



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



DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES

**SÍNTESE E APLICAÇÃO DE HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES:
ADJUVANTES FUNCIONAIS PARA INCREMENTO DE
SOLUBILIDADE E SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS**

RECIFE, 2016

DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES

**SÍNTESE E APLICAÇÃO DE HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES:
ADJUVANTES FUNCIONAIS PARA INCREMENTO DE SOLUBILIDADE E
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração: Produção e Controle de Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto
Co-orientador: Prof. Dr. Severino Alves Júnior

RECIFE, 2016

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

F683s Fontes, Danilo Augusto Ferreira.

Síntese e aplicação de hidróxidos duplos lamelares: adjuvantes funcionais para incremento de solubilidade e sistemas de liberação de fármacos / Danilo Augusto Ferreira Fontes. – 2016.

144 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Pedro José Rolim Neto.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2016.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Compostos inorgânicos. 2. Doença de Chagas. 3. Vetorização de fármacos. 4. Fármacos anti-HIV. I. Rolim Neto, Pedro José (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2016-133)

DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES

**Síntese e Aplicação de Hidróxidos Duplos Lamelares: Adjuvantes Funcionais para
Incremento de Solubilidade e Sistemas de Liberação de Fármacos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração: Produção e Controle de Medicamentos.

Aprovada em: 18/03/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Orientador e Presidente da banca)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Rosali Maria Ferreira da Silva (Avaliadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Magaly Andreza Marques de Lyra (Avaliadora externa)
Universidade Estácio de Sá/Recife

Prof. Dr. Ádley Antonini Neves de Lima (Avaliador Externo)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Fauston Fred da Silva (Avaliador Externo)
Universidade Federal da Paraíba

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITORA

Prof. Dra. Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Profa. Dra. Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder saúde e força de vontade para lutar pelos meus objetivos.

À minha esposa Amanda, pelo companheirismo e compreensão em todos os momentos.

Aos meus pais (Daniel e Eliana) e irmãos (Davi e Renata), por estarem sempre ao meu lado nas minhas escolhas, e aos meus sobrinhos (Iago e Alice) por me alegrarem a cada dia.

Aos meus familiares (avós, tios, primos, sogros e cunhados), pelo apoio e pela torcida para que eu alcance meus objetivos.

Ao professor Pedro Rolim, meu orientador, pela confiança depositada ao longo de quase uma década de convivência no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM), me recebendo como profissional em seu âmbito de trabalho, e como amigo em sua casa. Serei eternamente grato pelas oportunidades a mim concedidas.

Ao professor Severino Alves Júnior, meu co-orientador, pelo suporte dado durante estes últimos anos. Agradeço pela sua disponibilidade e amizade.

Agradecimento especial às minhas companheiras de trabalho Magaly Lyra, Cindy Aguilera e Larissa Rolim, que foram extremamente importantes no desenvolvimento deste projeto. Em especial à Magaly, pela sua enorme contribuição em todos os momentos. Obrigado meninas!

Aos demais colaboradores do projeto, Maria Luiza, Matheus Angelos, Laysa Silva, Lidiany Paixão, Vitor Matheus, Isabella Macedo, João Pontes, Alysson Barreto, pelo suporte dado durante os anos que sucederam o projeto.

À família LTM num todo, pois sem eles não existe laboratório. Agradeço pelos dias felizes que compartilhamos juntos, pelas farras e confraternizações. Grande abraço!

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite de participar deste momento especial na minha vida (Prof^a. Dra. Rosali Silva, Prof. Dr. Ádley Antonini, Prof. Dr. Fauston Fred, Prof^a. Dra. Magaly Lyra e Prof. Dr. Pedro Rolim).

Aos laboratórios parceiros, Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos/UFPE, Laboratório de Prospecção Farmacológica e Toxicológica/UFPE, Central de Análise de Fármacos, Medicamentos e Alimentos/UNIVASF, Laboratório de Terras Raras/UFPE, Departamento de Biologia Celular e Ultraestruturas, Aggeu Magalhães/UFPE, Centro de tecnologias Estratégicas para o Nordeste (CETENE), Central Analítica do Departamento de Química Fundamental/UFPE, Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental/UFPI, Ping I. Lee Research Group, Universidade de Toronto, Canadá.

Aos amigos do CAV/UFPE, pela torcida e apoio, sempre que necessário.

À Fundação e Amparo à Ciência e tecnologia do Estado de Pernambuco pelo suporte financeiro.

Ao PPGCF/UFPE e seu corpo docente, pela enorme contribuição na minha formação.

Coragem, coragem, se o que você quer é aquilo que pensa e faz...

Coragem, coragem, eu sei que você pode mais.

-Por quem os sinos dobram-

Raul Seixas

RESUMO

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL), também conhecidos como compostos tipo hidrotalcita, são materiais capazes de incorporar espécies biologicamente ativas, negativamente carregadas, na sua região interlamelar, de modo a neutralizar as cargas positivas das lamelas, através do mecanismo de troca iônica. Além deste mecanismo, os HDL possuem alta capacidade de adsorção de materiais não iônicos e carregados positivamente, através de interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio na sua vasta área superficial. Os HDL possuem ocorrência natural e também podem ser sintetizados em laboratório por rotas simples e de baixo custo, que permitem o isolamento de sólidos de alta pureza. O presente trabalho tem por objetivo a síntese e caracterização de HDL (CaAl-HDL e MgAl-Cl-HDL), e sua aplicação junto aos fármacos antiretrovirais Efavirenz (EFZ) e Zidovudina (AZT), e do anti-chagásico Benznidazol (BNZ). Os materiais obtidos foram caracterizados pelas técnicas de difração de raios-X (DRX), termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise térmica diferencial (DTA), espectroscopia no infravermelho (IV), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de luz polarizada e análise elementar de metais e de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN). Foi possível observar que em sistemas com HDL de cálcio e alumínio (CaAl-HDL), obtido pelo método de evaporação do solvente, contendo até 30% de EFZ e até 20% do BNZ, o fármaco tornou-se uma molécula com características amorfas, perdendo seu caráter cristalino. Este fenômeno pôde ser comprovado através da ausência de planos cristalinos do fármaco no DRX, e também do seu ponto de fusão no DSC. Nos testes de liberação, estes sistemas obtiveram destaque no incremento de solubilidade, sendo a proporção HDL-EFZ 30% a mais promissora, com aumento de 558% do EFZ solúvel em relação ao fármaco isolado; e o sistema HDL-BNZ 20%, proporcionando 702% de aumento na solubilidade do fármaco. Desta maneira comprovou-se que associação entre o CaAl-HDL e o BNZ e EFZ (fármacos de baixa solubilidade) confere incremento de solubilidade, promovendo uma maior taxa de dissolução nos estudos *in vitro*. A solubilidade aquosa de um fármaco constitui requisito prévio à absorção e obtenção de resposta clínica, para a maioria dos medicamentos administrados por via oral. No sistema contendo MgAl-Cl-HDL e AZT, obtido pelo método de síntese por co-precipitação a pH constante, foi possível notar que, o fármaco tornou-se amorfo através da interação com a superfície do HDL, como evidenciado através do DRX, TG, IV e MEV. No estudo de liberação, foi possível obter um perfil de liberação prolongada do AZT, de 90% de fármaco em 24 horas de estudo. Os sistemas CaAl-HDL:EFZ e MgAl-Cl-HDL:AZT tornaram-se menos tóxicos quando comparados a seus respectivos fármacos isolados, enquanto o sistema CaAl-HDL:BNZ, não alterou a toxicidade do BNZ, quando testados em linhagem de macrófagos humanos.

Palavras-chave: Compostos inorgânicos. Fármacos anti-HIV. Doença de Chagas. Vetorização de fármacos.

