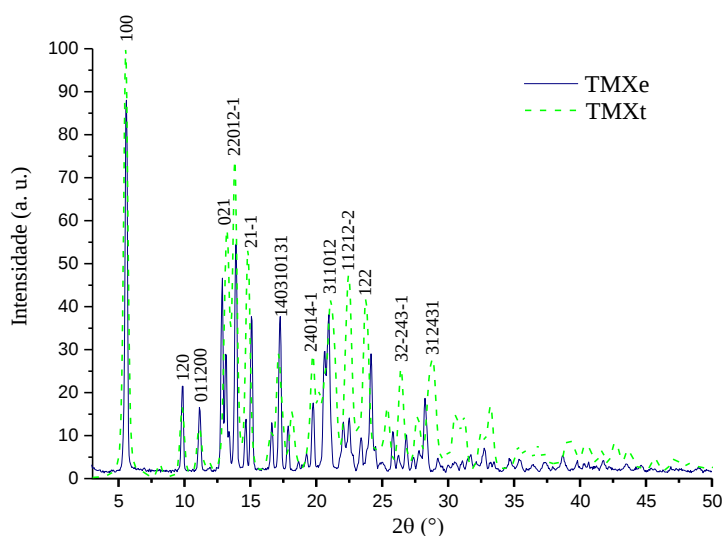
Parameters	COMPASS					PCFF			
	Exp ^c	FF ^a		QEq ^b		FF ^a		QEq ^b	
		Cry ^d	Iso ^e	Cry ^d	Iso ^e	Cry ^d	Iso ^e	Cry ^d	Iso ^e
d(CH₂-O)	1.42	1.42	1.43	1.42	1.43	1.42	1.43	1.43	1.43
d(C=C)	1.34	1.36	1.36	1.37	1.36	1.36	1.35	1.36	1.35
d(CH₂-N)	1.49	1.53	1.55	1.54	1.54	1.54	1.55	1.54	1.55
d(NH)	0.99	1.01	1.02	1.04	1.02	1.02	1.02	1.04	1.02
d(CH₃...O=COH_{cit})	2.29	2.40	2.49	2.44	2.46	2.45	2.44	2.49	3.29
d(NH...O=CO_{cit})	1.73	1.60	2.38	1.58	1.97	1.68	1.80	1.65	1.73
d(OH_{cit}...O=CO_{cit})	1.52	1.39	-	1.41	-	1.76	-	1.76	-
θ(C=C-C-H)	-112.5	-115.8	-113.7	-120.2	-114.3	-110.6	-112.7	-117.7	-113.6
θ(C=C-C-C)_{1benz}	-50.7	-54.4	-53.5	-47.5	-51.2	-60.6	-66.7	-51.1	-67.2
θ(C=C-C-C)_{2benz}	125.4	125.8	130.1	125.4	130.0	119.4	119.8	121.5	118.0
θ(C=C-C-C)_{3benz}	126.7	133.4	138.3	130.5	135.2	129.5	125.9	125.7	124.3
θ(OCCN)	-158.2	-164.2	-178.9	-163.5	-169.6	-166.0	-172.9	-165.0	-176.8
θ(CCOC)	3.1	12.7	23.4	15.2	44.8	15.5	52.0	19.9	25.9

^aCargas atômicas atribuídas diretamente pelo FF. ^bCargas atômicas calculadas com o método QEq. ^cEstrutura cristalina experimental (Goldberg e Becker, 1987). ^dEstrutura do cristal. ^eEstrutura molecular isolada do citrato de TMXH.

Fonte: autoria própria

Os difratogramas de DRX em pó da estrutura cristalina do TMX e o padrão que foi otimizada com o campo de força FF da interface PCFF, foram comparados, ou seja, a estrutura cristalina prática (pó) foi comparada com a estrutura cristalina teórica, utilizada nesse estudo (Figura 24). Ambos os perfis indicam que o sólido utilizado neste trabalho é a forma cristalina B, essa forma B de cristal é descrita na literatura (Alias *et al.*, 2017; Gamberini *et al.*, 2007; Goldberg e Becker, 1987; Kapse *et al.*, 2012).

Figura 24- a) Padrão de DRX do pó cristalino citrato de tamoxifeno bruto e utilizado na formação dos sistemas híbridos experimentalmente e o padrão de DRX da estrutura cristalina do citrato de tamoxifeno simulado, otimizada com a interface PCFF com carga FF.



Fonte: autoria própria

No cristal, as moléculas de citrato de TMX são alternadas (Figura 25). O grupo carboxilato do citrato é orientado para o grupo dimetilamônio do tamoxifeno a uma distância $d(\text{COO}\dots\text{HNC}) = 1,689 \text{ \AA}$ e $1,646 \text{ \AA}$ (Figura 26). Os átomos de metilamina (H) do tamoxifeno são orientados ao átomo da carbonila (O), do grupo carboxílico do citrato, devido a interações eletrostáticas. As moléculas de citrato estão conectadas com ligações intermoleculares de hidrogênio, entre os átomos de hidróxido H e os átomos de O, dos grupos carbonila, com distâncias de $d(\text{OHcit}\dots\text{O}=\text{COcit}) = 1,765 \text{ \AA}$ (Figura 27). Duas zonas podem ser distinguidas na embalagem do cristal, uma polar e outra apolar. A zona polar é dominada principalmente pelos grupos funcionais do ânion citrato e pela porção do amônio do cátion TMXH^+ , e a parte apolar é preenchida pelos anéis aromáticos das moléculas vizinhas do tamoxifeno.

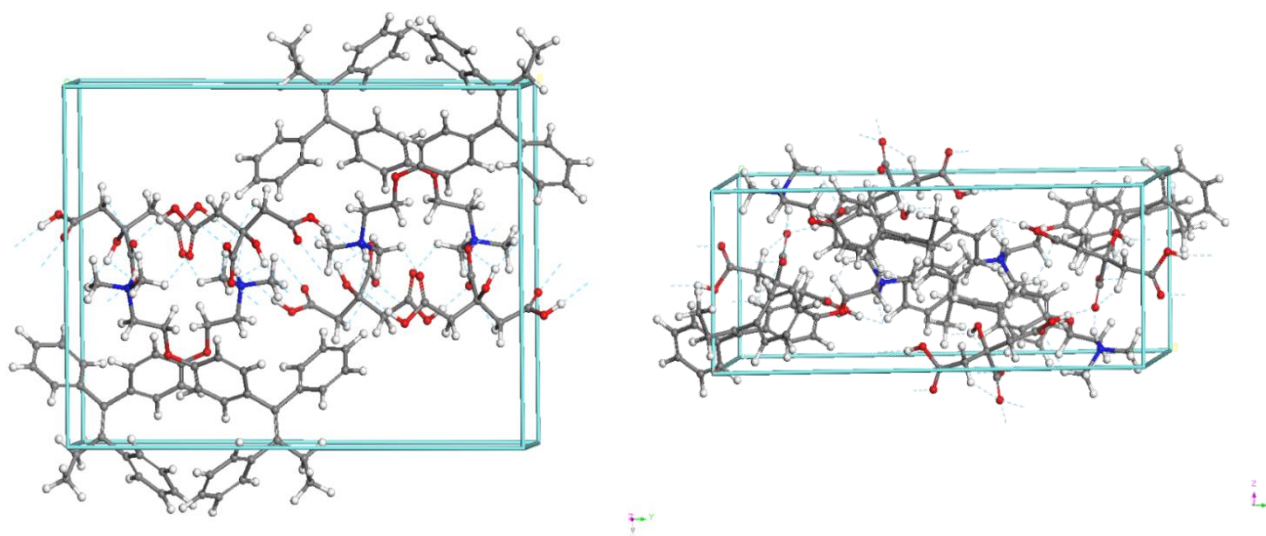
As principais características moleculares geométricas da estrutura cristalina estão resumidas na Tabela 9, exceto aquelas calculadas com o Universal FF que estavam longe dos dados experimentais e não estão incluídas. Não foi observada diferença significativa entre as estruturas otimizadas com Compass e PCFF e com diferentes cargas atômicas. O uso da interface PCFF com suas próprias cargas atômicas produziu a geometria mais próxima dos dados experimentais, conforme evidenciado acima para os parâmetros da estrutura cristalina.

A estrutura do par TMX-citrato (Figura 28) foi extraída dos dados experimentais da célula unitária, colocada em uma caixa periódica de $30 \text{ \AA} \times 30 \text{ \AA} \times 30 \text{ \AA}$ para evitar interações intermoleculares e foram otimizadas. Devido a isso, a molécula isolada só pode ser comparada

com os valores experimentais das moléculas dentro da estrutura cristalina. As distâncias de ligação na molécula do tamoxifeno são próximas às encontradas na estrutura do cristal, no entanto, na maioria dos casos, as distâncias entre o TMX e o citrato, são diferentes do cristal, porque muitas interações intermoleculares da estrutura cristalina são perdidas no modelo da molécula.

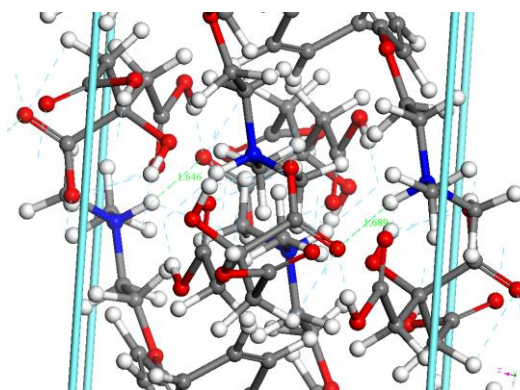
O primeiro anel benzeno é torcido a 60° em relação à ligação dupla C=C da estrutura central do TMX. O segundo anel benzeno é torcido 119° para a ligação dupla. As diferenças de torção entre o primeiro anel (1benz) e o segundo (2benz) em relação à ligação dupla são $58,4^\circ$ e o ângulo de torção que se forma em relação a essa ligação é $125,34^\circ$. O terceiro anel (3benz) conectado à estrutura dorsal da molécula tem um ângulo de torção de 126° em relação a C=C, valores semelhantes foram obtidos anteriormente (Kuramochi, 1996). O ângulo CCOC diédrico existente na molécula do tamoxifeno difere dos experimentais para todos os campos de força aplicados, demonstrando a suscetibilidade dessa conexão à conformação e geometria da molécula do tamoxifeno. O átomo de N do dimetil amônio possui conexões descidas em relação ao plano aromático, enquanto a fração CCOC possui conexões para cima, em relação ao mesmo plano, influenciadas por cargas opostas. Devido à realocação da ressonância eletrônica, existem várias possibilidades de interações entre TMXH^+ e o citrato. Em geral, as distâncias de conexões entre o cátion TMXH^+ e o ânion citrato estão próximas dos dados experimentais, interagindo por interações eletrostáticas com o citrato ($\text{CH}_3\cdots\text{O}=\text{COHcit}$) e por ligações de hidrogênio ($\text{NH}\cdots\text{O}=\text{COcit}$), $\text{NH}\cdots\text{OC}=\text{Ocit}$). Além disso, o citrato interage consigo mesmo por várias interações por um orbital molecular sem ligação ($\text{OHcit}\cdots\text{OC}=\text{Ocit}$) e ($\text{CH}_2\text{cit}\cdots\text{O}=\text{COcit}$), tanto na molécula cristalina quanto na isolada.

Figura 25- Estrutura cristalina do citrato de tamoxifeno após a otimização pelo campo de força com interface PCFF, vista dos planos (010) e (001).



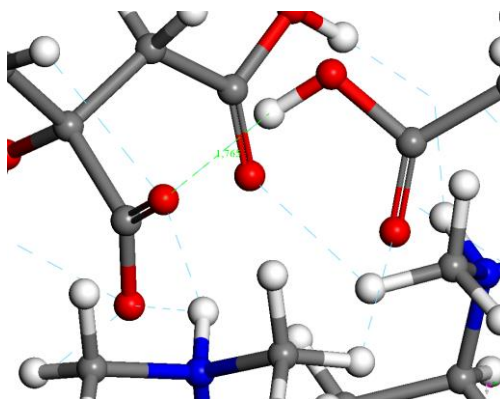
Fonte: autoria própria

Figura 26- Estrutura cristalina detalhada para destacar as interações NH...O=COcit.



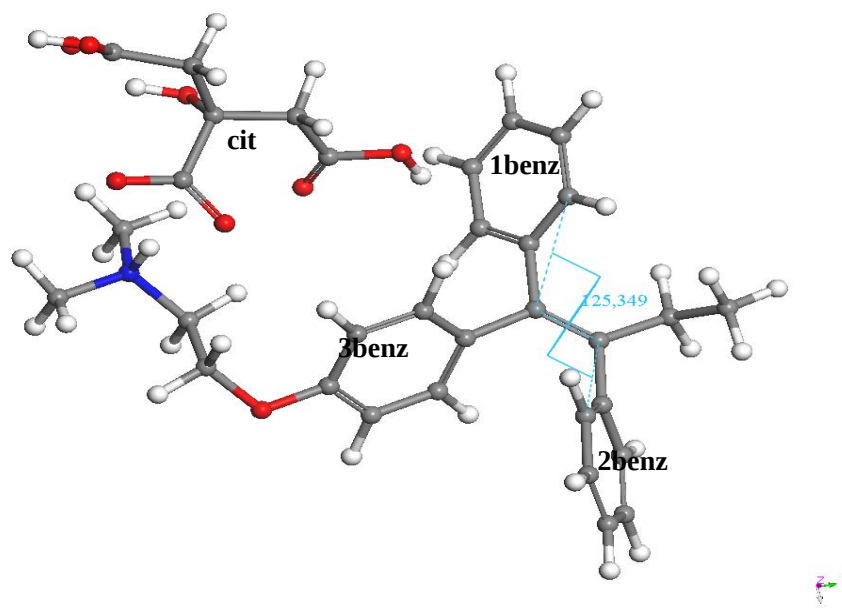
Fonte: autoria própria

Figura 27- Detalhe da estrutura cristalina para mostrar as interações OHcit...O=COcit e O=COcit...HOcit.



Fonte: autoria própria

Figura 28- Estrutura otimizada do citrato de tamoxifeno indicando os rótulos dos anéis aromáticos (1 benz, 2 benz e 3 benz) e a molécula do citrato (cit). Os átomos de C, H, N e O são descritos pelas cores cinza, branco, azul e vermelho, respectivamente. Esses padrões de cores são mantidos no restante das figuras deste trabalho.



Fonte: autoria própria

4.5.2 Cálculos computacionais das interações do citrato de tamoxifeno e a montmorillonita (VHS) em nível molecular

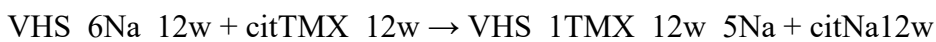
4.5.2.1 Modelos com influência da água e quantidade de tamoxifeno

A estrutura cristalina da montmorillonita foi totalmente otimizada, incluindo as posições atômicas e os parâmetros de rede da célula, obtendo uma estrutura cristalina, $a=15,47 \text{ \AA}$,

$b=17,87 \text{ \AA}$, $c=11,90 \text{ \AA}$, $\alpha=88,6^\circ$, $\beta=103,2^\circ$ e $\gamma=90,1^\circ$, próximo aos valores experimentais (Ortega-Castro *et al.*, 2008).

Nesta estrutura otimizada, estudou-se a adsorção do tamoxifeno no espaço interlamelar da montmorillonita. Inicialmente, um cátion do tamoxifeno protonado (TMXH^+) foi inserido no espaço entre camadas, substituído por um cátion de Na^+ . Em seguida, o cátion TMXH^+ foi colocado paralelamente à superfície interlamelar da argila com 12 moléculas de água formando o modelo nomeado por VHS_1TMX_12w_5Na (Figura 29) e um modelo formado com 6 moléculas de água nomeado por VHS_1TMX_6w_5Na (Figura 30). Após a otimização, o cátion TMXH^+ manteve a disposição paralela, sendo os anéis de benzeno 1 e 2 coplanares nos dois modelos. Os anéis aromáticos formaram ângulos de $78,28^\circ$ e $105,34^\circ$ com o plano da superfície da argila. O grupamento CCOC do TMXH^+ ficou orientado oposto à superfície da argila, devido à repulsão com os átomos de O da superfície da argila. Além da porção de dimetilamônio inclinada para baixo, devido às interações adsorbato-superfície, que formam principalmente ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas. Essas interações ocorrem entre o átomo de O carregado negativamente do grupamento siloxano, presente na superfície da argila com o átomo de N do TMXH^+ , carregado positivamente. Essa interação ocorreu entre o modelo VHS_1TMX_6w_5Na com $d(\text{NH}\dots\text{OSi}) = 1,67 \text{ \AA}$ e $d(\text{HN}\dots\text{OSi}) = 2,64 \text{ \AA}$ e para o modelo VHS_1TMX_12w_5Na com $d(\text{NH}\dots\text{OSi}) = 1,65 \text{ \AA}$ e $d(\text{HN}\dots\text{OSi}) = 2,66 \text{ \AA}$. O ângulo diédrico do CCOC sofre alterações com $86,16^\circ$ (VHS_1TMX_12_5Na) e $169,41^\circ$ (VHS_1TMX_6w_5Na).

A energia de adsorção do modelo de adsorção VHS_1TMX_12w_5Na foi calculada levando em consideração o processo de troca catiônica:



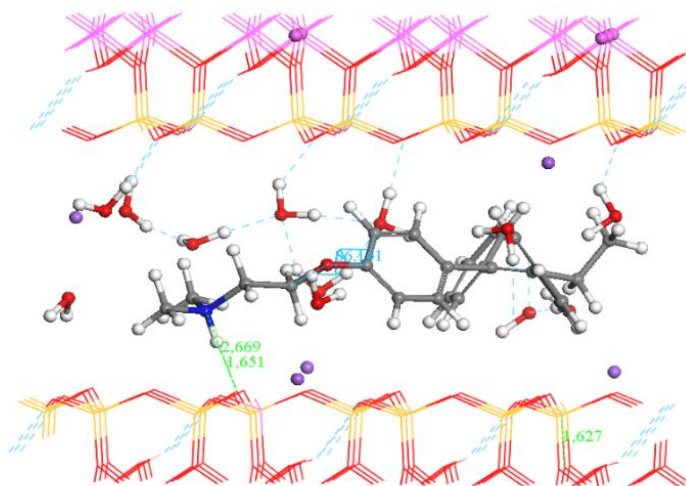
Onde VHS_6Na_12w é o VHS inicial, montmorillonita hidratada; citTMX_12w é o cátion TMXH^+ neutralizado com um ânion de citrato, em uma caixa cúbica periódica, $a= 30\text{\AA}$, com uma célula unitária com 12 moléculas de água que solvatam os dois íons; VHS_1TMX_12w_5Na é o complexo de adsorção final com um cátion TMXH^+ intercalado no espaço entre camadas do VHS, trocado por um cátion Na^+ ; e citNa12w é o cátion Na^+ neutralizado com um ânion de citrato, ambos solvatados com 12 moléculas de água em uma caixa cúbica periódica com $a= 30 \text{ \AA}$ como célula unitária. Todas essas estruturas foram otimizadas e a energia total de cada uma foi retirada dos cálculos. Portanto, a energia de

adsorção (E_{ads}) foi calculada como a diferença de energia entre os produtos e reagentes do processo:

$$E_{ads} = E_{(VHS_1TMX_12w_5Na)} + E_{(citNa12w)} - (E_{(VHS_6Na_12w)} + E_{(citTMX_12w)})$$

Onde $E_{(VHS_1TMX_12w_5Na)}$ é a energia do modelo do complexo de adsorção com 5 cátions Na^+ , um cátion $TMXH^+$ e 12 moléculas de água por supercélula $3 \times 2 \times 1$ de montmorillonita citada acima; $E_{(citNa12w)}$ é a energia do modelo com um cátion Na^+ , um ânion citrato e 12 moléculas de água por unidade celular; $E_{(VHS_6Na_12w)}$ é a energia da montmorillonita inicial com 6 cátions Na^+ e 12 moléculas de água por supercélula $3 \times 2 \times 1$; e $E_{(TMXcit_12w)}$ é a energia do modelo de um cátion $TMXH^+$, um ânion citrato e 12 moléculas de água por célula unitária.

Figura 29- Adsorção do cátion tamoxifeno colocado paralelamente à superfície da montmorillonita após sua otimização com 12 moléculas de água VHS_1TMX_12w_5Na, vistas do plano (100).



Fonte: autoria própria

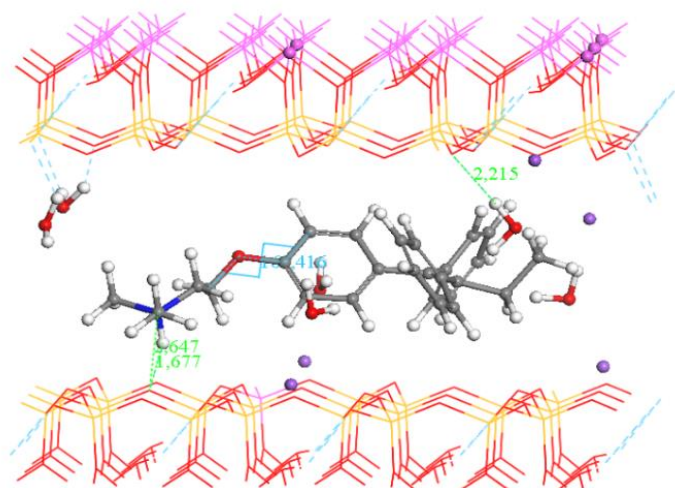
A energia de adsorção foi de 29,87 kcal/mol, sendo um processo endotérmico e desfavorável. Este resultado pode ser devido à presença de um excesso de moléculas de água.

Em seguida, foi calculada a energia de adsorção do modelo com 6 moléculas de água por supercélula $3 \times 2 \times 1$ no modelo VHS inicial (VHS_6Na_6w) e o complexo de adsorção final (VHS_1TMX_6w_5Na), seguindo o mesmo método, resumido na Tabela 10.

Então, a energia de adsorção foi de -10,29 kcal/mol, indicando que a adsorção é energeticamente favorável. A otimização deste modelo, complexo de adsorção em volume

variável, produziu um espaçamento d (001) de 1,43 nm, que pode ser observado nos primeiros estágios do processo de adsorção (Tabela 10) (Silva *et al.*, 2019).

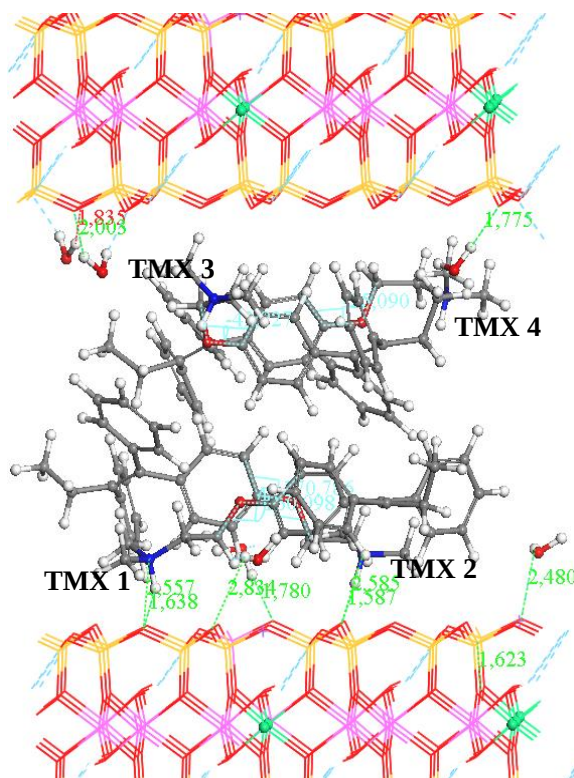
Figura 30- Adsorção do cátion tamoxifeno colocado paralelamente à superfície da montmorillonita após sua otimização com 6 moléculas de água VHS_1TMX_6w_5Na, vistas do plano (100).



Fonte: autoria própria

O principal valor do espaço interlamelar d (001), observado nos processos de adsorção experimental, foi maior que o modelo acima calculado. Dessa forma, uma adsorção com uma quantidade maior de tamoxifeno na interlamela foi explorada. Estendendo o espaço entre as camadas para $c=22 \text{ \AA}$, quatro cátions TMXH^+ foram trocados por 4 cátions de Na^+ e um novo modelo de montmorillonita com 4 cátions TMXH^+ , 2 cátions Na^+ e 6 moléculas de água por supercélula $3 \times 2 \times 1$ foi gerado (VHS_4TMX_6w_2Na) (Figura 31). Essa quantidade de TMX é consistente com o valor experimental de $0,611 \text{ mmol TMX} \cdot \text{g}^{-1}$, sendo 75% do CEC total de VHS. Os cátions TMX^+ foram colocados em uma orientação paralela em relação à superfície interlamelar, como nos modelos acima. No entanto, neste caso, os cátions de fármaco foram colocados em direções opostas alternadas, a fim de evitar a interação estérica entre os anéis aromáticos vizinhos. A otimização deste modelo em volume variável gerou um espaço interlamelar com um espaçamento d (001) de 2,18 nm, indicando que havia espaço suficiente para aumentar esse número de moléculas orgânicas. Mantendo o balanço de massa entre reagentes e produtos, o processo de troca catiônica é, neste caso, descrito na Tabela 10.

Figura 31- Adsorção dos cátions tamoxifenos colocados paralelamente à superfície da montmorillonita após sua otimização formando o modelo VHS_4TMX_6w_2Na.



