



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



GUSTAVO MORAIS NASCIMENTO

**DESENVOLVIMENTO DE FILAMENTOS DE IMPRESSÃO
3D FDM CONTENDO LEVOFLOXACINO: PREPARAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Feira de Santana, BA

2024

GUSTAVO MORAIS NASCIMENTO

**DESENVOLVIMENTO DE FILAMENTOS DE IMPRESSÃO 3D
FDM CONTENDO LEVOFLOXACINO: PREPARAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito final para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Souza Silva

Feira de Santana, BA

2024

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado – SISBI UEFS

N195 Nascimento, Gustavo Morais

Desenvolvimento de filamentos de impressão 3D FDM contendo levofloxacino : preparação, caracterização e atividade antibacteriana / Gustavo Morais Nascimento. – 2024.
62 f.: il.

Orientador: Fabrício Souza Silva.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2024.

1. Levofloxacino. 2. Impressão 3D FDM. 3. Filamentos – extrusão a quente. 4. Eudragit® E100. 5. Atividade antibacteriana. I. Título. II. Silva, Fabrício Souza, orient. III. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV. Universidade Estadual de Feira de Santana.

CDU 615.28:681.62-023.5

GUSTAVO MORAIS NASCIMENTO

**DESENVOLVIMENTO DE FILAMENTOS DE IMPRESSÃO 3D FDM
CONTENDO LEVOFLOXACINO: PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, área de concentração em Biotecnologia com ênfase em Recursos Naturais da Região Nordeste, como requisito para obtenção do grau de mestre.

Feira de Santana, Bahia, 12 de dezembro de 2024

Documento assinado digitalmente
 **FABRICIO SOUZA SILVA**
Data: 12/12/2024 08:50:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador: Prof. Dr. **Fabício Souza Silva**
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Documento assinado digitalmente
 **LARISSA ARAUJO ROLIM**
Data: 12/12/2024 11:13:35-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro: Prof^a. Dr^a. **Larissa Araújo Rolim**
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Documento assinado digitalmente
 **PAULO JOSE LIMA JUIZ**
Data: 12/12/2024 11:30:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro: Prof. Dr. **Paulo José Lima Juiz**
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Dedico este trabalho ao meu avô
Cornélio, *in memoriam*. É
especialmente para você, meu
querido vô.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por estar ao meu lado em cada passo dessa jornada.

Ao meu pai, Júnior, e à minha mãe, Mara, minha eterna gratidão por acreditarem em mim incondicionalmente. Enquanto eu era apenas um sonho, vocês foram meu farol e a força que me impulsionou. Obrigado por me ensinarem valores essenciais e por serem exemplos que me ajudaram a me tornar quem sou hoje. Não poderia ter alcançado tudo isso sem vocês ao meu lado.

Também sou imensamente grato ao meu irmão, Netinho, pelo apoio constante e pela força que sempre me deu.

Agradeço ao meu orientador, Fabrício Souza pelo aconselhamento científico e apoio na execução deste trabalho.

Agradeço aos meus professores Evando Araújo e Fernanda Ribeiro, por todo o suporte e apoio científico, parceria e ajuda na realização dos experimentos

A Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), a Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Laboratório de Farmacologia Experimental (LAFEX) e ao Grupo de Pesquisa em Eletroficação e Aplicações Nanotecnológicas (GPEANANO) pelo fornecimento de todas as ferramentas e estrutura necessárias a realização desse trabalho.

A todos os meus colegas do Laboratório de Farmacologia Experimental (LAFEX), em especial à Ricardo Segundo pelo tempo dedicado, pela amizade e pela ajuda na realização dos experimentos.

Agradeço a minha namorada, Fernanda por todo o companheirismo, amor, carinho. Obrigado por estar sempre ao meu lado, trazendo força, mesmo nos momentos mais difíceis. Te amo!

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

“O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece.” (Benjamin Disraeli)

RESUMO

A técnica de impressão 3D por deposição fundida (FDM) tem atraído crescente interesse devido à sua versatilidade e aplicações em áreas como curativos, formas farmacêuticas orais e sistemas de liberação controlada de medicamentos. Este estudo teve como objetivo desenvolver, caracterizar e avaliar a atividade antibacteriana de filamentos de impressão 3D FDM contendo levofloxacino, utilizando o polímero pH-dependente Eudragit® E100. Os filamentos foram produzidos por extrusão a quente e caracterizados por técnicas como MEV, DSC, FTIR e DRX. Os resultados confirmaram a obtenção de filamentos homogêneos, com superfícies regulares, ausência de defeitos estruturais e estabilidade térmica adequada, além de propriedades mecânicas que os tornam compatíveis com impressoras 3D. A análise por FTIR e DRX indicou interação física entre o polímero e o fármaco, sem sinais de degradação química, enquanto a redução da cristalinidade do levofloxacino sugere melhora na sua solubilidade e potencial biodisponibilidade. Ensaio de atividade antibacteriana demonstraram eficácia contra todas as cepas testadas, com maior atividade observada para filamentos contendo 1% p/p de levofloxacino. Adicionalmente, o tratamento térmico aplicado durante a extrusão não comprometeu a eficácia antimicrobiana dos filamentos. Estudos de liberação do fármaco mostraram que o perfil é influenciado pelo caráter pH-dependente do Eudragit® E100, reforçando o potencial dos filamentos como dispositivos médicos antimicrobianos com liberação controlada. Conclui-se que os filamentos desenvolvidos apresentam propriedades promissoras para aplicação na área farmacêutica, especialmente em dispositivos médicos personalizados. Apesar dos resultados positivos, estudos futuros são necessários para otimizar a modelagem, testar o desempenho em condições reais de uso e explorar outras possibilidades terapêuticas.

Palavras-chave: Levofloxacino. Impressão 3D FDM. Filamentos. Extrusão a quente. Eudragit® E100.

ABSTRACT

The technique of fused deposition 3D printing (FDM) has attracted increasing interest due to its versatility and applications in areas such as dressings, oral pharmaceutical forms and controlled drug release systems. This study aimed to develop, characterize and evaluate the antibacterial activity of FDM 3D printing filaments containing levofloxacin, using the pH-dependent polymer Eudragit® E100. The filaments were produced by hot extrusion and characterized using techniques such as SEM, DSC, FTIR and XRD. The results confirmed that homogeneous filaments were obtained, with regular surfaces, no structural defects and adequate thermal stability, as well as mechanical properties that make them compatible with 3D printers. FTIR and XRD analysis indicated physical interaction between the polymer and the drug, with no signs of chemical degradation, while the reduction in the crystallinity of levofloxacin suggests an improvement in its solubility and potential bioavailability. Antibacterial activity tests showed efficacy against all the strains tested, with greater activity observed for filaments containing 1% w/w levofloxacin. In addition, the heat treatment applied during extrusion did not compromise the antimicrobial efficacy of the filaments. Drug release studies showed that the profile is influenced by the pH-dependent nature of Eudragit® E100, reinforcing the filaments' potential as antimicrobial medical devices with controlled release. It is concluded that the filaments developed have promising properties for application in the pharmaceutical field, especially in personalized medical devices. Despite the positive results, future studies are needed to optimize the modeling, test the performance under real conditions of use and explore other therapeutic possibilities.

Keywords: Levofloxacin. FDM 3D printing. Filaments. Hot extrusion. Eudragit® E100.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Mecanismos de transferência horizontal de genes entre organismos	15
Figura 2 Resumo dos sistemas fisiológicos acometidos pelo uso de antimicrobianos	17
Figura 3 Estrutura 2D do levofloxacino	19
Figura 4 Ilustração da impressora 3D FDM	21
Figura 5 Extrusora Hot-melt	25
Figura 6 (A) Bocal extrusor de 1,75mm (B) Miniextrusora Filmaq 3D	29
Figura 7 Amostras de filamentos contínuos (a) E100/levo (0,3% p/p) (à esquerda) e (b) E100/levo (1% p/p) (à direita) produzidos a partir do processo de extrusão a quente; (c) Filamentos E100/Levo (0,3% p/p) e E100/Levo (1% p/p) sob flexão.	34
Figura 8 Micrografia obtida por MEV das partículas do antibiótico levofloxacino	35
Figura 9. Micrografia obtida por MEV de amostra do filamento E100 puro.	37
Figura 10. Micrografia obtida por MEV de amostra do filamento E100/levofloxacino (0,3% p/p).	37
Figura 11. Micrografia obtida por MEV de amostra dos filamentos E100/levofloxacino (1% p/p).	38
Figura 12. Padrões de difração de raios X característicos do fármaco levofloxacino (levo) e de amostras de filamentos E100, E100/levo (0,3% p/p) e E100/levo (1,0% p/p).	39
Figura 13. Espectro de FTIR do levofloxacino puro e dos filamentos E100 e E100/levo	40
Figura 14. Espectro de DSC do fármaco levofloxacino hemi-hidratado.	42
Figura 15. Ciclos de DSC (aquecimento e resfriamento) representativo das amostras de filamentos compósitos E100/levofloxacino.	43
Figura 16. Curva de calibração do fármaco levofloxacino. Relação entre absorvância e concentração do fármaco.	44
Figura 17. Cinética de liberação do fármaco a partir dos filamentos E100/Levo nos meios gástrico (pH=1,2) e intestinal (pH=7,2) simulados	45
Figura 18. Imagens dos halos de inibição formados ao redor dos filamentos integrais (à esquerda) e fundidos (à direita). (A) <i>A. baumannii</i> . (B) <i>S.aureus</i> . (C) <i>E. faecalis</i> . (D) <i>K. pneumoniae</i> . (E) <i>P. aeruginosa</i> . (F) <i>S. marcescens</i> . (G) <i>S.</i>	47

agalactiae. (VAZ) corresponde ao controle negativo. (-) concentração de 0,3%p/p de levofloxacino. (+) concentração de 1,0% p/p de levofloxacino.

Figura 19. Área dos halos de inibição bacteriana formada pela ação dos filamentos integrais e fundidos (derretidos). (A) *E. feacalis*. (B) *A. baumannii*. (C) *K. pneumoniae*. * = $p < 0,05$ 51

Figura 20. Área dos halos de inibição bacteriana formada pela ação dos filamentos integrais e fundidos (derretidos). (A) *P. aeruginosa*. (B) *S. aureus*. (C) *S. marcescens*. (D) *S. agalactiae*. * = $p < 0,05$ 52

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 RESISTÊNCIA BACTERIANA	14
2.2 REAÇÕES ADVERSAS AOS ANTIMICROBIANOS	15
2.3 LEVOFLOXACINO	18
2.4 IMPRESSÃO 3D FDM	20
2.5 HOT-MELT EXTRUSION (HME)	24
2.6 EUDRAGIT® E100	26
3 METODOLOGIA	27
3.1 MATERIAIS	27
3.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA O PROCESSO DE EXTRUSÃO	27
3.3 PRODUÇÃO DE FILAMENTOS	29
3.4 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL	29
3.5 ANÁLISE TÉRMICA	29
3.6 TESTES MECÂNICOS DE FLEXÃO	30
3.7 ENSAIO DE CINÉTICA DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	31
3.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS FILAMENTOS	32
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 PRODUÇÃO DOS FILAMENTOS E100/FÁRMACO	33
4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	35
4.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)	38
4.4 FTIR	40
4.5 ANÁLISE DE DSC	41
4.6 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO	44
4.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS FILAMENTOS	46
5 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana é um problema de saúde pública global, que ameaça a capacidade humana de tratar com sucesso as infecções bacterianas (MCEWEN; COLLIGNON, 2018). A resistência bacteriana resultou do uso indevido de antimicrobianos nos últimos 80 anos (AMBROSE et al., 2017). Reduzir e otimizar o uso dos antibióticos pode diminuir a resistência e permitir que um medicamento eventualmente ressurgir como uma terapia eficaz. O uso adequado de antibióticos pode não apenas ajudar a reverter altas frequências de resistência, mas também reduzir o aparecimento de resistência a novos agentes (LEVY; BONNIE, 2004).

Outro problema envolvendo o uso dos antimicrobianos são as reações adversas ao medicamento. As reações adversas associadas aos medicamentos podem incluir alergias, toxicidades e efeitos colaterais (MILLAN; MUGGIA; OSTROWSKY, 2014). A maioria dos eventos que ocorrem são efeitos colaterais leves, mas graves. Um estudo estimou que 6–7% dos pacientes hospitalizados tiveram uma reação grave e que aproximadamente 5% desses tipos de reação foram fatais (LAZAROU; POMERANZ; COREY, 1998).

O levofloxacino, um fármaco antibacteriano da classe das fluoroquinolonas, é o isômero óptico S-(-) da ofloxacina. Possui atividade contra uma ampla variedade de microorganismos, incluindo aeróbios gram-positivos e gram-negativos, e apresenta atividade moderada contra anaeróbios (SARTINI et al., 2021). Por conta do seu amplo espectro, é utilizado no tratamento de diversas infecções, como as respiratórias, geniturinárias, obstétricas, ginecológicas, cutâneas, orais, de ouvido, nariz, garganta, enterais, do trato biliar e oculares (DAVIS et al., 1994). O levofloxacino está disponível no mercado nas formas farmacêuticas de comprimido, solução oral, solução oftálmica e preparação para aplicação intravenosa (GUPTA et al., 2010).

Como foi dito, o levofloxacino tem potencial para tratar diversas doenças infecciosas, porém seu uso na dose padrão por via oral pode resultar em efeitos colaterais, como distúrbios gastrointestinais e estimulação do sistema nervoso central (CARBON, 2001). Para minimizar esse problema, estudos sugerem que uma administração controlada do levofloxacino pode reduzir esses efeitos adversos, além de permitir uma redução na dose necessária do fármaco (VALIZADEH et al., 2021).

Nesse sentido, novas formas farmacêuticas estão sendo desenvolvidas para modificar as formas usuais do levofloxacino (comprimido, solução oral, colírio e

solução injetável). Diversas formas farmacêuticas com novas tecnologias de encapsulamento e liberação modificada estão sendo estudadas e desenvolvidas, dentre elas estão: microcapsulas, nanocapsulas, membranas produzidas por electrospinning, metal organic frameworks, soluções sólidas produzidas por impressão 3D, hidrogéis e nanopartículas (CARBÓ-LASO et al., 2018; GLOVER et al., 2023; WANG et al., 2016; YAN et al., 2021; ZHU et al., 2021).

As pesquisas referentes a produção de dispositivos com propriedades antimicrobianas por meio da impressão 3D tem sido objeto de intenso estudo nos últimos anos, impulsionada pela vasta gama de aplicações, que incluem tratamentos para regeneração de tecido ósseo, fabricação de curativos e produção de medicamentos sólidos para administração oral (LONG et al., 2016).

As técnicas de impressão 3D representam um conjunto de tecnologias desenvolvidas para a fabricação de objetos tridimensionais obtidos a partir da deposição de sucessivas camadas do material fundido de interesse sobre uma superfície de trabalho de uma impressora 3D, replicando o modelo de design, em um software associado a um computador (SHISHATSKAYA et al., 2023). Atualmente, métodos como a fabricação por deposição fundida (FDM), sinterização a laser seletiva (SLS), estereolitografia (SLA) e bioimpressão são amplamente empregados na impressão 3D para criar dispositivos em diversos campos dos Materiais (LAKKALA et al., 2023).

Para aplicações da impressão 3D na produção de formas farmacêuticas sólidas, é crucial contar com filamentos compósitos polímero/fármaco não convencionais, que incluam a substância ativa desejada. Geralmente, esses filamentos de impressão são de origem estrangeira e são fabricados por um número limitado de empresas especializadas (CARDOSO et al., 2023). Por essa razão, o desenvolvimento de filamentos de impressão 3D FDM que sejam funcionais e contenham fármacos ativos é uma área de pesquisa em aberto, tanto no meio acadêmico quanto na indústria.

A técnica de fabricação por deposição fundida (FDM) é notável por sua versatilidade e pela ampla gama de materiais disponíveis para diversas aplicações em Ciência e Tecnologia (KOLLAMARAM et al., 2018). Durante o processo de produção de uma peça tridimensional utilizando esta abordagem, um filamento sólido cilíndrico (geralmente composto por polímeros termoplásticos e/ou seus compósitos) com diâmetro milimétrico é aquecido a uma temperatura superior à sua temperatura de

transição vítrea no bocal de extrusão, tornando assim o material fluido. Ao manter um fluxo e temperatura de extrusão constantes, e com o movimento controlado do bico extrusor, é possível depositar camadas do material na superfície de trabalho da impressora de forma programada, até que a peça esteja totalmente formada (KANTAROS; GANETSOS; PETRESCU, 2023; SURINI; BIMAWANTI; KURNIAWAN, 2023).

A utilização da tecnologia de impressão 3D FDM também possibilita o desenvolvimento de dispositivos de liberação de antimicrobianos com melhor biodisponibilidade, permitindo a administração de doses menores do fármaco diretamente no local de ação (QUODBACH et al., 2022; TAN; MANIRUZZAMAN; NOKHODCHI, 2018). A utilização de polímeros adequados como álcool polivinil (PVA), ácido polilático (PLA), polietilenoglicol, celulose microcristalina (MCC), maltodextrina e Eudragit oferecem a flexibilidade de personalizar o perfil de liberação (como prolongada, rápida ou pulsada) e selecionar a solubilidade em um pH específico (SCIANCELEPORE et al., 2022). Apresentam uma grande diversidade de tipos sintéticos e naturais compatíveis com outros materiais químicos, biocompatíveis, biodegradáveis e com características mecânicas desejáveis (SURINI; BIMAWANTI; KURNIAWAN, 2023).

Em relação à pesquisa e desenvolvimento de polímeros alternativos e funcionais para liberação controlada de fármacos, é possível destacar o Eudragit® E 100 (E100), no qual a solubilidade depende do pH do meio. É um copolímero termoplástico acrílico sintético com boa resistência mecânica, biocompatível, biodegradável e seguro para administração oral humana (CHOUDHURY; MURTY; BANERJEE, 2021). Sua natureza catiônica contribui para a rápida solubilização somente em um ambiente gástrico ácido, com pH abaixo de 5,0 (CHOUDHURY; MURTY; BANERJEE, 2021).