ABSTRACT

Layered double hydroxides (LDH), also known as hydrotalcite compounds, are materials able to incorporate biologically active species, negatively charged, into the interlayer region, to neutralize the positive charges of the lamellae through the ion exchange mechanism. Besides this mechanism, LDH have a high adsorption capacity for positively charged non-ionic materials, through electrostatic interactions and hydrogen bonds on its vast surface area. LDH are found in nature and can also be synthesized by simple and low-cost routes, that allow for the isolation of high purity solids. This paper presents the synthesis and characterization of the LDH (CaAl-LDH e MgAl-Cl-LDH), its applications with the antiretroviral drugs efavirenz and zidovudine, and the anti-chagas drug Benznidazol. The materials were characterized by the techniques of x-ray diffraction (XRD), thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC), differential thermal analysis (DTA), infrared spectroscopy (IR), scanning electron microscopy (SEM), polarized light microscopy, and elemental analysis of metals and carbon, hydrogen and nitrogen (CHN). It was observed that in systems with CaAl-HDL, obtained by the solvent evaporation method, containing up to 30% of EFZ and 20% of BNZ, the drug became a molecule with amorphous characteristics, losing its crystalline character. This phenomenon could be demonstrated by the absence of the drug crystal planes in the XRD analysis, and also by its melting point in the DSC analysis. In the release experiments, these systems stood out because they promoted an increase in solubility, with LDH-EFZ 30% being the most promising, with an increase in the EFV solubility of 558% compared to the drug itself; and the LDH-BNZ 20% system providing a 702% increase in solubility. Thus, the association between CaAl-LDH and BNZ and EFZ (low solubility drugs) was proven to increase the solubility of these drugs, promoting a higher dissolution rate in *in vitro* studies. The aqueous solubility of a drug is a prerequisite for obtaining absorption and clinical response for most drugs administered orally. In the system containing MgAl-Cl-LDH and AZT, obtained by the method of co-precipitation at constant pH, it was noticeable that, after the synthesis, the drug became amorphous due to the interaction with the surface of the LDH, as evidenced by the XRD, TG, SEM, and IR analyses. In the release study, it was possible to obtain a profile of the prolonged release of AZT, 90% of the drug in a 24-hour experiment. The cell viability experiment showed that the CaAl-LDH:EFZ and MgAl-Cl-HDL:AZT systems became less toxic than the isolated drugs and the CaAl-HDL:BNZ system did not alter the toxicity of the drug itself, when tested in human macrophage lineage.

Keywords: Inorganic chemicals. Anti-HIV agents. Chagas disease. Drug delivery system.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1- Representação esquemática da estrutura do HDL.....	29
Figura 2- Simulação de arranjo do metotrexato na lamela do HDL.....	30
Figura 3- Microscopia Eletrônica de Varredura do (A) MgAl-Cl-HDL; (B) MgAl(BTSA)-HDL; (C) ZnAl-HDL and (D) ZnAl(BTSA)-HDL.....	32
Figura 4- Espectros de Infravermelho do CaAl-Cl-HDL original, CaAl-SDS005, CaAl-SDS01, CaAl-SDS04, CaAl-SDS08, CaAl-SDS1, and CaAl-SDS2.....	33
Figure 5- Curvas termoanalíticas (TG e DTA) do NiAl-HDL, sendo as amostras a, b e c, proporções molares Ni/Al de 1.9, 2.2 e 2.8, respectivamente.....	34
Figura 6- (I) perfil de liberação da citirizina a partir de Citirizine/Zn-Al-HDL nanocomposito pH 7.4 e pH 4.8; (II) perfil de liberação da citirizina a partir do Zn-Al-HDL e Mg-Al-HDL nanocompositos a pH 7.4 e pH 4.8. Inserido em (I) perfil de liberação da citirizina a partir das misturas físicas da citirizina como HDL a pH 7.4 e pH 4.8.....	36
Figura 7- Curvas TG–DTA do (a) Ca ₂ Al-Vitamina C, (b) Vitamina C pura (ácido ascórbico) e (c) Ca ₂ Al-NO ₃ - HDL isolado.....	37
Figura 8- Solubilidade aparente do Febufeno a partir de eFb, em comparação com Febufeno e mistura física (Fb+C) a pH 1.2, 4.5, e 6.8.....	38
Figura 9- Solubilidade aparente do FLUR, MgAl-Cl-HDL/FLUR e mistura física entre MgAl-Cl-HDL e FLUR.....	39
Figura 10- Número de patentes, por ano (2010-2014), encontradas no site WIPO/PATENTSCOPE, com os termos “hydrotalcite”, “layered double hydroxide” e “anionic clay”.....	41

MATERIAL E MÉTODOS

Figura 1- Síntese por co-precipitação a pH constante do CaAl-HDL.....	45
Figura 2- Síntese por co-precipitação a pH constante do MgAl-Cl-HDL.....	46
Figura 3- Método de obtenção por solvente dos sistemas HDL-Fármaco.....	47

CAPÍTULO I

Figura 1- Difratoograma do CaAl-HDL e seus precursores de síntese.....	55
Figura 2- Difratoograma do MgAl-Cl-HDL e seus precursores de síntese.....	56

Figura 3- Espectro de infravermelho do CaAl- NO ₃ -HDL.....	57
Figura 4- Espectro de infravermelho do MgAl-Cl-HDL.....	58
Figura 5- Curvas TG e DTA do CaAl-HDL.....	59
Figura 6- Curvas TG e DTA do MgAl- Cl-HDL.....	60
Figura 7- Fotomicrografia do CaAl-HDL obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura	61
Figura 8- Fotomicrografia do MgAl-Cl-HDL obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura	61

CAPÍTULO II

Figura 1- Estrutura química do EFZ	66
Figura 2- Difractogramas do HDL, EFZ e seus sistemas HDL-EFZ.....	68
Figura 3- Difractogramas do HDL, EFZ e suas misturas físicas.....	69
Figura 4- Espaçamento lamelar dos complexos HDL-EFZ.....	70
Figura 5- Espectros de infravermelho do HDL, EFZ e suas misturas físicas.....	71
Figura 6- Espectros de infravermelho do HDL, EFZ e seus sistemas HDL-EFZ.....	72
Figura 7- Curvas DSC do HDL, EFZ e suas misturas físicas e sistemas HDL:EFZ.....	74
Figura 8- Perfil de dissolução do EFZ isolado e seus sistemas HDL:EFZ e MF.....	75
Figura 9- Viabilidade celular de macrófagos humanos frente a EFZ, HDL e sistema HDL-EFZ 30%.....	77

CAPÍTULO III

Figura 1- Estrutura química do fármaco BNZ.....	80
Figura 2- Difractogramas do BNZ, CaAl-HDL, MF e sistemas HDL-BNZ.....	81
Figura 3- Valores do espaçamento basal (d) do CaAl-HDL e sistemas HDL-BNZ.....	82
Figura 4- Perfil térmico do BNZ, CaAl-HDL, e de suas misturas físicas e sistemas HDL:BNZ.....	83
Figura 5- Espectro de IV do BNZ, CaAl-HDL, e de suas MF e sistemas HDL:BNZ.....	85
Figura 6- Fotomicrografias do BNZ, CaAl-HDL, e suas misturas físicas e complexos obtidos por microscopia de luz polarizada.....	87
Figura 7- Perfis de liberação do BNZ, MF e sistemas HDL-BNZ.....	88
Figura 8- Viabilidade celular de macrófagos humanos frente a BNZ, HDL e sistema HDL-BNZ.....	89

CAPÍTULO IV

Figura 1- Estrutura química da zidovudina.....	93
Figura 2- Perfis difratométricos do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistema HDL:AZT.....	95
Figura 3- Curvas TG/DTA do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistema HDL:AZT.....	97
Figura 4- Espectros de IV do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistema HDL:AZT.....	99
Figura 5- Fotomicrografias do AZT, (A) 1000x, e (B) 2000x.....	100
Figura 6- MEV do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistema HDL:AZT.....	101
Figura 7- Perfis de liberação do AZT isolado, MF HDL:AZT e Sistema HDL:AZT.....	103
Figura 8 - Viabilidade de macrófagos humanos frente a AZT, HDL e sistema HDL-AZT.....	105