Fonte: autoria própria

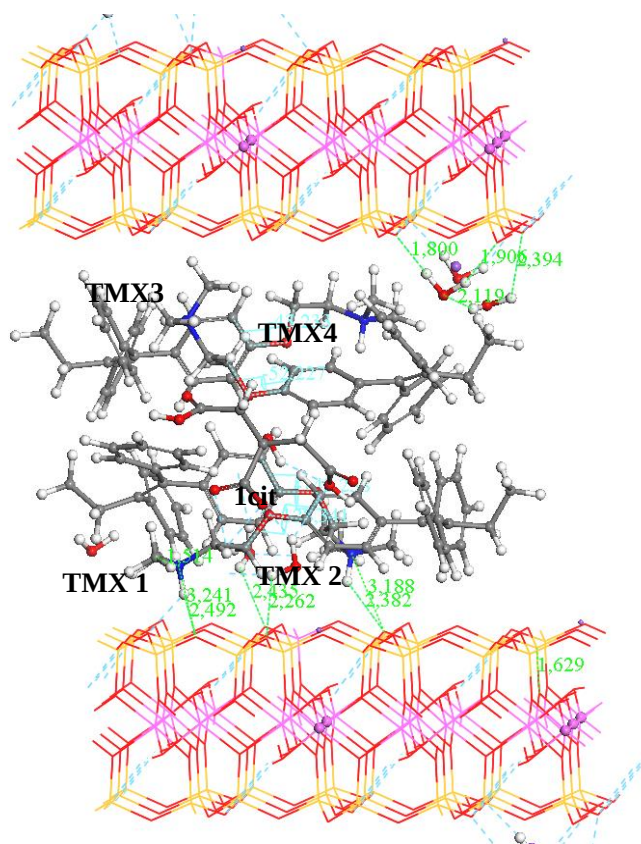
Após a otimização deste complexo, a energia de adsorção foi de -77,41 kcal/mol, sendo também um processo energeticamente favorável, o que corresponde a -19,35 kcal/mol por cátion TMXH^+ adsorvido. Este valor é principalmente devido às interações das ligações de hidrogênio que sofrem a porção amino (catiônica), com os átomos de siloxano O da superfície e as interações dos átomos de água H com os átomos de O da superfície. A orientação molecular sofre algumas alterações em um plano inclinado em relação à superfície da argila, bem como alterações nos ângulos de torção (Figura 31). O ângulo θ (CCOC) de cada cátion foi alterado para $160,1^\circ$, $-170,8^\circ$, $-42,8^\circ$ e $-25,1^\circ$. As distâncias interatômicas da superfície adsorvente com a superfície da argila para a molécula 1 e 2 $d(\text{NH}\dots\text{OSi}) = 1,63$ e $1,58 \text{ \AA}$ e $d(9\text{HN}\dots\text{OSi}) = 2,55$ e $2,58 \text{ \AA}$, respectivamente. Essas torções demonstram como a molécula de TMX tem flexibilidade ao intercalar na interlamela da argila.

4.5.2.2 Modelos que simulam a influência do pH

Considerando a alta capacidade de intumescimento do VHS, podemos considerar a variação experimental da adsorção com a variação do pH, com os dados obtidos experimentalmente, verificado por Silva *et al.*, 2019. Assim, o pH = 3, a quantidade de 0,611 mmol TMX. g⁻¹ foi adsorvida, permanecendo 0,31 mmol. g⁻¹ de cátions Na⁺ no espaço interlamelar. Considerando uma troca catiônica completa, quantitativamente, para um CEC = 0,806 mmol. g⁻¹, a quantidade de TMX adsorvido como cátion é 0,465 mmol.g⁻¹. Portanto, 42,3% do total de cátions interlamelares é Na⁺ e 57,7 % é TMXH⁺. O restante do TMX (0,146 mmol. g⁻¹) foi adsorvido como um sal neutro do citrato, como um contra- íon, representando 23,9% do total de TMX adsorvido. Considerando que nossos modelos possuem 6 cátions interlamelares por supercélula 3x2x1, o melhor modelo para este produto será o VHS com 3 cátions Na⁺, 3 cátions TMXH⁺, um par de citrato TMXH e 6 moléculas de água por supercélula 3x2x1 (VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na).

As moléculas orgânicas foram colocadas para obter uma melhor ocupação entre o espaçamento basal com 4 moléculas de tamoxifeno e uma molécula de citrato. Após a otimização, semelhante ao modelo acima, com alterações nos ângulos de torção (Figura 32). O ângulo θ (CCOC) é diferente para cada tamoxifeno, sendo os valores 128,3°, -148,2°, -52,2° e -43,2°. As principais distâncias intermoleculares são d (NH...OSi) = 2,49 e 2,38 Å e d (HN...OSi) = 3,24 e 3,18. Nesse modelo, o citrato interagiu consigo mesmo, através dos grupos hidroxila do grupamento carboxílico, mas não interage com o tamoxifeno. Nem todas as moléculas de tamoxifeno interagem com a superfície da argila através de ligações H. No entanto, a otimização do complexo de adsorção em volume variável obteve um espaçamento entre as camadas, com um espaçamento d (001) equivalente a 21,04 Å, estando muito próximo ao valor experimental, 21,26 Å.

Figura 32- Modelo de adsorção otimizado VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na simulando os dados experimentais para o sistema VHS/TMX formado a partir do pH 3,0.



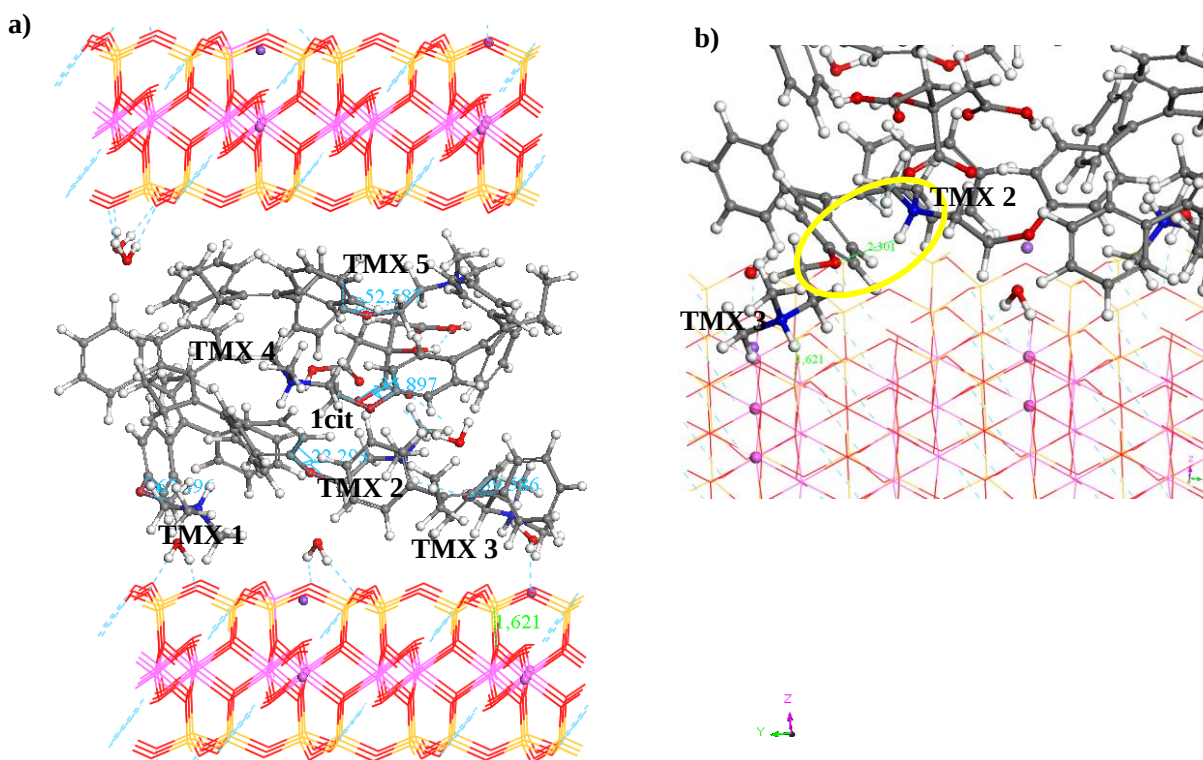
Fonte: autoria própria

Nesse caso, a pH 3, a adsorção é um processo combinado de troca catiônica com uma adsorção neutra do par iônico citrato de tamoxifeno que mantém o balanço de massa entre reagentes e produtos. Nesse caso, a E_{ads} foi de -136, 16 kcal/mol, sendo também energeticamente favorável (Tabelas 10 e 11).

No pH 4, uma quantidade ligeiramente mais alta de TMX (0,673 mmol TMX. g⁻¹ de sólido) foi adsorvido em relação ao pH 3, permanecendo 0,241 mmol. g⁻¹ de cátions Na⁺ no espaço interlamelar. Considerando o CEC do VHS utilizado (0,806 mmol. g⁻¹), a quantidade de TMX adsorvido como cátion é de 0,565 mmol. g⁻¹. Portanto, os 30% do total de cátions interlamelares são Na⁺ e os 70% são TMXH⁺. O restante do TMX (0,108 mmol. g⁻¹) foi adsorvido como um sal citrato neutro, representando 16,05% do total de TMX adsorvido. O melhor modelo que se ajusta às proporções relativas acima é uma supercélula 3x2x1 de montmorillonita com dois cátions Na⁺, 4 cátions TMXH⁺, um par TMXH-citrato e 6 moléculas de água (VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na).

Essas moléculas foram colocadas para obter uma melhor ocupação entre os espaços (Figura 33), onde os grupos de maior volume, como os anéis de benzeno, estão em sentido contrário em relação à molécula subsequente vizinha. O ânion de citrato foi colocado próximo a um tamoxifeno para simular a entrada do par iônico. Após a otimização, o tamoxifeno se rearranja e há um ajuste ao espaço interlamelar da argila, em uma conformação mais estável com diferentes valores de ângulo de torção θ (CCOC), 67,49°, 22,29°, 39,58°, -35,89° e 52,58°. As distâncias interatômicas da superfície adsorvente são $d(\text{NH}\dots\text{OSi}) = 4,94 \text{ \AA}$ e $d(\text{HN}\dots\text{OSi}) = 4,45 \text{ \AA}$ (Figura 33). Alguns cátions TMXH^+ estão distantes da superfície da argila e não interagem por ligações de hidrogênio com essa superfície. Neste modelo, o ânion citrato (1cit) tem interações consigo mesmo através do ácido carboxílico com $d(\text{OHcit}\dots\text{OC=Ocit}) = 1,98 \text{ \AA}$, a mesma distância calculada para a molécula isolada (Tabela 8). O cátion TMX 2 interage com o TMX 3 através dos grupamentos NH e CCOC, respectivamente, com $d(\text{NH}\dots\text{OCC}) = 2,30 \text{ \AA}$ (Figura 33 b).

Figura 33- a) Modelo de adsorção otimizado VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na simulando os dados experimentais para o sistema VHS/TMX formado a partir do pH 4,0, vista do plano (100) b) interação entre o TMX 2 e o TMX 3.



Fonte: autoria própria

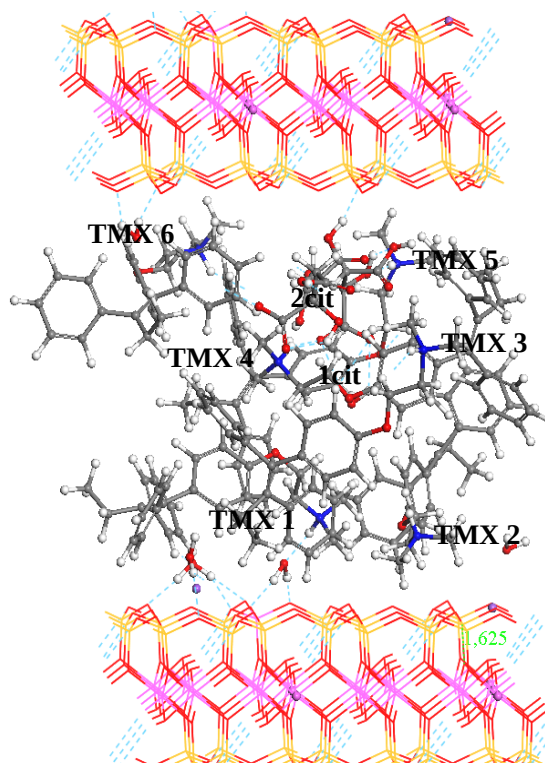
A otimização do complexo de adsorção em volume variável obteve um espaçamento $d(001)$ de 21,04 Å, estando muito próximo ao valor experimental 21,26 Å.

Neste modelo de reação, a energia de adsorção é de -75,71 kcal/mol (Tabela 10 e Tabela 11), sendo também um processo energeticamente favorável. A diferença de energia entre os modelos de reação de adsorção em pH 4 e pH 3, é de 60,45 kcal/mol (Tabela 11), mostrando que a reação pode ser energeticamente menos favorável em pH 4 do que em pH 3.

Para pH 5, uma quantidade maior de TMX foi adsorvida (0,994 mmol. g⁻¹ de sólido) quando comparado a adsorção em pH mais baixo, permanecendo 0,237 mmol. g⁻¹ de sólido de cátions Na⁺ no espaço interlamelar, semelhante ao pH 4,0. Para um CEC de 0,806 mmol/g a quantidade de TMX adsorvida como cátion será de 0,569 mmol. g⁻¹. Assim, os 30% do total de cátions interlamelares são Na⁺ e os 70% são TMXH⁺, semelhante ao pH 4. O restante do TMX (0,425 mmol. g⁻¹) foi adsorvido como um sal citrato neutro, representando 42,8% do total de TMX adsorvido, sendo mais alto do que em pH menores. O melhor modelo que se ajusta às proporções interlamelares relativas acima descritas, pode ser uma supercélula 3x2x1 de montmorillonita com dois cátions de Na⁺, 4 cátions TMXH⁺, 2 pares de íons sal citrato TMX e 6 moléculas de água (VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na).

Esse modelo, do complexo de adsorção, foi gerado a partir do modelo otimizado anteriormente, adicionando um par de TMXH-citrato, a fim de obter uma melhor ocupação entre os espaços, para que todas as moléculas permaneçam opostas ao anel aromático (Figura 34). Após a otimização, neste caso, a energia de adsorção é de -111,65 kcal/mol, sendo um processo energeticamente favorável e superior aos modelos anteriores para pH 3 e 4. As moléculas de tamoxifeno são organizadas com ângulos de torção θ (CCOC) = -57,55°, -163,99°, -0,36°, -168,89°, 92,59° e 111,15°. Nenhuma molécula de tamoxifeno interage com a superfície da argila por ligações H, apenas por interações eletrostáticas. A molécula de tamoxifeno (TMX 4) interage com o citrato (1cit) com $d(OC=Ocit...HN) = 1,77$ Å e TMX5 interage com 2 cit com $d(NH...OHcit) = 1,71$ Å. O citrato (1cit) interage consigo mesmo através do ácido carboxílico $d(OH...O=COcit) = 1,89$ Å. A otimização do complexo de adsorção com volume variável obtido pelo espaçamento de $d(001)$ de 24,26 Å, sendo superior ao valor experimental, 22,59 Å.

Figura 34- Modelo de adsorção otimizado VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na simulando os dados experimentais para o sistema VHS/TMX formado a partir do pH 5,0, vista do plano (100).



Fonte: autoria própria

A quantidade de espécies químicas e as diferentes formas de interações fármaco/argila no espaço interlamelar, podem influenciar o processo de desorção e liberação do citrato de tamoxifeno. Anteriormente, uma liberação controlada de tamoxifeno a pH 6,8 foi obtida quando o sistema tamoxifeno/montmorillonita foi preparado em meio pH 5,5 (Kevadiya *et al.*, 2012). Uma maior afinidade do fármaco pelo mineral da argila, do que pelo meio de dissolução pode estar associada a interações fármaco: argila, como visto em outros sistemas de fármaco/material (Bello *et al.*, 2015; Jelonek *et al.*, 2018). Considere que o modelo simulado para o sistema pH 3 apresentou menos espécies interlamelar e mais moléculas interagindo com a superfície da argila, quando comparado ao modelo VHS/TMX produzido em pH 5, que possuía mais espécies no espaço interlamelar interagindo entre si, mas pouca interação com a superfície da argila. Isso significa que o sistema VHS/TMX preparado em pH 3 tem maior probabilidade de ter uma liberação mais controlada, quando comparado a um sistema produzido em pH 5. Como esse mecanismo de interação é predominante, o controle também pode ser alcançado em pH 1,2, independente do processo de lixiviação, conforme observado anteriormente (Li *et al.*, 2018). Além disso, o entendimento da variabilidade da entrada de contra-íons citrato e,

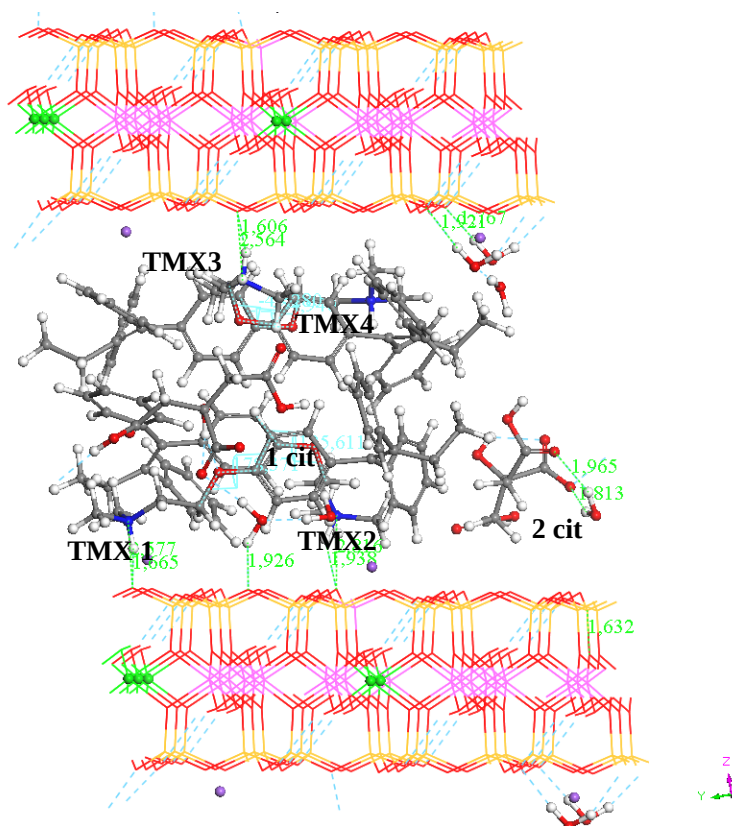
consequentemente, sua saída no processo de dessorção como um par iônico, pode ser predominante, pois os íons de citrato aumentam a solubilidade do tamoxifeno. A presença de citrato é essencial para melhorar a taxa de dissolução do medicamento e, assim, melhorar sua biodisponibilidade e farmacoterapia para reduzir os efeitos colaterais.

4.5.2.3 Modelos com influência da variação do par iônico/ adição de sal de citrato

Modelos adicionais foram criados, explorando a adsorção de proporções mais altas de troca catiônica. Inicialmente, houve a intercalação de sal neutro TMX-citrato considerando a mesma quantidade do cátion TMXH^+ , intercalando ambos na interlamela da argila e formando o modelo VHS_2TMX_2citTMX_6w_4Na. A otimização desse modelo de adsorção em volume variável obteve um espaçamento $d(001)$ de 20,88 Å, aproximado do valor experimental obtido em pH 3, 21,26 Å (Tabela 11) Figura 35.

Nesse caso, a energia de adsorção é de -165,52 kcal/mol (Tabela 10 e Tabela 11), sendo maior e mais energeticamente favorável que o modelo anterior (Tabela 11). Os cátions TMXH^+ mantêm sua localização no espaço interlamelar, entre as camadas, no entanto, com algumas alterações nos ângulos diédricos e diferentes distâncias interatômicas. O ângulo θ (CCOC) é diferente para cada molécula de tamoxifeno, sendo 178,33°, -125,6°, -45,28° e -54,94°. As interações mais fortes estão entre os átomos de H do amônio e os átomos de O da superfície tetraédrica com $d(\text{NH} \dots \text{OSi}) = 1,66, 1,93$ e $1,60$ Å e $d(\text{HN} \dots \text{OSi}) = 2,57, 2,81$ e $2,56$ Å para os cátions TMX1, TMX2 e TMX3, respectivamente. Nem todas as moléculas de tamoxifeno interagem com a superfície mineral via ligação H. Neste modelo, o citrato interage consigo mesmo através dos grupamentos hidroxila e carboxila, assim como com o tamoxifeno através da interação do átomo H e o átomo éter O com distância $d(\text{OHcit} \dots \text{OCH}_2) = 2,26$ Å.

Figura 35- Modelos otimizados de adsorção VHS_2TMX_2citTMX_6w_4Na

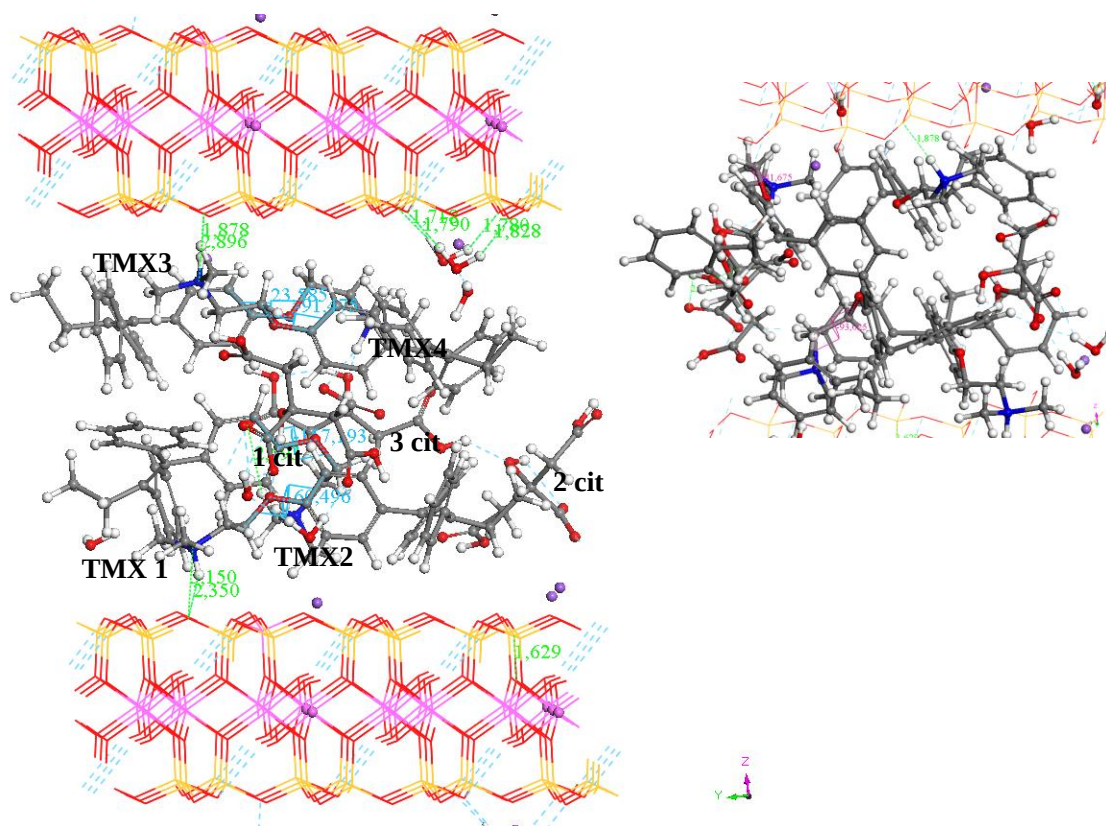


Fonte: autoria própria

Em outro caso, um modelo com maior quantidade de pares neutros de TMX-citrato comparado com a quantidade de TMXH^+ foi criado. Uma troca catiônica de cátions TMXH^+ e três pares iônicos TMX-citrato por supercélula $3 \times 2 \times 1$ (VHS_1TMX_3citTMX_6w_5Na) Figura 36, Tabela 9. Após a otimização em volume variável, o espaçamento d (001) foi de 20,78 Å, sendo semelhante ao modelo acima (Tabela 11).

A energia de adsorção é de -200,18 kcal/mol (Tabela 11), sendo também um processo energeticamente favorável. No entanto, essa energia parece ser alta, apenas para o processo de adsorção, e processos adicionais podem ser incluídos em todo o processo global (Tabela 11). Provavelmente, o empilhamento dos pares de citrato TMXH^+ no nanoespaço interlamelar pode fornecer energia adicional. Essas moléculas alteram seus ângulos diédricos e suas distâncias entre a superfície da argila (Figura 36). O ângulo θ (CCOC) foi de $-160,49^\circ$, $-157,19^\circ$, $-91,47^\circ$ e $23,58^\circ$. No entanto, devido às atrações moleculares do citrato, o TMX2 e o TMX4 sofrem diferentes valores para o ângulo θ (CCOC) de $-93,02^\circ$ e $-41,67^\circ$, respectivamente. Além disso, nessa região, o citrato (3cit) interage com o TMX4 e com outra molécula de citrato (2cit) (Figura 36).