Visando contribuições significativas neste campo de pesquisa, este estudo teve como objetivo preparar, caracterizar e avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* de filamentos de impressão 3D FDM pH-dependentes Eudragit® E100/levofloxacino com potencial para o desenvolvimento de dispositivos antimicrobianos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Resistência bacteriana

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2021), a resistência antimicrobiana tem sido reconhecida como uma das 10 maiores ameaças à saúde pública global que a humanidade está enfrentando. Estima-se que, até o ano de 2050, a resistência bacteriana causará 10 milhões de mortes todos os anos em todo o mundo (como comparação, por exemplo, 8,2 milhões de mortes são causadas anualmente por câncer) (O'NEILL, 2016).

A resistência aos antibióticos ocorre naturalmente nas bactérias e é anterior ao uso estimado dos antibióticos. Análises metagenômicas de DNA de sedimentos encontrados na camada de solo chamada de permafrost com 30.000 anos de idade encontraram, por exemplo, uma diversidade de genes que codificam resistência a antibióticos β -lactâmicos, tetraciclinas e glicopeptídeos (DCOSTA et al., 2011). A maioria dos antibióticos conhecidos e disponíveis no mercado são produzidos por microrganismos, e muitos organismos no ambiente, incluindo plantas e animais, que já produzem naturalmente substâncias antimicrobianas (HOLMES et al., 2016). A exposição a antimicrobianos faz a seleção de bactérias resistentes e impulsiona a propagação da resistência antimicrobiana (BASSETTI et al., 2022).

O uso excessivo de antibióticos nos setores médico, veterinário e agrícola é a principal causa do crescimento mundial da resistência bacteriana. A venda imprudente e uso indiscriminado de antibióticos sem receita médica, o saneamento inadequado e o descarte de antibióticos não metabolizados e seus resíduos através de fezes/estrupe e material de descarte industrial no ambiente agravaram o problema (SAMREEN et al., 2021).

O uso indevido e excessivo de antibióticos gera pressão seletiva não natural em ambientes clínicos e naturais que é extremamente prejudicial à saúde humana e animal (HOLMES et al., 2016). A evolução da resistência nas bactérias é um processo natural e ocorre geneticamente por mutação ou aquisição de novos genes de resistência através de mecanismos de troca genética, como demonstrado na figura 1 (DAVIES, 1996). Os antibióticos estimulam o mecanismo de resistência dos patógenos através da transferência horizontal de genes. No ano de 2017, a OMS relatou resistência às cefalosporinas de terceira geração, carbapenêmicos, clindamicina e ao antibiótico de último recurso vancomicina

(PFEIFER; CULLIK; WITTE, 2010).

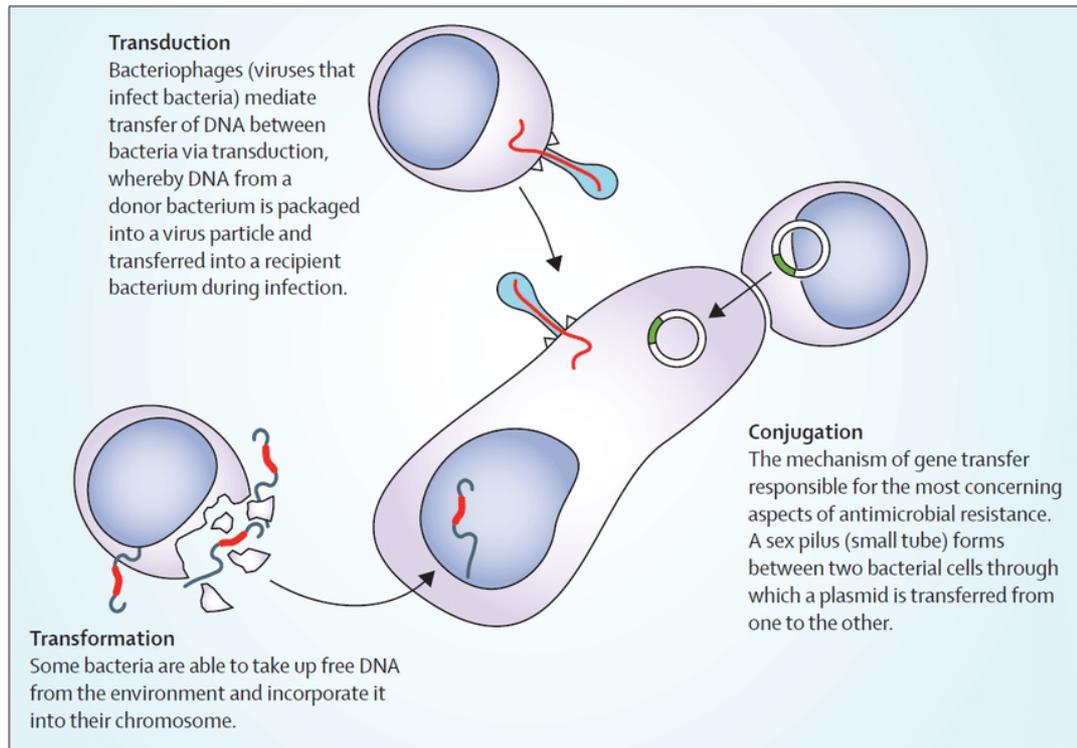


Figura 1: Mecanismos de transferência horizontal de genes entre organismos

Fonte: HOLMES et al. (2016)

O principal problema atual no tratamento de doenças infecciosas é o aumento da resistência bacteriana a muitos antibióticos. Desde que Alexander Fleming descobriu a penicilina no ano de 1928, os antimicrobianos continuaram a ser desenvolvidos numa velocidade normal, no entanto, a taxa de surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos é inversamente proporcional ao desenvolvimento de novas descobertas de antibióticos (SPELLBERG et al., 2008). Para enfrentar o desafio da resistência bacteriana, os pesquisadores estão buscando soluções para tratar doenças infecciosas de forma eficaz, utilizando os antibióticos já disponíveis. Isso implica em selecionar o antibiótico apropriado e determinar a dose correta para minimizar as falhas no tratamento dessas doenças (SIHOTANG; WIDODO; ENDRASWARI, 2022).

2.2 Reações adversas aos antimicrobianos

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define uma reação adversa a medicamento (RAM) como aquela que é “nociva e não intencional e ocorre em

doses usadas em homem para profilaxia, diagnóstico, terapia ou modificação de funções fisiológicas” (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1969). As reações adversas ao medicamento correspondem um grande risco a saúde humana, sendo uma das causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. São as doenças iatrogênicas mais comuns, complicando de 5 a 15% dos tratamentos medicamentosos (RIEDL; CASILLAS, 2003). Estima-se que cerca de 1 a cada 20 pacientes atendidos nos hospitais, apresentam algum tipo de RAM (SMITH et al., 1966). Os médicos e o público em geral acreditam que, para o paciente individual, os benefícios do uso imediato e contínuo de antimicrobianos superam qualquer possível dano potencial (ARULKUMARAN et al., 2020).

A qualquer momento, grandes quantidades de pacientes hospitalizados recebem agentes antimicrobianos, incluindo os pacientes em serviços especializados, como hematologia e as unidades de oncologia e de cuidados intensivos. Em algumas dessas unidades, até 70% dos pacientes recebem quantidades significativas de antimicrobianos (URBAN-CHMIEL et al., 2022). Os eventos adversos ao medicamento provavelmente ocorrem apenas em uma pequena proporção dos regimes de medicação; no entanto, os efeitos podem ser exacerbados, uma vez que os antimicrobianos são muito comuns (MILLAN; MUGGIA; OSTROWSKY, 2014). As reações adversas associadas aos medicamentos podem incluir alergias, toxicidades e efeitos colaterais (ZHU et al., 2022).

Os antimicrobianos estão associados a uma ampla gama de efeitos colaterais prejudiciais bem reconhecidos, incluindo hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e cardiotoxicidade, demonstrado na figura 2. Os diferentes mecanismos fisiopatológicos subjacentes a estas toxicidades não são completamente elucidados na literatura. A origem evolutiva comum entre mitocôndrias e bactérias sugere que os antimicrobianos podem afetar diretamente a função mitocondrial humana e podem contribuir para a disfunção mitocondrial e posterior falência de órgãos (ARULKUMARAN et al., 2020).

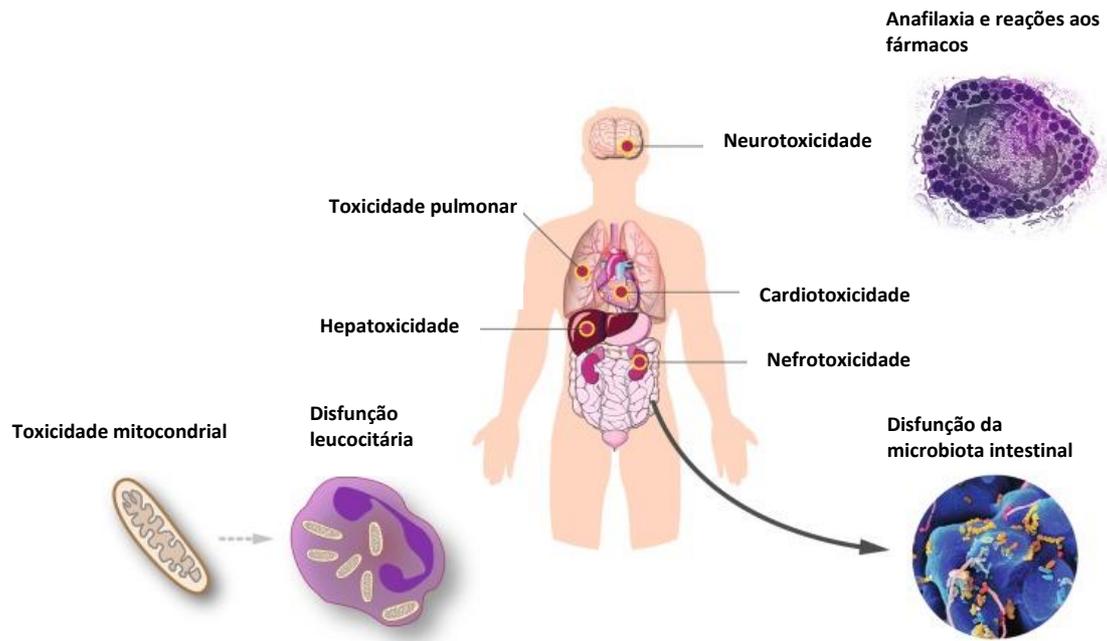


Figura 2: Resumo dos sistemas fisiológicos acometidos pelo uso de antimicrobianos

Adaptado de: ARULKUMARAN et al. (2020)

As reações dependentes da dose surgem das interações específicas entre antimicrobianos e células do corpo. Alguns tipos de antibióticos, como glicopeptídeos, aminoglicosídeos e polimixinas, podem aumentar o risco de danos nos rins em função da quantidade administrada. Por essa razão, o monitoramento terapêutico desses medicamentos é frequentemente recomendado para garantir sua segurança e eficácia. (JAGER et al., 2016). Embora outros tipos de antimicrobianos, como os beta-lactâmicos, também possam desencadear reações específicas nos órgãos, como neurotoxicidade associada a macrolídeos, o monitoramento regular não é comumente realizado para essas classes de medicamentos (BHATTACHARYYA et al., 2016). Fluoroquinolonas e macrolídeos levam a disritmias cardíacas através da interação com o canal de potássio de ativação rápida (I_{Kr}) (CORNETT et al., 2017).

As fluoroquinolonas podem causar toxicidade do colágeno, aumentando o risco de aneurismas da aorta e tendinopatia. Por outro lado, o sulfametoxazol-trimetoprima e a linezolida podem suprimir a medula óssea. Além dos efeitos diretos, os antimicrobianos também podem a concentração de outros medicamentos no sangue, seja através da ligação às proteínas plasmáticas ou ao influenciar o sistema metabólico do citocromo P450. Em pacientes gravemente enfermos, essas reações adversas podem ser negligenciadas ou mal interpretadas como parte da doença subjacente. (BHATTACHARYYA et al., 2016; CORNETT et al., 2017; JAGER et al., 2016).

O declínio normal da função renal nos idosos requer que as doses sejam reduzidas significativamente para os antimicrobianos excretados por via renal. Problemas renais tem um efeito importante nas reações adversas aos antibióticos, uma vez que a maioria dos medicamentos são excretados pelos rins e podem acumular-se em pacientes com insuficiência renal (IANNINI et al., 2006).

2.3 Levofloxacin

O levofloxacin (nome químico: (S)-9-Fluoro-2,3-di-hidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-oxo-7H-pirido[1,2,3-de ácido]-1,4-benzoxazina-6- carboxílico; massa molecular 361,37 g/mol é o isômero óptico S-(-) da ofloxacin com amplo espectro que abrange bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. É uma fluoroquinolona de terceira geração (Figura 3) (SITOVIS; SARTINI; GIORGI, 2021).

O mecanismo de ação depende da inibição de DNA girase (uma enzima necessária para a replicação, transcrição, reparo e recombinação do DNA) e a topoisomerase II e IV, inibindo assim a quebra de fitas simples nos cromossomos bacterianos. Isto impede a replicação e transcrição do DNA bacteriano, ocasionando um efeito bactericida. Comparando com as outras gerações das fluoroquinolonas, o levofloxacin apresenta maior ação contra bactérias Gram-positivas. O levofloxacin foi desenvolvido para aproveitar esta potência antimicrobiana, já que requer metade da dose habitual de ofloxacin para atingir eficácia semelhante, com perfil de toxicidade reduzido. (RAFAT; DEBRIX; HERTIG, 2013; SITOVIS; SARTINI; GIORGI, 2021).

O levofloxacin teve sua patente publicada em 1985 pela Daiichi Seiyaku Pharmaceutical Co. LTDA no Japão, mas só foi introduzida no mercado farmacêutico em 1993, quando foi produzida na forma de comprimidos orais sob a marca Cravit®. A Daiichi Sankyo celebrou um acordo de licenciamento com a Sanofi-Aventis também no ano de 1993, e o levofloxacin foi posteriormente comercializado e vendido com o nome comercial Tavanic®. Com a quebra da patente através de licença compulsória no ano de 2010, formulações genéricas e similares também ficaram disponíveis no mercado (SITOVIS; SARTINI; GIORGI, 2021).

O levofloxacin é rápido e quase completamente absorvido após administração oral, com biodisponibilidade de 100% e boa distribuição nos tecidos e líquidos corporais. Tem meia-vida de 9 a 16 horas com excreção majoritariamente renal e pode ser administrado em dose única diária com interações medicamentosas

limitadas (YE et al., 2014). Alguns autores forneceram evidências de que níveis mais baixos de concentração inibitória mínima podem talvez representar objetivos adequados, graças à impressionante concentração urinária de levofloxacin, em pacientes com normalidade da função renal (PRATTI et al., 2007; RAFAT; DEBRIX; HERTIG, 2013).

As indicações para o uso do levofloxacin na medicina humana incluem bronquite crônica, sinusite aguda, pneumonia nosocomial e adquirida na comunidade, prostatite, pielonefrite, infecções de pele, tecidos moles e infecções do trato urinário. O levofloxacin é um medicamento incluído na Lista de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2021). O espectro de ação do levofloxacin inclui bactérias aeróbicas gram-positivas, bactérias aeróbicas gram-negativas, algumas bactérias anaeróbicas e outros microrganismos, incluindo *Chlamydia* spp., *Mycoplasma* spp., e *Mycobacterium* spp (SITOV; SARTINI; GIORGI, 2021).

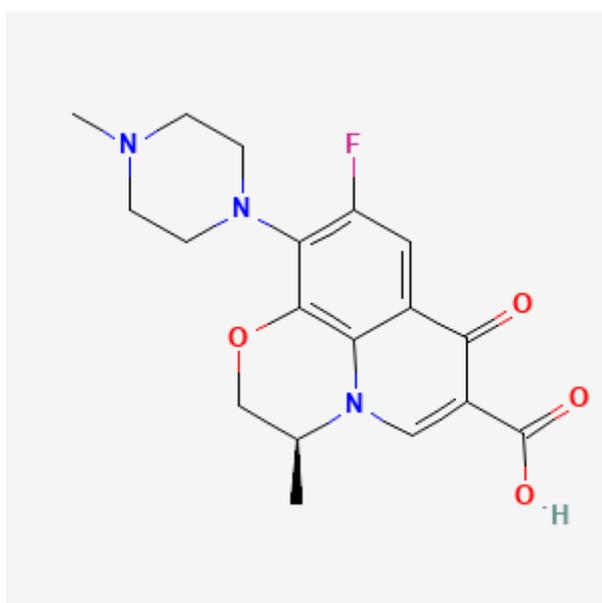


Figura 3: Estrutura 2D do levofloxacin

Identificador PubChem: CID 149096

URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levofloxacin#section=2D-Structure>

As concentrações urinárias do levofloxacin em voluntários saudáveis pode atingir níveis séricos superiores a 40 e 100 vezes na faixa padrão de doses de levofloxacin (250 - 1000 mg). A taxa de excreção renal do medicamento (> 80%) excede o do ciprofloxacin (30%) (WAGENLEHNER et al., 2006). Com isso, a depuração do levofloxacin diminui à medida que a função renal função diminui.

Portanto, uma depuração de creatinina < 50 ml/min exige uma modificação da dosagem (STEIN; SCHOOLEY; NICOLAU, 2008).

Os principais efeitos adversos do levofloxacino são os gastrointestinais (5%) (TOMÉ; FILIPE, 2011). Alterações do sistema nervoso central representam 0,2-1,1%. A bula do medicamento registra como efeitos neurotóxicos de levofloxacino: transtornos neurológicos (cefaleia, sonolência, insônia, tremor, confusão, convulsões, transtornos visuais e auditivos, transtornos do gosto e do olfato) e transtornos psiquiátricos (ansiedade, depressão, agitação, alucinações, reações psicóticas, incluindo ideias suicidas ou intenções de suicídio) (IGLESIAS-OTERO; PORTELA-ROMERO, 2016).

O mecanismo de neurotoxicidade da levofloxacino está relacionado à interação com neurotransmissores, por conta da sua semelhança estrutural com os agonistas gabaérgicos. As quinolonas atuam sobre a via inibitória do estímulo nervoso, antagonizando o receptor GABA-A do cérebro, evitando a união do neurotransmissor GABA com este receptor. Assim impedindo a ativação da via de inibição que abre canais de influxo de cloreto, inibindo a condução do impulso nervoso, prolongando a estimulação do SNC (PARDO-GARCÍA et al., 2013).