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 - Combinações de cátions divalentes com cátions trivalentes que produzem hidróxidos duplos lamelares.....	30
---	----

MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 1 – Reagentes utilizados nas sínteses dos HDL e obtenção dos sistemas.....	44
--	----

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Composição química do CaAl-HDL obtida por ICP-OES, análise elementar CHN e TG; e sua correlação com a fórmula química proposta.....	62
---	----

Tabela 2 - Composição química do CaAl-HDL obtida por ICP-OES, análise elementar CHN e TG; e sua correlação com a fórmula química proposta.....	63
---	----

CAPÍTULO IV

Tabela 1 - Composição química do sistema MgAl-Cl-HDL:AZT obtida por análise elementar CHN.....	102
---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag/AgCl	Prata/ Cloreto de Prata
AIDS	Síndrome Da Imunodeficiência Adquirida
Al	Alumínio
Am-	Ânion de Compensação
AZT	Zidovudina
BET	Método de Brunauer-Emmet-Teller
BJH	Método de Barrett, Joyner e Halenda
BNZ	Benznidazol
Br-	Brometo
BTSA	Ácido (benzotiazole-2-iltio) succínico
Ca	Cálcio
Ca ₂ Al-NO ₃ -HDL	Hidróxido Duplo Lamelar de Cálcio e Alumínio, com nitrato intercalado
CaAl-Cl-HDL	Hidróxido Duplo Lamelar de Cálcio e Alumínio, com cloreto intercalado
CaAl-HDL	Hidróxido Duplo Lamelar de cálcio e Alumínio
CD4	Cluster Differentiation 4
CHN	Análise química de elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio
Cl-	Cloreto
Co	Cobalto
CO ₂	Dióxido de Carbono
CO ₃ -	íon carbonato
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DMEM	Meio Eagle Modificado por Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfoxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DRX	Difração de Raios X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DST	Doenças Sexualmente Transmissíveis
DTA	Análise Térmica Diferencial
eFb	Fenbufeno Intercalado no MgAl-Cl-HDL

EFZ	Efavirenz
F-	Fluoreto
Fb	Fenbufeno
Fb+C	Fenbufeno em Mistura Física com MgAl-CO ₂ -HDL
FCF-UNESP	Faculdade De Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista
FDA	Food And Drug Administration
Fe	Ferro
FLUR	Flurbiprofeno
FT-IR	Infravermelho por Transformada de Fourier
Ga	Gálio
H ₂ O	Água
HCL	Ácido Clorídrico
HDL	Hidróxidos Duplo Lamelares
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
I-	Iodeto
ICP-OES	Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente
Acoplado	
IP	Inibidor de Protease
ITRN	Inibidor da Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeo
ITRNN	Inibidor da Transcriptase Reversa Não-Análogo de Nucleosídeo
IV	Infravermelho
LAFEPE	Laboratório farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador
Miguel Arraes	
Li	Lítio
Ltda	Limitada
M ²⁺	Cátion Metálico Bivalente
M ³⁺	Cátion Metálico Trivalente
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Mistura Física
Mg	Magnésio
MgAl-Cl-HDL	Hidróxido Duplo Lamelar De Magnésio e Alumínio, com Cloreto
intercalado	
MgAl-CO ₂ -HDL	Hidróxidos Duplo Lamelar de MgAl intercalado com íon Carbonato

MgAl-NO ₃ -HDL	Hidróxido Duplo Lamelar De Magnésio e Alumínio, com nitrato intercalado
Mn	Manganês
MTT	(brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio)
NA	Não se Aplica
NAOH	Hidróxido De Sódio
Ni	Níquel
NiAl-CO ₃ -HDL	Hidróxido Duplo Lamelar de Níquel e Alumínio, com carbonato intercalado
OH-	Ânion Hidróxido
PGA	Penicilina G Acilase
Sc	Escândio
TARV	Terapia Antirretroviral
TG	Termogravimetria
Ti	Titânio
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV	Ultravioleta
UVA	Radiação Ultravioleta A
UVB	Radiação Ultravioleta B
WIPO	World Intellectual Property Organization
Zn	Zinco
ZnAl-HDL	Hidróxido Duplo Lamelar De Zinco e Alumínio
ZnO	Óxido de zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

p/p	peso por peso
m/m	massa por massa
mL	mililitro
pH	potencial hidrogeniônico
M	Molar
v	deformação axial
δ	deformação angular
mL/min	mililitros por minutos
rpm	rotações por minuto
°C	graus celsius
%	porcentagem
Å	ângstrom
°/s	graus por segundo
θ	ângulo de Bragg
n	ordem de reflexão do pico
λ	comprimento de onda

d	distância basal
cm ⁻¹	centímetro elevado a menos um
°C.min ⁻¹	graus celsius por minuto
mg	miligramas
Sbet	Superfície específica
mg/mL	miligramas por mililitro
mg/L	miligramas por litro
v/v	volume por volume
mM	milimolar
U/mL	unidades por mililitro
µg/mL	microgramas por mililitro
µL	microlitros
µm	micrômetros
m ² /g	metros quadrados por grama
cm ³ /g	centímetros cúbicos por grama
cells/mL	células por mililitro
h	horas

nm nanômetros

IC50 concentração de inibição média

min minutos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo Geral	26
2.2 Objetivos Específicos	26
3 REVISÃO DA LITERATURA	28
Hidróxidos Duplos Lamelares: Principais Caracterizações e Aplicações na Área Farmacêutica.....	28
3.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	28
3.2 ESTRUTURA DOS HDL	29
3.3 UTILIZAÇÃO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS NA CARACTERIZAÇÃO	31
3.4 APLICAÇÃO NA ÁREA FARMACÊUTICA	34
3.4.1 Liberação de substância biologicamente ativas.....	34
3.4.2 Síntese de fármacos	36
3.4.3 Estabilidade de fármacos sintéticos e biomoléculas.....	37
3.4.4 Promotor de solubilidade.....	38
3.4.5 Medicamento	39
3.4.6 Cosmético	40
3.5 PATENTES RELACIONADAS AOS HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES.....	40
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1 Fármacos e Reagentes	44
4.2 Síntese do CaAl-HDL (CaAl-HDL)	45
4.3 Síntese do MgAl-Cl-HDL	46
4.4 Obtenção dos sistemas CaAl-HDL, com os fármacos Benznidazol (BNZ) e Efavirenz (EFZ)	47
4.5 Obtenção dos sistemas MgAl- HDL com Zidovudina (AZT).....	48
4.6 Difração de Raios-X de pó (DRX)	48
4.7 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)	48
4.8 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA).....	49
4.9 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	49
4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	49
4.11 Porosimetria.....	49
4.12 Microscopia de Luz Polarizada	50
4.13 Análise elementar	50
4.14 Teste de liberação em condições <i>non-sink</i>	50
4.15 Estudo de liberação em condições <i>sink</i>	51
4.16 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos	51
5 CAPÍTULO I	54
Síntese e Caracterização de Hidróxidos Duplos Lamelares para aplicação em sistemas de liberação de fármacos.....	54
5.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	54
5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.2.1 Difração de Raios-X de pó.....	55
5.2.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)	57
5.2.3 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA).....	58
5.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	60