Figura 36- Modelos otimizados de adsorção VHS_1TMX_3citTMX_6w_5Na



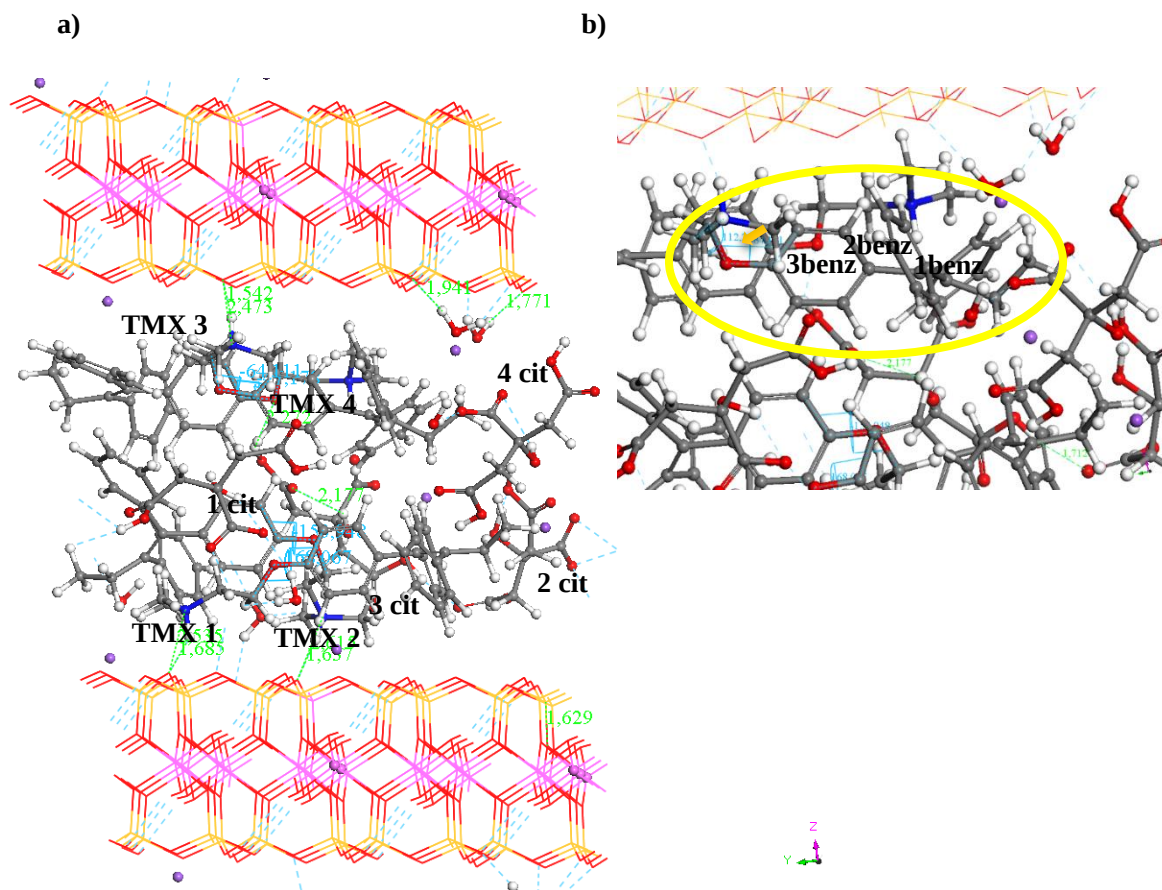
Fonte: autoria própria

Dado que o processo de adsorção do citrato de tamoxifeno é favorável à entrada na região interlamelar da argila e à verificação de que o cátion livre TMXH^+ e o contra-íon citrato podem entrar em várias proporções, foi formado um modelo para verificar se todos os contra-íons entravam juntamente com o TMX na região interlamelar da argila. Portanto, a adsorção do citrato de TMX como par iônico pode ser considerada sem processo de troca catiônica. Em seguida, foi criado um novo modelo (VHS_4citTMX_6w_6Na) (Figura 37) (Tabela 10).

A energia de adsorção é de -258,32 kcal/mol (Tabela 11), sendo também um processo energeticamente favorável. Após a otimização deste complexo em volume variável, o espaçamento $d(001)$ foi de 21,54 Å, sendo semelhante ao modelo acima (Tabela 11). Dessa maneira, a estrutura molecular dos cátions TMXH^+ também diferiu nos ângulos e distâncias de torções. Os ângulos de torção (CCOC), foram -168,06, -153,95, -64,11 e -47,17°. No entanto, as distâncias interatômicas da superfície adsorvente são $d(\text{NH}\dots\text{OSi}) = 1,68, 1,63$ e $1,54$ Å e $d(\text{HN}\dots\text{OSi}) = 2,53, 2,61, 2,47$ Å para TMX1, TMX2 e TMX3. Nem todas as moléculas de tamoxifeno interagem com a superfície adsorvente. O cátion TMX3 sofre um ângulo de torção

θ (OCCN) de 112,24 (Figura 37b). O ânion citrato interage através de seu grupo hidroxila com o grupo éter de TMX com $d(\text{OHcit}...\text{OCH}_2) = 2,27 \text{ \AA}$. Nesta região, o citrato (cit3) interage consigo mesmo e com outro citrato (2cit), conforme verificado no modelo anterior.

Figura 37- Modelos otimizados de adsorção VHS_4citTMX_6w_6Na



Fonte: autoria própria

Tabela 10- Modelos usados na supercélula 3x2x1 com balanço de massa e diferença entre reagentes e produtos

Modelos com influência da quantidade de água				
Modelo/Espécies com supercélula 3x2x1	Balanço de massa	ΔE_{ads}		
5 Na ⁺ + 1 TMXH ⁺ + 6 H ₂ O	VHS_6Na_6w + citTMX_12w →	$E_{(\text{VHS_1TMX_6w_5Na})}$	+	
	VHS_1TMX_6w_5Na + citNa12w	$E_{(\text{citNa_12w})}$	–	
		$(E_{(\text{VHS_6Na_6w})})$	+	
		$E_{(\text{citTMX_12w})}$		
2 Na ⁺ + 4 TMXH ⁺ + 6 H ₂ O	VHS_6Na_6w + 4citTMX_12w →	$E_{(\text{VHS_4TMX_6w_2Na})}$	+	4
	VHS_4TMX_6w_2Na + 4citNa12w	x $E_{(\text{citNa_12w})}$	–	
		$(E_{(\text{VHS_6Na_6w})})$	+	4
		$E_{(\text{citTMX_12w})}$		x
Modelos, considerando a influência do pH				
pH				
3	3 Na ⁺ + 3 TMXH ⁺ + 1 TMX par citrato + 6 H ₂ O	VHS_6Na_6w + 2(citTMX_12w) + 2	$E_{(\text{VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na})}$	
		(citTMX_6w) →	Na) + 3 $E_{(\text{citNa_12w})}$	–
		VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na +	$(E_{(\text{VHS_6Na_6w})})$	–
		3(citNa_12w)	2 $E_{(\text{citTMX_12w})}$	–
			2 $E_{(\text{citTMX_6w})}$	
4	2 Na ⁺ + 4 TMXH ⁺ + 1 TMX par citrato + 6 H ₂ O	VHS_6Na_6w + 3citTMX_12w +	$E_{(\text{VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na})}$	
		2citTMX_6w →	Na) + 4 $E_{(\text{citNa_12w})}$	–
		VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na + 4	$(E_{(\text{VHS_6Na_6w})})$	+
		citNa_12w	3 $E_{(\text{citTMX_12w})}$	+
			2 $E_{(\text{citTMX_6w})}$	
5	2 Na ⁺ + 4 TMXH ⁺ + 2 TMX par citrato + 6 H ₂ O	VHS_6Na_6w + 4 citTMX_6w + 2	$E_{(\text{VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na})}$	
		citTMX_12w →	Na) + 4x $E_{(\text{citNa_12w})}$	–
		VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na + 4	$E_{(\text{VHS_6Na_6w})}$	+
		citNa_12w	$E_{(\text{citTMX_6w})}$ + 2 x	
			$E_{(\text{citTMX_12w})}$	
Modelos por influência da adição de sal citrato com variação do par iônico				

4 Na ⁺ + 2 TMXH ⁺ + 2 TMX par citrato + 6 H ₂ O	VHS_6Na_6w + 4citTMX6w → VHS_2TMX_2citTMX_6w_4Na + 2citNa12w	$E_{(VHS_2TMX_2citTMX_6w_4Na)} + 2E_{(citNa_12w)} - (E_{(VHS_6Na_6w)} + 4E_{(citTMX_6w)})$
5 Na ⁺ + 1 TMXH ⁺ + 3 TMX par citrato + 6H ₂ O	VHS_1TMX_5Na_6w + 6(citTMX_6w) → VHS_1TMX_3citTMX_6w_5Na + 3(citTMX_12w)	$E_{(VHS_1TMX_3citTMX_6w_5Na)} + 3E_{(citTMX_12w)} - E_{(VHS_1TMX_5Na_6w)} + 6E_{(citTMX_6w)}$
4 TMXH ⁺ par citrato + 6H ₂ O	VHS_6Na_6w + 8(citTMX_6w) → VHS_4citTMX_6w_6Na + 4 (citTMX_6w)	$E_{(VHS_4citTMX_6w_6Na)} + 4E_{(citTMX_12w)} - E_{(VHS_6Na_6w)} - 8E_{(citTMX_6w)}$

Fonte: autoria própria

Tabela 11- Parâmetros das células reticuladas e energia de adsorção (kcal/mol) dos modelos otimizados do complexo de adsorção montmorilonita/tamoxifeno (distâncias em Å e ângulos em °).

Estrutura	Características							E_{ads}
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	α	β	γ	<i>d</i> (001)	
VHS_1TMX_12w_5Na	15.48	17.88	15.61	95.4	106.0	90.1	15.00	29.87
VHS_1TMX_6w_5Na	15.49	17.89	14.69	85.9	102.7	90.1	14.33	-10.29
VHS_4TMX_6w_2Na	15.49	17.89	21.19	88.6	97.5	90.1	21.81	-77.41
VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na	15.48	17.89	21.24	82.5	97.8	90.1	21.04 (21.26) ^a	-136.16
VHS_2TMX_2citTMX_6w_4Na	15.47	17.87	21.07	80.5	97.7	90.1	20.88	-165.52
VHS_1TMX_3citTMX_6w_5Na	15.48	17.87	21.39	84.2	103.7	90.1	20.78	-200.18
VHS_4citTMX_6w_6Na	15.49	17.88	21.78	82.2	98.5	90.1	21.54	-258.32
VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na	15.49	17.90	22.33	84.9	94.0	90.1	22.07 (21.42) ^b	-75.71
VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na	15.51	17.92	24.27	85.4	90.9	90.1	24.26 (22.59) ^c	-111.65

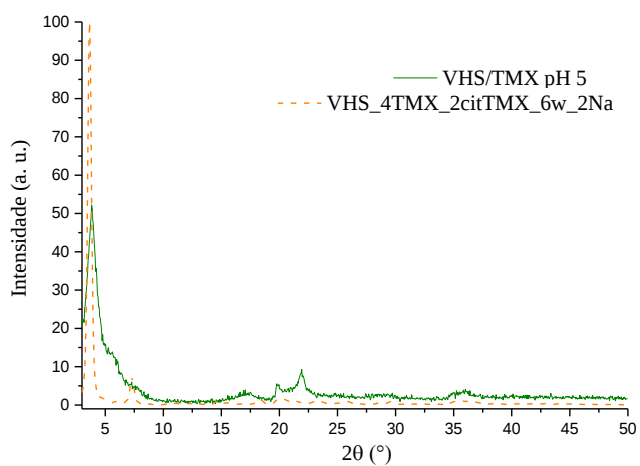
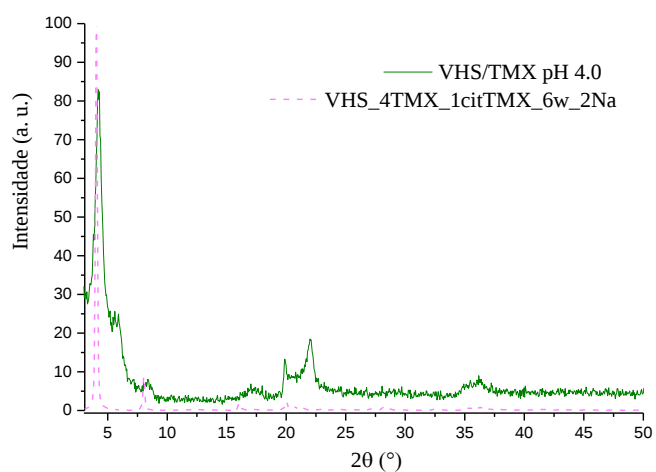
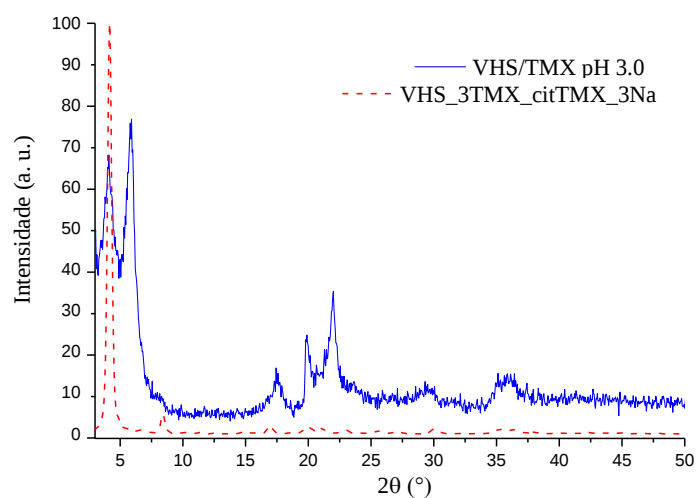
^aValor experimental para pH 3,0. ^b Valor experimental para pH 4,0. ^cValor experimental para pH 5,0.

Fonte: autoria própria

4.6 DIFRAÇÃO DE RAIO-X SIMULADO

Os difratogramas de DRX em pó das estruturas otimizadas foram simuladas para os modelos de intercalação VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na, VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na e VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na e comparados com os perfis experimentais dos híbridos VHS/TMX obtidos em pH 3, 4 e 5, respectivamente (Figura 38 a, b e c). Os espaçamentos d (001) calculados para os modelos teóricos foram 21,04, 22,07 e 24,26 Å (Tabela 10), respectivamente. Esses valores são semelhantes aos valores experimentais 21,26, 21,42 e 22,59 Å, respectivamente. Com o aumento do pH, aumenta-se a quantidade de intercalados e, consequentemente, aumenta-se a distância interlamelar da argila. No entanto, algumas diferenças podem ser observadas entre os padrões de DRX simulados dos modelos calculados e dos padrões experimentais. Nos padrões experimentais, uma reflexão aparece a $5,8^\circ$ (2θ), que ocorre mais agudamente no produto de interação formado a pH 3,0 e diminui com o aumento do pH. Isso revela o aparecimento de perda de cristalinidade da argila após o tratamento com ácido. Um comportamento semelhante foi observado anteriormente após o tratamento com ácido em vermiculita (Santos *et al.*, 2015b).

Figura 38- Padrões experimentais de difração de raio x comparados com os simulados a partir dos modelos teóricos a) VHS/TMX pH 3 com VHS_3TMX_1citTMX_6w_3Na b) VHS/TMX pH 4 com VHS_4TMX_1citTMX_6w_2Na c) VHS/TMX pH 5 com VHS_4TMX_2citTMX_6w_2Na.



Fonte: autoria própria

4.7 ESTUDOS DE EFICIÊNCIA DE DISSOLUÇÃO E MECANISMO DE LIBERAÇÃO

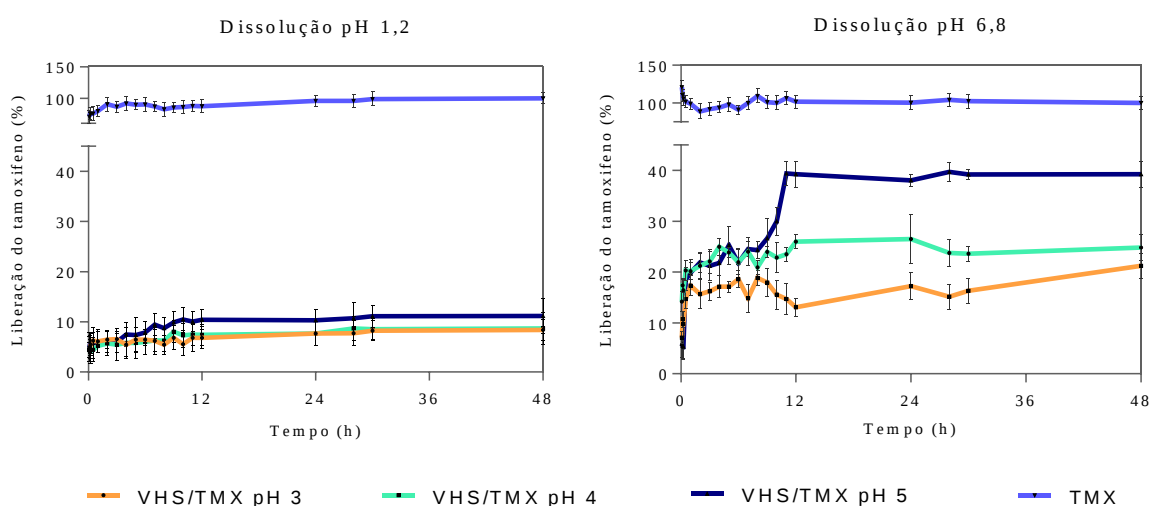
A Tabela 12 apresenta os dados de solubilidade do TMX em HCl (pH 1,2) e tampão fosfato (pH 6,8). Baseado na solubilidade de equilíbrio (Tabela 12), os perfis de dessorção do TMX puro e dos híbridos VHS/TMX pH 3,0, VHS/TMX pH 4,0 e VHS/TMX pH 5,0 (obtidos por outros ensaios de adsorção, seguindo a metodologia descrita em 4.2) nos meios acima discutidos (HCl pH 1,2 e tampão fosfato pH 6,8) foram construídos, em relação a porcentagem de liberação e o tempo de incubação, e são ilustrados na Figura 39.

Tabela 12- Solubilidade aparente do TMX em meio HCl (pH 1,2) e tampão fosfato (pH 6,8) e quantidade de adsorção de tamoxifeno na argila montmorillonita para formação dos sistemas híbridos em (mg/g)

Solubilidade de equilíbrio (mg/mL)	Meio
0,533± 0,29	Tampão fosfato (pH6,8)
2,83 ± 0,46	HCl (1,2)
Sistema híbrido	Concentração de fármaco TMX (mg/g)
VHS/TMX pH 3	344, 7
VHS/TMX pH 4	347,1
VHS/TMX pH 5	374, 2

Fonte: autoria própria

Figura 39- Padrões de liberação in vitro do tamoxifeno no fluido gástrico a) pH 1,2 e no fluido intestinal simulado b) pH 6,8, para os sistemas VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5, a $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ} \text{C}$; os dados representam a média $\pm$ SD (n=3).



Fonte: autoria própria

O TMX puro é rapidamente dissolvido de forma eficiente (> 90% em 5 min) em meio pH 1,2 e fluido intestinal simulado pH 6,8. Assim, da forma como o fármaco se encontra não fornece uma liberação controlada. Porém, diferentemente do fármaco livre, quando esse é intercalado no sistema híbrido VHS/TMX nas condições de diferentes pHs, os comportamentos de liberação foram diferentes, conforme se mudou o híbrido e o pH, de pH mais ácido para mais básico.

O perfil de liberação para todos os híbridos formados, em pH 1,2 (Figura 39 a), indicou maior controle na liberação do fármaco, 8,40% (8,1mg de TMX), 8,68% (8,41 mg de TMX) e 11,15% (10,81 mg de TMX) até 48 h para os sistemas VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5, respectivamente. Esse tempo foi estudado, para verificar a capacidade de dessorção máxima que, esses sistemas, poderiam sofrer nesse pH. Se esperava que para os materiais obtidos em pH mais ácido, devido à lixiviação da matriz de partida (Silva *et al.*, 2019, 2020), houvesse menor controle e maior dessorção do fármaco, intercalado, para o meio. Porém, essa hipótese não foi verificada e houve uma baixa dessorção, indicando forte interação do fármaco com as matrizes, o que impediu a liberação do TMX.

Oliveira, Alcântara e Pergher (2017) e Chahardahmasoumi *et al.* (2019) verificaram que a liberação do fármaco olanzapina e tetraciclina, respectivamente, quando incorporado na matriz da argila montmorillonita, tiveram também redução da dessorção em pH 1,2, mesmo após a argila sofrer o tratamento com ácido para formação dos híbridos. Esses fármacos possuem características semelhantes ao fármaco TMX, como base fraca, sendo a tetraciclina um ácido fraco e a olanzapina uma base fraca. Dessa forma, quanto mais protonada a molécula em pH menores, maior interação com a superfície da argila do que com o meio de dissolução, reduzindo assim a dessorção (Conde-cid *et al.*, 2019; Oliveira, Alcântara e Pergher, 2017).

Esse comportamento também é diferente, do timolol (base forte) e do praziquantel que são fármacos que possuem protonação acima da faixa de pH 1,2 e, dessa forma, quando formam híbridos com a MMT, no processo de dessorção, irão possuir maior afinidade pelo meio de dissolução do que pela superfície da argila, obtendo assim maiores percentuais de dessorção para o ambiente gástrico simulado, como observado por Borrego-Sánchez, Carazo, *et al.* (2018) e Joshi, Kevadiya, *et al.* (2009).

Quando o pH é aumentado para pH intestinal 6,8 (Figura 39 b), é importante notar que a liberação de TMX a partir de híbridos VHS/TMX foi significativamente afetada. Observou-se que ocorreu uma liberação maior do fármaco nesse meio de dissolução nos primeiros 30 minutos, liberando 20,32% (10,84 mg de TMX), 14,69% (7,84 mg de TMX) e 18, 45% (9,84 mg de TMX) para VHS/TMX pH 3, 4 e 5, respectivamente, sendo superiores aos obtidos no

meio gástrico (6,26%, 4,45% e 4,76%, respectivamente). Após 48 h, as quantidades desorvidas de fármaco foram 21,21% (11,32 mg de TMX), 24,85% (13,26 mg de TMX) e 39,27% (20,93 mg de TMX), de dessorção do fármaco dos híbridos VHS/TMX pH 3, 4 e 5, respectivamente.

Como verificado anteriormente, por Silva *et al.*, (2019; 2020) a adsorção do fármaco quando no processo de obtenção dos híbridos sofreu influência do pH, interferindo assim na quantidade de espécies que sofreram intercalação na matriz da argila e, conseqüentemente, na interação com a superfície do material. Dessa forma, o híbrido obtido no pH 3 (VHS/TMX pH 3) intercalou tanto íons TMXH^+ como par iônico TMX-citrato, este último em menor quantidade, enquanto o sistema VHS/TMX pH 5 a quantidade de TMXH^+ foi inferior. Essas características são fundamentalmente destacadas no perfil de dessorção (Figura 39 b), quando há diferenciação nas liberações entre os híbridos estudados, tendo o sistema VHS/TMX pH 5, o que possuiu maior quantidade liberada no tempo estudado de 48 h. É interessante notar que, Kevadiya *et al.* (2012), estudou o mesmo híbrido, porém preparado em pH 5,5, e diferentemente desses perfis, obteve um perfil com liberação do TMX maior que 60%, liberado em 72 h (Jena *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2019).

Dessa forma, pode-se inferir que quando o híbrido foi formado em pH menores (VHS/TMX pH 3), há tanto a presença de TMXH^+ e menor entrada de par iônico TMX-citrato, o que permite maior interação com a superfície da argila, interferindo assim na liberação do fármaco para esse sistema (em 15 min 16% (8,5 mg de TMX) e 24 h 26,50 % (14,14 mg de TMX)), já para o sistema VHS/TMX pH 5 isso é inverso (Silva *et al.*, 2020) (em 15 min 5,36% (2,86 mg de TMX) e 24 h 38,05% (20,31 mg de TMX)). Essa característica de aumento de entrada do par iônico (TMX-citrato) aumenta, com o aumento do pH (aproximação da faixa de pKa da molécula), e isso interfere exclusivamente no processo de liberação do fármaco, tendo sistemas com maiores dessorções (VHS/TMX pH 5,0 e 5,5 (Kevadiya *et al.*, 2012)) quando o fármaco entra em maior quantidade com o citrato e interage menos com a superfície da argila e sistemas com menores dessorções (VHS/TMX pH 3,0), quando essa afirmação é inversa.

4.8 CARACTERIZAÇÃO DOS HÍBRIDOS APÓS PROCESSOS DE DISSOLUÇÃO

Os espectros de FTIR dos híbridos após o ensaio de 48 h de dissolução foram estudados e são comparados aos espectros dos híbridos antes do ensaio de dissolução e estão ilustrados na Figura 40.

Como estudado anteriormente Silva *et al.* (2019), os espectros de FTIR do VHS sólido puro (Figura 40 a), apresenta absorção a 3625 cm^{-1} , atribuído ao estiramento do OH que está na superfície da argila, já a região de 3423 cm^{-1} correspondem às vibrações de OH das moléculas de água que estão contidas entre as lamelas, bem como descrevem as vibrações do grupamento (Si-OH) da superfície da argila. Há uma banda, bem intensa, na região de 1013 cm^{-1} que é atribuída, também ao grupamento (Si-OH) pelo estiramento, na camada tetraédrica. Duas bandas, menos intensas, uma em 914 cm^{-1} atribuída ao (Al_2OH) e outra em 842 cm^{-1} atribuído ao grupamento (AlMgOH) (Nurtay, *et al.*, 2017).