Esse mecanismo de neurotoxicidade ressalta a importância de desenvolver estratégias para garantir a segurança e eficácia no uso de medicamentos, especialmente aqueles que podem apresentar efeitos adversos significativos, como o levofloxacino. Nesse contexto, a tecnologia de impressão 3D surge como uma solução inovadora, permitindo não apenas a personalização de formas farmacêuticas para minimizar riscos, mas também o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada que podem contribuir para reduzir eventos adversos e melhorar a adesão ao tratamento.

2.4 Impressão 3D FDM

A tecnologia de impressão 3D foi utilizada pela primeira vez por Charles Hull no início da década de 1980 (VENTOLA, 2014). No ramo farmacêutico, surgiu como uma técnica promissora para a produção de formas farmacêuticas personalizadas. Apresenta muitas vantagens sobre as tecnologias farmacêuticas convencionais, incluindo dosagem personalizada de fármacos para pacientes individualizados e personalização da liberação do medicamento (ILIEVA et al., 2023).

É um processo de fabricação que cria um objeto tridimensional com deposição

camada por camada a partir de um modelo digital 3D pré-definido que pode ser gerado e modificado através de um software de design auxiliado por computador (CAD). Por mais que essa tecnologia tenha sido desenvolvida a partir de 1980, as impressoras 3D não estavam amplamente disponíveis comercialmente até o início de 2010, por conta da dificuldade de utilização e manuseio dessas impressoras (TAN; MANIRUZZAMAN; NOKHODCHI, 2018).

A modelagem por deposição fundida (FDM) é uma das tecnologias mais interessantes para a fabricação de medicamentos. Na impressão 3D FDM, filamentos (fios poliméricos) carregados de fármacos, são adicionados ao cabeçote de impressão da impressora 3D (Figura 4). Na cabeça de impressão, o filamento é aquecido e sofre extrusão através de um bico em uma base de impressão com temperatura controlada dependendo das características do filamento. Um sistema mecânico permite o movimento do cabeçote de impressão nas direções x, y e z respectivamente ao cabeçote de impressão, permitindo a deposição da matriz polímero-fármaco em camadas até que a forma farmacêutica seja completamente impressa.

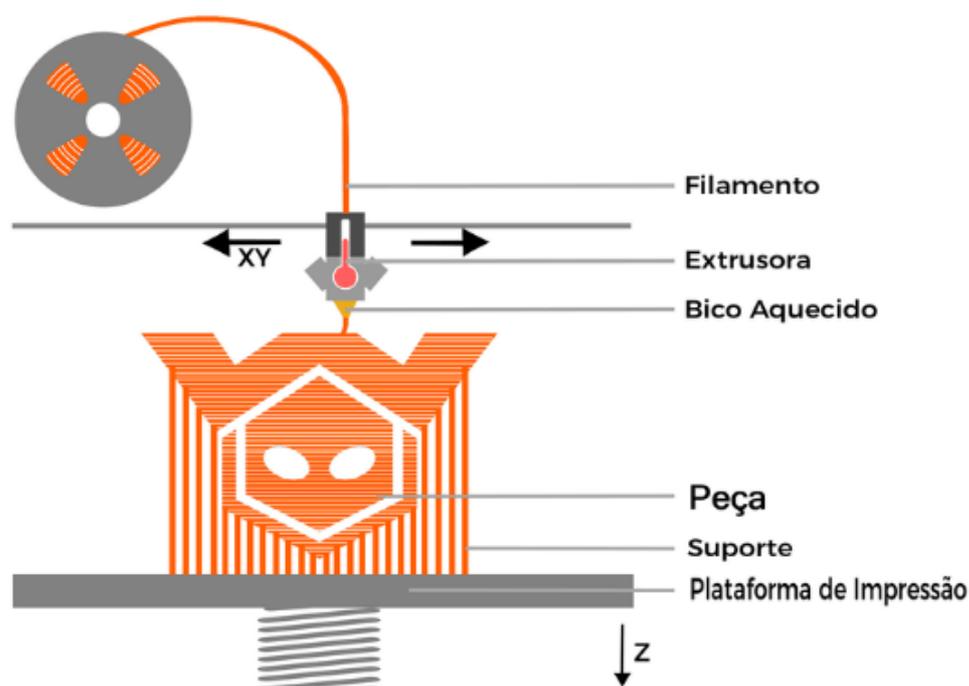


Figura 4: Ilustração da impressora 3D FDM

Fonte: CALDEIRA, Diego de Oliveira., 2021

A cinética de liberação das formas farmacêuticas impressas utilizando a técnica de impressão 3D FDM depende das propriedades do polímero utilizado, da forma geométrica do objeto impresso e da porcentagem de preenchimento do polímero (ALHNAN et al., 2016). A carga do fármaco presente na matriz polimérica pode influenciar diretamente na liberação do fármaco. O princípio da tecnologia FDM é a deposição de porções do polímero escolhido derretido de um filamento em uma placa de impressão, criando uma camada do objeto a ser impresso. A placa então desce e outra camada é depositada. Com a repetição dessas etapas camada por camada se obtém o filamento final contendo o fármaco (GOYANES et al., 2014).

A impressão 3D FDM oferece a possibilidade de fabricar comprimidos, incluindo a tecnologia de liberação modificada. As formas farmacêuticas de liberação modificada são formulações nas quais as características de liberação do medicamento em termos de tempo e/ou localização são escolhidas para atingir objetivos terapêuticos com uma dose menor de fármaco do que as formas farmacêuticas convencionais. Podem se apresentar na forma de liberação retardada (revestimento entérico, que liberam o fármaco em pH levemente básico) em que o medicamento é liberado de maneira gradual após a sua administração.

As formas farmacêuticas entéricas de uso oral (formulações gastrorresistentes) são utilizadas para evitar a liberação do medicamento no estômago e permitir a liberação nas regiões inferiores do trato gastrointestinal. Os polímeros entéricos são compostos por materiais sintéticos ou semissintéticos sensíveis ao pH contendo grupos de ácido carboxílico ionizáveis que não se ionizam nas condições de baixo pH do estômago, mas se tornam ionizados no ambiente de pH mais elevado do intestino delgado ou grosso, permitindo assim que o revestimento se dissolva e o medicamento seja liberado (GOYANES et al., 2017; LIU et al., 2009).

A técnica de impressão FDM apresenta alguns desafios na produção de formas farmacêuticas sólidas personalizadas. Primeiramente, o processo de extrusão por fusão a quente (HME) é necessário como uma etapa complementar para produzir filamentos personalizados usados como material de impressão. Pode ser usado para melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade de ingredientes farmacêuticos ativos pouco solúveis em água, e o desenvolvimento de sistemas de liberação modificada e direcionada de medicamentos (DIGKAS et al., 2023).

Em segundo lugar, o material fundido requer uma baixa viscosidade de fusão na temperatura de impressão, tendo assim a necessidade do uso de materiais com

característica termoplástica, o que a maioria dos polímeros de qualidade farmacêutica não são (TIWARI; PATIL; REPKA, 2016). Em terceiro lugar, os filamentos FDM requerem boas propriedades mecânicas e reológicas distintas para construir com precisão um objeto impresso em 3D. Essas dificuldades mencionadas podem ser ultrapassadas através da seleção de polímeros adequados (OLADEJI et al., 2022).

Os filamentos são fabricados em uma etapa de extrusão por fusão a quente (HME), que normalmente é realizada industrialmente devido ao maquinário, ambiente controlado e ao entendimento sobre o funcionamento do processo. Esse processo sendo desenvolvido na escala industrial resulta em duas vantagens principais. Uma formulação adequadamente desenvolvida e um processo de extrusão por fusão a quente resultam em um intermediário de alta qualidade que passa por testes de qualidade adequados. Os ingredientes farmacêuticos ativos (IFAs) estão ligados diretamente a matriz polimérica dentro do filamento, reduzindo o risco de exposição ao medicamento para o operador da impressora. A combinação destas vantagens torna a FDM a candidata mais promissora para a fabricação de medicamentos também em ambientes não industriais, por exemplo, hospitais, farmácias de manipulação e farmácias comunitárias (AITA; BREITKREUTZ; QUODBACH, 2020; CARDOSO et al., 2023; QUODBACH et al., 2022).

Nos últimos anos, a impressão 3D tem ganhado muito interesse na indústria farmacêutica, especialmente para a produção de formas farmacêuticas orais e sistemas de administração de medicamentos (TAN; MANIRUZZAMAN; NOKHODCHI, 2018). Ganha destaque também, por oferecer uma variedade de geometrias e permitir a preparação de formulações com novos materiais funcionais (CARDOSO et al., 2023). Os medicamentos produzidos através da impressora 3D apresentam alta estabilidade microbiana, boa estabilidade química e física, permitem propriedades de liberação controlada e demonstram alta precisão de dosagem (KLINGMANN et al., 2013).

As formas farmacêuticas são impressas camada por camada em um formato predefinido em um software de desenho auxiliado por computador (CAD). Em teoria, todos os tamanhos e formatos imagináveis podem ser impressos. Uma consequência direta desta abordagem é a capacidade de modificar a dosagem de forma simples e conveniente, cuja falta é amplamente reconhecida como um grande obstáculo principalmente na terapia pediátrica (BREITKREUTZ; BOOS, 2007; QUODBACH et al., 2022).

A aplicação de polímeros termoplásticos e biocompatíveis no desenvolvimento farmacêutico de produtos impressos em 3D via FDM tem recebido um maior interesse pelos pesquisadores. Muitos requisitos de materiais precisam ser atendidos pelo polímero a ser utilizado para essas aplicações, como um perfil mecânico adequado devido a “compressão” desses filamentos entre as duas engrenagens de alimentação no cabeçote de impressão, pois um filamento frágil resultaria numa impressão malsucedida (BANDARI et al., 2021; KORTE; QUODBACH, 2018).

2.5 Hot-Melt Extrusion (HME)

A tecnologia Hot-Melt Extrusion (HME) foi criada no início da década de 1930 e foi originalmente usada para a fabricação de plásticos e produtos de borracha (ZHANG et al., 2017). Essa tecnologia é utilizada para produzir os filamentos necessários para uso em impressoras 3D FDM. Nos últimos anos, esta tecnologia tem ganhado muito interesse na indústria farmacêutica, especialmente para a produção de formas farmacêuticas orais e sistemas de liberação controlada de medicamentos (TAN; MANIRUZZAMAN; NOKHODCHI, 2018).

É um dos métodos preferidos no desenvolvimento de dispersões sólidas farmacêuticas. Isso ocorre porque a tecnologia pode gerar extrudados/grânulos com propriedades favoráveis. É isento do uso de solventes orgânicos e adequado para processamento contínuo. Também podem produzir filamentos carregados de drogas adequados para impressão 3D. No processo HME, ingredientes farmacêuticos ativos (IFAs) são misturados com um polímero termoplástico e depois extrudados como filamentos que são utilizados posteriormente na impressão 3D (TAN; MANIRUZZAMAN; NOKHODCHI, 2018; ZHANG et al., 2017).

É um processo contínuo no qual calor e pressão são aplicados simultaneamente para derreter ou amolecer materiais através de um orifício para produzir novos produtos de formato e densidade uniformes. O processo de extrusão pode alterar as propriedades físicas de uma substância quando uma passagem é forçada através de um orifício ou matriz na extrusora sob condições controladas (PATIL; TIWARI; REPKA, 2016). O principal componente do HME é a máquina extrusora (Figura 5). Os elementos básicos montados para fazer uma extrusora incluem um motor, um cilindro de extrusão, parafusos giratórios no cilindro e uma matriz ou orifício que é conectado na extremidade da extrusora. A extrusora contém aquecedores que fornecem calor para a fusão ou amolecimento dos materiais.

Os parafusos da extrusora podem proporcionar tensão de cisalhamento e mistura intensa dos materiais (PATIL; TIWARI; REPKA, 2016). O atrito criado pelos parafusos no cilindro e o calor fornecido fazem com que o material polimérico derreta. O parafuso então transporta o material derretido pelo cano. A extrusora é controlada através de um controle elétrico central, que está conectado diretamente à unidade de extrusão. Alguns dos parâmetros de processamento que podem ser controlados são a velocidade da rosca em rotações por minuto (RPM), a taxa de alimentação, a temperatura ao longo do cilindro e da matriz e o nível de vácuo para desvolatilização (PATIL; TIWARI; REPKA, 2016; TAN; MANIRUZZAMAN; NOKHODCHI, 2018).

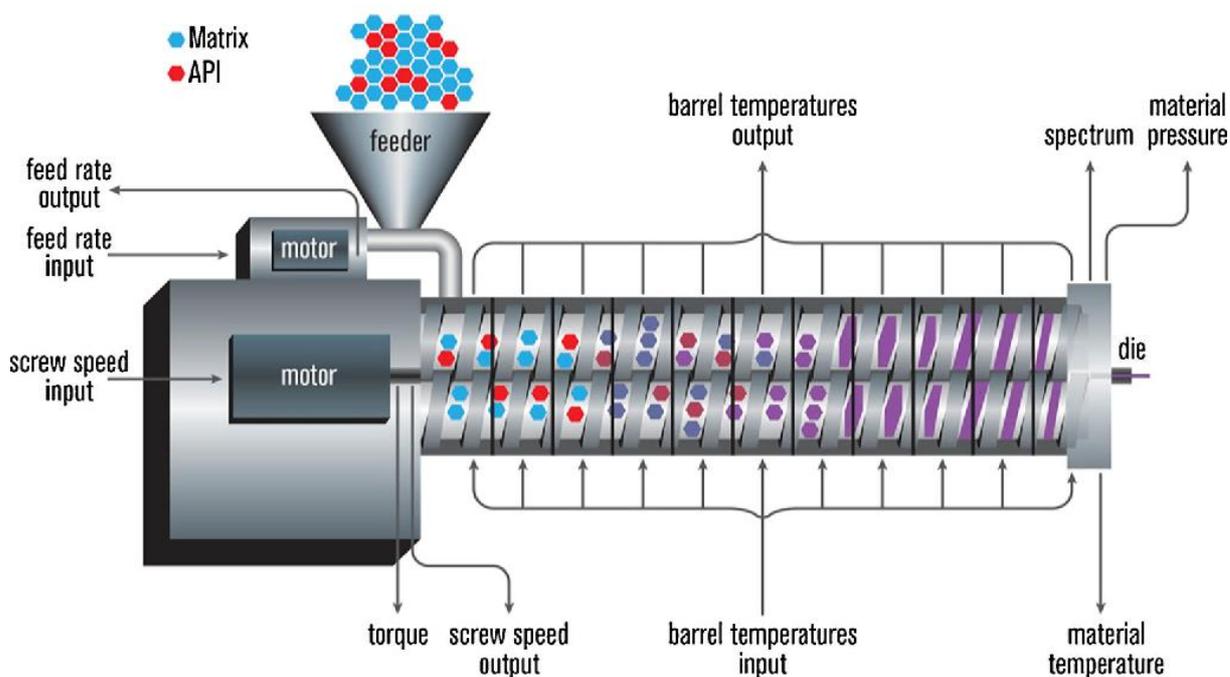


Figura 5: Extrusora Hot-melt

Fonte: PATIL; TIWARI; REPKA, 2016

O número de patentes utilizando a técnica HME emitidas com finalidades farmacêuticas aumentou desde a década de 1980 (REPKA et al., 2008). Isso ocorre porque o processo HME é capaz de atender as boas práticas de fabricação de formas farmacêuticas por possuir grande flexibilidade e uso amplo, principalmente para a crescente demanda por medicamentos personalizados (TAN; MANIRUZZAMAN; NOKHODCHI, 2018).

2.6 Eudragit® E100

Eudragit® E100 é um copolímero catiônico à base de metacrilato de dimetilaminoetila e ésteres metacrílicos neutros cuja massa molecular média é 135,0000. Eudragit é uma marca comercializada pela Evonik Technologies Germany. É utilizado em grande escala na indústria farmacêutica para revestimento e administração de medicamentos. Apresenta um comportamento pH dependente como polibase fraca devido às grandes quantidades de grupos amino em suas cadeias. A solubilidade desse polímero em meio aquoso depende de variáveis como pH, temperatura e força iônica do meio dissolvente (BOERIS et al., 2009).

Este polímero tem sido amplamente reconhecido como uma matriz polimérica eficaz para proteger substâncias ativas e disfarçar o sabor e o odor de medicamentos, o que torna sua utilização conveniente em situações em que essas características são indesejáveis para o usuário (CHOUDHURY; MURTY; BANERJEE, 2021). O E100 é um polímero solúvel no fluido gástrico e intumesciente em pH inferior a 5,0. Possui baixa viscosidade e alta fixação de pigmentos, podendo ser aplicado em diversas formas farmacêuticas (BHATT et al., 2021).

As várias concentrações de grupos não ionizados e ionizados ao longo da estrutura destes copolímeros geralmente controlam o seu funcionamento. O pH do meio também tem a capacidade de controlar a taxa de liberação já que o E100 se comporta como um transportador de liberação retardada com medicamentos contendo grupos de ácido carboxílico na composição e dispersos em água, mas aumenta a taxa de entrega em soluções salina que simulam fluidos biológicos (GUZMÁN; MANZO; OLIVERA, 2012). Eles são normalmente utilizados como agentes de revestimento em comprimidos orais, bem como em formulações de cápsulas para proteção e atua nas formas farmacêuticas de liberação modificada. Nas técnicas de granulação úmida orgânica e aquosa, os polímeros Eudragit são usados como agentes aglutinantes (NIKAM et al., 2023). Além disso, sua relevância em formulações de liberação controlada é evidente, pois esse polímero tem a capacidade de aumentar a taxa de dissolução e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água, ao mesmo tempo em que melhora a estabilidade física de dispersões sólidas amorfas (CARDOSO et al., 2023).

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

O polímero Eudragit® E100 (Indústrias Evonik) e o antimicrobiano sintético Levofloxacino hemi-hidratado ($C_{18}H_{20}FN_3O_4 \cdot 0.5H_2O$, MM= 370,38, Sigma Aldrich) foram usados como recebidos para a preparação das amostras de filamentos estudadas. Todos os tampões utilizados no estudo foram baseados nas formulações descritas na Farmacopeia Brasileira, 6ª edição. Foram preparados o tampão ácido clorídrico (pH 1,2) e o tampão fosfato (pH 7,2). Para a regulação do pH, foram utilizadas soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio, com o ajuste realizado conforme necessário, após a calibração do pHmetro com padrões de pH 4,0, 7,0 e 10,0.