5.2.5 Porosimetria.....	62
5.2.6 Análise elementar	62
6 CAPÍTULO II.....	65
CaAl-HDL como sistema de liberação de fármaco: efeitos na solubilidade e toxicidade do antiretroviral Efavirenz.....	65
6.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	65
6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
6.2.1 Difração de raios-X de pó.....	67
6.2.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)	70
6.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	73
6.2.4 Teste de liberação em condições <i>non-sink</i>	75
6.2.5 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos	76
7 CAPÍTULO III	79
CaAL-HDL como sistema de liberação de fármaco - Efeitos na solubilidade e toxicidade do antichagásico Benznidazol.....	79
7.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	79
7.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
7.2.1 Difração de raios-X de pó.....	80
7.2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	83
7.2.3 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)	84
7.2.4 Microscopia de Luz Polarizada	86
7.2.5 Estudo de liberação em condições <i>non-sink</i>	88
7.2.6 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos	89
8 CAPÍTULO IV.....	92
Sistema de liberação prolongada do antiretroviral zidovudina, a partir da matriz de MgAl-Cl-HDL	92
8.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	92
8.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
8.2.1 Difração de raios-X de pó.....	94
8.2.2 Termogravimetria (tg) e Análise Térmica Diferencial (DTA)	96
8.2.3 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)	98
8.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	100
8.2.4 Análise elementar	102
8.2.5 Estudo de liberação em condições <i>sink</i>	102
8.2.6 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos	104
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	107

REFERÊNCIAS

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Curva de calibração para determinação do teor de AZT.....	130
---	------------

ANEXOS

ANEXO 1- Resumo expandido apresentado no 3º Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica, Jaboatão dos Guararapes/PE.....	132
ANEXO 2 – Resumo apresentado oralmente no XIII Encontro da SBPMat, João Pessoa/PB.....	133
ANEXO 3 – Resumo apresentado no II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas, Teresina/PI.....	134
ANEXO 4 – Menção honrosa concedida ao Resumo apresentado no II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas, Teresina/PI.....	135
ANEXO 5 – Resumo apresentado oralmente no 17th International Conference on Pharmacology and Pharmaceltical Technology, Paris.....	136
ANEXO 6 – Participação na 1ª Reunião sobre Argilas Aplicadas, Natal/RN.....	137
ANEXO 7- Patente depositada no INPI intitulada “Sistemas binários de Benznidazol com Hidróxidos Duplos Lamelares destinado à formulação de medicamentos”.....	138
ANEXO 8- Patente depositada no INPI intitulada “Apliação de Hidróxidos Duplos Lamelares como excipiente funcional na obtenção de sistemas binários com Efavirenz para medicamento antiretroviral”.....	139
ANEXO 9- Submissão da revisão da literatura para o Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.....	140
ANEXO 10 – Submissão do artigo oriundo do capítulo II para a revista Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry.....	141
ANEXO 11- Certificado de análise de matéria prima EFZ.....	142
ANEXO 12- Certificado de análise de matéria prima BNZ.....	143
ANEXO 13- Certificado de análise de matéria prima AZT.....	144

INTRODUÇÃO

1.0 INTRODUÇÃO

O tradicional conceito de excipiente, como sendo simples adjuvante e veículo, química e farmacologicamente inerte, vem sofrendo grande evolução. Excipientes, anteriormente vistos como meras substâncias capazes de facilitar a administração e proteger o fármaco, hoje são considerados como constituintes essenciais, que garantem o desempenho do medicamento e otimizam a obtenção do efeito terapêutico (PESSANHA et al., 2012; LIMA et al., 2011).

Uma das principais dificuldades, no que diz respeito ao desenvolvimento e atividade terapêutica de diversos medicamentos, é sua instabilidade química ou propriedades biofarmacêuticas insatisfatórias; como dificuldade de solubilidade em ambiente aquoso (SALTÃO; VEIGA, 2001; KARAVAS et al., 2007). A solubilidade aquosa de um fármaco constitui requisito prévio à absorção e obtenção de resposta clínica, para a maioria dos medicamentos administrados por via oral (RAMA et al., 2006), sendo os fármacos pouco solúveis, lentamente absorvidos quando comparados aos que possui alta solubilidade em água (PATEL et al., 2008; LIMA et al., 2011). A partir desses entraves tecnológicos, faz-se necessário o desenvolvimento de novos excipientes farmacêuticos que visem a promoção da solubilidade em água de fármacos pouco solúveis e que aumentem sua estabilidade físico-química.

Os HDL, apresentam propriedades promissoras para serem utilizados como carreadores de fármacos, pois possuem baixa toxicidade, alta biocompatibilidade, alta capacidade de inserção de espécies iônicas, extensa área superficial disponível para adsorção, podem promover aumento da estabilidade das espécies inseridas e promoção de sua liberação prolongada (CUNHA et al., 2010).

Os HDL, também conhecidos como compostos tipo hidrotalcita, apresentam estruturas bidimensionalmente organizadas, com lamelas flexíveis como os argilominerais naturais. Esses materiais são capazes de incorporar espécies negativas na região interlamelar de modo a neutralizar as cargas positivas das lamelas, através do mecanismo de troca iônica com o ânion interlamelar; além da capacidade de adsorção de materiais não iônicos e carregados positivamente, através de interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio formadas através das hidroxilas presentes na sua porção superficial. Os HDL possuem ocorrência natural e também podem ser sintetizados em laboratório por rotas simples e de baixo custo, que permitem o isolamento de sólidos de alta pureza (TAKASHI & YAMAGUCHI, 1991; DE ROY, FORANO, & BESSE, 1991).

A biocompatibilidade do HDL o torna um interessante aliado nas áreas medicinal e farmacológica, nas quais suas propriedades como antiácido são estudadas já há algum tempo (COSNIER et al., 2006; CHOY, 2006). A hidrotalcita, $\text{MgAl-CO}_2\text{-HDL}$, é encontrado comercialmente com o nome Talcid[®], um antiácido patenteado pela empresa Bayer AG (PETERSON et al., 1993).

Além do uso como antiácido, onde este composto comporta-se como insumo farmacêutico ativo; ele também vem sendo empregado como excipiente farmacêutico inteligente. Nos últimos anos, observa-se um número crescente de artigos científicos e de patentes que focam a intercalação de produtos biologicamente ativos em HDL, como uma estratégia para aumentar a estabilidade das substâncias, para aplicação em terapias gênicas, liberação controlada de substâncias, entre outras aplicações (Del Arco et al, 2009; WEY et al, 2004).

Diante do exposto, o presente trabalho apresenta um levantamento bibliográfico a respeito das aplicações destes compostos lamelares na área farmacêutica, além da síntese e caracterização de HDL (CaAl-HDL e MgAl-Cl-HDL), e sua aplicação junto aos fármacos antiretrovirais Efavirenz e Zidovudina, e do anti-chagásico Benznidazol.

OBJETIVOS



2.0 OBJETIVOS

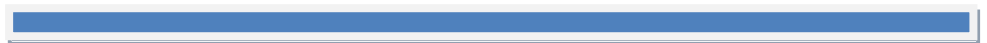
2.1 Objetivo Geral

Obtenção de compostos lamelares multifuncionais, visando o desenvolvimento de excipientes farmacêuticos promotores de solubilidade e liberação modificada.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar HDL com diferentes íons metálicos, tais como Mg^{2+} , Ca^{2+} e Al^{3+} .
- Realizar caracterizações físico-químicas dos compostos sintetizados;
- Obter sistemas HDL:Fármaco a través da incorporação do Efavirenz, Benznidazol e Zidovudina na matriz do HDL;
- Realizar caracterizações da associação fármaco/HDL;
- Avaliar o incremento da solubilidade proporcionada aos fármacos Efavirenz e Benznidazol (fármacos classe II no sistema de classificação biofarmacêutico);
- Avaliar o perfil de liberação prolongada da zidovudina (fármaco classe I no sistema de classificação biofarmacêutico), a partir da matriz do HDL;
- Avaliar a toxicidade dos HDL obtidos, assim como dos sistemas fármaco:HDL.

REVISÃO DA LITERATURA



3.0 REVISÃO DA LITERATURA

Hidróxidos Duplos Lamelares: Principais Caracterizações e Aplicações na Área Farmacêutica

3.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL) são sólidos lamelares inorgânicos utilizados nas ciências química e farmacêutica como catalisadores (BRITO *et al.*, 2009), agentes adsorventes (PSHINKO, 2013), estabilizadores de fármacos e polímeros (MAI, YU, 2006; LEROUX *et al.*, 2004), moduladores de liberação de substâncias biologicamente ativas (GUNAWAN, XU, 2008; AMBROGI *et al.*, 2001; YANG, 2003) entre outras.