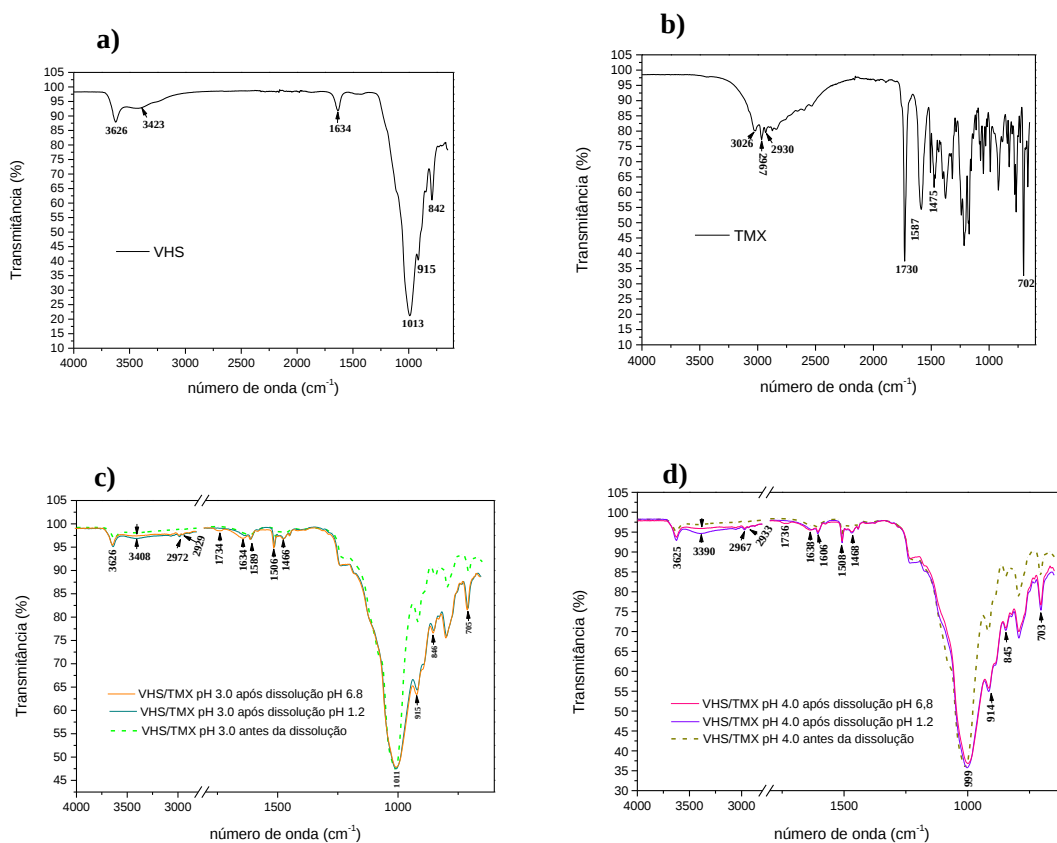
Já os espectros do TMX livre, Figura 40 b, possuem bandas de 3026 cm^{-1} atribuídas ao estiramento CH do anel, 2967 cm^{-1} ao estiramento CH do etil, 2930 cm^{-1} atribuída ao estiramento do CH ligado ao N-dimetil, 1729 cm^{-1} atribuídas ao estiramento C=C do anel e 1587 e 1475 cm^{-1} atribuídas a antissimetria e simetria do estiramento do íon carboxilato (do citrato) e deformação em 702 cm^{-1} do anel aromático (Badawi e Khan, 2016; Landeros-Martinez *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019).

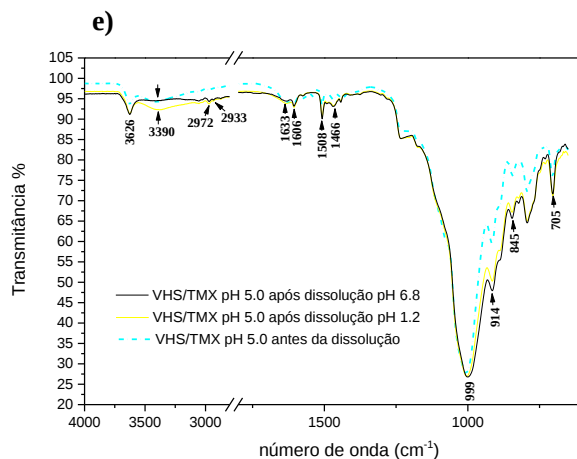
Os espectros para os complexos TMX/VHS para todos os híbridos (Figura 40 a, b e c), antes e após a dissolução, apresentam bandas características do fármaco e da argila, podendo inferir que, o fármaco não foi liberado completamente da argila. As bandas de 1587 e 1475 cm^{-1} que foram atribuídas ao citrato, se apresentam em todos os híbridos estudados após a dissolução VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 tanto para os híbridos após a dissolução em pH 1,2 quanto em pH 6,8. Esse resultado foi diferente dos híbridos antes de serem submetidos a dissolução, que apresentaram tais absorções do citrato muito fracas. Pode-se sugerir dessa forma que, pode ter havido interações fortes com esse grupamento, que pode ter ocorrido pela influência, do meio externo para dentro do material ou ainda sua interação com o grupamento N-dimetil amônio, do tamoxifeno, pois, as vibrações de 1729 cm^{-1} atribuídas ao estiramento do CH ligado ao N-dimetil, aparecem mais evidentes, embora com baixa intensidade nos espectros dos híbridos após a dissolução, indicando que há interação, o que é altamente favorável, como observado acima, anteriormente, por Silva *et al.* (2020).

Não foi observado alterações na posição das bandas associadas aos grupos químicos da argila em 3625 cm^{-1} , indicando que não há interação com a superfície externa, após liberação do fármaco para o meio, ou seja. Porém, houve mudanças nas vibrações de estiramento OH em 3423 cm^{-1} da água e no Si-OH, para todos os híbridos estudados. É interessante notar que, nessa região, os híbridos submetidos a dissolução em pH 1,2, tem bandas mais intensas e dessa forma, possuem a superfície mais hidrofílica. Essa região também é atribuída ao Si-OH estrutural, muito provavelmente ocorrem alterações na superfície da argila, nos sistemas, devido ao

processo de lixiviação, que pode acontecer nesse meio pH 1,2, na argila, com alterações nas camadas octaédricas e tetraédricas, como já estudando anteriormente (Akpomie e Dawodu, 2016; Etcheverry *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019; 2020) e se intensificando ainda mais nesse processo, quando comparado com os sistemas antes de ser submetido ao processo de dessorção. Porém, ainda, as bandas de 1113 cm^{-1} , atribuídas a esse estiramento Si-O, nesses híbridos, incluindo os submetidos a dissolução pH 6,8, são deslocados para valores menores (quando comparados aos valores dos híbridos antes da dissolução). As intensidades das vibrações, relativas à camada octaédrica, reduzidas, como em 915 cm^{-1} e 842 cm^{-1} , incluem a desestruturação desse material, diminuição da quantidade de Si-O-Si, incluindo não só o submetido ao pH 1,2, mas também o híbrido submetido ao pH 6,8.

Figura 40- Espectros de infravermelho dos híbridos antes e após a dissolução para a) VHS/TMX H 3, b) VHS/TMX pH 4 e c) VHS/TMX pH 5, d) TMX livre e d) VHS





Fonte: autoria própria

Os perfis termogravimétricos e o DSC das amostras híbridas antes e após a dissolução, formadas a partir do pH 5,0, são exibidas na Figura 41. Devido uma maior adsorção do fármaco, nos processos de obtenção do híbrido e uma liberação do fármaco, essa amostra foi escolhida, para verificar as perturbações sofridas após o processo.

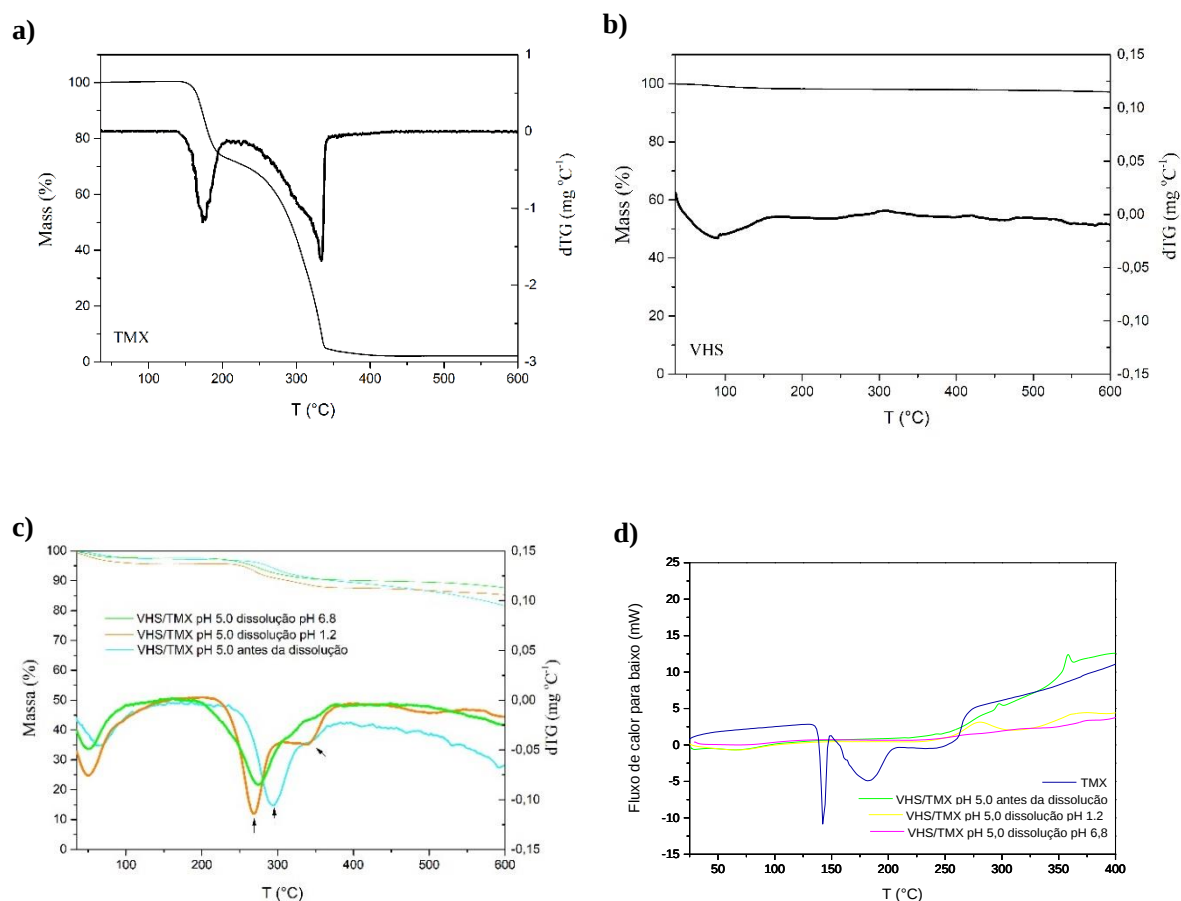
A curva DTG do TMX livre (Figura 41 a) exibe dois estágios de degradação como apontado por Silva, *et al.*, 2019, um em 144-193° C e um segundo a 257-341 °C e o DSC mostrou o ponto de fusão desse fármaco que acontece a 132-147°C, seguido pelo primeira decomposição a 148-202°C e um segundo estágio a 206-269°C. O perfil do VHS (Figura 41 b) mostrou apenas uma pequena perda de massa, referente à perda de água adsorvida ou intercalada (Chen *et al.*, 2017; Silva, *et al.*, 2020).

Para o sistema VHS/TMX após dissolução (Figura 41 c), a curva DTG mostra desidratação a 38-85 °C, diferente do híbrido antes da dissolução 41-106°C. Para o híbrido VHS/TMX pH 5 após submetido em pH 1,2, há uma perda maior de água, como demonstrou nos espectros de FTIR para esses sistemas, mais hidrofílico. Devido a desestruturação das camadas, uma maior quantidade de água pode ser intercalada. Ainda, os picos que foram atribuídos a degradação do fármaco, ao híbrido antes do processo de dessorção (Silva, *et al.*, 2020), por volta de 246-323°C foram deslocados para temperaturas menores em torno de 222-293°C para VHS/TMX pH 5 após dissolução pH 1,2 e 201- 306°C para VHS/TMX pH 5 após dissolução pH 6,8. Essas alterações indicam a modificação do espaço interlamelar que ocorreu pela dessorção do fármaco, mais significativamente quando é observado o sistema após dessorção em pH 6,8, pela perda da magnitude do sinal, e é atribuído a uma diminuição da

massa de fármaco, devido a dessorção que ocorreu, em maior quantidade para esse híbrido, nesse meio (Figura 39b).

No DSC (Figura 41 d), dois eventos menores mostram a degradação do fármaco a 293-302°C e 354-362°C para o híbrido antes da dissolução. Apenas o híbrido, após dissolução pH 1,2, demonstrou os dois eventos de degradação do fármaco, com menor intensidade, tendo o primeiro pico com 258-300°C e o segundo pico 331-384°C. Esse resultado pode demonstrar que o TMX alterou sua forma cristalina, nesse sistema.

Figura 41- Curvas TGA e DTG para a) fármaco livre TMX, b) VHS c) VHS/TMX pH 5, antes, e após a dissolução nos meios pH 1,2 e pH 6,8 e d) Curvas DSC para os fármaco livre TMX e VHS/TMX pH 5, antes e após a dissolução para os meios pH 1,2 e pH 6,8.



Fonte: autoria própria

Imagens topográficas da superfície dos híbridos por AFM, são exibidas na Figura 42, para compreender o mecanismo subjacente do processo físico que ocorre no material, após ser submetido ao processo de dessorção e liberação do fármaco nos meios simulados gástrico (pH 1,2) e intestinal (pH 6,8). Na imagem, há áreas mais brilhantes e mais escuras, que

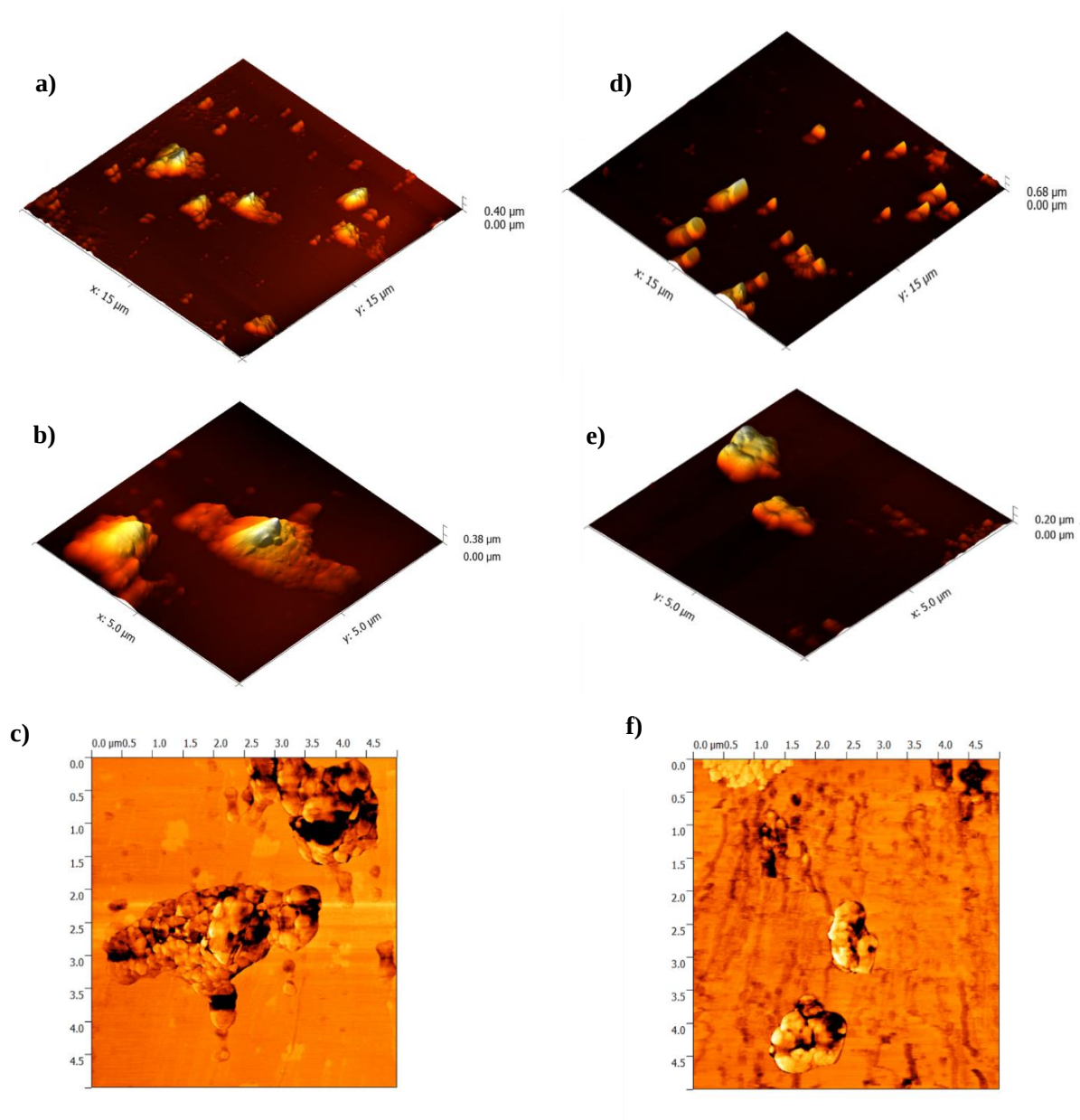
correspondem às forças repulsivas e atraentes da ponta (sonda) do cantilever, com intensidade de sinal, que gerou a imagem numa coordenada de plano xy, de campo de 15 μm e 5 μm , para as respectivas amostras. As amostras exibem característica morfológicas, com áreas irregulares de intensidades, diferentes, tanto para a amostra (VHS/ TMX pH 5) submetida a pH 1,2, quanto para a amostra submetida para pH 6,8.

Essa amostra, antes de sofrer o processo de dissolução, foi analisada anteriormente (Silva *et al.* 2020), por microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM) e foi observado que havia pontos, que demonstravam a ocorrência de lixiviação, por redução de elementos Al e Mg da camada octaédrica do material, porém, era irregular esse processo no material, havendo áreas em que não ocorria desestruturação da camada. Nas análises de FTIR, descritas anteriormente, foram observadas distinção entre a amostra antes e após o processo de dissolução, porém, quase não são percebidas distinções entre a amostra submetida aos distintos pHs, gástrico e intestinal, excluindo-se a propriedade mais hidrofílica da amostra quando submetida ao pH 1,2.

Pettersson, Thormann e Claesson (2010), em imagens AFM de tamanho 100 x 100 nm de uma MMT-Na, com variações de altura de $\sim 0,5$ nm, demonstrou que a morfologia da argila, não é homogênea mas apresenta regularidade estrutural.

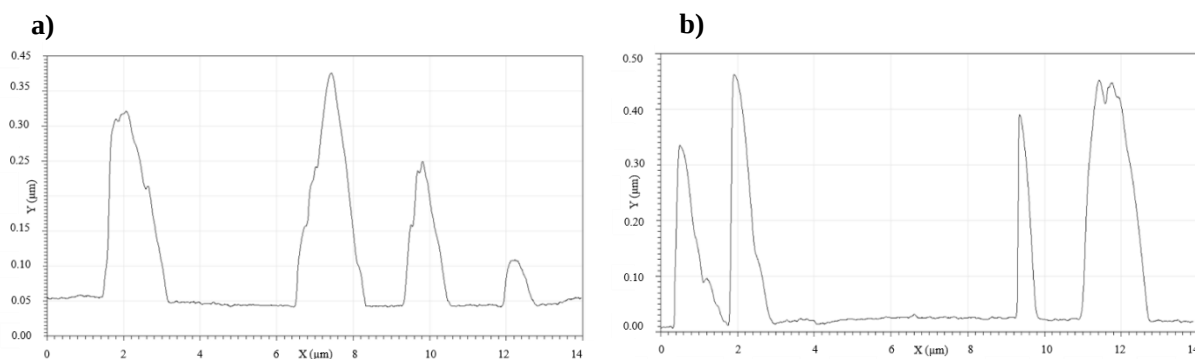
Ao contrário, distintas topografias foram geradas, em vários níveis, para a amostra VHS/TMX pH 5 (Figura 42 a-f), submetida em ambos pHs, demonstrando uma morfologia complexa de deformação, com bordas irregulares, orbiculares e alongadas, “morros” distintos e diversas depressões, de tamanhos de altura entre $\sim 0,40$ e $0,68$ μm . Essas morfologias são ainda maiores, quando o material foi submetido a condição gástrica de dessorção (pH 1,2) (Figura 42 c), gerando uma maior alteração estrutural, com espécie de aglomerados. Dessa forma, podendo verificar que, ocorre ainda mais a desestruturação das camadas do material, quando submetidas a esse meio, o que não é fator preponderante para a liberação do fármaco. Essa observação estrutural, também parte para irregularidade e variação de tamanhos de partículas para essa amostra no meio pH 1,2 (Figura 43 a), comparada com a amostra submetida a pH 6,8, ser maior, com um número maior de populações, criando material mais desuniforme (Figura 43 b).

Figura 42- Microscopia de Força Atômica (AFM) da amostra VHS/TMX pH 5 após o processo de dissolução/deessorção em meios simulados a) pH 1,2- Imagem 3D-15 μm b) pH 1,2- Imagem 3D- 5 μm c) Imagem de PHASE: pH 1,2- 0,5 μm d) pH 6,8- Imagem 3D- 15 μm e) pH 6,8- Imagem 3D- 5 μm f) Imagem de PHASE: pH 6,8- 0,5 μm . Todas as imagens com resolução de 512 pixels



Fonte: autoria própria

Figura 43- Histograma de tamanho de partícula para a amostra VHS/TMX pH 5 após a dissolução em a) pH 1,2 e b) pH 6,8.



Fonte: autoria própria

4.9 ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS SISTEMAS HÍBRIDOS ESTUDADOS

A atividade citotóxica dos sistemas híbridos VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 foram analisados contra diferentes linhagens celulares tumorais humana HCT-116 (carcinoma de cólon humano), PC-3 (carcinoma da próstata), SNB-19 (glioblastoma) e MCF-7 (mama) em uma faixa de concentração de 10,15 a 650 $\mu\text{g/mL}$ em relação aos sistemas híbridos. Para facilitar o entendimento e a comparação com a atividade do fármaco citrato de tamoxifeno livre, as concentrações foram corrigidas para as quantidades exatas de TMX (Tabela 1 e Tabela 13), que estão contidas nos sistemas híbridos, de acordo com os valores de adsorção.

Tabela 13- Descrição das concentrações ($\mu\text{g/mL}$) específicas dos sistemas híbridos VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 para o ensaio de citotoxicidade com respectivas concentrações de TMX contidas em cada um dos sistemas proporcionais a cada concentração, respectivamente.