3.2 Preparação das amostras para o processo de extrusão

Dois tipos de amostras de filamentos híbridos E100/Levofloxacino para o processo de extrusão a quente foram preparadas misturando mecanicamente: baixa concentração de levofloxacino (80mg) e alta concentração de levofloxacino (240mg) com 24 g do polímero dependente de pH E100, sem reagentes aditivos, até completa homogeneização de cada mistura. Filamentos de Eudragit® E100 sem fármaco (vazio) também foram preparados e utilizados nos experimentos como amostra de controle para fins de comparação de resultados.

3.3 Produção de filamentos

Os filamentos foram produzidos por meio de um processo de extrusão por fusão a quente, seguido de um processo de protonação superficial do material resultante. Para o processo de extrusão foi utilizada uma miniextrusora (Figura 6) (Filmaq3D®) com as seguintes características: reservatório metálico cilíndrico medindo 25 cm de comprimento e diâmetro interno de 1,5 cm; fuso transportador galvanizado; Bocal extrusor de 1,75 mm; velocidade de extrusão de 40 cm min^{-1} ; e posição vertical.

A temperatura do sistema de extrusão foi fixada em 130°C e mantida inalterada por 1 hora. Em seguida, cada mistura preparada foi sucessivamente depositada dentro do reservatório metálico aquecido e mantida nessa temperatura por 10 minutos, para que a transferência de calor do tubo para o material ocorresse

de maneira uniforme e adequada. Em seguida, foi acionado o fuso que transporta os materiais dentro do tubo, promovendo assim a extrusão dos filamentos cilíndricos através do bocal extrusor.

Os filamentos produzidos foram coletados e armazenados em carretéis plásticos circulares (15 cm de diâmetro e 25 mm de espessura). Para o processo químico de protonação das cadeias poliméricas E100, os filamentos dispostos nos carretéis circulares foram colocados em uma caixa plástica cúbica fechada com dimensões $30 \times 40 \times 30 \text{ cm}^3$, que estava diretamente conectada à saída de um umidificador de ar convencional. Através desse processo, cada filamento recebeu do aparelho o vapor (60% de umidade relativa) de uma solução preparada com 6,8 g de fosfato de potássio e 77 mL de hidróxido de sódio 0,2 M, em 1000 mL de água deionizada ($\text{pH} = 6,5 \pm 0,1$), durante 60 minutos. Após o tratamento químico, as amostras foram secas em temperatura ambiente por 24 horas antes de iniciar os testes.

Esses filamentos também foram fundidos a 120°C por 3 min e moldados na forma de discos circulares, simulando um novo processo de aquecimento do material, que seria executado em impressoras 3D FDM para imprimir peças personalizadas. Essas amostras de filamento fundido também foram utilizadas para a realização dos testes antibacterianos.



Figura 6: (A) Bocal extrusor de 1,75mm (B) Miniextrusora Filmaq 3D

3.4 Caracterização microestrutural

A microestrutura dos materiais foi analisada usando (I) Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (aparelho Vega 3XM Tescan, equipado com detector de energia dispersiva de raios X (EDX), tensão de aceleração de 10–20 kV). Para a realização dos experimentos, as amostras foram recobertas por sputtering com uma camada de ouro (dispositivo Q150R ES Quorum[®]), com taxa de 5 nm min⁻¹, por 15 min. Os filamentos compósitos produzidos também foram investigados a partir das técnicas de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e por Difração de Raios-X (DRX).

3.5 Análise térmica

O comportamento térmico dos filamentos produzidos foi analisado por

Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), utilizando um aparelho DSC-60 Plus, na faixa de 30° a 300° C, com ciclos de aquecimento e resfriamento na faixa de temperaturas de trabalho dos filamentos, sob atmosfera dinâmica de ar e de nitrogênio. O fluxo de nitrogênio foi fixado em 50 mL/min⁻¹. O equipamento foi previamente calibrado para temperatura utilizando como padrões os pontos de fusão de índio (156,4 °C) e zinco (419,5 °C) metálicos, com pureza de 99,99%.

3.6 Testes mecânicos de flexão

O ensaio de resistência mecânica dos filamentos aos esforços de flexão foi realizado em Máquina Universal de Ensaios EMIC DL 10.000, equipada com célula de carga com capacidade de 500 N. Os experimentos foram conduzidos em triplicata, utilizando filamentos cilíndricos como corpos de prova. A distância entre os pontos de apoio dos corpos de prova utilizados nos ensaios foi de 40 mm e a velocidade da célula de carga para avaliação das amostras foi regulada para 10 mm min⁻¹, de acordo com a norma ASTM D790 para hastes semirrígidas/rígidas de materiais poliméricos. Os resultados foram dados em termos do módulo de elasticidade (E) das amostras (em Mpa) retornados no experimento.

3.7 Ensaio de cinética de liberação *in vitro*

Os perfis de liberação *in vitro* dos filamentos contendo fármaco foram avaliados em soluções de fluidos gastrointestinais simulados (em pH 1,2 e 7,2, respectivamente), de acordo com o procedimento estabelecido pelo Formulário Nacional da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP-NF-Reagents) do ano de 2024. Assim, 100 mL de cada solução foram dispostos em béqueres de 250 mL e mantidos em banho-maria a 37 °C, com agitação constante de 100 rpm. Posteriormente, amostras de cada filamento compósito foram imersos nas soluções para análise da variação temporal da concentração do fármaco no meio (em triplicatas). Em seguida, alíquotas de 2 mL de cada solução foram retiradas do béquer em intervalos de tempo fixos para determinar as variações de intensidade no pico de absorção do levofloxacino ($\lambda = 283$ nm) em espectrofotômetro UV-vis DR5000. Os dados de absorbância foram convertidos em concentração relativa do fármaco em solução $((C_t - C_0)/C_0)$, onde C_0 e C_t representam as concentrações inicial e no tempo t , respectivamente) a partir da respectiva curva de calibração do fármaco.

3.8 Avaliação da atividade antibacteriana dos filamentos

A avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* dos filamentos, foi realizado pelo método de difusão em meio sólido de ágar Mueller-Hinton, com modificações (BAUER, A. W. et al. Am. J. Clin Pathol. 45: 493-496, 1996) frente as cepas bacterianas gram positivas: *Enterococcus faecalis* (ATCC29212); *Streptococcus agalactiae* (ATCC12386); *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) e gram negativas: *Acinetobacter baumannii* (ATCC17978); *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883); *Serratia marcescens* (ATCC13880) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27583) obtidas do laboratório de análises clínicas do Hospital universitário da Universidade Federal do Vale do São Francisco. Neste ensaio, os filamentos foram utilizados tanto em sua forma íntegra quanto fundidos a 120°C, com o objetivo de demonstrar que o aumento de temperatura e a consequente alteração conformacional não impactariam significativamente na liberação do fármaco, nem na atividade antibacteriana dos filamentos contendo levofloxacino.

Com o auxílio de uma alça bacteriológica estéril, as amostras bacterianas foram cultivadas em tubos de vidro com tampa (13x100 mm) contendo caldo nutritivo Brain Heart Infusion (BHI), e incubada em estufa a 37 °C por 24h, até atingirem turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala McFarland (equivalente a aproximadamente 1×10^8 UFC/ml), utilizando um turbidímetro digital. Em seguida, as cepas bacterianas foram semeadas em meio de cultura Ágar Mueller-Hinton, a partir da distribuição homogênea dos microorganismos sobre a superfície de placas de petri utilizando a técnica de espalhamento, com auxílio de um swab estéril.

As amostras de filamentos (ou soluções sólidas farmacêuticas) nas diferentes concentrações de levofloxacino foram esterilizadas por radiação ultravioleta (UV) por 2 horas e distribuídas nas placas de Petri. Os filamentos em sua forma integral foram previamente pesados antes de serem adicionados nas placas de ágar Mueller Hinton contendo as bactérias. Os filamentos de baixa concentração (0,3% p/p) e de alta concentração (1% p/p) foram utilizados como grupo teste. A amostra de filamento sem fármaco, foi usada como controle negativo por se tratar de material sem ação antibacteriana. Os ensaios foram realizados em triplicata, e a quantificação das áreas dos halos de inibição (em mm²) foi expressa como média \pm desvio padrão da média.

3.9 Análise estatística

O diâmetro do filamento calculado é a média (\pm desvio padrão) de trinta medições independentes, para cada configuração de amostra. Esses valores foram obtidos a partir de micrografias de MEV, utilizando o software ImageJ v. 1.53t. As análises estatísticas inferenciais (testes de normalidade e igualdade de médias) foram realizadas com nível de significância (α) de 0,05 e comparadas com o valor de p obtido por meio desses testes. Para p -valor $> \alpha$, são aceitas as hipóteses de normalidade e igualdade de médias. Os dados numéricos obtidos foram expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m.). Os valores foram comparados estatisticamente pela análise de variância de duas vias (ANOVA two-way) com pós-teste de Tukey, com o auxílio do programa Graph-Pad Prism© versão 8.0, sendo as diferenças entre as médias consideradas significantes quando o valor calculado de p foi menor que 0,05.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção dos filamentos E100/fármaco

Em uma primeira análise dos resultados, é importante destacar que os filamentos compósitos E100/levofloxacino desenvolvidos foram produzidos com sucesso. A produção dos filamentos E100/levofloxacino sem aditivos plastificantes e/ou de enxerto foi possível a partir da utilização de uma máquina extrusora com dimensões miniaturizadas para o comprimento e diâmetro do reservatório/ canal cilíndrico metálico que comporta o material polimérico.

Na configuração da miniextrusora, é possível destacar a engrenagem de rosca infinita com tratamento superficial de cromagem, bem como o diâmetro do bocal extrusor menor que o usual (1,5 mm) por onde o filamento ganha sua forma cilíndrica final. Com um canal menor e com a rosca cromada em seu interior, o gradiente de temperatura ao longo do reservatório, antes gerado pelo aquecimento apenas da extremidade do tubo em extrusoras usuais, foi diminuído.

Isso refletiu diretamente em uma condução de calor mais homogênea pelo material no interior do tubo, o que permitiu utilizar uma temperatura de extrusão de 130 °C, diminuindo a expansão do polímero que é observada em temperaturas de extrusão mais elevadas. Além disso, a utilização de um bocal com diâmetro de 1,5 mm fez com que a expansão natural do polímero E100 nessa temperatura na saída do bico extrusor fosse suficiente para atingir o tamanho de uso do filamento nas impressoras convencionais.

Imagens das amostras dos filamentos compósitos E100/levo (0,3% p/p) e E100/levo (1,0% p/p) produzidos a partir do processo de extrusão a quente são mostradas na Figura 7. A quantidade de material utilizada na etapa de preparação resultou em uma produção de aproximadamente 3,5 m de filamento contínuo para cada modelo E100/levo, sem perda de material durante o processo de extrusão a quente.

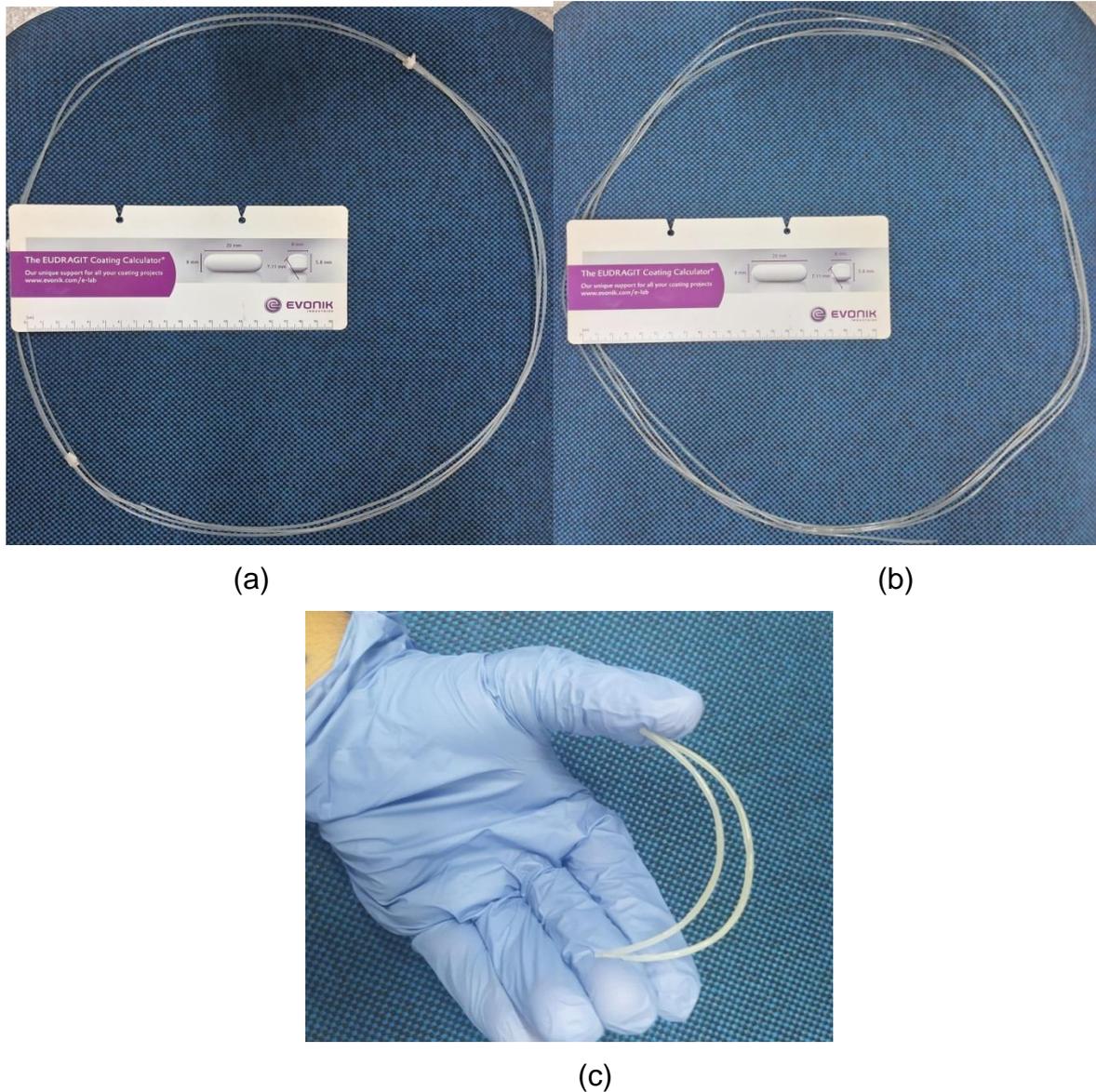


Figura 7: Amostras de filamentos contínuos (a) E100/levo 0,3%p/p (à esquerda) e (b) E100/levo 1%p/p (à direita) produzidos a partir do processo de extrusão a quente; (c) Filamentos E100/Levo 0,3%p/p e E100/Levo 1%p/p sob flexão.

De fato, a análise mecânica de flexão dos filamentos contendo fármacos retornou um módulo de elasticidade $E = (353 \pm 65) \text{ Mpa}$ e $E = (331 \pm 53) \text{ MPa}$ para os filamentos E100/levo 0,3%p/p e E100/levo 1%p/p sem tratamento químico, respectivamente. Após o tratamento químico, os módulos de elasticidade dos filamentos diminuíram para $E = 175 \pm 34 \text{ Mpa}$ (E100/levo (0,3% p/p)) e $E = 168 \pm 49 \text{ Mpa}$ (E100/levo (1,0% p/p)), indicando a melhoria da flexibilidade dos materiais para a aplicação que se destinam. É importante destacar que esses filamentos são usados em impressoras 3D convencionais, e a flexibilidade melhorada é um fator

importante para diminuir interrupções de impressão devido a quebras indesejadas do material no sistema de impressão.

De forma resumida, as melhorias notadas no processo de produção do filamento, a partir dos parâmetros de extrusão escolhidos incluíram: a redução do aspecto pegajoso do E100 (copolímero acrílico) dentro do tubo, que seria observado em temperaturas de extrusão mais altas; a garantia da fluidez do polímero na extrusora; prevenção de uma expansão térmica considerável do filamento na saída do bico da máquina extrusora; e flexibilidade melhorada.

4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Na Figura 8 é apresentada uma micrografia obtida por MEV de uma amostra do antibiótico levofloxacino (como fornecido pelo fabricante). O antibiótico se apresenta como partículas cristalinas, com dimensões de dezenas de micrometros e geometria irregular. As partículas de levofloxacino apresentaram diâmetro médio da ordem de $65 \pm 14 \mu\text{m}$ ($n=105$).

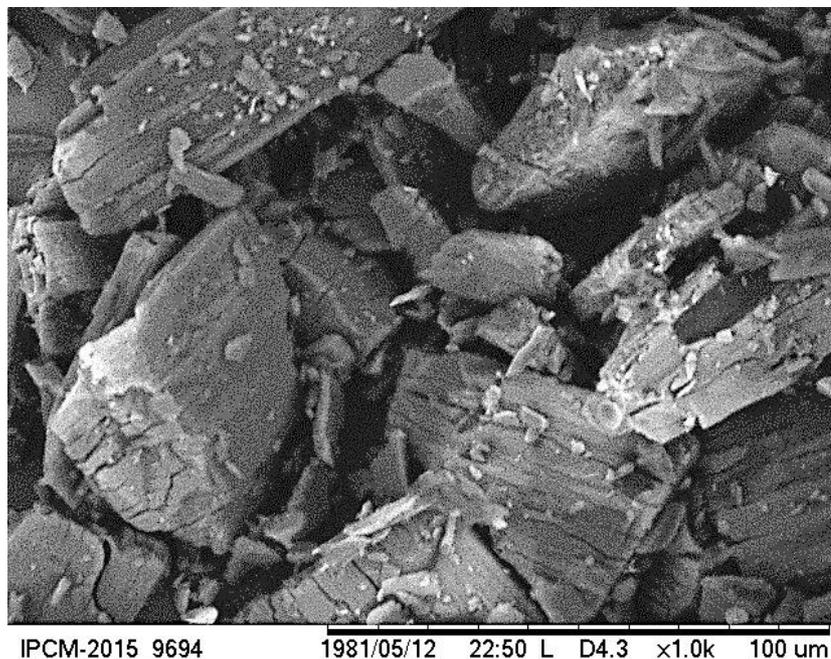


Figura 8: Micrografia obtida por MEV das partículas do antibiótico levofloxacino.