Um dos principais métodos de interação entre moléculas orgânicas e os HDL, é através da troca de iônica, onde íons interlamelares do HDL são trocados por moléculas captadas do ambiente. Esse fenômeno é denominado intercalação, e pode ser utilizado com diferentes finalidades, entre elas deionização de água, processos biológicos e enzimáticos, despoluição de afluentes, operações farmacêuticas, entre outras (TONGLAIROUM *et al.*, 2014). Outras formas importantes de interação dos HDL com substâncias orgânicas são através de pontes de hidrogênio e atração eletrostática, exercidas pelas hidroxilas presentes na superfície do material (TAKAHASHI & YAMAGUCHI, 1991).

As propriedades dos HDL podem ser combinadas com as propriedades do composto intercalado, resultando em um híbrido no qual a estabilidade térmica, química, fotoquímica entre outras, podem ser substancialmente elevadas comparadas às do composto livre (ALI *et al.*, 2012; ZHAO *et al.*, 2015). Em adição, o material intercalado pode ser submetido a um processo de liberação sustentada, a partir da matriz do HDL; ou obter um incremento de sua solubilidade, quando se tratar de substâncias hidrofóbicas (ALI *et al.*, 2012; DEL-ARCO *et al.*, 2010).

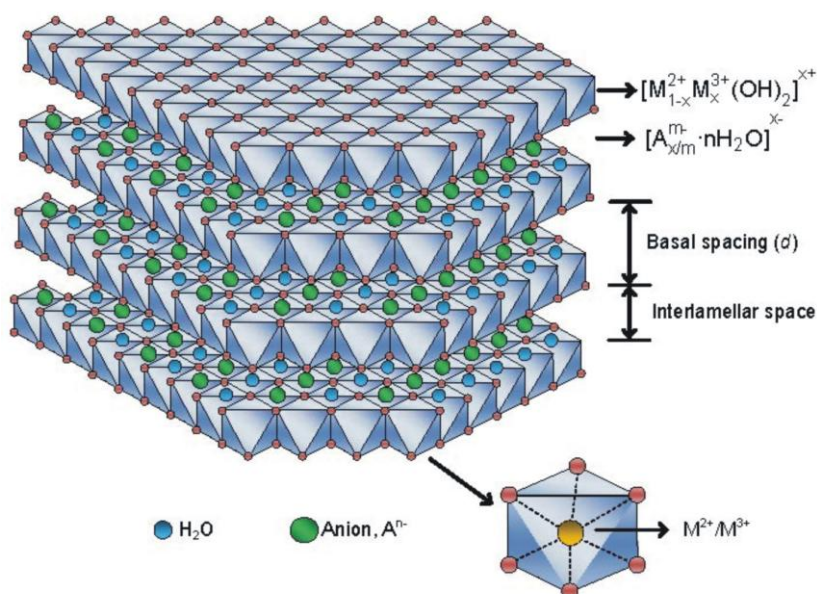
Diante do exposto, realizou-se uma revisão da literatura em artigos e patentes, acerca das estruturas, tipos, síntese dos HDL e os métodos de caracterização; assim como a as principais aplicações dos HDL na área farmacêutica.

3.2 ESTRUTURA DOS HDL

Os HDL possuem uma formulação genérica do tipo $[M^{2+}_{1-x}M^{3+}_x(OH)_2]^{x+}(A^{m-})_{x/m} \cdot nH_2O$, onde M^{+3} e M^{+2} representam cátions metálicos tri e divalentes, respectivamente, passíveis de ocuparem sítios octaédricos; e A^{m-} representa um ânion de compensação e X representando a razão molar. Nesses compostos, o cátion trivalente substitui isomorficamente um cátion divalente da estrutura do hidróxido, criando cargas residuais que são compensadas com a intercalação de ânions hidratados (CONCEIÇÃO et al., 2007; SUAREZ, MOZO & OYAMA, 2004).

Os diferentes octaedros compartilham lados para formar uma camada plana e infinita, como mostrado na figura 1 (WYPYCH & ARÍZAGA, 2005). As camadas são empilhadas umas sobre as outras, formando multicamadas que são mantidas unidas através de interações do tipo ligações de hidrogênio (WYPYCH, ARÍZAGA & SATYANARAYANA, 2008). Estas lamelas para serem estabilizadas necessitam da presença de ânions de compensação interlamelares para manter a eletroneutralidade (IIIÁIK, et al., 2008). Nesse caso além das ligações de hidrogênio, existem principalmente atrações eletrostáticas entre as lamelas e os ânions de compensação interlamelares (ZHU, e. al., 2008)

Figura 1 - Representação esquemática da estrutura do HDL.



Fonte: (TRONTO et al.; 2013)

Várias combinações de cátions di e trivalentes são utilizadas para a síntese de HDL, por diferentes autores variando também os métodos de síntese. Os cátions metálicos utilizados para estas sínteses de HDL devem possuir coordenação octaédrica e raio iônico na faixa de 0,50 – 0,74 Å, para que ocorra a formação da estrutura, semelhante á hidrotalcita natural, a brucita. (SUAREZ, MOZO & OYAMA, 2004; CONCEIÇÃO et al, 2007). A partir da fórmula geral, podem-se prever diversas combinações de cátions que podem formar HDL (tabela 1), sendo de extrema importância associar cátions com valores de raio iônico próximos. (LIU, et al., 2006; SUN, et al., 2008).

TABELA 1 - Combinações de cátions divalentes com cátions trivalentes que produzem hidróxidos duplos lamelares.

M²⁺	Mg	Ni	Zn	Cu	Co	Mn	Fe	Ca
M³⁺								
Al	X	X	X	X	X	X	X	X
Fe	X	X					X	
Cr	X	X	X	X				
Co		X			X			
Mn						X		
Ni		X						
Sc	X							
Ga						X		

Nota: Fonte: (LIU, et al., 2006; SUN, et al., 2008).

Na preparação do HDL, um fator de grande importância é a capacidade de estabilização da estrutura lamelar pelo ânion interlamelar. Quanto maior a capacidade de estabilização mais facilmente o HDL se formará. Não existem limitações para a intercalação de inúmeras espécies de natureza aniônica que podem compensar as cargas positivas geradas pela substituição dos cátions das lamelas. Como exemplo destes ânions, têm-se os haletos (F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻), os oxo-ânions (CO₃²⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, Cr₄²⁻), ânions complexos ([Fe(CN)₆]⁴⁻, [NiCl₄]²⁻), polioxo-metalatos (V₁₀O₂₈⁶⁻, Mo₇O₂₄⁶⁻), ânions orgânicos (carboxilatos, oxálico, succinico, porfirinas) etc (CONCEIÇÃO et al, 2007). As reações de intercalação são, usualmente, reversíveis e são também transformações pseudomórficas, uma vez que a integridade da estrutura cristalina “hospedeira” é mantida. (COELHO & SANTOS, 2007).