Concentrações ($\mu\text{g/mL}$)			
VHS/TMX pH 3/ VHS/TMX pH 4/ VHS/TMX pH 5	VHS/TMX pH 3 (TMX $\mu\text{g/mL}$)	VHS/TMX pH 4 (TMX $\mu\text{g/mL}$)	VHS/TMX pH 5 (TMX $\mu\text{g/mL}$)
10,15	3,44	3,47	3,74
20,31	6,98	7,04	7,74
40,62	13,97	14,09	15,19
81,25	27,95	28,19	30,38
162,50	55,91	56,38	60,77
325,00	111,80	112,77	121,55

650,0	223,60	225,55	243,10
--------------	--------	--------	--------

Fonte: autoria própria

Essas linhagens representam os tipos de câncer mais prevalentes no mundo (Reis Luz, dos *et al.*, 2018). A Figura 44 representa o percentual inibitório médio (IC₅₀), por concentração de tamoxifeno contidas nos sistemas testados, nas diferentes linhagens e estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14- Atividade citotóxica in vitro, valores de IC₅₀ do fármaco livre tamoxifeno e dos sistemas híbridos VHS/TMX pH 3, VHS/TMX pH 4 e VHS/TMX pH 5 com respectivos valores da concentração de tamoxifeno contido nesses sistemas em µg/mL

Concentrações µg/mL dos sistemas híbridos					
Substâncias	HCT-116 (Cólon- humano)	PC3 (Próstata)	SNB-19 (Glioblasto- ma)	MCF7 (Mama)	L929 (Fibroblasto não- tumoral)
Tamoxifeno*	3.44	2.46	3.32	0,0013	3.04
*	(2.66 – 4.45)	(2.03 – 2.99)	(2.78 – 3.96)	(0,0010 -0,0017)	(2.23 – 4.15)
VHS/TMX pH 3**	215.7 (178.4 – 260.7)	136.4 (110.0 – 169.2)	314.7 (26.17 – 37.8)	304.9 (225.5-412.3)	153.4 (123.6-190.4)
VHS/TMX pH 4**	162.7 (140.6 – 188.1)	78.48 (59.74 – 103.1)	203.5 (165.2 – 250.8)	314.6 (247.6 – 399.8)	102.2 (75.25 – 138.8)
VHS/TMX pH 5**	85.67 (53.97 – 136.0)	66.70 (56.61 – 78.59)	54.57 (45.68 – 65.19)	280.6 (224.8 – 350.3)	(79.25) (70,85 – 89,02)
Dox*	0,21 (0,16 – 0,29)	0,76 (0,59 – 0,93)	2,06 (1,73 – 2,45)	0,15 (0,12-0,19)	1,72 (1,58-1,87)
Concentrações em µg/mL de tamoxifeno presente nos sistemas					
VHS/TMX pH 3^{a**}	73,10 (60,46 – 88,11)	46,22 (37,28 – 57,34)	68,96 (55,98– 85,0)	103,33 (76,42- 139,73)	51,98 (41,89-64,52)
VHS/TMX pH 4^{b**}	55,62 (47,65 – 63,75)	26,83 (20,24 – 39,94)	107,58 (88,17 – 125,67)	95,92 (76,18 – 118,72)	34,93 (25,50 – 47,04)
VHS/TMX pH 5^{c**}	31,56	24,5	20,10	115,92 (83,91 – 135,49)	29,20 (26,10 – 32,80)

(18,29 – 46,09)	(19,18 – 26,63)	(15,48 – 22,09)
--------------------	--------------------	--------------------

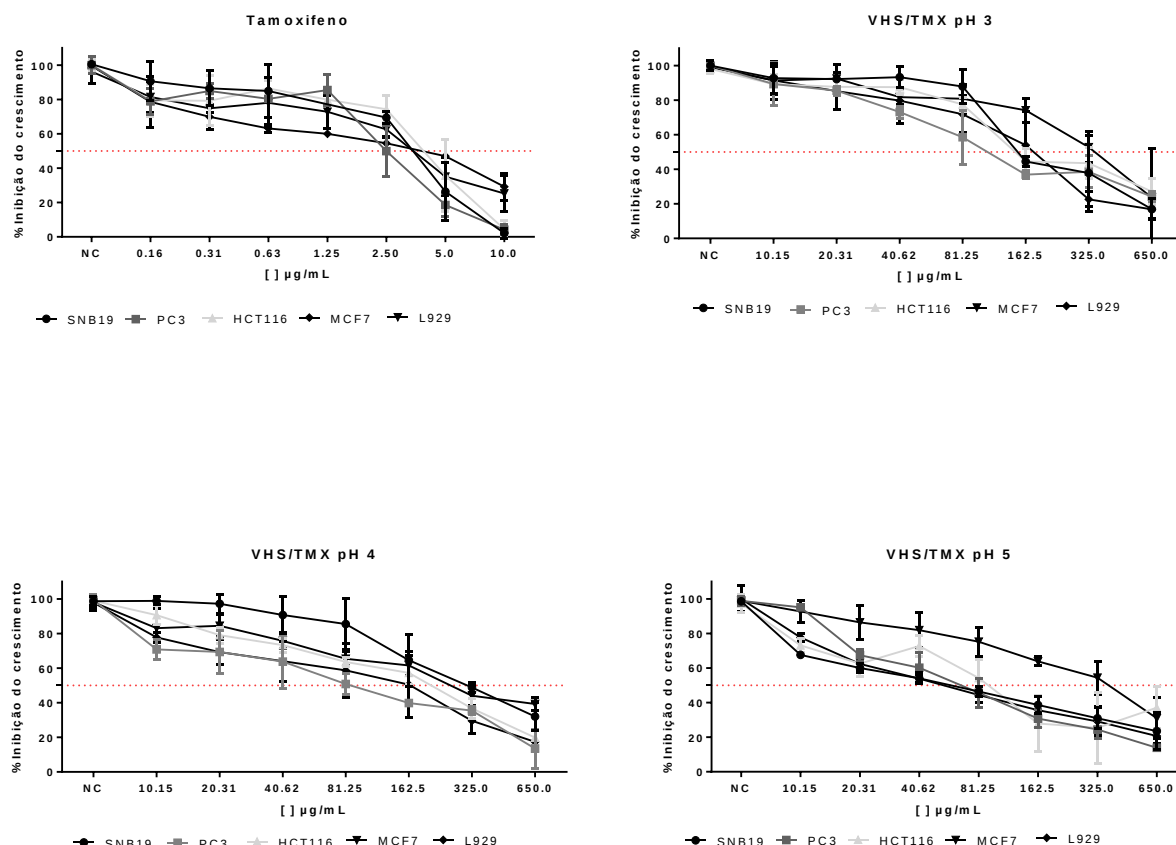
**Valores de IC₅₀ com intervalo de confiança de 95% obtido por regressão não linear de dois experimentos independentes, realizados em duplicata em cinco linhas de tumor em quatro linhas de tumor, diferentes, e uma linhagem não-tumoral, em µg/mL. *A doxorubicina (dox) foi utilizado como controle positivo em µM. ^a valores de tamoxifeno (µg/mL) contida no sistema VHS/TMCX pH3, ^b valores de tamoxifeno em (µg/mL) contida em VHS/TMX pH4 e ^c valores de tamoxifeno em (µg/mL) contida no VHS/TMX pH 5.

Fonte: autoria própria

Os resultados das avaliações de IC₅₀ para os híbridos formados, demonstraram atividade citotóxica com o aumento da concentração, frente a todas as células estudadas. Os valores foram variados de concentração única de 54,57 a 314, 7 µg/mL em relação às linhagens de tumor testadas, exibem maior atividade citotóxica, com IC₅₀ de 54,57 µg/mL (20,10 µg/mL de TMX) do híbrido VHS/TMX pH 5, para a linhagem de glioblastoma. Vários estudos demonstraram que o TMX também exibiu atividade *in vitro* e *in vivo* para pacientes com glioblastoma e que os receptores de estrogênio (ER), especificamente ER-α36, expressado principalmente no citoplasma e na membrana plasmática, e está envolvido na regulação da sensibilidade desse fármaco a essas células (Qu *et al.*, 2019). Acima dessa concentração esse híbrido possui toxicidade para as células normais, não tumorais (79,25 µg/mL ou ainda 29,20 µg/mL de TMX). É importante ainda notar que, todos os híbridos foram estudados sob mesmas concentrações, a diferenciação de tamoxifeno presente e o processo de dessorção/liberação do fármaco, são diferentes para cada sistema estudado e esses valores interferem na atividade citotóxica. Sendo assim, uma maior concentração e uma maior liberação foi obtida para o híbrido VHS/TMX pH 5, o que corresponde a uma melhor resposta celular citotóxica, com valores menores de concentração para IC₅₀.

Um estudo realizado por Silva *et al.* (2020) e visto anteriormente acima demonstrou que, ao ser intercalado, o tamoxifeno exibe diferentes torsões nos grupamentos θ (CCOC), para as diversas moléculas contidas no espaço interlamelar. É importante destacar que essa cadeia lateral etoxi-metil-amino, é responsável pela atividade celular do tamoxifeno frente a células mamárias e qualquer modificação estrutural pode suprimir ou perder sua eficácia (Shagufta e Ahmad, 2018). E esse efeito é observado quando, comparado com todas as células, há uma IC₅₀ maior para essa linhagem MCF-7, destacando assim esse possível efeito.

Figura 44- Percentual inibitório por concentração do citrato de tamoxifeno contidos nos sistemas testados em diferentes linhagens de células tumorais: HCT-116 (câncer de cólon), PC3 (câncer de próstata), SNB19 (glioblastoma), MCF7 (câncer de mama) e L929 (fibroblasto).



Fonte: autoria própria

PARTE II- Princípios da Organofilização

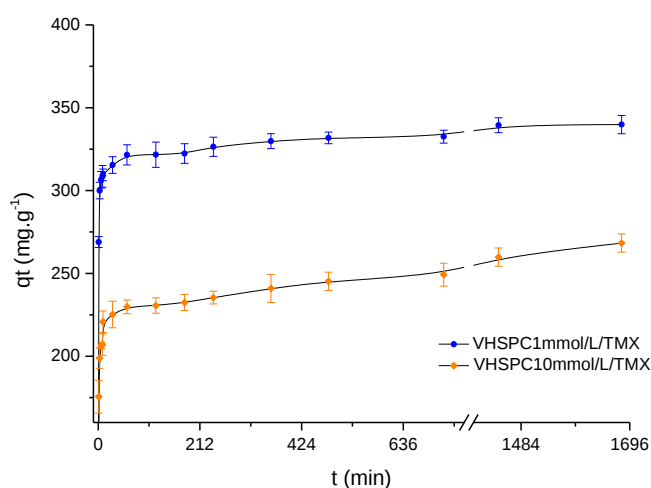
4.10 EFEITO DA CINÉTICA E ISOTERMA DE ADSORÇÃO PARA FORMAÇÃO DOS HÍBRIDOS FORMADOS A PARTIR DA ARGILA MODIFICADA ORGANICAMENTE COM TENSOATIVO

A Figura 45 mostra o comportamento de adsorção do TMX em diferentes momentos para os sistemas formados por VHS-PC 1mmol/L/TMX e VHS-PC 10 mmol/L/TMX. Nos primeiros 30 minutos, a adsorção ocorre com 315,41 e 225,2 mg/g para os sistemas acima descritos, respectivamente. Como já discutido acima, o TMX possui muita afinidade pela superfície da argila (Silva *et al.* 2019), porém, mesmo após a mudança da superfície da argila com a adsorção da fosfatidilcolina, essa afinidade ainda continua, porém com carga de fármaco menor adsorvido, comparado com a adsorção do fármaco sem argila modificada. E essa carga é reduzida ainda mais quando aumenta a concentração de fosfatidilcolina (VHS-PC 10

mmol/L), porque existe provável concorrência do fármaco e dos lipídios pelos locais de interação da argila e consequente redução do processo de adsorção ao longo do tempo.

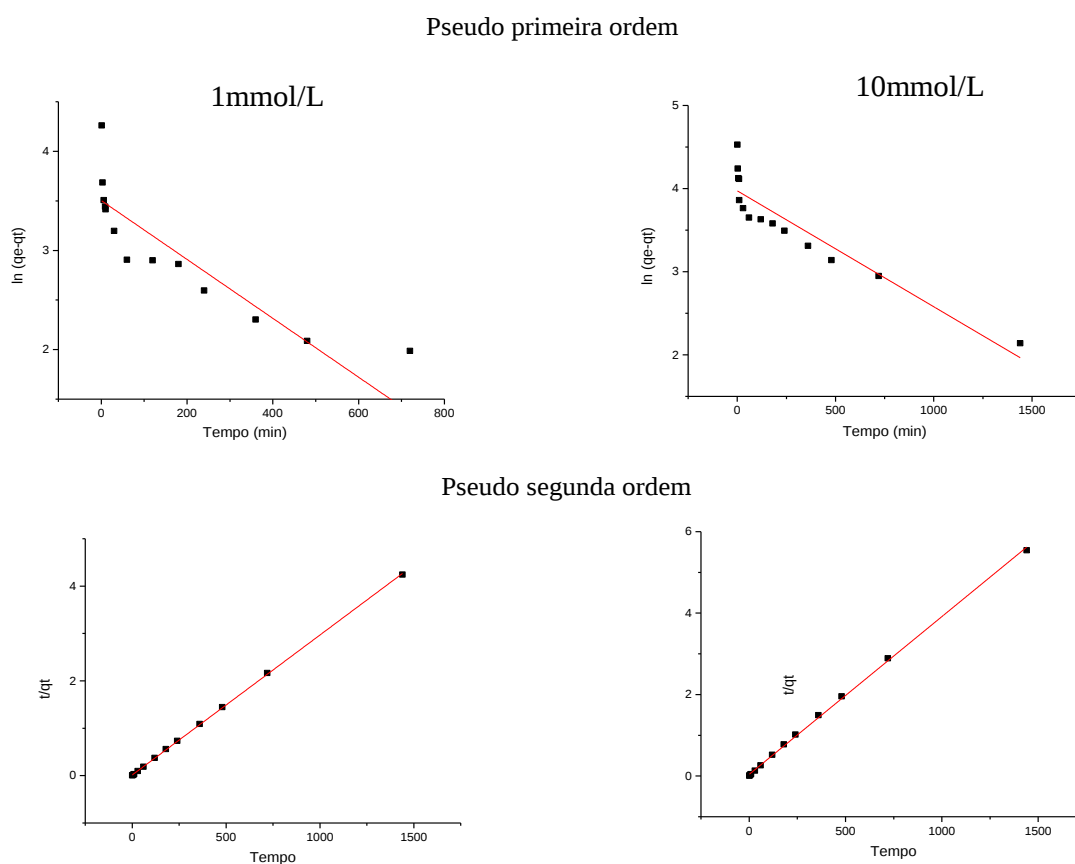
Pela análise cinética do processo, o ajuste do modelo foi pseudo-segunda ordem em que $r^2 > 0,999$ (Figura 46 e Tabela 15). A velocidade que ocorre a reação de adsorção é muito rápida, sendo K_2 de 57,97 e $9,71 \times 10^{-3}$ e $9,71 \text{ g.mg. min}^{-1}$ para VHSPC 1mmol/L/TMX e VHSPC 10mmol/L/TMX, respectivamente (Figura 46 e Tabela 15). Dessa forma, é importante observar que o $Q_{e(\text{cal})}$ é muito próximo do $Q_{e(\text{exp})}$ quando atinge o equilíbrio de $339,4 \text{ mg.g}^{-1}$ comparado a $344,82 \text{ mg.g}^{-1}$ da quantidade calculada, ilustrado na Figura 46 e Tabela 15, para o sistema VHS-PC 1mmol/L/TMX e $268,3 \text{ mg.g}^{-1}$ comparado a 257 mg.g^{-1} calculado para o sistema VHS-PC 10mmol/L/TMX.

Figura 45- Efeito do tempo de contato na adsorção do TMX na superfície da montmorillonita (Veegum®) modificada com fosfatidilcolina 1mmol/L e 10 mmol/L formando os híbridos VHSPC 1mmol/L/TMX e VHSPC 10mmol/L/TMX.



Fonte: autoria própria

Figura 46- Representação gráfica dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem para os híbridos VHS-PC 1mmol/L/TMX e VHS-PC 10mmol/L/TMX



Fonte: autoria própria

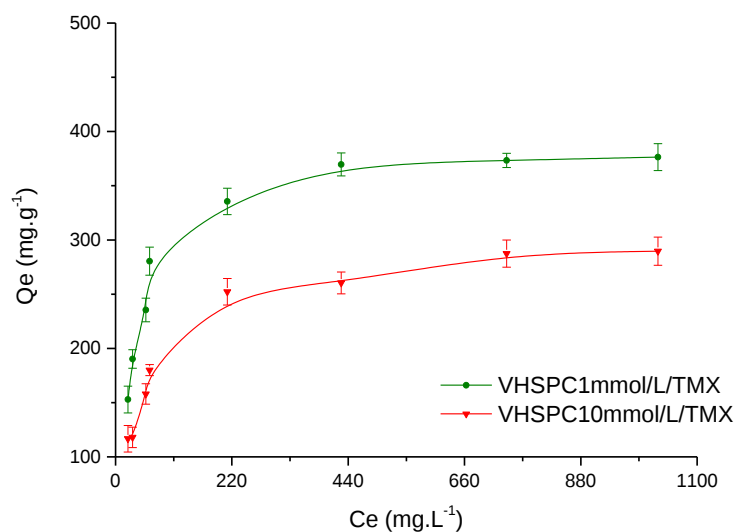
Tabela 15- Parâmetros cinéticos e coeficientes de regressão linear para adsorção TMX na superfície da argila modifica organicamente com tensoativo

Pseudo-primeira ordem				
	$Q_{e(exp)} (mg.g^{-1})$	$k_1 (10^{-1}min^{-1})$	$Q_{e(cal)} (mg.g^{-1})$	r^2
1 mmol/L	339,4	0,029	33,22	0,924
10 mmol/L	268,3	0,013	53,14	0,844
Pseudo-segunda ordem				
	$Q_{e(exp)} (mg.g^{-1})$	$k_2 (10^{-3}g.mg^{-1}.min^{-1})$	$Q_{e(cal)} (mg.g^{-1})$	r^2
1mmol/L	339,4	52,97	344,82	0,999
10 mmol/L	268,3	9,71	257,73	0,999

Fonte: autoria própria

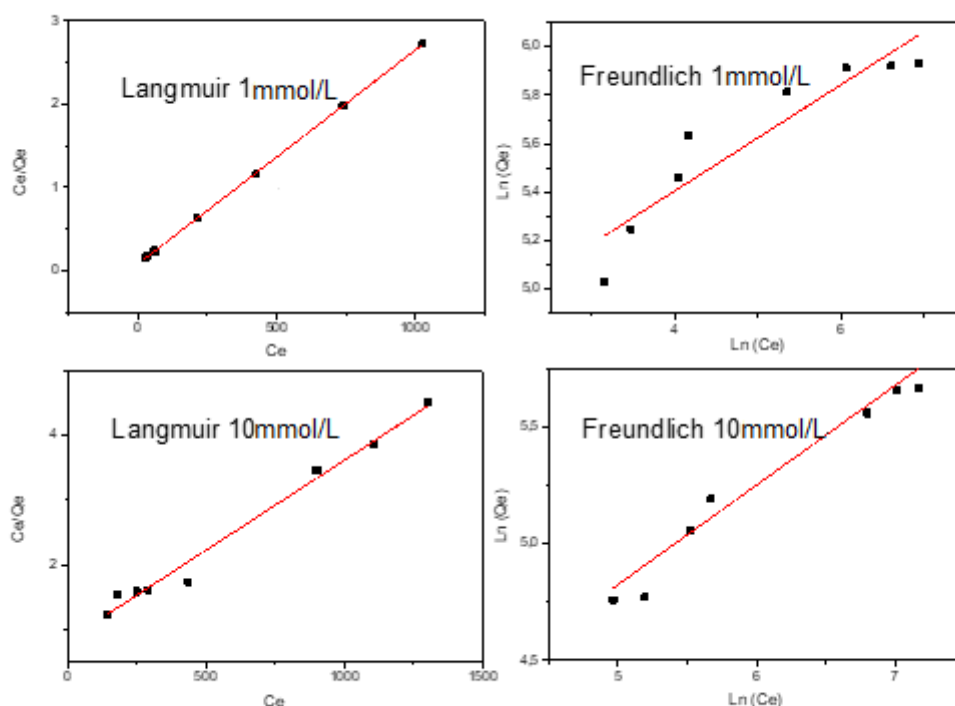
O efeito da concentração de equilíbrio (Figura 47) foi aplicado aos modelos de Langmuir e Freundlich. A quantidade de TMX adsorvida na superfície da argila organofilizada com tensoativo, também foi dependente de concentração do TMX, até um certo limite, quando ocorre um equilíbrio. De modo que as estimativas dos parâmetros fossem estimadas, um ajuste dos modelos lineares fora aplicado a fim de observar quais interações regem a formação dos híbridos e estão ilustradas na Figura 48 e Tabela 16.

Figura 47- Isotermas de adsorção até atingir o equilíbrio do TMX na superfície do VHS (Veegum®) modificado com fosfatidilcolina 1mmol/L e 10mmol/L



Fonte: autoria própria

Figura 48- Ajuste linear dos dados de equilíbrio para Langmuir e Freundlich para os híbridos formados com 1mmol/L de fosfatidilcolina e 10mmol/L



Fonte: autoria própria

Tabela 16- Parâmetros da isoterma de equilíbrio da adsorção do TMX na superfície da argila modificada organicamente com tensoativo, seguindo os modelos na forma linear de Langmuir e Freundlich

Langmuir				
	$Q_{\text{máx}}$ (mg.g ⁻¹)	K_L (10 ⁻² . L. mg ⁻¹)	R_L	r^2
1 mmol/L	400	0,0303	0,0311	0,999
10mmol/L	359	0,0033	0,1887	0,993
Freundlich				
	n_f	k_f mg.g ⁻¹	r^2	
1 mmol/L	4,5718	1,2444	0,9304	
10 mmol/L	2,34	14,7600	0,9510	

Fonte: autoria própria

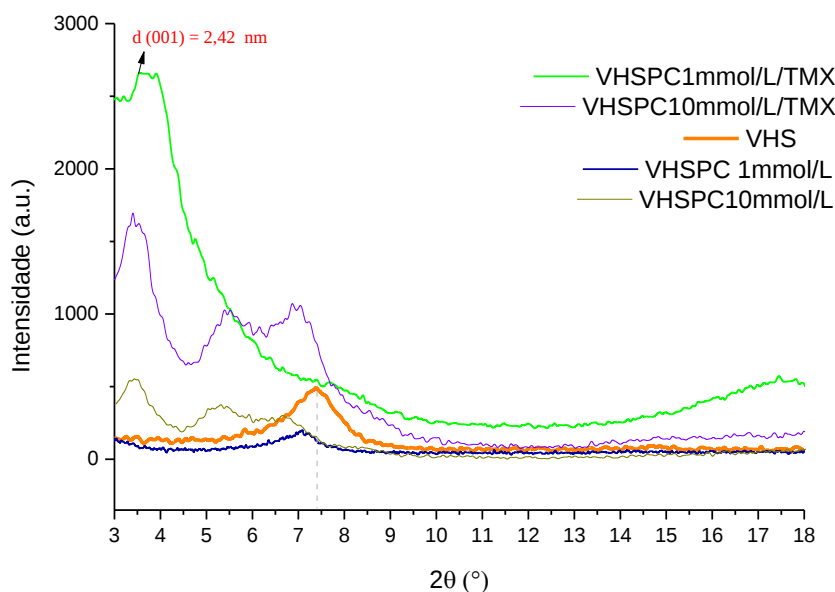
O ajuste linear dos dados para os modelos, exibe altos valores de r^2 para o modelo de Langmuir, propondo que, à medida que mais moléculas são adsorvidas, há uma distribuição uniforme, com sítios homogêneos, tanto para o híbrido formado com 1mmol/L de

fosfatidilcolina quanto com 10mmol/L do tensoativo. O parâmetro de equilíbrio R_L permite inferir que a adsorção é favorável para ambos híbridos formados, com capacidade de adsorção teórica de monocamada de 0,0303 e 0,0033 mg.g^{-1} , para VHS-PC 1mmol/L/TMX e VHS-PC 10mmol/L/TMX, respectivamente. É ainda importante notar, a quantidade máxima adsorvida de 400 e 359 mg.g^{-1} , respectivamente, comparado com os valores experimentais 376 e 289 mg.g^{-1} , os valores relativamente semelhantes sugerem ainda, o sistema definido ao modelo de Langmuir.

4.11 CARACTERIZAÇÃO DOS HÍBRIDOS

Os padrões de difração de raio X dos sólidos modificados com fosfatidilcolina antes (VHS-PC 1mM e VHS-PC 10mM) e após adsorção com o fármaco TMX são exibidos na Figura 49. VHS mostra uma reflexão típica (d_{001}) em 2θ de $7,37^\circ$ (1,19 nm) (Salcedo *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2019). Após a modificação com 1mM de fosfatidilcolina, esta reflexão mudou para valor menor de $7,03^\circ$ (1,25 nm) e pode sugerir a adsorção do tensoativo na interlamela da argila, no entanto, após adsorção do TMX, houve aumento da reflexão para $3,71^\circ$ (2,38 nm), sugerindo a intercalação do fármaco, como pôde ser observado em resultados com a argila sem modificação (Silva *et al.*, 2019, 2020). No entanto, o aumento da concentração de lípidio gera uma modificação na estrutura da argila, sugerindo a intercalação da PC em várias disposições interlamelares, interferindo na estrutura das camadas. Após a adsorção do fármaco TMX, ocorreu a intensidade da reflexão, sendo observado vários planos (VHS-PC 10mmol/L/TMX), podendo influir que houve adsorção do TMX, mas com menor capacidade, pois existe competição entre os lipídios e a intercalação do TMX. A falta de espaço entre a região interlamelar diminui a superfície exposta, e, portanto, diminuição da adsorção do TMX no VHSPC 10mmol/L/TMX, como também pode ser explicado por Gamba *et al.* (2017).

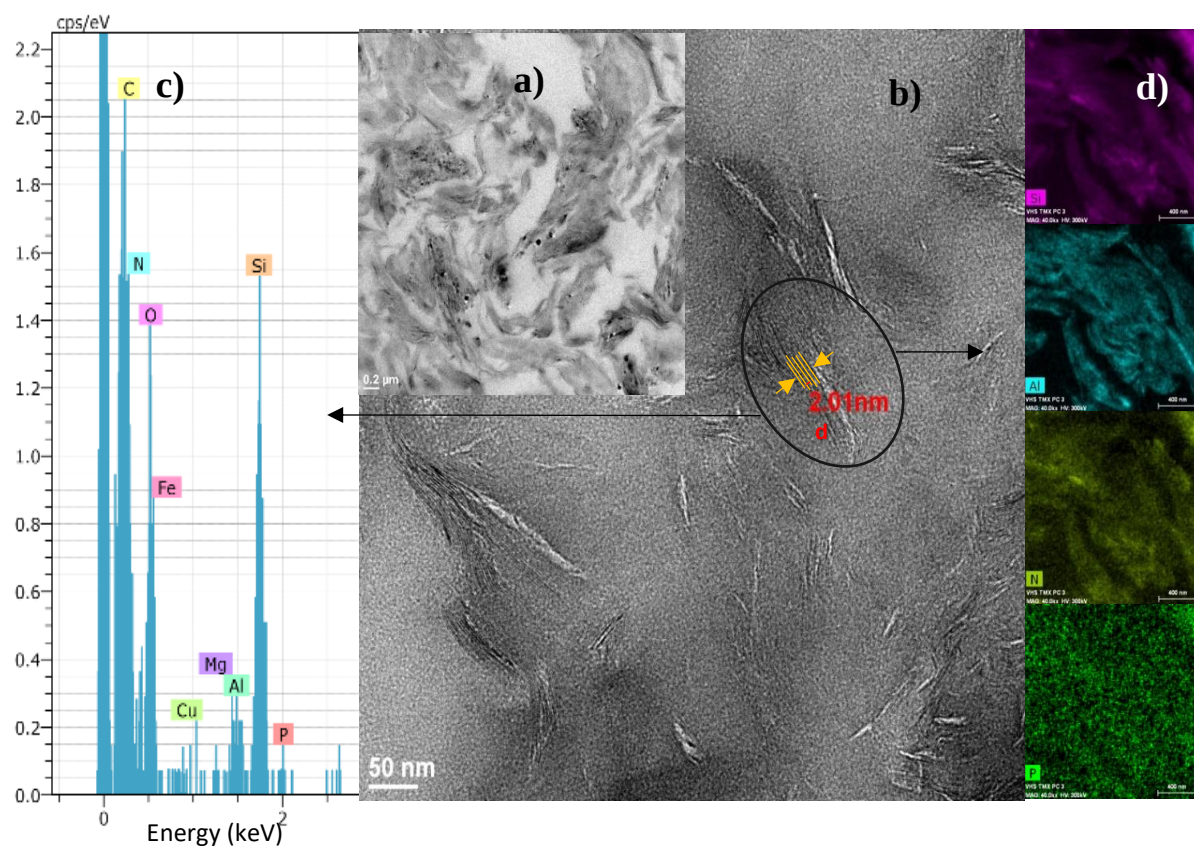
Figura 49- Padrões de DRX do VHS, e dos híbridos formados antes da adsorção do fármaco VHS-PC 1mmol/L e VHS-PC 10mmol/L e após adsorção do TMX.