A figura 8 mostra a micrografia obtida por MEV das partículas de levofloxacino, com aproximação de 1.0K (barra de escala=100 μm). O filamento de E100 puro (controle negativo) apresentou superfície regular, sem defeitos estruturais aparentes

(como furos e grandes variações de diâmetro) que pudessem interferir negativamente na sua usabilidade (Figura 9). Esses filamentos apresentaram distribuição normal de diâmetros, com valor médio de $1,72 \pm 1,30$ mm ($n = 30$). Além disso, os filamentos E100/levo 0,3%p/p (Figura 10) e E100/levo 1%p/p (Figura 11) apresentaram características de superfície semelhantes à amostra de filamento E100 puro, com diâmetro médio de $1,70 \pm 1,53$ mm ($n = 30$) e $1,72 \pm 1,28$ mm ($n = 30$), respectivamente. Estes resultados indicam que a temperatura de extrusão para a produção dos filamentos E100/levofloxacino foi adequada, uma vez que temperaturas elevadas aplicadas ao processo de extrusão poderiam provocar o aparecimento de bolhas irreversíveis nos filamentos durante a sua solidificação e, conseqüentemente, resultar em descontinuidades geométricas.

O teste de hipótese de igualdade de médias realizado demonstrou que não há diferença significativa no diâmetro médio das seções transversais dos filamentos produzidos (nível de confiança de 95%), tanto para o filamento puro quanto para os filamentos contendo fármaco, tanto para a baixa concentração de fármaco (80mg) como para as altas concentrações (240mg). Isto indica que estes filamentos não apresentaram alterações significativas no volume por unidade de comprimento, após a introdução das quantidades variáveis do fármaco (alta e baixa concentração). Esta última análise se torna importante para o propósito final da pesquisa pois demonstra que a introdução do fármaco no volume da matriz polimérica do filamento não causa variações significativas em seu diâmetro, o que garante uma área superficial de ação constante a estes materiais. Assim, as concentrações de fármaco liberadas nos meios de pH 1,2 e 7,2 não recebem influência de variações na geometria do filamento.

Em outras palavras, a variação temporal nas concentrações de fármaco liberado nestes meios (disponíveis no volume do filamento) estará diretamente relacionada com a natureza pH dependente do polímero E100 e com a massa de fármaco disponível no volume do filamento (proporcional ao seu comprimento), uma vez que as outras variáveis do processo se mantêm constantes. Essa proporcionalidade e a distribuição homogênea dos fármacos nos filamentos são fatores importantes para a produção de formas farmacêuticas sólidas impressas com diferentes geometrias e com formulações replicáveis.

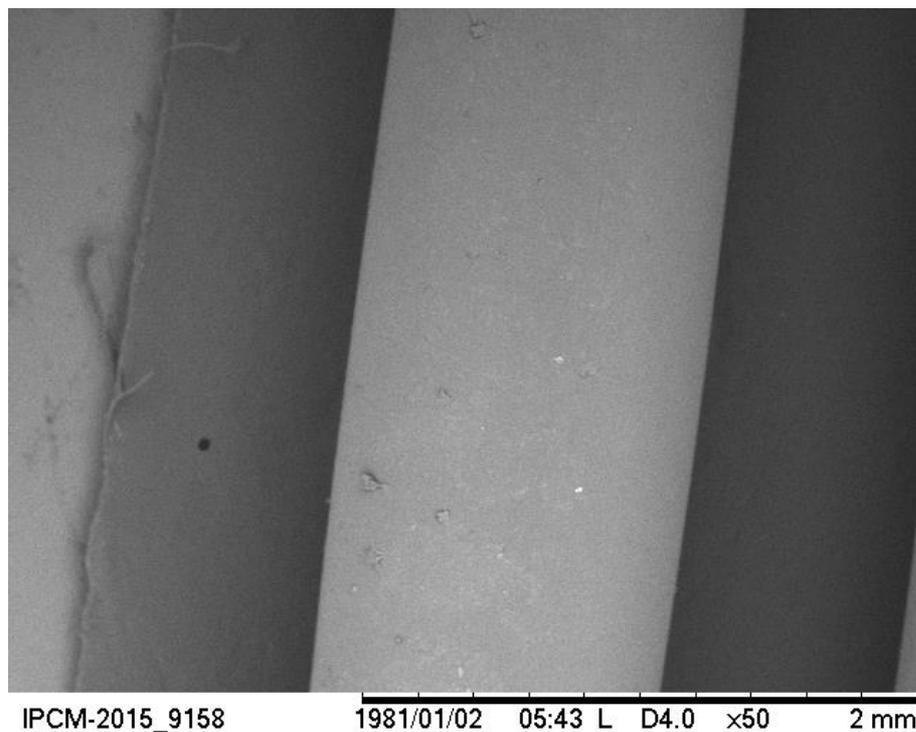


Figura 9: Micrografia obtida por MEV de amostra do filamento E100 puro.

A figura 9 mostra a micrografia obtida por MEV de amostra dos filamentos E100 sem fármaco (puros), com aproximação de 50x (barra de escala=2mm).

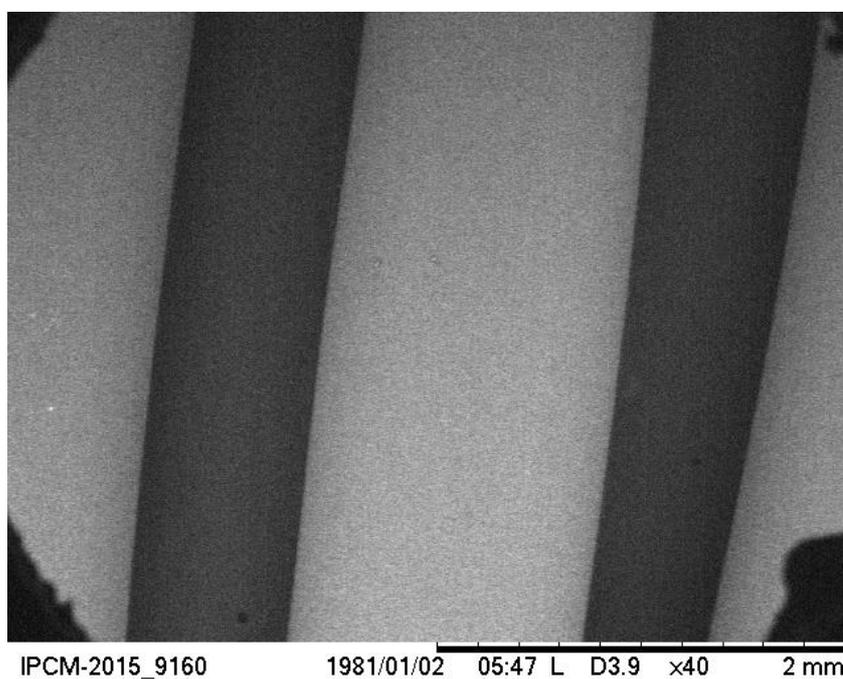


Figura 10: Micrografia obtida por MEV de amostra do filamento E100/levofloxacino 0,3%p/p.

A Figura 10 mostra a micrografia obtida por MEV de amostra dos filamentos E100/levofloxacino (baixa concentração), com aproximação de 40x (barra de escala=2mm).

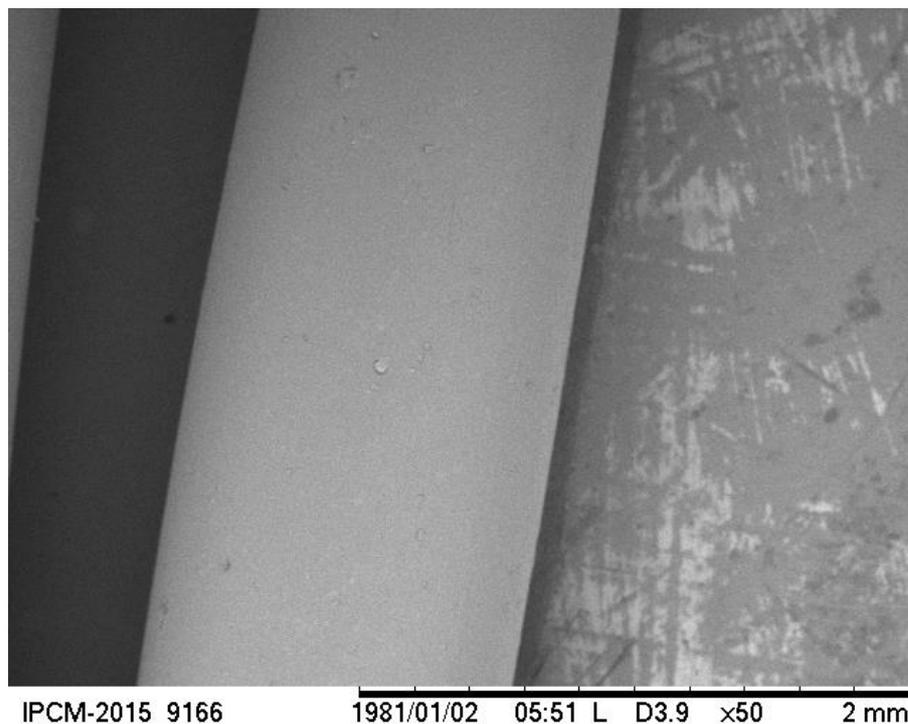


Figura 11 : Micrografia obtida por MEV de amostra dos filamentos E100/levofloxacino 1%p/p.

A Figura 11 mostra uma micrografia obtida por MEV dos filamentos E100/levofloxacino (alta concentração), com aproximação de 50x (barra de escala=2mm).

Em ambos os tipos de filamentos contendo levofloxacino, não foi possível detectar a presença do fármaco na superfície do material. Esse resultado sugere que o processo de extrusão foi eficaz para promover a dispersão uniforme do ativo na matriz polimérica de Eudragit® E100, garantindo sua incorporação adequada ao material.

4.3 Difração de raios-X (DRX)

A Figura 12 destaca o difratograma obtido para o levofloxacino puro e para amostras de filamentos E100, E100/levo 0,3%p/p e E100/levo 1%p/p. O espectro de DRX do levofloxacino confirmou a natureza cristalina do fármaco, associada à presença de seus picos de difração característicos na faixa de ângulos 2θ estudados (VOROBEL et al., 2023).

O espectro dos filamentos do tipo E100 mostrou um único pico largo, com deslocamento vertical da linha de base, em uma ampla faixa de 2θ entre 10-25°, como uma assinatura de uma matriz sólida amorfa. Este resultado está de acordo com os dados de DRX do polímero em sua forma original (WANG et al., 2022).

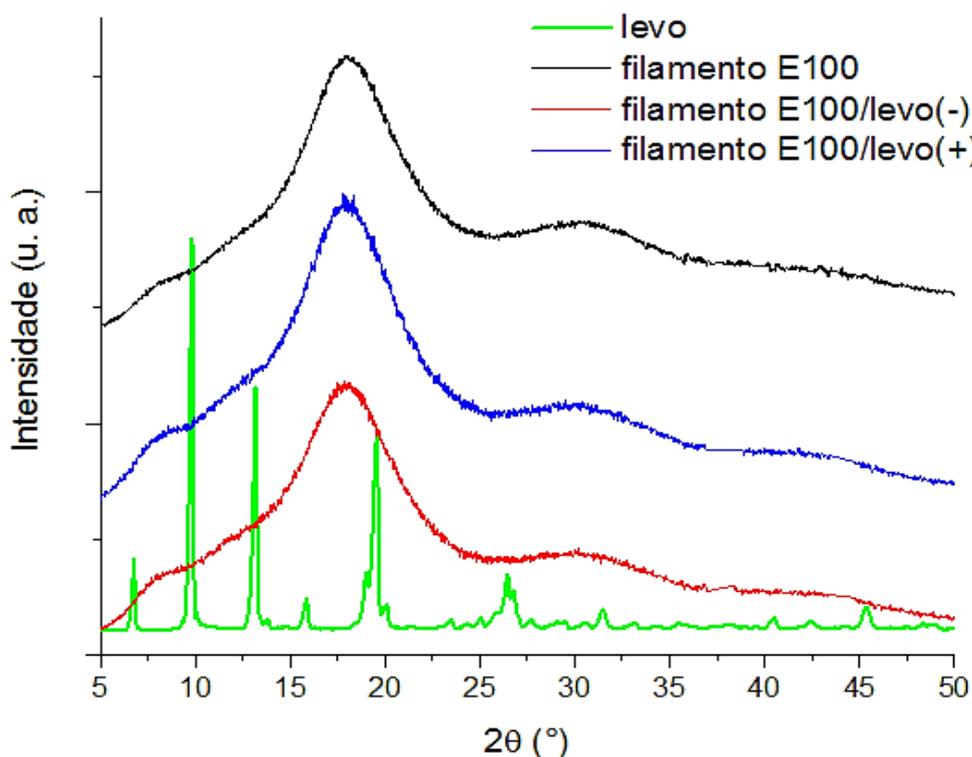


Figura 12: Padrões de difração de raios X característicos do fármaco levofloxacino (levo) e de amostras de filamentos E100, E100/levo 0,3%p/p e E100/levo 1%p/p.

Os espectros de DRX dos filamentos E100/levo mostraram características semelhantes, como mostrado na Figura 12. Os difratogramas das amostras de filamentos E100/levo 0,3%p/p e E100/levo 1%p/p mostram um pico largo na mesma região de ângulos 2θ observada para o filamento E100 puro, o que pode ser atribuído à predominância da fase polimérica nas amostras polímero/fármaco. Isso se deve ao uso de uma pequena quantidade de fármaco nas amostras e/ou à diminuição do grau de cristalinidade do fármaco devido à sua interação com a matriz polimérica.

De fato, é conhecido na literatura que uma porção das partículas micrométricas (conforme confirmado para o levofloxacino na análise SEM) de fármacos pouco solúveis em água tendem a se dissolver e diminuir de tamanho na interação com o polímero, aumentando a área de contato do fármaco. Esse comportamento é mencionado na literatura para dispersões sólidas de fármacos cristalinos em matrizes poliméricas como as de poli(vinilpirrolidona), quitosana, celulose microcristalina e poli(ácido láctico-co-ácido glicólico), todos visando facilitar a dissolução do fármaco no meio de interesse (GHOBASHY et al., 2020).

4.4 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As vibrações moleculares das amostras de filamentos foram estudadas por FTIR (Figura 13). O espectro do levofloxacino puro (conforme fornecido pelo fabricante) exibiu todas as suas bandas vibracionais características, em conformidade com dados da literatura (PAVIA et al., 2009). As principais bandas de vibração da molécula do fármaco foram detectadas no espectro em 3268 cm^{-1} , 1719 cm^{-1} , 1616 cm^{-1} e em 1538 cm^{-1} , relativas aos grupos $-\text{COOH}$, $-\text{COOH}$, $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}-\text{N}$, respectivamente (EL-ZAHABY et al., 2014a, 2014b; MOUZAN et al., 2011).

O espectro FTIR da amostra do filamento E100 mostrou as bandas típicas do copolímero em sua forma original, centradas em 2956 cm^{-1} (alongamento assimétrico da ligação $\text{C}-\text{H}$), 2875 cm^{-1} (alongamento simétrico da ligação $\text{C}-\text{H}$), 2820 cm^{-1} (alongamento assimétrico da ligação $\text{H}_3\text{C}-\text{N}-\text{CH}_3$), 2772 cm^{-1} (alongamento simétrico da ligação $\text{H}_3\text{C}-\text{N}-\text{CH}_3$), 1730 cm^{-1} (alongamento simétrico da ligação $\text{C}=\text{O}$ do grupo éster), 1460 cm^{-1} (alongamento assimétrico da ligação $\text{H}-\text{C}-\text{H}$), 1388 cm^{-1} (dobramento coplanar das ligações $\text{C}-\text{H}$) e 1150 cm^{-1} (alongamento assimétrico da ligação $\text{C}-\text{O}$ do grupo éster) (QUINTEROS et al., 2011; WANG et al., 2022; KHIZAR et al., 2020).

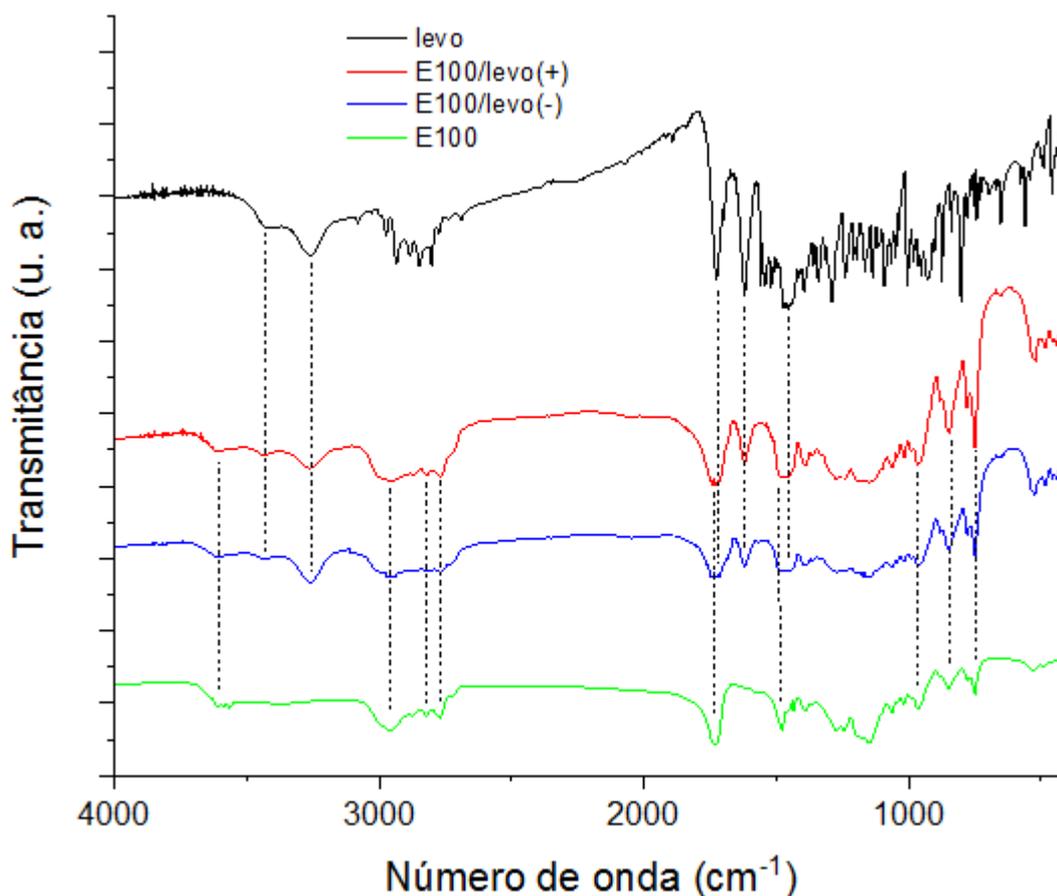


Figura 13: Espectro de FTIR do levofloxacino puro e dos filamentos E100 e E100/levo.