3.3 UTILIZAÇÃO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS NA CARACTERIZAÇÃO

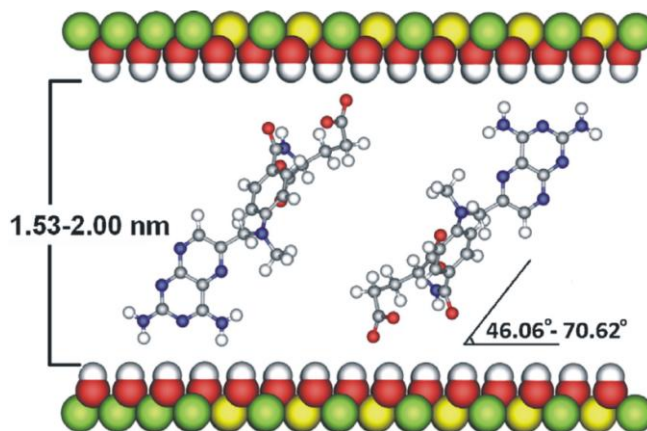
Cunha e colaboradores (2010) fizeram um levantamento de 55 artigos relacionados à intercalação de fármacos na matriz do HDL, onde relataram a composição do HDL, os fármacos intercalados e as caracterizações realizadas. Em uma análise mais refinada destas informações, pôde-se extrair em percentual, as técnicas mais utilizadas para caracterização de HDL. Foram encontradas 23 técnicas diferentes de caracterização nestes 55 artigos, dentre elas, a DRX ficou em evidência, presente em 96,3% dos artigos, acompanhada de IV e Análise química dos elementos CHN/CHNS com 61,1% e 40,7% respectivamente. Outras análises que também detiveram um bom percentual de aplicabilidade na caracterização dos HDL foram TG (24,1%), Microscopia Eletrônica de Transmissão (24,1%), TG-DTA (22,2%), MEV (18,5%) e Espectroscopia de Emissão Atômica (18,5%). Estas sete análises foram as que mais contribuíram para a caracterização dos HDL nos artigos pesquisados.

Embora não contemplada como uma das principais caracterizações nos artigos citados por Cunha e colaboradores (2010), a análise de determinação de área superficial e de distribuição de tamanho de poros desponta como uma das mais importantes técnicas para análise destes materiais, principalmente, quando o objetivo final seja a intercalação de outras substâncias.

Jitianu e colaboradores (2013) fizeram análise de superfície do NiAl-HDL por porosimetria, pelo método Brunauer–Emmet–Teller (BET) e análise de tamanho de poros utilizando o método de adsorção dos gases Nitrogênio/Hélio utilizando o método Barrett, Joyner & Halenda (BJH). Neste sentido eles puderam comprovar que havia diferença na área superficial e tamanho de poros quando a síntese era realizada com razões molares diferentes.

Liu e colaboradores (2015) obtiveram um valor de 0,86 nm para a distância interlamelar de MgAl-NO₃-HDL usando a técnica de DRX e aplicando a lei de Bragg. Após a intercalação do fármaco metotrexato, observou-se um alargamento deste espaço, variando entre 1,53 e 2,00 nm, dependendo da proporção de fármaco utilizado. Estes resultados confirmam a intercalação da molécula nas lamelas do HDL em posições variadas, com ângulos de inclinação variando entre 40,06 ° e 70,62 °, como mostrado na figura 2.

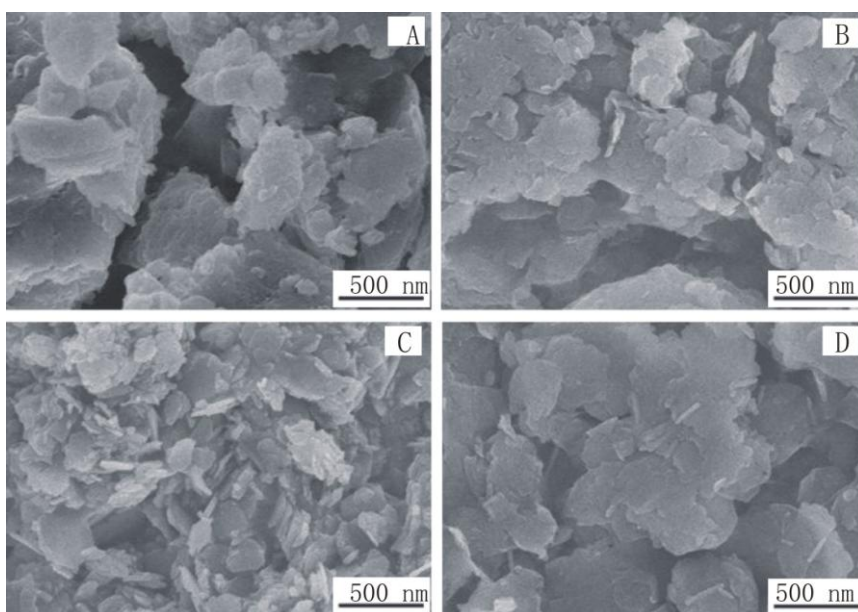
Figura 2 - Simulação de arranjo do metotrexato na lamela do HDL



Fonte: Liu e colaboradores (2015)

Hang e colaboradores (2012) utilizaram imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura de MgAl-Cl-HDL, ZnAl-HDL, e ambos intercalados com o ácido (benzotiazole-2-iltio)succínico (BTSA) (Figura 3). Todas as amostras apresentaram-se com uma morfologia planar, com tamanho das partículas do HDL variando de 50 nm a 200 nm. As amostras contendo BSTA intercalado apresentaram-se mais uniformes e com dimensões maiores que os seus respectivos HDL.

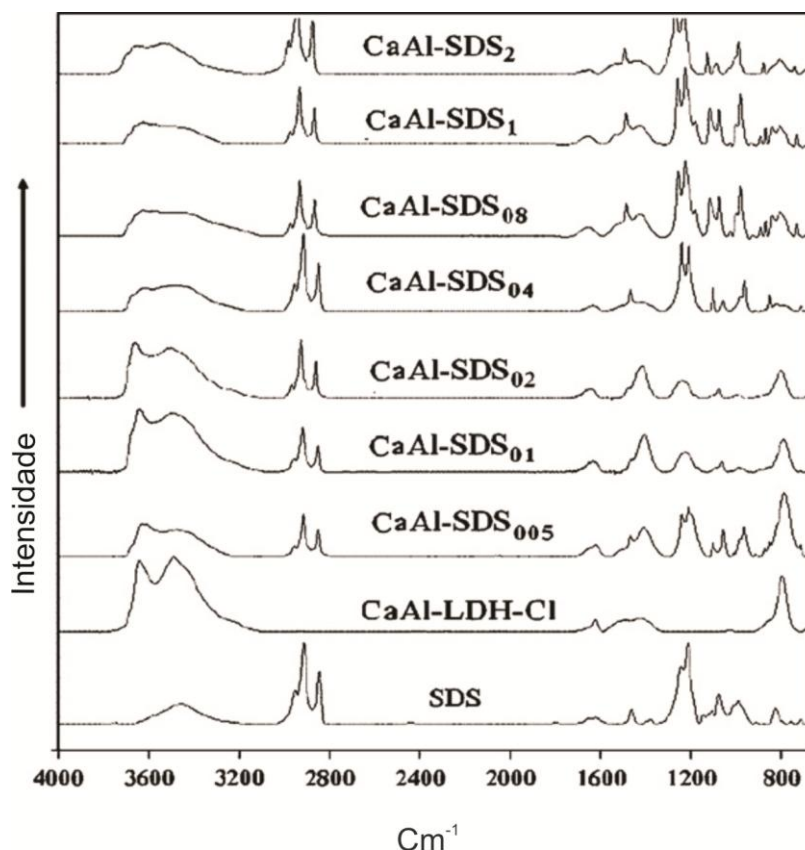
Figura 3 - MEV do (A) MgAl-Cl-HDL; (B) MgAl(BTSA)-HDL; (C) ZnAl-HDL and (D) ZnAl(BTSA)-HDL.



Fonte: Hang e colaboradores (2012)

Zhang e colaboradores (2012) utilizaram a técnica de IV com Transformada de Fourier para detecção das vibrações das ligações orgânicas presentes no dodecilsulfato de sódio isolado e intercalado a CaAl-Cl-HDL (Figura 4). Sendo assim, foram detectadas bandas referentes aos dois componentes de maneira sobreposta, na amostra com o fármaco intercalado. Comprovando assim, que o fármaco inseriu-se nas lamelas do HDL quando adicionou-se o mesmo em solução do fármaco. Neste mesmo artigo, os pesquisadores utilizaram Espectroscopia de Emissão Atômica para verificar o ambiente químico dos compostos obtidos, verificando que além do produto fármaco-CaAl-HDL, formou-se também o produto fármaco-Ca, através de diferentes precipitações.