Fonte: autoria própria

A Figura 50 a mostra as imagens HRTEM da morfologia do sistema VHS-PC 1mM/TMX, demonstrando a aparência geral da amostra 0,2 μm , com argilas mais soltas. Em uma imagem de alta resolução de 50 nm (Figura 50 b), é possível verificar as lamelas de argila, demonstrando em uma região selecionada (círculo na imagem) a medição entre folhas de 2,01 nm, próximo à distância interlamelar verificada para essa amostra, no DRX, confirmando a intercalação. É importante destacar que, após ser submetido ao vácuo as amostras se compactam e pode justificar o tamanho da interlamela de 2,42 nm para 2,01 nm, esse efeito, pôde ser observado também por Silva *et al.*, (2020). Ainda, um espectro EDS, correspondente a essa região, no lado esquerdo da imagem (Figura 50 c), exibe a composição que, juntamente com o mapeamento químico (Figura 50 d), permite comprovar a presença de Si, N, Al e P, podendo vir a confirmar a presença de lipídios e do fármaco TMX na região interlamelar da argila.

Figura 50- a) Imagens HRTEM das amostras de VHS-PC 1mmol/L/TMX com campo de 0,2 μm b) Imagens de alta resolução com campo em 50 nm, exibindo (círculo preto) lamelas com espaçamento basal (d 001) de 2,01 nm c) espectro EDS e d) mapeamento químico da região circular, demonstrando presença do híbrido nitrogênio e fósforo.



Fonte: autoria própria

5 CONCLUSÃO

- Os resultados demonstraram que a interação VHS/TMX foi dependente do pH. A quantidade de adsorção devido à porcentagem de espécies iônicas atribuídas à molécula TMX e seu sal foi maior em pH 5,5 e menor em pH 3,5, mas o processo foi eficaz para todas as faixas de pH utilizadas. A mudança de pH afetou a superfície da argila pela lixiviação dos cátions estruturais, mais pronunciadamente quando o ambiente era mais ácido;
- O processo de adsorção foi rápido e seguiu três processos de desempenho, gerando uma variável dependente do tempo e seguindo um modelo de pseudo-segunda ordem;
- O estudo sobre condições de equilíbrio obedeceu ao modelo de Langmuir e foi confiável para modelar o ajuste para adsorção de espécies. Assim, este modelo atribui a formação de monocamada TMX na superfície do VHS por intercalação;
- Os padrões de DRX mostraram perda da cristalinidade da argila e competição das espécies químicas do fármaco na região interlamelar.
- As informações da espectroscopia no infravermelho médio apresentam resultados adequados para avaliação do VHS/TMX alcançado por diferentes processos, os quais puderam verificar variações no processo de adsorção e esse método pode ser uma ferramenta adequada para contribuir com informações de maneira multivariada.
- Os cálculos de modelagem molecular foi úteis para interpretar e entender os resultados experimentais. Permitiram ajustar a análise das isotermas de adsorção com a geração de diferentes modelos de intercalação, reproduzindo os espaçamentos observados entre a interlamela;
- A melhor metodologia que descreveu a estrutura molécula e a rede cristalina do tamoxifeno foi a interface PCFF com carga FF;
- O VHS pode ser usado como excipiente do TMX pela formação de híbridos com as moléculas do TMX localizados no espaço interlamelar, na forma de cátion ou juntamente com o seu sal citrato, sendo tais intercalações energeticamente favorável;
- A interação argila/fármaco é um processo complexo e há troca combinada de Na^+ por cátions TMXH^+ podendo ter intercalação dos pares neutros de TMXH -citrato;
- Os cátions TMXH^+ intercalados adotam vários arranjos em relação à superfície mineral da argila e as principais interações entre o tamoxifeno e a superfície da montmorilonita são por meio de grupamentos quaternários de amônio e dos grupos funcionais de citrato, com os átomos de O da superfície tetraédrica, por ligações de hidrogênio;

- Os grupos funcionais carboxílico e hidroxil do citrato, interagem mais fortemente com os átomos do TMX, as moléculas de água e a superfície da argila, do que apenas os cátions TMXH^+ . Isso é especialmente favorável quando a quantidade de citrato de TMXH aumenta devido à maior interação entre as estruturas de cátion e contra-íon em uma agregação preliminar no nanoespaço confinado da interlamela, formando um precursor amorfo do cristal de citrato de TMXH, que mostrou ter uma alta energia de empacotamento;
- A intercalação do par iônico TMXH-citrato é mais energeticamente favorável que o processo de troca catiônica, especialmente no modelo (VHS_4citTMX_6w_6Na), onde todos os pares TMXH-citrato são introduzidos. O aumento da quantidade de espécies na região interlamelar da argila, reduz a interação com a superfície da argila, conforme observado no sistema VHS/TMX pH 5;
- O processo de lixiviação da argila montmorillonita tem muito pouco impacto no processo de liberação do fármaco e na atividade celular. Foi possível observar que esses mecanismos sofrem influência da capacidade de interação que o adsorbato, no caso o tamoxifeno, tem com montmorillonita e muito pouco com o quanto ela pode se desestruturar com a adição de ácido;
- Em ambiente ácido estomacal ocorre alteração estrutural da argila, embora menor liberação do fármaco tenha sido observada. Ocorre para esses sistemas, uma alta adsorção de água, principalmente nos intervalos que foram perdidos pela lixiviação na argila;
- O mecanismo preponderante de interação, é inversamente proporcional a liberação. Essa interação foi menor para o sistema VHS/TMX pH 5, que dessa forma obteve maior liberação para o fármaco ~40% em 48h em pH 6,8, liberando 20 mg de fármaco, sendo considerado um sistema de liberação controlada do fármaco tamoxifeno;
- Houve atividade citotóxica (IC_{50}) para todas as células estudadas, comparado aos demais sistemas, porém maior para células do glioblastoma humano, num limiar seguro, não citotóxico para células normais, que dessa forma pode impedir os efeitos adversos causados por fármacos anticancerígenos;
- A eficiência de adsorção do fármaco tamoxifeno na superfície da argila modificada é dependente da concentração de fosfatidilcolina. Com menor concentração de PC, apresentou maior quantidade adsorvida, devido às competições que ocorrem, com as

interações entre a fosfatidilcolina e o fármaco na superfície da argila, com obtenção de monocamada, como segue o modelo de Langmuir;

- A velocidade de interação é rápida, seguindo o modelo de pseudo-segunda ordem, onde há intercalação de fármaco e lipídio na interlamela da argila, o que é bastante promissor, pois produz um ambiente mais hidrofóbico com grande potencial no aumento da taxa de dissolução do fármaco, melhorando as propriedades físico-químicas e consequente melhoria do tratamento em paciente com câncer de mama.

5.1 PERSPECTIVAS

- Avaliar a repercussão dos híbridos formados quanto à eficácia anticancerígena, através de estudos *in vivo* dos híbridos formados pelo pH 5,0 (VHS/TMX pH 5,0);
- Avaliar o sistema híbrido quanto (VHS/TMX pH 5,0) aos processos farmacocinéticos exibidos por esse material *in vivo*;
- Avaliar o (s) mecanismo (s) de liberação do fármaco TMX para os sistemas formados por argilomineral montmorilonita modificado com fosfatidilcolina sob concentração de 1mM e 10mM;
- Avaliar a repercussão dos híbridos formados quanto à eficácia citotóxica com linhagens de células cancerígenas, através de estudos *in vitro*;
- Obter produtos de interação argila modificada com fosfatidilcolina e fármaco TMX sob modelagem molecular utilizando mecânica molecular clássica;

REFERÊNCIAS

- A.O, D. Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin–Radushkevich Isotherms Studies of Equilibrium Sorption of Zn^{2+} Unto Phosphoric Acid Modified Rice Husk. **IOSR Journal of Applied Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 38–45, 2012.
- ABDUL MANAP, N. R. *et al.* Adsorption isotherm and kinetic study of gas-solid system of formaldehyde on oil palm mesocarp bio-char: Pyrolysis effect. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 970–983, 2018.
- ABOTALEB, M. *et al.* Chemotherapeutic agents for the treatment of metastatic breast cancer: An update. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 101, n. February, p. 458–477, 2018.
- ABU-JDAYIL, B. Rheology of sodium and calcium bentonite-water dispersions: Effect of electrolytes and aging time. **International Journal of Mineral Processing**, v. 98, n. 3–4, p. 208–213, 2011.
- ADELODUN, A. A. *et al.* **Isotherm, Thermodynamic and Kinetic Studies of Selective CO₂ Adsorption on Chemically Modified Carbon Surfaces**. v. 16, 2016.
- AGUZZI, C *et al.* Use of clays as drug delivery systems: Possibilities and limitations. **Applied Clay Science**, v. 36, n. 1–3, p. 22–36, 2007.
- AGUZZI, C. *et al.* Chitosan-silicate biocomposites to be used in modified drug release of 5-aminosalicylic acid (5-ASA). **Applied Clay Science**, v. 50, n. 1, p. 106–111, 2010.
- AGUZZI, C. *et al.* Influence of dispersion conditions of two pharmaceutical grade clays on their interaction with some tetracyclines. **Applied Clay Science**, v. 30, n. 2, p. 79–86, 2005.
- AGUZZI, C. *et al.* Intercalation of tetracycline into layered clay mineral material for drug delivery purposes. **Materials Technology**, v. 29, n. sup3, p. B96–B99, 2014.
- AGUZZI, CAROLA *et al.* Solid state characterisation of silver sulfadiazine loaded on montmorillonite/chitosan nanocomposite for wound healing. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 152–157, 2014.
- AICHELIN, J. “Quantum” Molecular Dynamics—A Dynamical Microscopic N-Body Approach To Investigate Fragment Formation And The Nuclear Equation Of State In Heavy Ion Collisions. **Physics Reports**, v. 202, n.5, p. 233–360, 1991.
- AKPOMIE, K. G.; DAWODU, F. A. Acid-modified montmorillonite for sorption of heavy metals from automobile effluent. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 1, p. 1–12, 2016.
- AKYUZ, S.; AKYUZ, T. Investigation of adsorption of 5-Chlorouracil onto montmorillonite: An IR and Raman spectroscopic study. **Applied Clay Science**, n. March, p. 0–1, 2017.

ALIAS, D. *et al.* Single step encapsulation process of tamoxifen in biodegradable polymer using supercritical anti-solvent (SAS) process. **Powder Technology**, v. 309, p. 89–94, 2017.

ALKRAD, J. A. *et al.* Investigation of the potential application of sodium bentonite as an excipient in formulation of sustained release tablets. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 3, p. 259–265, 2017.

ALLEN, S. J. *et al.* Comparison of optimised isotherm models for basic dye adsorption by kudzu. **Bioresource Technology**, v. 88, n. 2, p. 143–152, 2003.

ALMASRI, D. A. *et al.* High performance hydroxyiron modified montmorillonite nanoclay adsorbent for arsenite removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 335, n. October 2017, p. 1–12, 2018.

ALTMAYER, C. *et al.* Tamoxifen-loaded poly(L-lactide) nanoparticles: Development, characterization and in vitro evaluation of cytotoxicity. **Materials Science and Engineering C**, v. 60, p. 135–142, 2016.

ALVES, A. P. D. M. Vermiculitas tratadas quimicamente na obtenção de sólidos microporosos como precursores para híbridos inorgânico-orgânicos com aplicações adsorptivas. p. 122, 2009.

ALVES, O. L. Desenvolvimento de ecomateriais : materiais porosos para aplicação em Green Chemistry (Química Verde). n. September 2015, 2004.

AMIRIANSHOJA, T. *et al.* A comparative study of surfactant adsorption by clay minerals. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 101, p. 21–27, 2013.

ANAND, V.; KANDARAPU, R.; GARG, S. Ion-exchange resins: Carrying drug delivery forward. **Drug Discovery Today**, v. 6, n. 17, p. 905–914, 2001.

ANDERSON, R. L. *et al.* Clay swelling - A challenge in the oilfield. **Earth-Science Reviews**, v. 98, n. 3–4, p. 201–216, 2010.

ANNA, S.; CARLOS, M. R. Molecular modeling methods in the study and design of bioactive compounds : planejamento de compostos bioativos : Uma introdução a Métodos de Modelagem Molecular para Estudo e Planejamento de Compostos Bioativos. n. January 2009, 2017.

APITZ, S. E. Bonding Mechanisms of Salicylic Acid Adsorbed onto Illite Clay : An ATR - FTIR and Molecular Orbital Study. v. 31, n. 4, p. 1151–1156, 1997.

Applied Clay Science, v. 148, n. March, p. 123–130, 2017.

APPS, M. G. *et al.* Analysis of montmorillonite clay as a vehicle in platinum anticancer drug delivery. **Inorganica Chimica Acta**, v. 421, p. 513–518, 2014.

AWAD, M. E. *et al.* Adsorption of 5-aminosalicylic acid on kaolinite surfaces at molecular level. **Clay Minerals**, p. 1–24, 2019.

AYAWEI, N.; EBELEGI, A. N.; WANKASI, D. Modelling and Interpretation of Adsorption Isotherms. **Journal of Chemistry**, v. 2017, 2017.

BACKE, K.; BACKE, K. Functionalization of graphene for biosensor-applications. 2014.
BACO, S. B. *et al.* Design of Experiments used in computer trials: A supportive method for Product development, **Pesquisa Operacional**, v. 39, p. 295–316, 2019.

BADAWI, H. M.; KHAN, I. A study of the molecular conformations and the vibrational , ¹ H and ¹³ C NMR spectra of the anticancer drug tamoxifen and triphenylethylene. **Journal of Molecular Structure**, v. 1117, p. 22–29, 2016.

BALCERZAK, M. *et al.* Adsorption of dimeric surfactants in lamellar silicates. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 364, p. 108–115, 2015.

BARBIERI, S. *et al.* Lecithin/chitosan controlled release nanopreparations of tamoxifen citrate: Loading, enzyme-trigger release and cell uptake. **Journal of Controlled Release**, v. 167, n. 3, p. 276–283, 2013.

BARGMANN, S. *et al.* Progress in Materials Science Generation of 3D representative volume elements for heterogeneous materials : A review. **Progress in Materials Science**, v. 96, p. 322–384, 2018.

BARKE, L. D.; FREIVOGEL, M. E. Breast Cancer Risk Assessment Models and High-Risk Screening. **Radiologic Clinics of North America**, v. 55, n. 3, p. 457–474, 2017.

BARREIRO, E. *et al.* Modelagem Molecular : Uma Ferramenta para o Planejamento Racional de Fármacos em Química Medicinal. n. June, 1997.

BEALL, G. W.; GOSS, M. Self-assembly of organic molecules on montmorillonite. **Applied Clay Science**, v. 27, n. 3–4, p. 179–186, 2004.

BEKAROĞLU, M. G.; NURILI, F.; İŞÇİ, S. Montmorillonite as imaging and drug delivery agent for cancer therapy. **Applied Clay Science**, v. 162, n. July, p. 469–477, 2018.

BELLO, M. L. *et al.* Sodium montmorillonite/amine-containing drugs complexes: New insights on intercalated drugs arrangement into layered carrier material. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–20, 2015.

BERGAYA, F.; LAGALY, G. Chapter 1 General Introduction: Clays, Clay Minerals, and Clay Science. **Developments in Clay Science**, v. 1, n. C, p. 1–18, 2006.

BILLON, R. *et al.* Impact of adjuvant anti-estrogen therapies (tamoxifen and aromatase inhibitors) on perioperative outcomes of breast reconstruction. **Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery**, v. 70, n. 11, p. 1495–1504, 2017.

BINKHORST, L.; KLOTH, J. S. L.; *et al.* Circadian variation in tamoxifen pharmacokinetics in mice and breast cancer patients. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 152, n. 1, p. 119–128, 2015.

BIOVIA, D. S. **Materials Studio, versão 2016; Dassault Systemes: Vélizy-Villacoublay, França, 2016.**

BORREGO-SÁNCHEZ, A. *et al.* Biopharmaceutical improvement of praziquantel by interaction with montmorillonite and sepiolite. **Applied Clay Science**, v. 160, n. October 2017, p. 173–179, 2018.

BORREGO-SÁNCHEZ, A.; AWAD, M. E.; SAINZ-DÍAZ, C. I. Molecular modeling of adsorption of 5-aminosalicylic acid in the halloysite nanotube. **Minerals**, v. 8, n. 2, 2018.

BORREGO-SÁNCHEZ, A. *et al.* Molecular and crystal structure of praziquantel. Spectroscopic properties and crystal polymorphism. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, p. 266–275, 2016.

BORREGO-SÁNCHEZ, A.; AWAD, M. E.; SAINZ-DÍAZ, C. I. Molecular modeling of adsorption of 5-aminosalicylic acid in the halloysite nanotube. **Minerals**, v. 8, n. 2, 2018.

BORREGO-SÁNCHEZ, A.; CARAZO, E.; *et al.* Biopharmaceutical improvement of praziquantel by interaction with montmorillonite and sepiolite. **Applied Clay Science**, v. 160, n. October 2017, p. 173–179, 2018.

BORREGO-SÁNCHEZ, A.; GÓMEZ-PANTOJA, E.; *et al.* Adsorption of the tallow amine ethoxylate surfactant Ethomeen T/15 on montmorillonite. **Applied Clay Science**, v. 161, n. November 2017, p. 533–543, 2018.

BOURDEANU, L.; LIU, E. A. Systemic treatment for breast cancer: Chemotherapy and biotherapy agents. **Seminars in Oncology Nursing**, v. 31, n. 2, p. 156–162, 2015.

BRAUN, E. *et al.* Best Practices for Foundations in Molecular Simulations. **HHS Public Access**. v. 1, n. 1, p. 1–53, 2019.

BRICOLA, S. Avaliação dos fatores associados a tromboembolismo pulmonar (TEP), em uma série de autópsias de dez anos. p. 2–84, 2009.

BRIGATTI, M. F.; GALAN, E.; THENG, B. K. G. **Structure and mineralogy of clay minerals, In: Bergaya, F., Lagaly, G. (Eds.), Chapter 2 in the Handbook of Clay Science, 2nd ed. 2013.**

BROWN, A M. A step-by-step guide to non-linear regression analysis of experimental data using a Microsoft Excel spreadsheet. **Computer methods and programs in biomedicine**, v. 65, n. 3, p. 191–200, 2001.

BRUNO, I. *et al.* Crystallography and Databases. **Data Science Journal**, v. 16, n. 38, p. 1–17, 2017.

BU, H. *et al.* Effects of complexation between organic matter (OM) and clay mineral on OM pyrolysis. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 212, p. 1–15, 2017.

CALABRESE, I. *et al.* Montmorillonite nanodevices for the colon metronidazole delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 457, n. 1, p. 224–236, 2013.

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

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

CARDOSO, N. F. Remoção do Corante Azul de Metileno de Efluentes Aquosos Utilizando Casca de Pinhão in Natura e Carbonizada como Adsorvente. p. 42, 2010.

CARRETERO, M. I.; POZO, M. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical and cosmetic industries Part II. Active ingredients. **Applied Clay Science**, v. 47, n. 3–4, p. 171–181, 2010.

CASTANEDA, S. A.; STRASSER, J. Updates in the Treatment of Breast Cancer with Radiotherapy. **Surgical Oncology Clinics of North America**, v. 26, n. 3, p. 371–382, 2017.

CHAHARDAHMASOUMI, S. *et al.* Applied Clay Science Modified montmorillonite nanosheets as a nanocarrier with smart pH- responsive control on the antimicrobial activity of tetracycline upon release. **Applied Clay Science**, v. 178, n. May, p. 105135, 2019.

CHANDANOS, E. *et al.* Tamoxifen exposure in relation to gastric adenocarcinoma development. **European Journal of Cancer**, v. 44, n. 7, p. 1007–1014, 2008.

CHANG, F.-Y. *et al.* Efficacy of dioctahedral smectite in treating patients of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. **Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 22, n. 12, p. 2266–2272, 2007.

CHEN, G. *et al.* A polycarboxylate as a superplasticizer for montmorillonite clay in cement: Adsorption and tolerance studies. **Arabian Journal of Chemistry**, 2018.

CHEN, Q. *et al.* Influence of interlayer species on the thermal characteristics of montmorillonite. **Applied Clay Science**, v. 135, p. 129–135, 2017.

CHEN, T. *et al.* Effect of layer charges on exfoliation of montmorillonite in aqueous solutions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 548, n. March, p. 92–97, 2018.

CHEN, Y. *et al.* Tramadol hydrochloride/montmorillonite composite: Preparation and controlled drug release. **Applied Clay Science**, v. 49, n. 3, p. 108–112, 2010.

CHEVALIER, M. T. *et al.* Non-covalently coated biopolymeric nanoparticles for improved tamoxifen delivery. **European Polymer Journal**, v. 95, p. 348–357, 2017.

CHIEN, S. H. and CLAYTON, W. R. Application of Elovich Equation to the kinetics of phosphate release and sorption on soils. **Soil Sci. Soc. American J.**, v. 44, p. 265–268, 1984.

CHOROVER, J. Kinetics of Sorption – Desorption. p. 109–110, 2008.

CHOU, C. C. H. I. Thermal decomposition of organo - Ammonium Compounds Exchanged Onto Montmorillonite And Hectorite. v. 17, n. 1957, p. 339–346, 1969.

CINAUSERO, M. *et al.* Determinants of Last-line Treatment in Metastatic Breast Cancer. **Clinical Breast Cancer**, v. 18, n. 3, p. 205–213, 2018.

CINTRA, C. C. F. Cristiane Costa Da Fonseca Cintra De Erros Autorregressivos Regulares E Irregulares. Dissertação de Mestrado. Estatística Aplicada e Biometria. Universidade Federal de Alfenas. 2016.

CONDE-CID, M. *et al.* Competitive adsorption of tetracycline , oxytetracycline and chlortetracycline on soils with different pH value and organic matter content. **Environmental Research**, v. 178, n. June, p. 108669, 2019.

CYGAN, R. T. Molecular Modeling in Mineralogy and Geochemistry. n. February, 2015.
DAS, C. K. *et al.* Lactate dehydrogenase A regulates autophagy and tamoxifen resistance in breast cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1866, n. 6, p. 1004–1018, 2019.

DAVOODI, P. *et al.* Drug delivery systems for programmed and on-demand release ☆. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2018.

DEHGHANI, F. *et al.* Preparation, characterization and in-vivo evaluation of microemulsions containing tamoxifen citrate anti-cancer drug. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 479–489, 2017.

DENING, T. J. *et al.* Montmorillonite-lipid hybrid carriers for ionizable and neutral poorly water-soluble drugs: Formulation, characterization and in vitro lipolysis studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 526, n. 1–2, p. 95–105, 2017.

DICKSCHEN, K. *et al.* Physiologically based pharmacokinetic modeling of tamoxifen and its metabolites in women of different CYP2D6 phenotypes provides new insight into the tamoxifen mass balance. **Frontiers in Pharmacology**, v. 3 MAY, n. May, p. 1–15, 2012.

DJEBBI, M. A. *et al.* Extended-release of chlorpromazine intercalated into montmorillonite clays. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 267, n. October 2017, p. 43–52, 2018.

DUARTE CINTRA, J. R. *et al.* Perfil imuno-histoquímico e variáveis clinicopatológicas no câncer de mama. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 2, p. 178–187, 2012.

DUDENKO, D. V *et al.* Exploiting the Synergy of Powder X - ray Diffraction and Solid-State NMR Spectroscopy in Structure Determination of Organic Molecular Solids. 2013.

EGOROV, V. V. Heliyon Quantum-classical mechanics as an alternative to quantum mechanics in molecular and chemical physics. **Heliyon**, v. 5, n. May, p. e02579, 2019.

EL-LEITHY, E. S.; ABDEL-RASHID, R. S. Lipid nanocarriers for tamoxifen citrate/coenzyme Q10 dual delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 41, p. 239–250, 2017.

ELNAGGAR, Y. S. R.; EL-MASSIK, M. A.; ABDALLAH, O. Y. Self-nanoemulsifying drug delivery systems of tamoxifen citrate: Design and optimization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 380, n. 1–2, p. 133–141, 2009.

ELOVICH, S. Y. and LARINOV, O. G. Theory of adsorption from Solutions of non Electrolytes in Solid (I) Equation adsorption from Solutions and the analysis of its simplest form, (II) verification of the equation of adsorption isotherm from solutions. *Otdelenie Khimicheskikh Nauk*, v. 2, p. 209–216, 1962.

ETCHEVERRY, M. *et al.* Montmorillonite-alginate beads: Natural mineral and biopolymers based sorbent of paraquat herbicides. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 6, p. 5868–5875, 2017.

ETIENNE, M. C. *et al.* Tamoxifen metabolism : pharmacokinetic and in vitro study. *Brasilian Journal Cancer*, p. 30–35, v. 60, 1989.

FARIAS, A. F. F. Bentonitas modificadas com óxidos metálicos de Zn, Co ou Cu aplicadas para a produção de biodiesel. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Química. Universidade Federal da Paraíba. 2016.