Além disso, os espectros de FTIR dos filamentos E100/levo 1%p/p e E100/levo 0,3%p/p apresentam bandas de vibração molecular em toda a faixa de número de onda de interesse (sem diferenças significativas). Seja usando uma concentração alta ou baixa do fármaco disperso na matriz polimérica, é possível diferenciar a presença de uma quantidade considerável de bandas vibracionais de ambos os materiais constituintes. Este resultado revela que o método de produção é viável para a obtenção de filamentos E100/levo, com preservação de suas características moleculares.

4.5 Análise de DSC

A Figura 14 mostra o termograma de DSC do fármaco levofloxacino hemi-hidratado na forma adquirida no fabricante. É possível observar dois picos endotérmicos localizados em 109 °C e 235 °C, os quais caracterizam a forma hemi-hidratada do levofloxacino (NUGRAHANI et al., 2023). O primeiro pico em 109 °C representa o ponto de desidratação do levofloxacino hemi-hidratado, enquanto o

segundo pico em 235 °C é representativo do ponto de fusão do fármaco (NUGRAHANI et al., 2022, 2023). Em adição, na faixa de temperatura analisada (30° a 300 °C) não foram detectados picos relativos à degradação do fármaco. Isso indica que o processo de extrusão dos filamentos E100/levo a 130 °C (a qual o fármaco é exposto) é adequado e não altera as características requeridas do antimicrobiano.

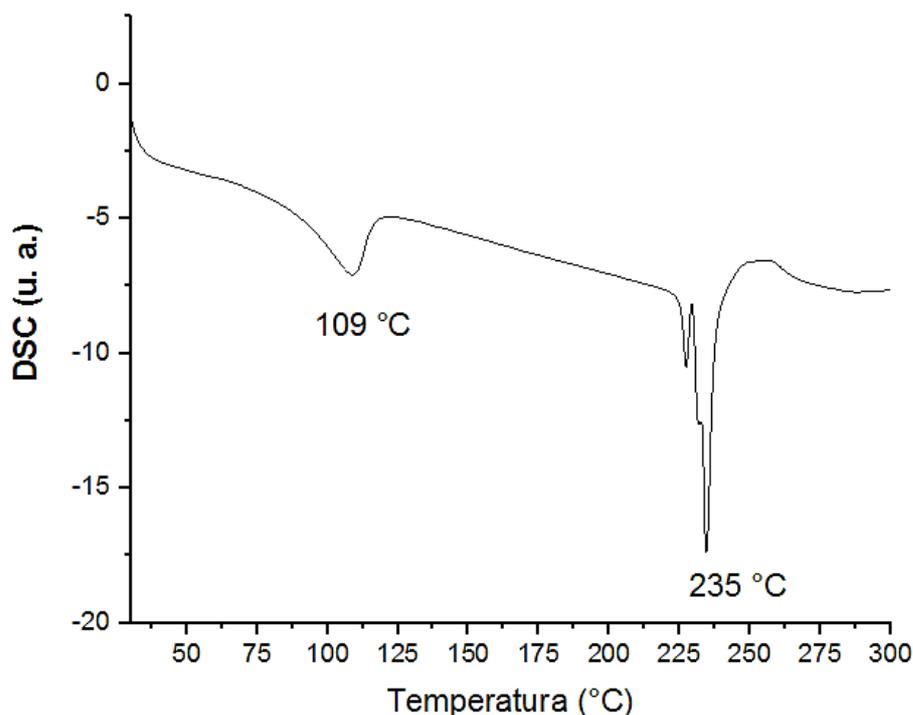


Figura 14: Análise de DSC do fármaco levofloxacino hemi-hidratado.

Já o termograma de DSC do filamento E100 puro não se diferencia do espectro de DSC do polímero na sua forma original, apresentando um sinal endotérmico abaixo de 100 °C, devido à sua temperatura de transição vítrea (LINARES et al., 2019). Não há outros picos característicos do polímero e/ou indicativos de degradação térmica da amostra abaixo de 200 °C, o que reforça que a temperatura de extrusão do polímero a 130 °C é adequada à produção de filamentos de E100 sem degradação do polímero.

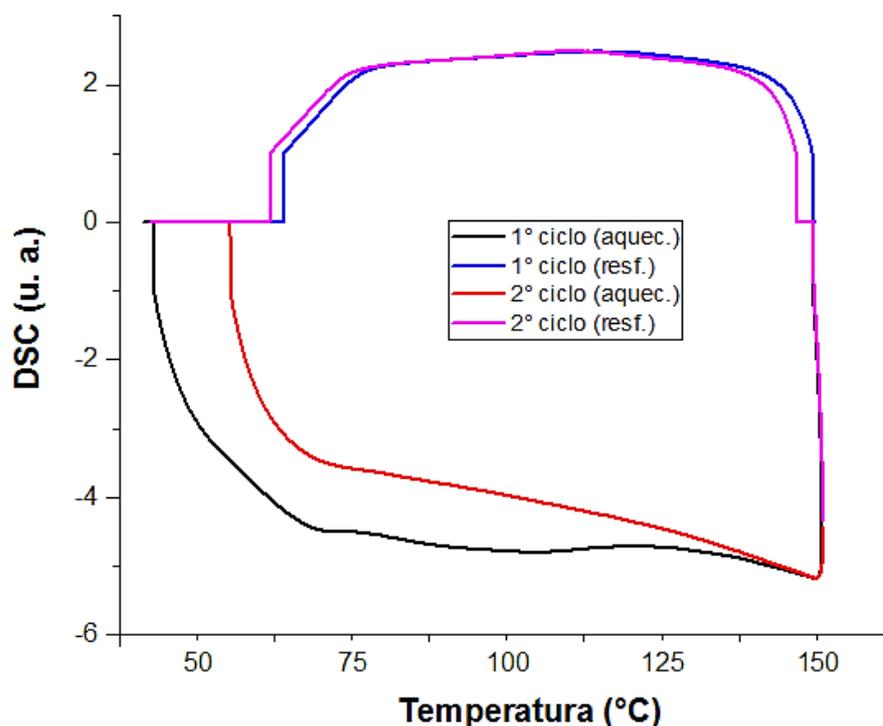


Figura 15: Ciclos de DSC (aquecimento e resfriamento) representativo das amostras de filamentos compósitos E100/levofloxacino.

Em adição, é importante destacar que a aplicação dos filamentos de E100/levofloxacino em impressoras 3D FDM para o desenvolvimento de formas farmacêuticas personalizadas envolve um novo aquecimento do material no sistema de impressão da máquina, para que este possa fluir sobre a mesa de impressão em camadas, com posterior resfriamento à temperatura ambiente e formação da peça projetada. Nesse sentido, os filamentos E100/levofloxacino (que já passaram por um ciclo de aquecimento/resfriamento no processo de extrusão) foram submetidos a dois novos ciclos de aquecimento/resfriamento (Figura 15) na faixa de 40 °C a 150 °C, a qual engloba a temperatura de trabalho desses filamentos em impressoras 3D.

O resultado mostra espectros de aquecimento e resfriamento predominantes do polímero, com curvas suaves e sem picos característicos de degradação das amostras, o que comprova que os filamentos E100/levofloxacino podem ser utilizados para a aplicação na qual eles são demandados e até mesmo com possibilidade de reuso do material não impresso para a produção de novos filamentos, o que pode reduzir desperdícios e custos de produção relacionados.

4.6 Cinética de liberação

A análise da cinética da concentração relativa do fármaco liberada no meio em função do tempo foi possível a partir da curva de calibração do fármaco levofloxacino, mostrada na Figura 16. A relação entre absorbância (A) no pico de absorção do levofloxacino e concentração (C) do fármaco no meio foi linear (coeficiente de determinação $R^2=0,99$), em acordo com a Lei de Lambert–Beer. Esta relação foi modelada matematicamente pela função $A(C)=0,06C - 3,1.10^{-4}$.

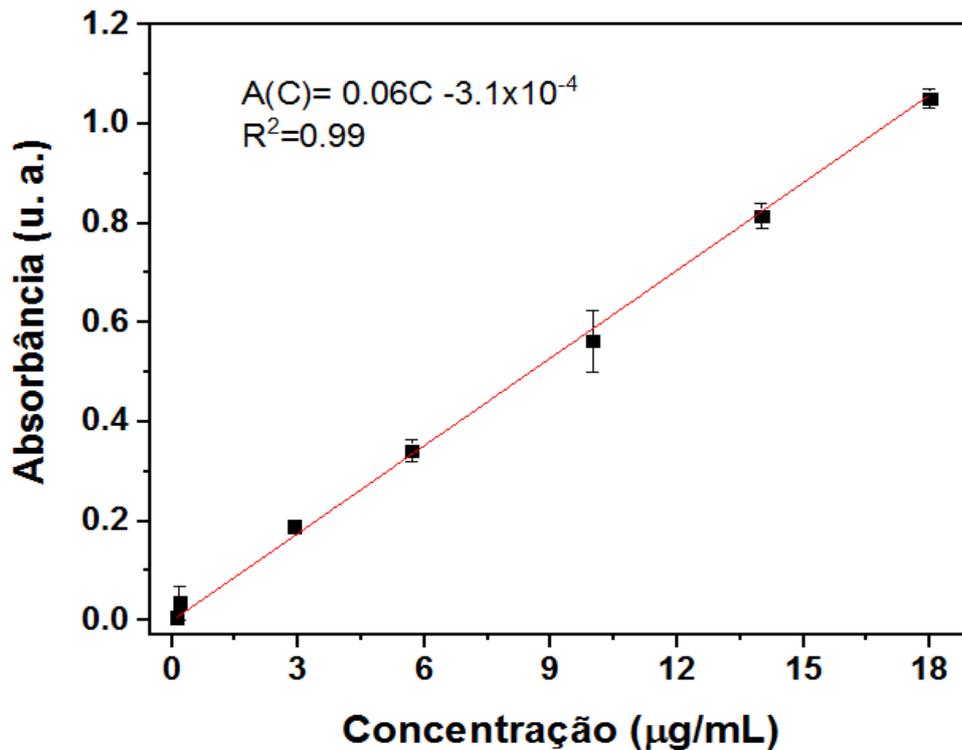


Figura 16: Curva de calibração do fármaco levofloxacino. Relação entre absorbância e concentração do fármaco.

A cinética de liberação *in vitro* do fármaco a partir dos filamentos poliméricos E100/Levo, nos meios gástrico e intestinal simulados, são mostrados na Figura 17.

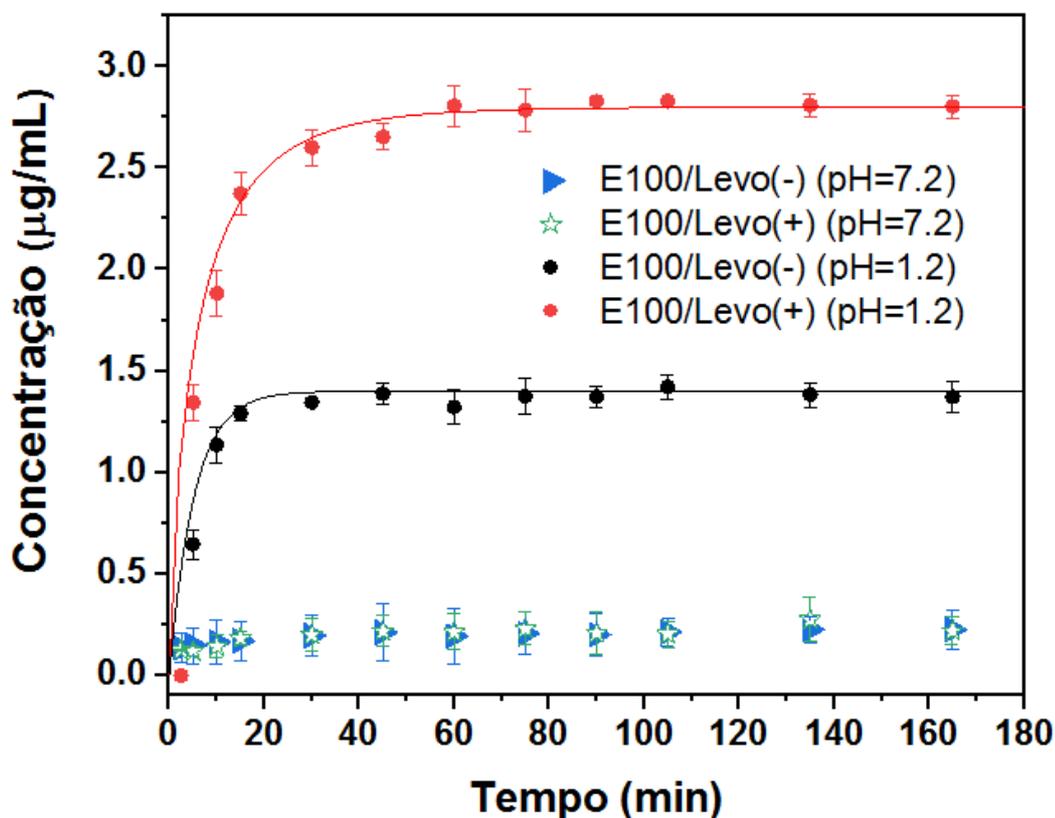


Figura 17: Cinética de liberação do fármaco a partir dos filamentos E100/Levo nos meios gástrico (pH=1,2) e intestinal (pH=7,2) simulados.

As concentrações de fármaco liberadas no meio em função do tempo assumiram um comportamento assintótico (valor de saturação) em torno de 30 a 40 min após o início dos testes para ambos os tipos de filamentos, atingindo concentrações de saturação de 1,41 µg/mL e 2,75 µg/mL, respectivamente para as amostras E100/Levo (0,3%p/p) e E100/Levo (1%p/p).

Por outro lado, uma concentração desprezível de fármaco disponível no meio básico foi observada durante todo o intervalo de tempo analisado, indicando que a matriz do polímero E100 atuou como um dispositivo de barreira para minimizar o contato do fármaco com o meio externo.

Essas características são típicas do polímero E100 fornecido pelo fabricante e confirmam que após o processo de extrusão a quente a 130 °C, a solubilidade do polímero, a qual é dependente do pH, mantém-se para o uso do material como um filamento de impressão 3D responsivo ao pH do meio (sem alteração da característica química original).

Além disso, o perfil de liberação rápida do levofloxacino em meio gástrico simulado foi modelado com sucesso usando a função Weibull (linhas sólidas seguindo

os dados experimentais na Figura K), para o caso de difusão do fármaco a partir de matrizes cilíndricas, $\frac{C_t}{C_\infty} = 1 - \exp(-at^b)$. Nesta expressão, C_t é a concentração disponível do fármaco no tempo t ; C_∞ é a concentração assintótica do fármaco (concentração acumulado, a longo prazo); “ a ” é um fator de escala de tempo e “ b ” é o parâmetro que representa o grau de liberação durante a cinética do processo.

A modelagem matemática do perfil de liberação indicou um valor de $b=1$ para as amostras E100/levo (0,3%p/p) e E100/levo (1%p/p), o que representa uma cinética exponencial como padrão de liberação do fármaco. A combinação desses resultados indica que os filamentos E100/Levo fornecem liberação rápida de levofloxacino em meio ácido, com reprodutibilidade e uma característica típica de difusão do fármaco a partir da matriz polimérica a qual é típica do polímero em sua forma original.

4.7 Avaliação da atividade antibacteriana dos filamentos

A atividade antibacteriana *in vitro* dos filamentos integrais e fundidos foi avaliada contra oito cepas bacterianas, conforme apresentado na Figura 18. As cepas testadas incluíram tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas, proporcionando uma análise abrangente do espectro de ação dos filamentos. As bactérias Gram-positivas avaliadas foram *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*, enquanto as bactérias Gram-negativas incluíram *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Os filamentos em sua forma integral foram pesados antes de serem adicionados nas placas de ágar Mueller Hinton contendo as bactérias. Aqueles com concentração de 1% p/p de levofloxacino apresentaram um peso médio de 19,4 mg, enquanto os filamentos com 0,3% p/p de levofloxacino tiveram um peso médio de 22,8 mg. Já os filamentos do controle negativo (sem fármaco) registraram um peso médio de 24,4 mg.

Além disso, os filamentos integrais foram submetidos a um tratamento térmico a 120°C por 3 minutos para induzir uma mudança de conformação, conferindo-lhes características semelhantes às de filamentos fundidos. O objetivo desse procedimento foi simular o processo de impressão 3D por meio de um segundo aquecimento e avaliar se a alteração conformacional resultante impactaria a eficácia antibacteriana dos filamentos. Os resultados indicaram que essa exposição à alta temperatura não

comprometeu a atividade antimicrobiana dos filamentos, que mantiveram sua capacidade de inibir o crescimento bacteriano mesmo após a mudança de conformação.