Figura 4 - Espectros de IV do CaAl-Cl-HDL original, CaAl-SDS005, CaAl-SDS01, CaAl-SDS04, CaAl-SDS08, CaAl-SDS1, and CaAl-SDS2.



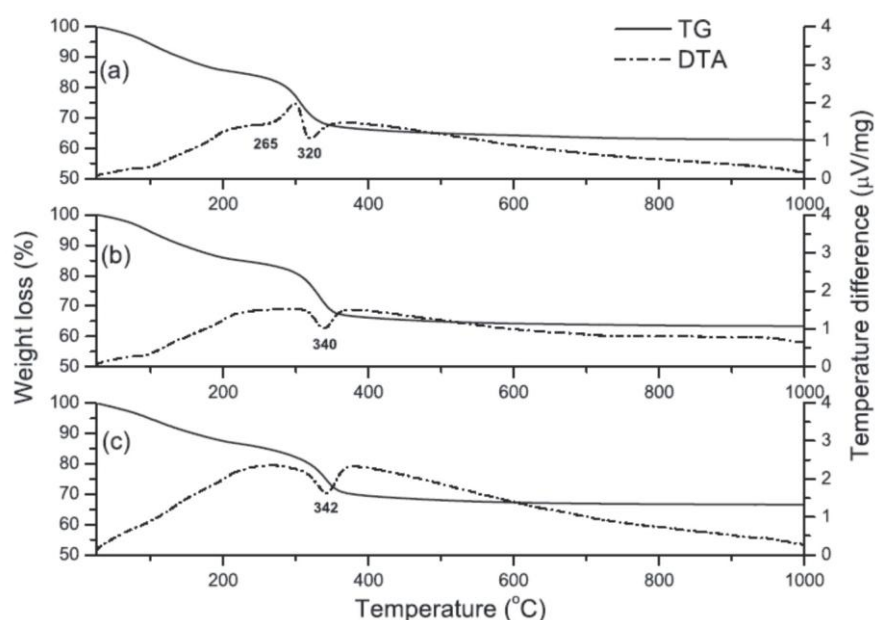
Fonte: Zhang e colaboradores (2012)

Wei e colaboradores (2006) utilizaram análise elementar para avaliar duas maneiras de obtenção do NiAl-CO₃-HDL (co-precipitação e troca iônica). Através da análise, foi possível

observar que o método de co-precipitação obteve um material mais puro em relação ao método de troca iônica, onde foi detectado traços de nitrogênio, proveniente do nitrato não trocado pelo Co_3^{-2} .

Jitianu e colaboradores (2013) utilizaram TG e DTA para analisar NiAl-HDL, obtido por diferentes proporções molares na síntese. Através das técnicas, pôde-se observar os eventos de perda de massa e variações de energia envolvidas no processo de decomposição do HDL (Figura 5).

Figura 5 - Curvas termoanalíticas (TG e DTA) do NiAl-HDL, sendo as amostras a, b e c, proporções molares Ni/Al de 1.9, 2.2 e 2.8, respectivamente.



Fonte: Jitianu e colaboradores (2013)

3.4 APLICAÇÃO NA ÁREA FARMACÊUTICA

3.4.1 Liberação de substância biologicamente ativas

Uma das principais aplicações do HDL no campo farmacêutico, é como matriz de liberação de fármacos. O material intercalado poderá sofrer um processo de liberação sustentada, decorrente da dissolução da matriz lamelar em função do ataque ácido ou de uma

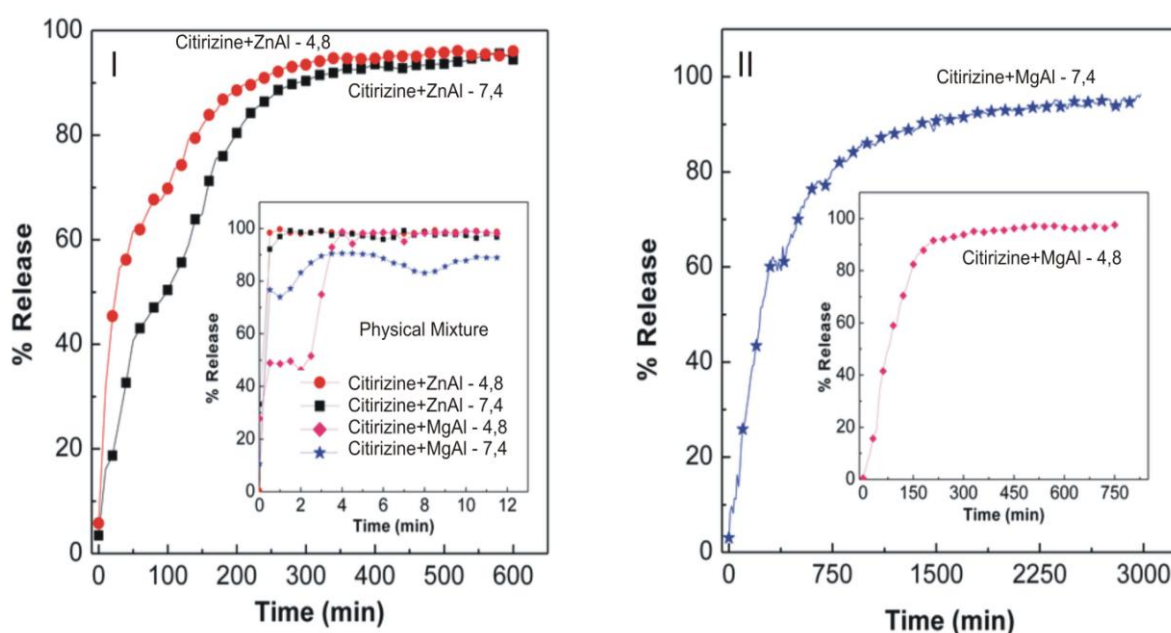
reação de troca iônica. Sendo os HDL's compostos básicos, estes dissolvem-se rapidamente a baixos valores de pH, mas a sua dissolução reduz-se consideravelmente para valores de pH mais elevados, permitindo a liberação lenta dos fármacos (WEI, *et al.*, 2004; AMBROGI *et al.*, 2002).

Essas propriedades permitem que o HDL seja um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para uso como suporte para o armazenamento e a liberação sustentada da substância intercalada, que pode ser fármacos, um regulador de crescimento vegetal, porfirinas para uso em terapia fotodinâmica, aminoácidos, vitaminas, herbicidas, ou mesmo a molécula de DNA em procedimentos de terapia gênica (CUNHA, 2010).

Ali e colaboradores (2012), utilizaram o fármaco cetirizina, para estudos de intercalação e liberação em Zn-Al-HDL e Mg-Al-HDL. As proporções de fármaco intercalado foram de 0,57/1 e 0,61/1 (fármaco/HDL) para o Zn-Al-HDL e Mg-Al-HDL respectivamente. No estudo de liberação, foi observado que o Mg-Al-HDL foi a matriz que proporcionou uma melhor taxa de liberação do fármaco, assim como um melhor perfil de liberação sustentada em relação ao Zn-Al-HDL (figura 6). Sob meio de dissolução simulando as condições do intestino delgado, com pH 7,4; as misturas físicas realizadas com a cetirizina e o Mg-Al-HDL, liberaram todo o fármaco em torno de 5 minutos.

A taxa de liberação a partir do Mg-Al-HDL apresentou-se mais controlada que a do Zn-Al-HDL, obtendo uma liberação de 96,3% em 2980 min, frente a 95,6% em 600 minutos para o Zn-Al-HDL a pH 7,4. Este tempo bastante elevado para liberação da cetirizina a partir da matriz do Mg-Al-HDL, deve-se ao fato que a densidade de carga do Mg-Al-HDL é maior que a do Zn-Al-HDL; fazendo com que o fármaco permaneça mais fortemente ligado às suas lamelas (ALI *et al.*, 2012).