FAVERO, J. DA S. *et al.* Physical and chemical characterization and method for the decontamination of clays for application in cosmetics. **Applied Clay Science**, v. 124–125, p. 252–259, 2016.

FEENEY, O. M. *et al.* 50 years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, p. 167–194, 2016.

FERREIRA, E. P. DA C. Tratamento de argila montmorilonítica para a produção de nanocompósitos poliméricos com retardo de propagação de chama. p. 99, 2015.

FIDELES, R. A. em bagaço de cana carboxilado : Estudos em sistemas em bagaço de cana carboxilado : Estudos em sistemas. 2017.

FIGUEIREDO, F. W. DOS S.; ADAMI, F. Income Inequality and Mortality Owing to Breast Cancer: Evidence From Brazil. **Clinical Breast Cancer**, v. 18, n. 4, p. e651–e658, 2018.

FONSECA, C. G. *et al.* Investigation of the initial stages of the montmorillonite acid-activation process using DFT calculations. **Applied Clay Science**, v. 165, n. August, p. 170–178, 2018.

FONSECA, M. G. DA; AIROLDI, C. Híbridos inorgânico-orgânicos derivados da reação de filossicatos com organossilanos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 699–707, 2003.

FOWLER, J. F. A Skin Moisturizing Cream Containing Quaternium-18-Bentonite Effectively Improves Chronic Hand Dermatitis. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 5, n. 3, p. 201–205, 1 maio 2001.

FRANCESCHI, B. T. Avaliação do efeito de resveratrol associado ao tamoxifeno na proliferação e apoptose de células de câncer de mama. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia. Universidade de São Paulo. 2017.

FREIRE, P. Política e educação: ensaios. 5. ed- São Paulo, Cortez, Coleção Questões de Nossa Época, v. 23, 2001.

FREUNDLICH, H. M. Over the adsorption in Solution. *Journal of Physical Chemistry*, **1907-5723**, 1906.

FURTH, P. A. STAT signaling in different breast cancer sub-types. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 382, n. 1, p. 612–615, 2014.

GAJARDO, G. *et al.* Tamoxifen in horses : pharmacokinetics and safety study. **Irish Veterinary Journal**, n. 72, v. 5, 2019.

GALIMBERTI, M. We are IntechOpen , the world ’ s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %. 2011.

GALVÃO, M. *et al.* Conselho Brasileiro de medicamentos Potencialmente Inapropriados Para Idosos. *Geriatrics, Gerontology and Aging*, v. 10, 2016.

GAMBA, M. *et al.* Insight into thiabendazole interaction with montmorillonite and organically modified montmorillonites. **Applied Clay Science**, v. 137, p. 59–68, 2017.

GAMBERINI, M. C. *et al.* Vibrational study of tamoxifen citrate polymorphism. **Journal of Molecular Structure**, v. 840, n. 1–3, p. 29–37, 2007.

GAO, L. **Theoretical Studies of Anti-cancer Drug Tamoxifen and Estrogen Receptor Alpha (ER α)**. Doctoral Thesis in Theoretical Chemistry and Biology. School of Biotechnology. 68p. 2012.

GAO, S.; SINGH, J. In vitro percutaneous absorption enhancement of a lipophilic drug tamoxifen by terpenes. **Journal of Controlled Release**, v. 51, n. 2–3, p. 193–199, 1998.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, M. P. *et al.* Tamoxifen disrupts the reproductive process in gilthead seabream males and modulates the effects promoted by 17 α -ethynylestradiol. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 179, p. 94–106, 2016.

GEUS, M. F. DE C. F. REGIS A. Aplicação do processo de adsorção para remoção de chumbo. 2017.

GIANNI, E. *et al.* Journal of Drug Delivery Science and Technology Halloysite nanotubes as carriers for irinotecan : Synthesis and characterization by experimental and molecular simulation methods. v. 52, n. March, p. 568–576, 2019.

GIL, O. M. *et al.* Modified drug release system based on Sulindac and layered double hydroxide: An in vivo Raman investigation. **Vibrational Spectroscopy**, v. 87, p. 60–66, 2016.

GOLDBERG, I.; BECKER, Y. Polymorphs of tamoxifen citrate: Detailed structural characterization of the stable form. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 76, n. 3, p. 259–264, 1987.

GOMES, D. A. D. A. Adsorção De N-Parafinas Na Faixa De C10 a C13 Sobre Adsorção De N-Parafinas Na Faixa De C10 a C13 Sobre. 2014.

GOMES, K. P. Síntese E Caracterização De Aluminofosfato Impregnado Com Molibdênio/Zinco Visando A Dessulfurização Por Adsorção. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Tecnologia Departamento de Engenharia Química Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. 2011.

GROOM, C. R. *et al.* feature articles The Cambridge Structural Database. **Structural Science Crystal Engineering Materials**, p. 171–179, 2016.

GUGGENHEIM, STEPHEN *et al.* Definition of clay and clay mineral: Joint report of the AIPEA nomenclature and CMS nomenclature committees. **Clays and Clay Minerals**, v. 43, n. 2, p. 255–256, 1995.

HÄCKL, K. *et al.* Carnitine alkyl ester bromides as novel biosourced ionic liquids, cationic hydrotropes and surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 511, p. 165–173, 2018.

HARLOW, D. G. Statistical characterization of bimodal behavior. **Acta Materialia**, v. 59, n. 12, p. 5048–5053, 2011.

HASSAN, S. A.; IBRAHIM, J. I. Adsorption of Some Drugs onto Surface of Iraqi Kaolin Clay. **Pakistan Journal of Chemistry**, v. 1, n. 3, p. 132–137, 2011.

HASSAN, S. *et al.* Evolution and clinical translation of drug delivery nanomaterials. **Nano Today**, v. 15, p. 91–106, 2017.

HE, H. *et al.* Applied Clay Science Organoclays prepared from montmorillonites with different cation exchange capacity and surfactant configuration. **Applied Clay Science**, v. 48, n. 1–2, p. 67–72, 2010.

HEHRE, W. J. **A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations**. Wavefunction, Inc. 2002.

HEINZ, H. Computational Screening of Biomolecular Adsorption and Self-Assembly on Nanoscale Surfaces. **Biomolecular Adsorption and Self-Assembly on Nanoscale Surfaces**, v. 31, n. 7, p. 1564–1568, 2010.

HEINZ, H.; RAMEZANI-DAKHEL, H. Chem Soc Rev discover new materials : insights , comparisons to. p. 412–448, 2016.

HEINZ, H.; VAIA, R. A.; FARMER, B. L. Interaction energy and surface reconstruction between sheets of layered silicates. **Journal of Chemical Physics**, v. 124, n. 22, 2006.

HILL, J.; SAUER, J. Molecular Mechanics Potential for Silica and Zeolite Catalysts Based on ab Initio Calculations. 1. Dense and Microporous Silica. p. 1238–1244, 1994.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochemistry**, v. 34, n. 5, p. 451–465, 1999.

HU, F. X.; NEOH, K. G.; KANG, E. T. Synthesis and in vitro anti-cancer evaluation of tamoxifen-loaded magnetite/PLLA composite nanoparticles. **Biomaterials**, v. 27, n. 33, p. 5725–5733, 2006.

HUH, W. J. *et al.* Tamoxifen induces rapid, reversible atrophy, and metaplasia in mouse stomach. **Gastroenterology**, v. 142, n. 1, p. 21- 24.e7, 2012.

IBORRA, C. V. *et al.* Characterisation of northern Patagonian bentonites for pharmaceutical uses. **Applied Clay Science**, v. 31, n. 3–4, p. 272–281, 2006.

ICH-3D-QUALITY. 0013-Guideline for elemental impurities Q3D. **Ich**, n. December, p. 1–75, 2014.

IQBAL, J. *et al.* Potential phytochemicals for developing breast cancer therapeutics: Nature's healing touch. **European Journal of Pharmacology**, v. 827, n. March, p. 125–148, 2018.

ISSA, M. G. Desenvolvimento de sistemas multiparticulados de liberação imediata e modificada para associação de fármacos anti-hipertensivos. 2015. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo.

JACOB, J. *et al.* Biopolymer based nanomaterials in drug delivery systems: A review. **Materials Today Chemistry**, v. 9, p. 43–55, 2018.

JAFARBEGLOU, MARYAM *et al.* Clay nanocomposites as engineered drug delivery systems. **RSC Advances**, v. 6, n. 55, p. 50002–50016, 2016.

JAILLET, L.; ARTEMOVA, S.; REDON, S. IM-UFF: extending the Universal Force Field for interactive molecular modeling. 2017.

JALIL, M. E. R.; BASCHINI, M.; SAPAG, K. Applied Clay Science Influence of pH and antibiotic solubility on the removal of cipro fl oxacin from aqueous media using montmorillonite. v. 114, p. 69–76, 2015.

JAMEERA BEGAM, A.; JUBIE, S.; NANJAN, M. J. Estrogen receptor agonists/antagonists in breast cancer therapy: A critical review. **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 257–274, 2017.

JAYRAJSINH, S. *et al.* Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 39, p. 200–209, 2017.

JELONEK, K. *et al.* The influence of drug-polymer interactions on release of antirestenotic agent from bioresorbable scaffolds. **Materials Letters**, v. 223, p. 82–85, 2018.

JENA, S. K. *et al.* Development of tamoxifen-phospholipid complex: Novel approach for improving solubility and bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, n. 1–2, p. 1–9, 2014.

JORDAN, V. C. New insights into the metabolism of tamoxifen and its role in the treatment and prevention of breast cancer. **Steroids**, v. 72, n. 13, p. 829–842, 2007.

JOSHI, G. V. *et al.* Montmorillonite intercalated with vitamin B1 as drug carrier. **Applied Clay Science**, v. 45, n. 4, p. 248–253, 2009.

JOZEFACIUK, G.; BOWANKO, G. Effect of acid and alkali treatments on surface areas and adsorption energies of selected minerals. **Clays and Clay Minerals**, v. 50, n. 6, p. 771–783, 2002.

JR, M. J. G. *et al.* Prevention of poison ivy and poison oak allergic contact dermatitis by quaternium-18 bentonite. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, 1995.

KAPSE, S. V. *et al.* Self nanoprecipitating preconcentrate of tamoxifen citrate for enhanced bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 429, n. 1–2, p. 104–112, 2012.

KARTHIK, G. M. *et al.* mTOR inhibitors counteract tamoxifen-induced activation of breast cancer stem cells. **Cancer Letters**, v. 367, n. 1, p. 76–87, 2015.

KEVADIYA, B. D. *et al.* Montmorillonite/poly-(ϵ -caprolactone) composites as versatile layered material: Reservoirs for anticancer drug and controlled release property. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 1, p. 265–272, 2012.

KHAN, M. H.; ALLERTON, R.; PETTIT, L. Hormone therapy for breast cancer in men. **Clinical Breast Cancer**, v. 15, n. 4, p. 245–250, 2015.

KLEIN, D. J. *et al.* PharmGKB summary: tamoxifen pathway, pharmacokinetics. v. 23, n. 11, p. 643–647, 2014.

KLOPROGGE, J. T. Spectroscopic studies of synthetic and natural beidellites: A review. **Applied Clay Science**, v. 31, n. 3–4, p. 165–179, 2006.

KOHAY, H. *et al.* PEG-PE/clay composite carriers for doxorubicin: Effect of composite structure on release, cell interaction and cytotoxicity. **Acta Biomaterialia**, v. 55, p. 443–454, 2017.

KRÁLIK, M. Adsorption, chemisorption, and catalysis. **Chemical Papers**, v. 68, n. 12, p. 1625–1638, 2014.

KRUPSKAYA, V. *et al.* The influence of acid modification on the structure of montmorillonites and surface properties of bentonites. **Applied Clay Science**, v. 172, n. February, p. 1–10, 2019.

Kufe, Holland J. F *et al.* In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast Jr. RC, Gansler, Holland JF, Frei E, editors. **Cancer Medicine 6**. London: BC Decker, 2003.

KURAMUCHI, H. Conformational studies and electronic structures of tamoxifen and toremifene and their allylic carbocations proposed as reactive intermediates leading to DNA adduct formation. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 15, p. 2877–2886, 1996.

LAGERGREN, S. *et al.* About the Theory of So-Called adsorption of Soluble Substances. **Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens**, v. 24, p. 1-39, 1898.

LANDEROS-MARTINEZ, L. L.; GLOSSMAN-MITNIK, D.; ORRANTIA-BORUNDA, E. . F. H. N. Theoretical Calculation of UV-Vis, IR Spectra and Reactivity Properties of Tamoxifen Drug: A Methodology Comparison. **MOJ Bioorganic & Organic Chemistry**, v. 1, n. 3, p. 87–95, 2017.

LANGMUIR, I. The Adsorption Of Gases On Plane Surfaces Of Glass, Mica And Platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, n. 9, p. 1361–1403, 1 set. 1918.

LANGMUIR, I. The Constitution And Fundamental Properties Of Solids And Liquids. PART I. SOLIDS. **Journal of the American Chemical Society**, v. 38, n. 11, p. 2221–2295, 1 nov. 1916.

LEAL, P. V. B. Estudo da influência da modificação da caulinita na adsorção de eteramina. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Lavras. 2016.

LEVINSON, N. S. Towards the elucidation of the mechanism of the antibiotic activity of tamoxifen COPYRIGHT © 2017 BY NATHANAEL SIMEON LEVINSON Towards the elucidation of the mechanism of the antibiotic activity of tamoxifen. n. May, 2017.

LI, T. *et al.* Design and preparation acid-activated montmorillonite sustained-release drug delivery system for dexibuprofen in vitro and in vivo evaluations. **Applied Clay Science**, v. 163, n. December 2017, p. 178–185, 2018.

LIMA, N. B. D. *et al.* RM1 Semiempirical Model: Chemistry, Pharmaceutical Research, Molecular Biology and Materials Science. v. 30, n. 4, p. 683–716, 2019.

LIN, T.; HEINZ, H.; ENGINEERING, B. Accurate Force Field Parameters and pH Resolved Surface Models for Hydroxyapatite to Understand Structure , Mechanics , Hydration , and Biological Interfaces. 2006.

LIRA, L.; DORNELAS, C.; CABRAL, L. Avaliação de bentonita sódica purificada e bentonita sódica intercalada como promotores de dissolução de clorpropamida em

comprimidos preparados por granulação úmida e compressão. **Rev. ciênc. farm. básica apl**, n. 21, p. 149–158, 2008.

LIU, S. *et al.* Preparation and characterization of organo-vermiculite based on phosphatidylcholine and adsorption of two typical antibiotics. **Applied Clay Science**, v. 137, p. 160–167, 2017.

LIU, Y. *et al.* Adsorption of levofloxacin onto an iron-pillared montmorillonite (clay mineral): Kinetics, equilibrium and mechanism. **Applied Clay Science**, v. 118, p. 301–307, 2015a.

LOBATO-AGUILAR, H. *et al.* Synthesis, characterization and chlorhexidine release from either montmorillonite or palygorskite modified organoclays for antibacterial applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 46, p. 452–460, 2018.

LOCKHART, J. N. *et al.* Dual drug delivery of tamoxifen and quercetin: Regulated metabolism for anticancer treatment with nanosponges. **Journal of Controlled Release**, v. 220, p. 751–757, 2015.

LÓPEZ- GALINDO, A. Pharmaceutical and Cosmetic Applications of Clays. *Clays Surfaces Fundamentals and Applications. Interface Science and Technology*, v. 1, p. 268–289, 2004.

LÓPEZ-GALINDO, A.; VISERAS, C.; CEREZO, P. Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products. **Applied Clay Science**, v. 36, n. 1–3, p. 51–63, 2007.

LYCOURGHOTIS, S. *et al.* Transformation of limonene into high added value products over acid activated natural montmorillonite. **Catalysis Today**, 2019.

MACHT, F. *et al.* Specific surface area of clay minerals: Comparison between atomic force microscopy measurements and bulk-gas (N₂) and -liquid (EGME) adsorption methods. **Applied Clay Science**, v. 53, n. 1, p. 20–26, 2011.

MADEJOVÁ, J. *et al.* Near-infrared spectroscopy: A powerful tool in studies of acid-treated clay minerals. **Vibrational Spectroscopy**, v. 49, n. 2, p. 211–218, 2009.

MANGONI, A. P. Materiais híbridos baseados em argilas catiônicas e espécies com potencial terapêutico. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química da Universidade De São Paulo. 2014.

MAR ORTA, M. DEL *et al.* Adsorption of propranolol onto montmorillonite: Kinetic, isotherm and pH studies. **Applied Clay Science**, v. 173, n. July 2018, p. 107–114, 2019.

MARCHI, T. DE *et al.* 4-Protein Signature Predicting Tamoxifen Treatment Outcome in Recurrent Breast Cancer. **Molecular Oncology**, v. 10, n. 1, p. 24–39, 2016.

MARJI, G. The Direct Study of the Reaction of the Tamoxifen Carbocation with DNA George Marji. n. 100 1, 2001.

MARTOS-VILLA, R. *et al.* Crystal structure, stability and spectroscopic properties of methane and CO₂ hydrates. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 44, p. 253–265, 2013.

MATTOS, T. B. Modelos não lineares e suas Aplicações. Monografia. Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Estatística, Juiz de Fora, 59p. 2013.

MAZUMDAR, S. *et al.* Effective cellular internalization, cell cycle arrest and improved pharmacokinetics of Tamoxifen by cholesterol based lipopolymeric nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 543, n. 1–2, p. 96–106, 2018.

MCGINITY, J. W.; LACH, J. L. *In vitro* adsorption of various pharmaceuticals to montmorillonite. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 6, p. 896–902, 1 jun. 1976.

MENG, N. *et al.* Controlled release and antibacterial activity chlorhexidine acetate (CA) intercalated in montmorillonite. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 382, n. 1–2, p. 45–49, 2009.

MISHRA, R. K.; FLATT, R. J.; HEINZ, H. Force field for tricalcium silicate and insight into nanoscale properties: Cleavage, initial hydration, and adsorption of organic molecules. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, n. 20, p. 10417–10432, 2013.

MODABBERI, S. *et al.* Characterization of Iranian bentonites to be used as pharmaceutical materials. **Applied Clay Science**, v. 116–117, p. 193–201, 2015.

MONTEIRO, R. A. Avaliação do potencial de adsorção de U, Th, Pb, Zn e NI pelas fibras de coco. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo 2009. **Educação e Pesquisa**, 2009.

MORAES, J. D. D. *et al.* Clay minerals: Properties and applications to dermocosmetic products and perspectives of natural raw materials for therapeutic purposes—A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 534, n. 1–2, p. 213–219, 2017.

MOREIRA, T. S. **Síntese de Nanopartículas poliméricas por polimerização radicalar (RAFT) para vetorização biodirigida de tamoxifeno. Programa de Pós graduação em Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro. UFRJ, 2015.**

MOSCOFIAN, A. S. DE O. Filossilicatos de magnésio e sílicas mesoporosas organofuncionalizados para o uso na remoção de corantes industriais. 2009.

MOUTA, E. R. Adsorção de selênio em latossolos. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, n. 1, p. 1033–1041, 2008.

MOVAHEDI, M. Production of a Novel Mineral-based Sun lotion for Protecting the Skin from Biohazards of Electromagnetic Radiation in the UV region. *J. Biomed. Phys Eng.* 1. p. 115–122, 2014.

MURA, P. *et al.* Hybrid systems based on “drug – in cyclodextrin – in nanoclays” for improving oxaprozin dissolution properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 509, n. 1–2, p. 8–15, 2016.

NANTA, P.; KASEMWONG, K.; SKOLPAP, W. Isotherm and kinetic modeling on superparamagnetic nanoparticles adsorption of polysaccharide. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 794–802, 2018.

NASCIMENTO, R. F. DO *et al.* **Adsorção: Aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza, Imprensa Universitaria, 256p, 2014.

NEBAGHE, K. C. *et al.* Comparison of linear and non-linear method for determination of optimum equilibrium isotherm for adsorption of copper(II) onto treated Martil sand. **Fluid Phase Equilibria**, v. 430, p. 188–194, 2016.

NGULUBE, T. *et al.* An update on synthetic dyes adsorption onto clay based minerals: A state-of-art review. **Journal of Environmental Management**, v. 191, p. 35–57, 2017.
NHPD, 2015. Quality of Natural Health Products Guide Natural Health Products Directorate. 2015.

NOORMORADI, H. *et al.* Surfactant modified montmorillonite as a low cost adsorbent for 4-chlorophenol: Equilibrium, kinetic and thermodynamic study. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 59, p. 244–251, 2016.

NURTAY, M. *et al.* Spectroscopic study for a chromium-adsorbed montmorillonite. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 173, p. 114–121, 2017.

OHNO, S. Tolerability of Therapies Recommended for the Treatment of Hormone Receptor-Positive Locally Advanced or Metastatic Breast Cancer. **Clinical Breast Cancer**, v. 16, n. 4, p. 238–246, 2016.

OKAIKUE-WOODI, F. E. K. *et al.* Journal of Colloid and Interface Science Structures and mechanisms in clay nanopore trapping of structurally-different fluoroquinolone antimicrobials. **Journal of Colloid And Interface Science**, v. 513, p. 367–378, 2018.

OLIVEIRA, A. M. B. M.. Paligorsquita como adsorvente para íons de metais de transição – ESTUDOS CINÉTICOS E DO EQUILÍBRIO. Tese de Doutorado. Programa de Pós graduação em Química. Universidade Federal da Paraíba. 2011.

OLIVEIRA, A. S.; ALCÂNTARA, A. C. S.; PERGHER, S. B. C. Bionanocomposite systems based on montmorillonite and biopolymers for the controlled release of olanzapine. **Materials Science and Engineering C**, v. 75, p. 1250–1258, 2017.

OLIVEIRA, M. M. D. E. Magadeíta E Vermiculitas Modificadas Com Grupos Orgânicos Contendo Nitrogênio E Enxofre Como Adsorventes. Tese de Doutorado. Programa de Pós graduação em Química. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 146p. 2012.

ONITILO, A. A. *et al.* Clustering of venous thrombosis events at the start of tamoxifen therapy in breast cancer: A population-based experience. **Thrombosis Research**, v. 130, n. 1, p. 27–31, 2012.

ONO, A. *et al.* Investigation of biopharmaceutical drug properties suitable for orally disintegrating tablets. **ADMET and DMPK**, v. 4, n. 4, p. 335, 2016.

ORTEGA-CASTRO, J. *et al.* DFT calculation of crystallographic properties of dioctahedral 2:1 phyllosilicates. **Clay Minerals**, v. 43, n. 3, p. 351–361, 2008.

OUELLET-PLAMONDON, C. M. The effect of cationic, non-ionic and amphiphilic surfactants on the intercalation of bentonite. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 444, p. 330–337, 2014.

PÁLKOVÁ, H. *et al.* The effect of acid treatment on the structure and surface acidity of tetraalkylammonium-montmorillonites. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 395, n. 1, p. 166–175, 2013.

PAROLO, M. Minerales arcillosos de la NorPatagonia Argentina en la retención de compuestos orgánicos que impactan sobre la salud humana y el medio ambiente. p. 218, 2010.

PENG, J. *et al.* Results in Physics Driving force for the swelling of montmorillonite as a function of surface charge and exchangeable cations : A molecular dynamic study. **Results in Physics**, v. 12, n. September 2018, p. 113–117, 2019.

PEREIRA DE SANTANA, D. *et al.* Reversed Phase Hplc Determination of Tamoxifen in Dog Plasma and Its Pharmacokinetics After a Single Oral Dose Administration. **Quim. Nova**, v. 31, n. 1, p. 47–52, 2008.

PEREIRA, F. DE A. R. **Montmorillonita, Quitosana E Seus Compósitos Como Adsorventes E Sistemas De Liberação Controlada De Fármacos**. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Química. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 183p. 2014.

PEREIRA, K. R. DE O. Estudo, em escala de laboratório, do uso de argilas do tipo Bofe na obtenção de argilas organofílicas e ativadas. p. 139, 2008.

PETTERSSON, T.; THORMANN, E.; CLAEISSON, P. TR-10-27 AFM study of montmorillonite. n. February, 2010.

PONGJANYAKUL, T.; PUTTIPIATKHACHORN, S. Polymer-magnesium aluminum silicate composite dispersions for improved physical stability of acetaminophen suspensions. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 2, p. 346–354, 2009.

QINGQING, P. A. N. *et al.* Comparative crystal structure determination of griseofulvin : Powder X-ray diffraction versus single-crystal X-ray diffraction. v. 57, n. 30, p. 3867–3871, 2012.

QU, C. *et al.* Estrogen receptor variant ER- α 36 promotes tamoxifen agonist activity in glioblastoma cells. **Cancer Science**, v. 110, n. 1, p. 221–234, 2019.

RAFATI, L. *et al.* Modeling of adsorption kinetic and equilibrium isotherms of naproxen onto functionalized nano-clay composite adsorbent. **Journal of Molecular Liquids**, v. 224, p. 832–841, 2016.

RAMAZANI AFARANI, Z.; SARVI, M. N.; AKBARI ALAVIJEH, M. Modification of montmorillonite nanolayers as a pH-responsive carrier of biomolecules: Delivery of vitamin B12. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 84, p. 19–27, 2018.

RAPACZ-KMITA, A. *et al.* Characterisation, in vitro release study, and antibacterial activity of montmorillonite-gentamicin complex material. **Materials Science and Engineering C**, v. 70, p. 471–478, 2017.

RAPPE, A. K.; III, W. A. G.; QA, E. Charge Equilibration for Molecular Dynamics Simulations. **J. Phys. Chem**, n. 95, p. 3358–3363, 1991.

REBITSKI, E. P. *et al.* Theoretical and experimental investigation on the intercalation of metformin into layered clay minerals. **Applied Clay Science**, v. 186, n. October 2019, p. 105418, 2020.