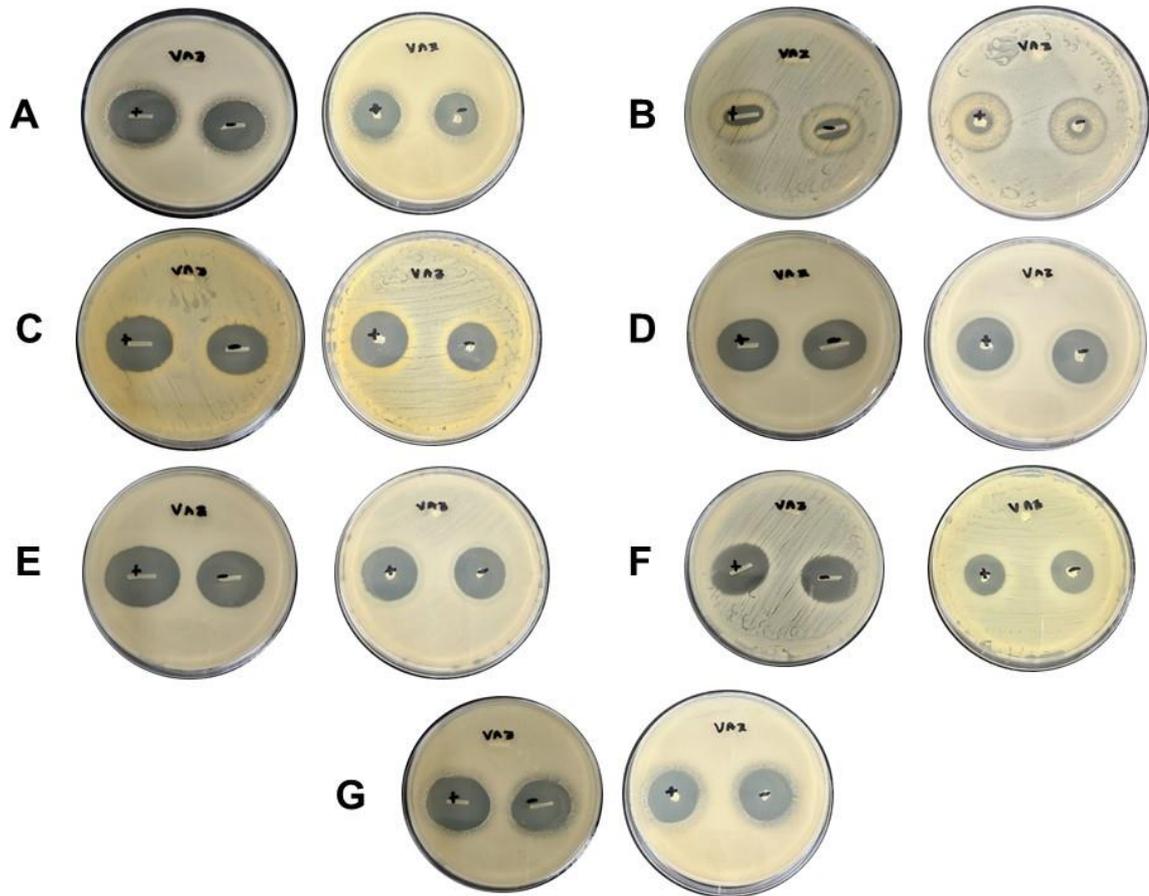


Figura 18: Imagens dos halos de inibição formados ao redor dos filamentos integrais (à esquerda) e fundidos (à direita). (A) *A. baumannii*. (B) *S.aureus*. (C) *E. faecalis*. (D) *K. pneumoniae*. (E) *P. aeruginosa*. (F) *S. marcescens*. (G) *S. agalactiae*. (VAZ) corresponde ao controle negativo. (-) concentração de 0,3%p/p de levofloxacina. (+) concentração de 1,0% p/p de levofloxacina.

A medição padrão para quantificar os halos de inibição (HI), ou seja, o diâmetro dos halos de uma borda a outra do halo de inibição bacteriano, foi difícil, pois nem todos halos formados ao redor dos filamentos eram circulares. A não homogeneidade pode ter sido causada pelo tamanho e pela conformação dos filamentos testados (integral e fundido). Portanto, a quantificação foi baseada na área de inibição em mm², e não no diâmetro, dos halos de inibição. (HUI et al., 2023).

Os resultados foram expressos em termos de média, desvio padrão e erro padrão (EP), calculados com o auxílio do software GraphPad Prism 8.0, e comparados com o grupo controle negativo para avaliar a eficácia antibacteriana dos filamentos.

Conforme sintetizado nas Tabelas 1 e 2, tanto os filamentos integrais quanto os fundidos, nas concentrações de 0,3% p/p e 1% p/p de levofloxacino, exibiram atividade antimicrobiana significativa ($P < 0,05$) em relação ao controle negativo.

Tabela 1. Áreas de inibição (mm²) - Filamento integral

		Áreas de inibição (mm ²)	
	Grupos	Média ± Desvio padrão	Erro padrão da média
<i>S. aureus</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	81,96 ± 9,74*	5,62
	1% p/p	102,58 ± 12,06*	6,96
<i>S. agalactiae</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	469,55 ± 10,92*	6,30
	1% p/p	497,43 ± 49,24*	28,43
<i>E. faecalis</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	418,99 ± 38,24*	22,08
	1% p/p	541,23 ± 117,45*	67,81
<i>A. baumannii</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	475,43 ± 106,88*	61,70
	1% p/p	559,56 ± 29,69*	17,14
<i>K. pneumoniae</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	425,89 ± 19,76*	11,41
	1% p/p	438,02 ± 0,85*	0,49
<i>S. marcescens</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	444,13 ± 68,21*	39,38
	1% p/p	488,19 ± 34,61*	19,98
<i>P. aeruginosa</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	487,92 ± 50,16*	28,96
	1% p/p	600,48 ± 16,27*	9,39

Tabela 2. Áreas de inibição (mm²) - Filamento fundido

		Áreas de inibição (mm ²)	
	Grupos	Média ± Desvio padrão	Erro padrão da média
<i>S. aureus</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	79,29 ± 13,09*	7,56
	1% p/p	72,38 ± 12,78*	7,37
<i>S. agalactiae</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	370,17 ± 19,05*	11,00
	1% p/p	401,15 ± 72,48*	41,84
<i>E. faecalis</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	341,89 ± 29,40*	16,97
	1% p/p	435,38 ± 13,96*	8,06
<i>A. baumannii</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	331,74 ± 17,58*	10,15
	1% p/p	377,06 ± 18,51*	10,69
<i>K. pneumoniae</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	364,94 ± 14,21*	8,20
	1% p/p	385,51 ± 32,53*	18,78
<i>S. marcescens</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	309,68 ± 31,34*	18,09
	1% p/p	338,61 ± 75,72*	43,71
<i>P. aeruginosa</i>	CN	0,00 ± 0,00	0,00
	0,3% p/p	275,48 ± 85,27*	49,23
	1% p/p	356,82 ± 87,27*	50,38

As Figuras 19 e 20 apresentam os gráficos que ilustram as análises estatísticas das áreas de inibição para cada cepa bacteriana, considerando as duas concentrações testadas (0,3% p/p e 1% p/p) e os dois tipos de filamentos (integrais e fundidos). Os valores foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância de duas vias (ANOVA two-way) seguida do pós-teste de Dunnett, com diferenças entre as médias consideradas significativas quando o valor de p foi inferior a 0,05.

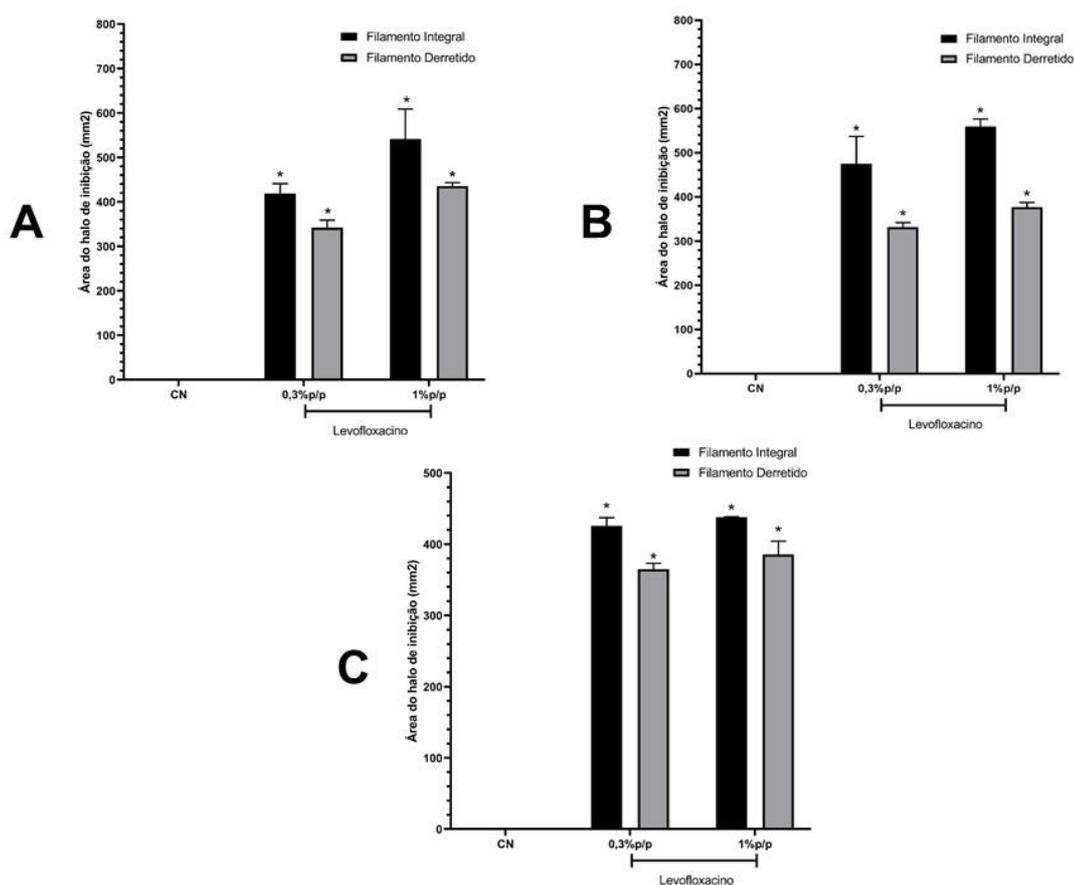


Figura 19: Área dos halos de inibição bacteriana formada pela ação dos filamentos integrais e fundidos (derretidos). (A) *E. faecalis*. (B) *A. baumannii*. (C) *K. pneumoniae*. * = $p < 0,05$

Para *E. faecalis*, o filamento integral demonstrou áreas de $418,988 \pm 38,245$ mm² para 0,3% p/p e de $541,232 \pm 117,451$ mm² para 1% p/p. Os filamentos fundidos apresentaram áreas de $341,896 \pm 29,401$ mm² para 0,3% p/p e $435,389 \pm 13,963$ mm² para 1% p/p, ambos mostrando diferenças estatisticamente significativas quando comparados ao controle negativo.

No caso do *A. baumannii*, o filamento integral apresentou áreas de inibição médias de $475,430 \pm 106,880$ mm² com 0,3% p/p de levofloxacino e $559,557 \pm 29,695$

mm² com 1% p/p. O filamento derretido, por sua vez, apresentou áreas de 331,742 ± 17,589 mm² para 0,3% p/p e 377,067 ± 18,515 mm² para 1% p/p. Todos esses resultados foram comparados com o grupo controle negativo, apresentando diferença estatística significativa.

Para *K. pneumoniae*, o filamento integral apresentou áreas de 425,892 ± 19,767 mm² para 0,3% p/p e de 438,022 ± 0,851 mm² para 1% p/p. Os filamentos fundidos exibiram áreas de 364,942 ± 14,214 mm² para 0,3% p/p e 385,516 ± 32,537 mm² para 1% p/p, com diferença estatística em relação ao controle negativo.

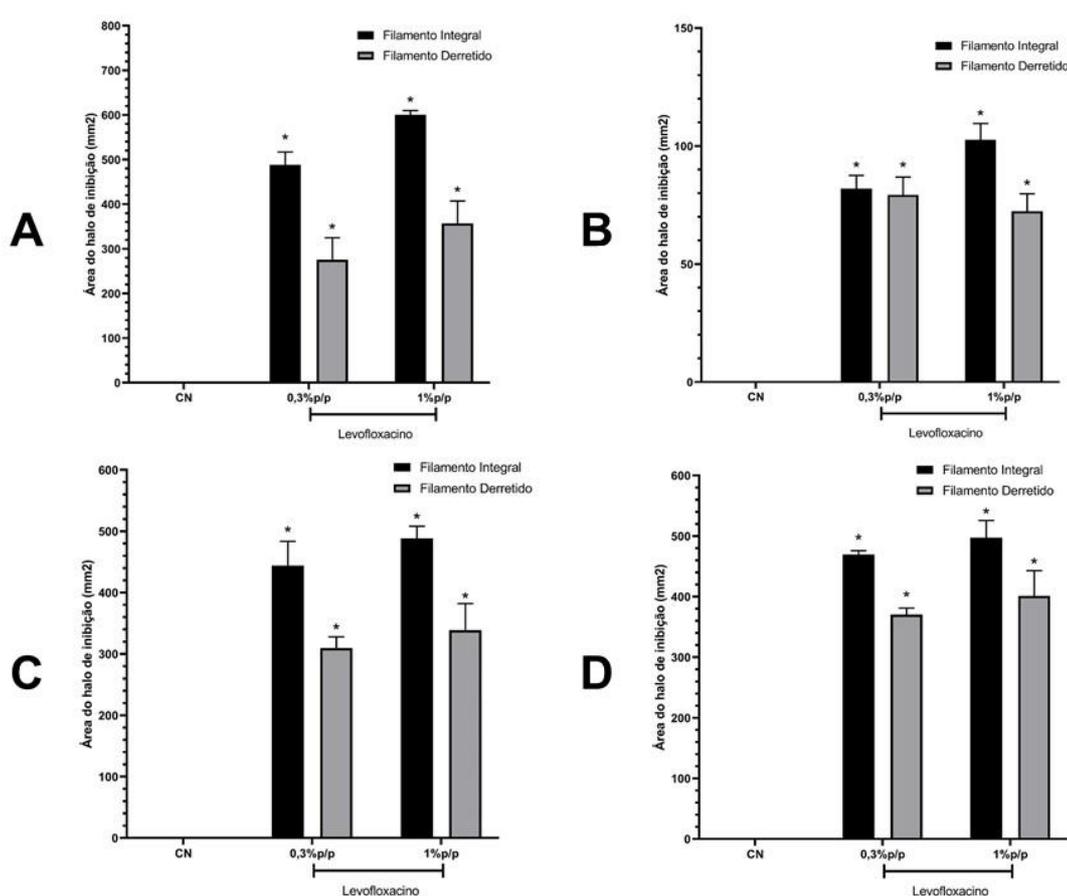


Figura 20: Área dos halos de inibição bacteriana formada pela ação dos filamentos integrais e fundidos (derretidos). (A) *P. aeruginosa*. (B) *S. aureus*. (C) *S. marcescens*. (D) *S. agalactiae*. * = $p < 0,05$.

Para *P. aeruginosa*, os filamentos integrais geraram áreas de inibição de 487,920 ± 50,166 mm² para 0,3% p/p e de 600,485 ± 16,270 mm² para 1% p/p. Os filamentos fundidos apresentaram áreas de 275,480 ± 85,279 mm² para 0,3% p/p e 356,827 ± 87,276 mm² para 1% p/p, com todos os resultados apresentando significância estatística em comparação ao controle negativo.

No caso de *S. aureus*, os filamentos integrais apresentaram áreas de $81,965 \pm 9,739 \text{ mm}^2$ para 0,3% p/p e de $102,576 \pm 12,057 \text{ mm}^2$ para 1% p/p. Os filamentos fundidos mostraram $79,292 \pm 13,096 \text{ mm}^2$ para 0,3% p/p e $72,385 \pm 12,781 \text{ mm}^2$ para 1% p/p, todos com diferença significativa em relação ao controle negativo.

Para *S. marcescens*, os filamentos integrais apresentaram áreas de $444,132 \pm 68,210 \text{ mm}^2$ para 0,3% p/p e de $488,190 \pm 34,610 \text{ mm}^2$ para 1% p/p. Os filamentos fundidos exibiram áreas de $309,687 \pm 31,342 \text{ mm}^2$ e $338,615 \pm 75,724 \text{ mm}^2$, respectivamente, com diferenças estatísticas frente ao controle negativo.

Por fim, para *S. agalactiae*, os filamentos integrais apresentaram áreas de $469,552 \pm 10,918 \text{ mm}^2$ para 0,3% p/p e de $497,432 \pm 49,243 \text{ mm}^2$ para 1% p/p. Os filamentos fundidos exibiram áreas de $370,171 \pm 19,055 \text{ mm}^2$ e $401,153 \pm 72,485 \text{ mm}^2$, todos apresentando diferença estatística em relação ao controle negativo.

Os resultados obtidos demonstraram que tanto os filamentos integrais quanto os fundidos exibiram atividade antibacteriana contra todas as cepas bacterianas avaliadas, em ambas as concentrações testadas (1% p/p e 0,3% p/p de levofloxacino). Observou-se que os filamentos contendo 1% p/p de levofloxacino geraram áreas de inibição maiores em comparação com aqueles contendo 0,3% p/p, o que se justifica pela maior concentração de fármaco disponível, aumentando a capacidade de inibir o crescimento bacteriano.

Os resultados deste trabalho estão alinhados com o estudo de Ruh et al. (2022), que avaliou filamentos de impressão 3D FDM impregnados com ciprofloxacino, um antimicrobiano da mesma classe do levofloxacino, e demonstrou atividade antibacteriana significativa contra as cepas bacterianas testadas. O estudo ressaltou ainda que o aquecimento dos filamentos a 200°C não comprometeu a eficácia do ciprofloxacino, corroborando os resultados deste trabalho quanto à manutenção da atividade antimicrobiana após o aquecimento dos filamentos. Da mesma forma, a pesquisa de Hui et al. (2023) demonstrou que um dispositivo para reparo ósseo, desenvolvido com filamentos de biocompósitos de PLA e 10% de quitosana, apresentou áreas de inibição expressivas em mm^2 contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, evidenciando o potencial de materiais impressos em 3D incorporados com agentes antimicrobianos para aplicações médicas. Esses achados reforçam a eficácia de dispositivos médicos impressos em 3D com propriedades antibacterianas aprimoradas.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram êxito no desenvolvimento e produção dos filamentos de impressão 3D FDM contendo levofloxacino, utilizando o polímero pH-dependente Eudragit® E100. A liberação do fármaco foi diretamente influenciada por essa característica do polímero, evidenciando o potencial desses materiais para o desenvolvimento de dispositivos médicos inovadores com liberação controlada de antimicrobianos.