REIS LUZ, L. DOS *et al.* Metabolomic profile of *Schinopsis brasiliensis* via UPLC-QTOF-MS for identification of biomarkers and evaluation of its cytotoxic potential. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1099, p. 97–109, 2018.

RITZ, M.; ZDRÁLKOVÁ, J.; VALÁŠKOVÁ, M. Vibrational spectroscopy of acid treated vermiculites. **Vibrational Spectroscopy**, v. 70, p. 63–69, 2014.

ROHR, C. L. Rules of Molecular Self-Organization: Emergence, Control and Predictability. Dissertation am Lehrstuhl für Experimentalphysik. Universität München. 2011.

S. MCLINTOCK, I. **The Elovich Equation in Chemisorption Kinetics**. [s.l.: s.n.]. v. 216, 1967.

SÁ, S. I. *et al.* Induction and subcellular redistribution of progesterone receptor A and B by tamoxifen in the hypothalamic ventromedial neurons of young adult female Wistar rats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 420, p. 1–10, 2016.

SADRI, S. *et al.* The adsorption of nortriptyline on montmorillonite, kaolinite and gibbsite. **Applied Clay Science**, v. 165, n. February, p. 64–70, 2018.

SAINZ-DAZ, C. I.; FRANCISCO-MRQUEZ, M.; VIVIER-BUNGE, A. Adsorption of polyaromatic heterocycles on pyrophyllite surface by means of different theoretical approaches. **Environmental Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 429–440, 2011.

SALCEDO, I. *et al.* Intestinal permeability of oxytetracycline from chitosan-montmorillonite nanocomposites. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 117, p. 441–448, 2014.

SALES, P. F. D. E. Aplicações Ambientais de Argilominerais Modificados Por Tratamento Ácido : A Busca Por Materiais Ecoamigáveis. Tese de doutorado. Programa de Pós Graduação em Agroquímica. 2013.

SÁNCHEZ-MARTÍN, M. J. *et al.* Influence of clay mineral structure and surfactant nature on the adsorption capacity of surfactants by clays. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 1, p. 115–123, 2008.

SANTOS, L. K. Estudo do processo de adsorção para remoção de cafeína utilizando a argila bentonita. Curso de Bacharelado em Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná. 2017.

SANTOS, S. S. G. *et al.* Acid-leached mixed vermiculites obtained by treatment with nitric acid. **Applied Clay Science**, v. 104, p. 286–294, 2015.

SARK, W. G. J. H. M. V. A. N. **Methods of Deposition of Hydrogenated Amorphous Silicon for Device Applications**. v. 30, 2002.

SARMENTO, É. B. Avaliação do Uso de Mesocarpo de "Coco verde" como adsorvente de íons Cobre (Cu²⁺) presente em águas residuárias industriais. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Ciências e Tecnologia Ambiental, 70p. 2017.

SAVIN, A. V; MAZO, M. A. Physica E : Low-dimensional Systems and Nanostructures The COMPASS force field : Validation for carbon nanoribbons. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, v. 118, n. January, p. 113937, 2020.

SCHOONHEYDT, R. A.; JOHNSTON, C. T. Chapter 3 Surface and Interface Chemistry of Clay Minerals. In: BERGAYA, F.; THENG, B. K. G.; LAGALY, G. B. T.-D. IN C. S. (Eds.). . **Handbook of Clay Science**. [s.l.] Elsevier, 2006. v. 1p. 87–113.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE. **Plano estadual de Saúde 2016-2019**. 1. ed. Recife-PE, 2016.

SHAGUFTA; AHMAD, I. Tamoxifen a pioneering drug: An update on the therapeutic potential of tamoxifen derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 515–531, 2018.

SHAH, N. *et al.* Investigational chemotherapy and novel pharmacokinetic mechanisms for the treatment of breast cancer brain metastases. **Pharmacological Research**, v. 132, n. March, p. 47–68, 2018.

SHAHBAZ, K. Tamoxifen : Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. **Open Access Journal of Pharmaceutical Research**, p. 1–8, 2017.

SHETE, H. *et al.* Long chain lipid based tamoxifen NLC. Part I: Preformulation studies, formulation development and physicochemical characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, 454, 573-583, 2013.

SHETE, H. *et al.* Long chain lipid based tamoxifen NLC. Part II: Pharmacokinetic, biodistribution and in vitro anticancer efficacy studies. **International Journal of Pharmaceutics**, 454, 584-592, 2013a.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2019. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 69, n. 1, p. 7–34, 2019.

SILVA, A. R. V; FERREIRA, H. C. síntese , usos industriais e produtores / fornecedores nacionais e internacionais. v. 3, p. 1–11, 2008.

SILVA, D. T. C. *et al.* Adsorption of tamoxifen on montmorillonite surface. **Microporous and Mesoporous Materials**, p. 110012, 2020.

SILVA, D. T. C. *et al.* Tamoxifen/montmorillonite system – Effect of the experimental conditions. **Applied Clay Science**, v. 180, n. September 2018, p. 105142, 2019.

Silva, D.T.C. Desenvolvimento de sistemas de dispersões sólidas para liberação pH dependente do tamoxifeno. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

SILVA, M. M. F. Híbridos da montmorillonita-KSF contendo grupos alquilamina - Síntese , caracterização e aplicações adsorptivas Híbridos da montmorillonita-KSF contendo grupos alquilamina - Síntese , caracterização e aplicações adsorptivas. 2011.

SILVA, N. C. DA. Adsorção De Antibióticos Em Meio Aquoso Utilizando Diferentes Adsorventes. p. 171, 2015.

SILVA, R. D. Encapsulação de Montmorillonita por meio da polimerização radicalar controlada via RAFT em emulsão para produção de filmes nanoestruturados com propriedades anisotrópicas. Escola de Engenharia de Lorena. Universidade De São Paulo, 2017.

SOUZA, G. S. DE *et al.* Rheological Characterization of Bentonite Dispersions with Xanthan for Oil Well Drilling Fluids. v. 20, p. 1–8, 2017.

SOUZA, IANE M S *et al.* Microporous and Mesoporous Materials Adsorption capacity evaluation of zeolites as carrier of isoniazid. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 292, n. July 2019, p. 109733, 2020.

SQUIREWELL, E. J. Interactions of Endoxifen and other major metabolites of Tamoxifen with human SULT1A1 * 1 : implications for the therapeutic action and toxicity of Tamoxifen. 2014.

SREEHARSHA, N. *et al.* An Approach to Enhance Dissolution Rate of Tamoxifen Citrate. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1–11, 2019.

STANLY, S. *et al.* Carbon dioxide adsorption studies on modified montmorillonite clay/reduced graphene oxide hybrids at low pressure. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103344, 2019.

STEUDEL, A. *et al.* Alteration of swelling clay minerals by acid activation. **Applied Clay Science**, v. 44, n. 1–2, p. 105–115, 2009.

SUN, B. *et al.* Terbinafine hydrochloride intercalation composites as drug release systems. p. 21369–21377, 2018.

SUN, H. COMPASS: An ab Initio Force-Field Optimized for Condensed-Phase Applications s Overview with Details on Alkane and Benzene Compounds. **J. Phys. Chem.**, n.102, p. 7338–7364, 1998.

SYAFIUDDIN, A. *et al.* Application of the kinetic and isotherm models for better understanding of the behaviors of silver nanoparticles adsorption onto different adsorbents. **Journal of Environmental Management**, v. 218, n. 20, p. 59–70, 2018.
TEIXEIRA, N. M. Nanocompósitos de argila montmorilonita, amido, gelatina, isolado protéico de soja e quitosana. 2011.

TEMKIN, M.I. The Kinetics of Some Industrial Heterogeneous Catalytic Reactions. **Advances in Catalysis**, v. 28, p. 173–291, 1 jan. 1979.

TETKO, I. V.; BRUNEAU, P. Application of ALOGPS to predict 1-octanol/water distribution coefficients, logP, and logD, of AstraZeneca in-house database. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 12, p. 3103–3110, 1 dez. 2004.

THOMMES, M. *et al.* Physisorption of gases , with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). v. 87, p. 1051–1069, 2015.

TRIVEDI, V. *et al.* Intercalated theophylline-smectite hybrid for pH-mediated delivery. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 8, n. 6, p. 1781–1789, 2018.

TÜRKER, S. *et al.* Surface and interface properties of benzethonium chloride-montmorillonite. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 520, p. 817–825, 2017.

UELAND, P. M. Distribution of Tamoxifen and Its Metabolites in Rat and Human Tissues during Steady-State Treatment'. 1991.

USP. **U.S. Pharmacopeia National Formulary 2017: USP 40 NF 35**. [s.l.] United States Pharmacopeial Convention, v. 1, n. 3, p. 87–95, 2017.

VANDERBILT MINERALS. VEEGUM ® Magnesium Aluminum Silicate
VANATURAL ® Bentonite Clay For Personal Care and Pharmaceuticals What They Are. p. 1–27, 2014.

- VILARDI, G.; PALMA, L. DI; VERDONE, N. Heavy metals adsorption by banana peels micro-powder: Equilibrium modeling by non-linear models. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 26, n. 3, p. 455–464, 2018.
- VINATI, A.; MAHANTY, B.; BEHERA, S. K. Clay and clay minerals for fluoride removal from water: A state-of-the-art review. **Applied Clay Science**, v. 114, p. 340–348, 2015.
- VISERAS, C. *et al.* Biopolymer–clay nanocomposites for controlled drug delivery. **Materials Science and Technology**, v. 24, n. 9, p. 1020–1026, 2008.
- VISERAS, C. *et al.* Current challenges in clay minerals for drug delivery. **Applied Clay Science**, v. 48, n. 3, p. 291–295, 2010.
- VISERAS, C. *et al.* Uses of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products. **Applied Clay Science**, v. 36, n. 1–3, p. 37–50, 2007.
- W. MCGINITY, J.; R. HARRIS, M. **Influence of a Montmorillonite Clay on the Properties of Griseofulvin Tablets**. v. 6, 2008.
- WELLS, B. A.; CHAFFEE, A. L. Ewald Summation for Molecular Simulations. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 11, n. 8, p. 3684–3695, 2015.
- WHO. Environmental health criteria 231: Bentonite, kaolin, and selected clay minerals. **Environmental Health Criteria**, n. 231, 2005.
- WICKLEIN, B. Bio-Nanohybrid Materials Based on Clays and Phospholipids. Doctoral Thesis. Departamento de Química Física Aplicada. Universidad autónoma de Madrid. 2011.
- WIEDMANN, T. S.; NAQWI, A. Pharmaceutical salts: Theory, use in solid dosage forms and in situ preparation in an aerosol. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 6, p. 722–734, 2016.
- WOLTERS, L. O.; BICKELHAUPT, F. M. Theories , Models and Methods. *In*: Activation Strain Model & Molecular Orbital Theory. Chemical Bonding and Catalysis, v. 5, p. 324-343, 2015.
- WU, L. *et al.* Drug release material hosted by natural montmorillonite with proper modification. **Applied Clay Science**, v. 148, n. March, p. 123–130, 2017.
- WU, Q.; LI, Z.; HONG, H. Adsorption of the quinolone antibiotic nalidixic acid onto montmorillonite and kaolinite. **Applied Clay Science**, v. 74, p. 66–73, 2013.
- XI, Y.; MALLAVARAPU, M.; NAIDU, R. Preparation, characterization of surfactants modified clay minerals and nitrate adsorption. **Applied Clay Science**, v. 48, n. 1–2, p. 92–96, 2010.

XIA, M. *et al.* Wet grinding of montmorillonite and its effect on the properties of mesoporous montmorillonite. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 356, n. 1–3, p. 1–9, 2010.

XU, P. *et al.* Microbiome Remodeling via the Montmorillonite Adsorption-Excretion Axis Prevents Obesity-related Metabolic Disorders. **EBioMedicine**, v. 16, p. 251–261, 2017.

YAN, N.; MASLIYAH, J. H. Characterization and demulsification of solids-stabilized oil-in-water emulsions. Part 1. Partitioning of clay particles and preparation of emulsions. **COLLOIDS AND SURFACES A PHYSICOCHEMICAL AND ENGINEERING ASPECTS**, 1995.

YANG, J. H. *et al.* Drug–clay nanohybrids as sustained delivery systems. **Applied Clay Science**, v. 130, p. 20–32, 2016.

YOUSSEF, A. M. *et al.* Synthesis and utilization of poly (methylmethacrylate) nanocomposites based on modified montmorillonite. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 631–642, 2017.

YU, W. H. *et al.* Adsorption of proteins and nucleic acids on clay minerals and their interactions: A review. **Applied Clay Science**, v. 80–81, p. 443–452, 2013.

ZDENKOWSKI, N. *et al.* A systematic review of decision aids for patients making a decision about treatment for early breast cancer. **The Breast**, v. 26, p. 31–45, 2016.

ZENTNER, M. R. Pharmaceutical suspension. United states patent office. p. 3–6, 1972.

ZHU, R. *et al.* Adsorbents based on montmorillonite for contaminant removal from water: A review. **Applied Clay Science**, v. 123, p. 239–258, 2016.

ZOU, W. *et al.* Estrogen Receptor (ER) - α 36 Is Involved in Estrogen- and Tamoxifen-Induced Neuroprotective Effects in Ischemic Stroke Models. p. 1–14, 2015.

APÊNDICE-A- CERTIFICADO DE TRABALHO DO 4ª RAA



APÊNDICE-B- CERTIFICADO DE TRABALHO DO 4ª RAA



APÊNDICE-C- CERTIFICADO DE MINICURSO DO 4ª RAA



APÊNDICE-D- CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO DO 4ª RAA



APÊNDICE-E- ARTIGO 1 PUBLICADO NA APPLIED CLAY SCIENCE

Applied Clay Science 180 (2019) 105142



Contents lists available at ScienceDirect

Applied Clay Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clay

Research Paper

Tamoxifen/montmorillonite system – Effect of the experimental conditions

Dayanne T.C. Silva^a, Igor E.S. Arruda^a, Leandro M. França^a, Denise B. França^b, Maria G. Fonseca^b, Monica F.L.R. Soares^a, Cesar Viseras Iborra^c, José Lamartine Soares-Sobrinho^{a,*}^a Department of Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Campus of Recife, s/n, 50740-521 Recife, PE, Brazil^b Department of Chemistry, Universidade Federal do Paraná, UFPR, 58051-900 João Pato, PR, Brazil^c Instituto Andalúz de Ciencias de la Tierra, CSIC- University of Granada, Av. de las Palmeras 4, 18100 Armilla, Granada, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:
Clays
Montmorillonite
Tamoxifen
Hybrids
Adsorption

ABSTRACT

A new nano system based on drug/clay minerals is sought as an alternative to the current options due to the limitations of the conventional treatment. In this study, experimental conditions, such as pH, reaction duration and initial drug concentration, were evaluated to obtain systems based on the anticancer drug tamoxifen (TMX) and montmorillonite. Equilibrium and kinetic studies were developed for montmorillonite (VHS)/TMX at pH values in the range of 1.5 to 7.0 for reaction times of 1 to 720 min and drug concentrations of 533 to 2300 mg L⁻¹. The solids were characterized by using X-ray diffraction and middle infrared spectroscopy (MID). The interaction of TMX with montmorillonite was pH-dependent with a higher adsorption at pH 5.5 (402.63 mg g⁻¹). For all pH values, intercalation of the drug was the predominant mechanism of interaction. The system was described by a pseudo-second-order model. In the equilibrium study, the data adsorption was fitted to Langmuir model. Therefore, the reaction between TMX and montmorillonite was effective, and the best experimental conditions to obtain the studied hybrids were at pH 5.5 for 720 min and 2300 mg L⁻¹ drug concentration.

1. Introduction

The limitations of conventional treatments for breast cancer have stimulated the development of new nano systems associated with conventional therapies, such as Tamoxifen (TMX) ((Z)-2-(para-(1,2-diphenyl-1-butenyl)phenoxy)-N,N-dimethylethylamine) (Itoakura et al., 2017). TMX is a selective estrogen receptor modulator (SERM) and acts as anti-estrogen in breast tissue by interfering with the activity of estrogen, the female sex hormone that promotes the growth of cancer cells in the breast (Landeros-Martínez et al., 2017). Tamoxifen is currently used for the treatment of both early and advanced ER+ (estrogen receptor positive) breast cancer in pre- and post-menopausal women. Since the early 1980s, tamoxifen has been widely accepted as the first-line of endocrine therapy for metastatic disease in postmenopausal women (Ingle, 1984).

Although tamoxifen is anti-estrogenic to the breast, after long-term therapy, it has exhibited several side effects on endometrial cancer, for example. Several studies have shown that one of the several side effects

development of new systems for tamoxifen administration has been linked to interesting strategies for physical and chemical improvements of the drug and to provide improvements in therapy aimed at a better adherence of the patient to the treatment (Carazo et al., 2018).

Several studies have been performed focusing on systems for obtaining new materials with multifunctional properties of anticancer drug delivery. These materials are different from conventional polymers and composites (Vivek et al., 2013; Pandey et al., 2014; Prabaharan, 2015; Shariatnia and Zahraee, 2017). In this method, clay minerals have been used as vehicles for different drugs of various pharmacological categories (Joshi et al., 2009; Chen et al., 2010; Iliescu et al., 2011; Wu et al., 2013; Liu et al., 2015; Akyuz and Akyuz, 2017; Borrego-Sánchez et al., 2017; Calabrese et al., 2017; Oliveira et al., 2017; Rapacz-Kmita et al., 2017; Türker et al., 2017; Djebbi et al., 2018).

Among these minerals, such smectites as montmorillonite (Mt) were studied. Montmorillonite is a 2:1 phyllosilicate and consists structurally of an octahedral sheet of alumina (Al₂O₃) between two tetrahedral si-

APÊNDICE-F- CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO 5ª RAA



APÊNDICE-G- CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO ORAL 5ª RAA



APÊNDICE-H- CERTIFICADO DE TRABALHO NA 5ª RAA



APÊNDICE-I- CERTIFICADO DE TRABALHO NA 5ª RAA



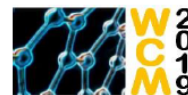
APÊNDICE-J- CERTIFICADO DE MINICURSO NA 5ª R



APÊNDICE-K – CERTIFICADO DE TRABALHO I WORKSHOP DE CM 2019



I Workshop em
 Ciência de Materiais



P04

Certificado

Certificamos que o trabalho

Argilomineral montmorilonita como veículo de administração oral prolongada do citrato de tamoxifeno

submetido por Dayanne Tomaz Casimiro da Silva, Igor E. S. Arruda, José Izak R. Araújo, Monica F. L. R. Soares e José Lamartine Soares-Sobrinho

foi apresentado na categoria de **poster**, por

Dayanne Tomaz Casimiro da Silva

no I Workshop em Ciência de Materiais, organizado pela Pós-Graduação em Ciência de Materiais, no Centro de Ciência Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Campus Recife, nos dias 17 e 18 de setembro de 2019.

Beate S. Santos

Beate S. Santos
 Comissão organizadora

Giovanna Machado
 Comissão organizadora

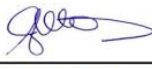
Goreti Pereira

Goreti Pereira
 Comissão organizadora

APÊNDICE-L- CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO ORAL NO 1º EPPGCF- UFPE

	1º ENCONTRO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA UFPE CERTIFICADO Dayanne Tomaz Casimiro da Silva Participou do 1º Encontro do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE, apresentando o trabalho com o título "Molecular modeling of the adsorption of tamoxifen citrate in montmorillonite: Effects of water adsorption and contraction citrate, part I", na forma Oral com a participação dos co-autores da Fonseca, M.G.; Borrego-Sánchez, A.; Viseras, C.; Sainz-Díaz, C.I.; Soares, M.F.R.; Soares-Sobrinho, J.L., no dia 03 de julho de 2019, na Universidade Federal de Pernambuco, Recife.	
 Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares Coordenador	 Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho Vice Coordenador	
Apoio        		

APÊNDICE-M- CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO DO 1º EPPGCF- UFPE

	1º ENCONTRO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA UFPE CERTIFICADO Certificamos que DAYANNE TOMAZ CASIMIRO DA SILVA participou do 1º Encontro do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE, nos dias 02 a 05 de julho de 2019, com carga horária total de 8 horas. Recife, 05 de julho de 2019.	
 Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares Coordenador	 Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho Vice Coordenador	
Apoio        		

APÊNDICE-N- PATENTE DEPOSITADA UFPE-INPI



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2019 022422 3

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24134488000108

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 50670-901

País: Brasil

Telefone: (81)2126 8959

Fax: (81)2126 8959

Email: patentes_dine.propesq@ufpe.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): COMPÓSITO HÍBRIDO FARMACÊUTICO NANOESTRUTURADO PARA INCREMENTO DA TAXA DISSOLUÇÃO E LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS ANTITUMORAIS

Resumo: A presente invenção refere-se a um produto farmacêutico nanoestruturado para liberação controlada de fármacos. Mais especificamente formado a partir de argilomineral montmorilonita contendo fosfolípido de membrana fosfatidilcolina, modificando a estrutura inicial do argilomineral pela organofilização, para inserção estrutural de ingrediente ativo, na forma de intercalação e/ou adsorção. O material irá aumentar o controle da liberação do ativo e melhorar a taxa de dissolução do mesmo, uma vez que o ativo possui vários problemas físico-químicos e biofarmacêuticos e o resultado da junção desses componentes será primordial para um resultado terapêutico eficaz, abrangendo a química experimental pelo conhecimento profundo de formação e desenvolvimento, bem como dos processos tecnológicos envolvidos. Este sistema consiste em um novo excipiente para obtenção de formulações de administração oral para tratamento do câncer de mama em mulheres pré e pós menopáusicas.

Figura a publicar: 6

APÊNDICE-O- ARTIGO 2 PUBLICADO MICROPOROUS AND MESOPOROUS MATERIALS

Microporous and Mesoporous Materials xxx (xxxx) xxx-xxxx



Contents lists available at ScienceDirect

Microporous and Mesoporous Materials

journal homepage: <http://ees.elsevier.com>

Adsorption of tamoxifen on montmorillonite surface

Dayanne T.C. Silva^a, Maria G. Fonseca^b, Ana Borrego-Sánchez^{c,d}, Mônica F.R. Soares^a, César Viseras^{c,d}, C. Ignacio Sainz-Díaz^c, José Lamartine Soares-Sobrinho^{a,*}

^a Department of Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Campus of Recife, s/n, 50740-521, Recife, PE, Brazil

^b Department of Chemistry, Universidade Federal do Paraná, UFPR, 58051-900, João Pinheiro, PR, Brazil

^c Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra, CSIC-University of Granada, Av. de las Palmeras 4, 18100 Armilla, Granada, Spain

^d Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Campus de Cartuja s/n, 18071, Granada, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Montmorillonite
Tamoxifen
Atomistic calculations
Adsorption

ABSTRACT

The anticancerous drug tamoxifen is becoming a promising therapy, although some administration handicaps should be improved. Montmorillonite is a natural phyllosilicate and its use as carrier of the tamoxifen can be an interesting alternative for drug delivery system. Syntheses at different pH of montmorillonite-tamoxifen hybrids have shown promising possibilities. However, it is necessary to know the driving forces and intermolecular interactions responsible for tamoxifen adsorption on montmorillonite at different pH. Atomistic calculations of these systems have been applied based on empirical interatomic potentials. Theoretical simulations were used to explain the stoichiometry of the tamoxifen intercalation into the montmorillonite to understand the experimental behavior. The results showed there is influence on the clay structure when there is pH adjustment, with varying particle size, as well as variability in drug intercalation. Cationic species of tamoxifen was adsorbed by cation exchange mechanism and an additional adsorption of molecule as tamoxifen citrate pair also contributed in the interaction, being more energetically favorable.

1. Introduction

Breast cancer is the main cause of death for cancer in women [1], and a public health problem in Brazil [2,3], which affect approximately 12 per 100,000 women in 2011 [4]. The 70% of patients are mainly diagnosed as, positive estrogen receptor (ER). Therefore, a treatment with an ER antagonist with tamoxifen has been a promising strategy in the fight against cancer [5,6].

Tamoxifen (TMX), $(C_{26}H_{26}NO)$ Z -2-(para-(1,2-diphenyl-1-butenyl)phenoxy)-N,N-dimethylethylamine, has an ethoxy-methylamino chain, which is essential for the its anti-estrogenic biological activity and is classified as a biopharmaceutical classification II [7]. Tamoxifen is commercially available as a citrate salt. This association is performed to increase stability and solubility in aqueous medium. However its use as a salt formulation is not an assurance to increase its bioavailability, due to the lipophilic properties of the molecule [8,9].

in the acidic environment of the stomach is probable, which reduce its bioavailability in the range of 20–30% [1,10].

Therefore, controlled drug delivery systems have been responsible to ensure the better physical characteristics and improve the dissolution rate of liposoluble drugs in biopharmaceutical processes [1,11]. On the other hand, clay minerals have been widely applied as vehicle for prolonged release of different drugs [12–21]. Clay minerals are natural products and present low cost alternative and biocompatibility [20].

Among clay, montmorillonite is widely used in the pharmaceutical industry as excipient, which have been studied as smart conveyor with new adsorption mechanisms, allowing controlled delivery of drugs [22,23]. Montmorillonite, $M_2(Si_4)(Al_2Mg_3)O_{10}(OH)_2$, is a 2:1 phyllosilicate with an octahedral sheet (O) between two tetrahedral sheets (T) [24]. Isomorphic substitutions in O (Al^{3+} by Mg^{2+}) and T (Si^{4+} by Al^{3+}) sheets result in negative charge that is counterbalanced by exchangeable cations (Na^+ and Ca^{2+}) present in the interlayer space [25].

Therefore, the interaction of the montmorillonite with other cations

APÊNDICE-P- CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO DO SEFIG