A caracterização térmica dos filamentos confirmou sua estabilidade nas condições de extrusão, enquanto a análise mecânica destacou sua flexibilidade, característica essencial para o uso em impressoras convencionais, sem risco de quebras do material. As caracterizações microestruturais indicaram que o processo de extrusão a quente foi eficiente, resultando em filamentos com propriedades homogêneas, diâmetro uniforme e superfícies regulares, livres de defeitos estruturais que pudessem comprometer sua funcionalidade.

Os ensaios de atividade antibacteriana *in vitro* comprovaram a eficácia dos filamentos contra todas as cepas bacterianas testadas. A formulação com 1% p/p de levofloxacino apresentou a maior atividade antimicrobiana, enquanto a formulação com 0,3% p/p foi eficaz contra as cepas avaliadas. Adicionalmente, foi observado que o aquecimento dos filamentos não comprometeu sua atividade antimicrobiana, reforçando a estabilidade térmica do levofloxacino.

Em conclusão, os filamentos desenvolvidos representam uma alternativa promissora no campo das formas farmacêuticas sólidas e dispositivos médicos antimicrobianos. No entanto, estudos futuros são necessários para aprimorar a modelagem e o processo de impressão desses filamentos e avaliar seu desempenho em condições reais de uso. Além disso, será importante desenvolver filamentos incorporando outros fármacos antimicrobianos, ampliar a impressão de peças tridimensionais com diferentes formas geométricas, mas mantendo a mesma área superficial específica, para verificar possíveis alterações na cinética de liberação do fármaco. Também se faz necessário realizar testes de dissolução utilizando peças com geometria idêntica e diferentes percentuais de preenchimento, a fim de entender o impacto dessas variações no perfil de liberação do medicamento.

Após os resultados satisfatórios deste estudo inicial, futuras pesquisas serão

continuadas, com o objetivo de: Estudar variações no perfil de liberação de fármacos a partir de matrizes poliméricas, com diferentes geometrias tridimensionais de mesma área de superfície específica; estabelecer uma correlação entre a taxa de enchimento de uma peça de polímero/fármaco e a concentração de fármaco disponível; desenvolvimento de filamentos E100 com outros fármacos antimicrobianos e/ou fármacos pouco solúveis em água para aplicações inovadoras em biotecnologia.

REFERÊNCIAS

- ABDELLA, S. et al. **3d printing of thermo-sensitive drugs**. *Pharmaceutics* MDPI, , 1 set. 2021.
- AITA, I. EL; BREITKREUTZ, J.; QUODBACH, J. Investigation of semi-solid formulations for 3D printing of drugs after prolonged storage to mimic real-life applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 146, 15 abr. 2020.
- ALHNAN, M. A. et al. **Emergence of 3D Printed Dosage Forms: Opportunities and Challenges**. *Pharmaceutical Research* Springer New York LLC, , 1 ago. 2016.
- ARULKUMARAN, N. et al. **Antimicrobial-associated harm in critical care: a narrative review**. *Intensive Care Medicine* Springer, , 1 fev. 2020.
- BANDARI, S. et al. **Coupling hot melt extrusion and fused deposition modeling: Critical properties for successful performance**. *Advanced Drug Delivery Reviews* Elsevier B.V., , 1 maio 2021.
- BASSETTI, S. et al. **Optimizing antibiotic therapies to reduce the risk of bacterial resistance**. *European Journal of Internal Medicine* Elsevier B.V., , 1 maio 2022.
- BHATT, U. et al. 3D printing of immediate-release tablets containing olanzapine by filaments extrusion. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 47, n. 8, p. 1200–1208, 2021.
- BHATTACHARYYA, S. et al. **Antibiotic-associated encephalopathy**. *Neurology* Lippincott Williams and Wilkins, , 8 mar. 2016.
- BOERIS, V. et al. Interaction and complex formation between catalase and cationic polyelectrolytes: Chitosan and Eudragit E100. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 45, n. 2, p. 103–108, 1 ago. 2009.
- BREITKREUTZ, J.; BOOS, J. **Paediatric and geriatric drug delivery**. *Expert Opinion on Drug Delivery*, jan. 2007.
- CALDEIRA, Diego de Oliveira. Impressora 3D FDM, funcionalidades e relevância para construção tecnológica: uma revisão de literatura. 2021.
- CARBÓ-LASO, E. et al. Nuevo método de liberación de antibióticos del cemento óseo (polimetilmetacrilato): redefiniendo los límites. *Revista Espanola de Cirugia Ortopedica y Traumatologia*, v. 62, n. 1, p. 86–92, 1 jan. 2018.
- CARBON, C. **Comparison of Side Effects of Levofloxacin versus Other Fluoroquinolones** *Chemotherapy*. [s.l.: s.n.].
- CARDOSO, P. H. N. et al. Eudragit E100/Hesperidin 3D Printing Filaments: Preparation, Characterization, and In Vitro Release Studies. *Applied Sciences*, v. 13, n. 20, p. 11558, 22 out. 2023.

CHOU DHURY, D.; MURTY, U. S.; BANERJEE, S. 3D printing and enteric coating of a hollow capsular device with controlled drug release characteristics prepared using extruded Eudragit® filaments. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 26, n. 9, p. 1010–1020, 2021.

CORNETT, E. et al. **Macrolide and fluoroquinolone mediated cardiac arrhythmias: clinical considerations and comprehensive review**. **Postgraduate Medicine** Taylor and Francis Inc., , 3 out. 2017.

DAVIES, J. **Origins and evolution of antibiotic resistance**. **Microbiología (Madrid, Spain)**, 1996.

DAVIS, R. et al. **DRUG EVALUATION Levofloxacin A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetics and Therapeutic Efficacy** **Drugs**. [s.l: s.n.].

DCOSTA, V. M. et al. **Antibiotic resistance is ancient**. **Nature**, 22 set. 2011.

DIGKAS, T. et al. Development of Diclofenac Sodium 3D Printed Cylindrical and Tubular-Shaped Tablets through Hot Melt Extrusion and Fused Deposition Modelling Techniques. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 8, 1 ago. 2023.

GLOVER, K. et al. 3D bioprinted scaffolds for diabetic wound-healing applications. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 13, n. 8, p. 2096–2109, 1 ago. 2023.

GOYANES, A. et al. Fused-filament 3D printing (3DP) for fabrication of tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 476, n. 1, p. 88–92, 10 dez. 2014.

GOYANES, A. et al. Development of modified release 3D printed tablets (printlets) with pharmaceutical excipients using additive manufacturing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 527, n. 1–2, p. 21–30, 15 jul. 2017.

GUPTA, H. et al. A Single Reversed-Phase UPLC Method for Quantification of Levofloxacin in Aqueous Humour and Pharmaceutical Dosage Forms. **Journal of Chromatographic Science**, v. 48, n. 6, p. 484–490, 1 jul. 2010.

GUZMÁN, M. L.; MANZO, R. H.; OLIVERA, M. E. Eudragit E100 as a drug carrier: The remarkable affinity of phosphate ester for dimethylamine. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 9, p. 2424–2433, 4 set. 2012.

HOLMES, A. H. et al. **Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance**. **The Lancet** Lancet Publishing Group, , 9 jan. 2016.

HUI, I. et al. Biocomposites containing poly (lactic acid) and chitosan for 3D printing – Assessment of mechanical, antibacterial and in vitro biodegradability properties. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 147, 1 nov. 2023.

IANNINI, P. et al. **Adverse cutaneous reactions and drugs: A focus on antimicrobials**. **Journal of Chemotherapy** E.S.I.F.T. srl, , 2006.

IGLESIAS-OTERO, M.; PORTELA-ROMERO, M. Neurotoxicidad por levofloxacin: A propósito de un caso y una revisión. **Semergen**, v. 42, n. 2, p. e9–e11, 1 mar. 2016.

ILIEVA, S. et al. Study and Characterization of Polyvinyl Alcohol-Based Formulations for 3D Printlets Obtained via Fused Deposition Modeling. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 7, 1 jul. 2023.

JAGER, N. G. L. et al. **Therapeutic drug monitoring of anti-infective agents in critically ill patients. Expert Review of Clinical Pharmacology** Taylor and Francis Ltd, , 2 jul. 2016.

KANTAROS, A.; GANETSOS, T.; PETRESCU, F. I. T. Three-Dimensional Printing and 3D Scanning: Emerging Technologies Exhibiting High Potential in the Field of Cultural Heritage. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 13, n. 8, 1 abr. 2023.

KLINGMANN, V. et al. Favorable acceptance of mini-tablets compared with syrup: A randomized controlled trial in infants and preschool children. **Journal of Pediatrics**, v. 163, n. 6, 2013.

KOLLAMARAM, G. et al. Low temperature fused deposition modeling (FDM) 3D printing of thermolabile drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 545, n. 1–2, p. 144–152, 10 jul. 2018.

KORTE, C.; QUODBACH, J. Formulation development and process analysis of drug-loaded filaments manufactured via hot-melt extrusion for 3D-printing of medicines. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 23, n. 10, p. 1117–1127, 26 nov. 2018.

LAKKALA, P. et al. Additive manufacturing technologies with emphasis on stereolithography 3D printing in pharmaceutical and medical applications: A review. **International Journal of Pharmaceutics: X**, v. 5, 1 dez. 2023.

LAZAROU, J.; POMERANZ, B. H.; COREY, P. N. Incidence of Adverse Drug Reactions in Hospitalized Patients. **JAMA**, v. 279, n. 15, p. 1200, 15 abr. 1998.

LINARES, V. et al. Relationship between degree of polymeric ionisation and hydrolytic degradation of Eudragit® E polymers under extreme acid conditions. **Polymers**, v. 11, n. 6, 1 jun. 2019.

LIU, F. et al. A novel concept in enteric coating: A double-coating system providing rapid drug release in the proximal small intestine. **Journal of Controlled Release**, v. 133, n. 2, p. 119–124, 19 jan. 2009.

LONG, J. et al. Application of Fused Deposition Modelling (FDM) Method of 3D Printing in Drug Delivery. **Current Pharmaceutical Design**, v. 23, n. 3, p. 433–439, 3 nov. 2016.

MILLAN, X.; MUGGIA, V.; OSTROWSKY, B. Antimicrobial agents, drug adverse reactions and interactions, and cancer. **Cancer Treatment and Research**, v. 161, p.

413–462, 2014.

NIKAM, A. et al. **A Systematic Overview of Eudragit® Based Copolymer for Smart Healthcare.** *Pharmaceutics* MDPI, , 1 fev. 2023.

NUGRAHANI, I. et al. New Organic Salt from Levofloxacin-Citric Acid: What Is the Impact on the Stability and Antibiotic Potency? *Molecules*, v. 27, n. 7, 1 abr. 2022.

NUGRAHANI, I. et al. Stability and Antibiotic Potency Improvement of Levofloxacin by Producing New Salts with 2,6- and 3,5-Dihydroxybenzoic Acid and Their Comprehensive Structural Study. *Pharmaceutics*, v. 15, n. 1, 1 jan. 2023.

OLADEJI, S. et al. 3D printing of pharmaceutical oral solid dosage forms by fused deposition: The enhancement of printability using plasticised HPMCAS. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 616, 25 mar. 2022.

O'NEILL, J. **TACKLING DRUG-RESISTANT INFECTIONS GLOBALLY: FINAL REPORT AND RECOMMENDATIONS THE REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE CHAIRED BY JIM O'NEILL.** [s.l: s.n.].

PARDO-GARCÍA, M. T. et al. **Evaluation of an immunochromatographic test for the identification of Legionella genus and Legionella pneumophila serogroups 1-15 from cultures.** *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, dez. 2013.

PATIL, H.; TIWARI, R. V.; REPKA, M. A. Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation. *AAPS PharmSciTech*, v. 17, n. 1, p. 20–42, 1 fev. 2016.

PFEIFER, Y.; CULLIK, A.; WITTE, W. **Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens.** *International Journal of Medical Microbiology*, ago. 2010.

PRATTI, A. et al. **Activity of linezolid against Gram-positive cocci: a multicentre study in Greek hospitals.** *International Journal of Antimicrobial Agents*, maio 2007.

QUODBACH, J. et al. **Quality of FDM 3D Printed Medicines for Pediatrics: Considerations for Formulation Development, Filament Extrusion, Printing Process and Printer Design.** *Therapeutic Innovation and Regulatory Science* Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, , 1 nov. 2022.

RAFAT, C.; DEBRIX, I.; HERTIG, A. **Levofloxacin for the treatment of pyelonephritis.** *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, jun. 2013.

REDER, B. L. et al. **Antimicrobial practice Antibiotic usage in an intensive care unit in a Danish university hospital** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://jac.oxfordjournals.org/>>.

REPKA, M. A. et al. **Applications of hot-melt extrusion for drug delivery.** *Expert*

Opinion on Drug Delivery, dez. 2008.

RIEDL, M.; CASILLAS, A. **Adverse Drug Reactions: Types and Treatment Options - American Family Physician**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.aafp.org/afp>.

RUH, E.; MAMMADOV, E. Antibacterial activity of ciprofloxacin-impregnated 3D-printed polylactic acid discs: an in vitro study. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 16, n. 3, p. 484–490, 1 mar. 2022.

SAMREEN et al. **Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health**. **Journal of Global Antimicrobial Resistance** Elsevier Ltd, , 1 dez. 2021.

SARTINI, I. et al. Levofloxacin pharmacokinetics and tissue residue concentrations after oral administration in Bilgorajska geese. **British Poultry Science**, v. 62, n. 2, p. 193–198, 2021.

SCIANCELEPORE, C. et al. Flexible PBAT-Based Composite Filaments for Tunable FDM 3D Printing. **ACS Applied Bio Materials**, v. 5, n. 7, p. 3219–3229, 18 jul. 2022.

SHISHATSKAYA, E. I. et al. Three-Dimensional Printing of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) [P(3HB-co-3HV)] Biodegradable Scaffolds: Properties, In Vitro and In Vivo Evaluation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 16, 1 ago. 2023.

SIHOTANG, T. S. U.; WIDODO, A. D. W.; ENDRASWARI, P. D. Effect of Ciprofloxacin, Levofloxacin, and Ofloxacin on *Pseudomonas aeruginosa*: A case control study with time kill curve analysis. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 82, 1 out. 2022.

SITOVIS, A.; SARTINI, I.; GIORGI, M. **Levofloxacin in veterinary medicine: a literature review**. **Research in Veterinary Science** Elsevier B.V., , 1 jul. 2021.

SMITH, J. W. et al. **ANNALS OF INTERNAL MEDICINE Studies on the Epidemiology of Adverse Drug Reactions V. Clinical Factors Influencing Susceptibility**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://annals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/journals/aim/19392/>>.

SPELLBERG, B. et al. **The epidemic of antibiotic-resistant infections: A call to action for the medical community from the infectious diseases society of America**. **Clinical Infectious Diseases**, 15 jan. 2008.

STEIN, G. E.; SCHOOLEY, S. L.; NICOLAU, D. P. Urinary bactericidal activity of single doses (250, 500, 750 and 1000 mg) of levofloxacin against fluoroquinolone-resistant strains of *Escherichia coli*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 32, n. 4, p. 320–325, out. 2008.

SURINI, S.; BIMAWANTI, Y.; KURNIAWAN, A. **The Application of Polymers in Fabricating 3D Printing Tablets by Fused Deposition Modeling (FDM) and The**

Impact on Drug Release Profile. Pharmaceutical Sciences Tabriz University of Medical Sciences, , 1 abr. 2023.

TAN, D. K.; MANIRUZZAMAN, M.; NOKHODCHI, A. **Advanced pharmaceutical applications of hot-melt extrusion coupled with fused deposition modelling (FDM) 3D printing for personalised drug delivery. Pharmaceutics** MDPI AG, , 1 dez. 2018.

TIWARI, R. V.; PATIL, H.; REPKA, M. A. **Contribution of hot-melt extrusion technology to advance drug delivery in the 21st century. Expert Opinion on Drug Delivery** Taylor and Francis Ltd, , 3 mar. 2016.

TOMÉ, A. M.; FILIPE, A. **Quinolones Review of Psychiatric and Neurological Adverse Reactions.** [s.l.: s.n.].

URBAN-CHMIEL, Renata et al. Antibiotic resistance in bacteria—A review. **Antibiotics**, v. 11, n. 8, p. 1079, 2022.

VALIZADEH, A. et al. Levofloxacin nanoemulsion gel has a powerful healing effect on infected wound in streptozotocin-induced diabetic rats. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 11, n. 1, p. 292–304, 1 fev. 2021.

VENTOLA, C. L. Medical Applications for 3D Printing: Current and Projected Uses. **P & T: a peer-reviewed journal for formulary management**, v. 39, n. 10, p. 704–11, out. 2014.

WAGENLEHNER, F. M. E. et al. Concentrations in plasma, urinary excretion and bactericidal activity of levofloxacin (500 mg) versus ciprofloxacin (500 mg) in healthy volunteers receiving a single oral dose. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 28, n. 6, p. 551–559, dez. 2006.

WANG, Y. et al. Antibiotic-loaded, silver core-embedded mesoporous silica nanovehicles as a synergistic antibacterial agent for the treatment of drug-resistant infections. **Biomaterials**, v. 101, p. 207–216, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International drug monitoring. The role of the hospital. **World Health Organization technical report series**, v. 425, p. 5–24, 1969.

YAN, D. et al. Insight into levofloxacin loaded biocompatible electrospun scaffolds for their potential as conjunctival substitutes. **Carbohydrate Polymers**, v. 269, 1 out. 2021.

YE, C. L. et al. **Levofloxacin and proton pump inhibitor-based triple therapy versus standard triple first-line therapy for Helicobacter pylori eradication. Pharmacoepidemiology and Drug Safety** John Wiley and Sons Ltd, , 2014.

ZHANG, J. et al. Coupling 3D printing with hot-melt extrusion to produce controlled-release tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, n. 1–2, p. 186–197, 15 mar. 2017.

ZHU, J. et al. Water-stable zirconium-based metal-organic frameworks armed polyvinyl alcohol nanofibrous membrane with enhanced antibacterial therapy for wound healing. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 603, p. 243–251, 1 dez. 2021.

ZHU, Ying; HUANG, Wei E.; YANG, Qiwen. Clinical perspective of antimicrobial resistance in bacteria. **Infection and drug resistance**, p. 735-746, 2022.