Figura 6 - (I) perfil de liberação da citirizina a partir de Citirizine/Zn-Al-HDL nanocomposito pH 7.4 e pH 4.8; **(II)** perfil de liberação da citirizina a partir do Zn-Al-HDL e Mg-Al-HDL nanocompositos a pH 7.4 e pH 4.8. Inserido em **(I)** perfil de liberação da citirizina a partir das misturas físicas da citirizina como HDL a pH 7.4 e pH 4.8.



Fonte: Ali e colaboradores (2012)

O sistema de liberação sustentada de fármacos permite que uma dosagem efetiva permaneça na corrente sanguínea por um intervalo de tempo maior, reduzindo assim, o número de administrações do medicamento ao paciente. Isto requer uma baixa liberação do princípio ativo a partir da matriz que o transporta (GUNAWAN & XU, 2008).

3.4.2 Síntese de fármacos

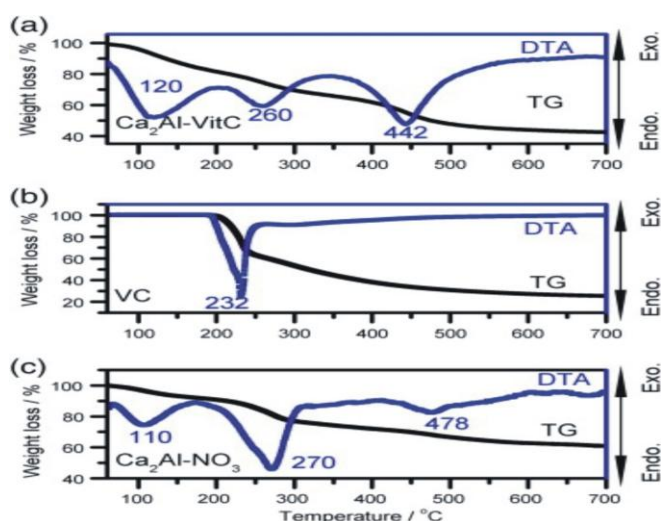
A aplicação do HDL estende-se também para a área da síntese orgânica, onde o HDL-Mg-Al foi usado na intercalação da enzima penicilina G acilase (PGA), para preparação de ácido 6-aminopenicilânico, um intermediário importante na síntese semi-sintética de penicilina, tais como a amoxicilina e ampicilina. A PGA já foi previamente imobilizada numa variedade de materiais, mas os esforços para utilização de novos tipos de carreadores estão ainda em curso com a finalidade de melhorar a eficiência catalítica da enzima e reduzir o custo do processo (REN *et al.*, 2002).

Os carreadores insolúveis usados até agora são quase sempre derivados poliméricos sintéticos ou naturais, géis orgânicos e fibras; com capacidade limitada para reutilização e grande produção de descarte de resíduos pós-síntese. Carreadores inorgânicos têm a vantagem de ser reutilizáveis, resistentes ao ataque microbiano e geralmente pouco afetados por alterações no pH (REN et al.; 2002); dando a estes materiais, subsídios para a sua utilização neste ramo da indústria química e farmacêutica.

3.4.3 Estabilidade de fármacos sintéticos e biomoléculas

Os HDL são capazes de proteger da decomposição certas moléculas ou fármacos sensíveis ao ar, à luz ou ao calor (CHOY, et al., 2001). Gao e colaboradores (2014) observaram que o $\text{Ca}_2\text{Al-NO}_3$ -HDL conferiu à vitamina C uma melhor estabilidade térmica, quando a mesma foi intercalada nas lamelas do carreador. Por meio de TG/DTA, verificou-se que a temperatura de decomposição da vitamina C isolada foi de 232°C (Figura 7b), ao passo que, a decomposição da mesma molécula, intercalada em $\text{Ca}_2\text{Al-NO}_3$ -HDL, ocorreu a 442°C (Figura 7a).

Figura 7. Curvas TG–DTA do (a) $\text{Ca}_2\text{Al-Vitamina C}$, (b) Vitamina C pura (ácido ascórbico) e (c) $\text{Ca}_2\text{Al-NO}_3$ - HDL isolado.



Fonte: Gao e colaboradores (2014)

As técnicas termoanalíticas são amplamente utilizadas em estudos de pré-formulação de medicamentos, pois se apresentam como uma forma rápida e útil para se obter informação sobre propriedades físico-químicas e comportamento térmico de componentes da formulação

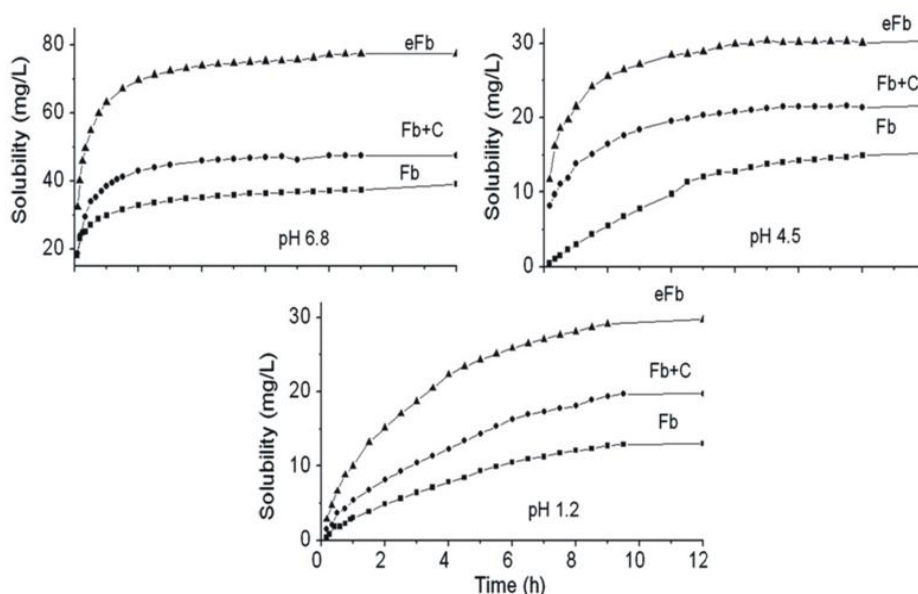
(ALMEIDA *et al.*, 2010). Estas técnicas são extremamente úteis em estudos de estabilidade, permitindo a escolha de formulações mais estáveis com extrema rapidez, através da análise de compatibilidade fármaco-excipiente; um fator especialmente desejável para a indústria farmacêutica (SILVA *et al.*, 2009).

3.4.4 Promotor de solubilidade

O aumento da solubilidade aquosa de fármacos, pouco solúveis em meio aquoso, é um dos fatores importantes para a melhoria da absorção e a obtenção de uma biodisponibilidade oral adequada (JAGDALE *et al.*, 2012).

Del-Arco e colaboradores (2010) estudaram o incremento da solubilidade do anti-inflamatório não-esteroidal fenbufeno (Fb) quando intercalado, por troca iônica, com MgAl-Cl-HDL (eFb) e quando sujeito a uma mistura física com MagAl-CO₂-HDL (Fb+C) (figura 8). O estudo foi realizado em três condições de pH diferentes (1.2, 4.5 e 6.8). A intercalação do Fb na matriz MgAl-Cl-HDL resultou num aumento da solubilidade de 128%, 99% e 98% a um pH de 1,2, 4,5, e 6,8, respectivamente. A mistura física Fb+C aumentou a solubilidade em 51%, 62%, e 21% a um pH de 1,2, 4,5, e 6,8, respectivamente. Os resultados, independentemente do valor de pH, mostraram que a presença do HDL aumenta a solubilidade do fármaco, quando comparado à solubilidade do mesmo puro.

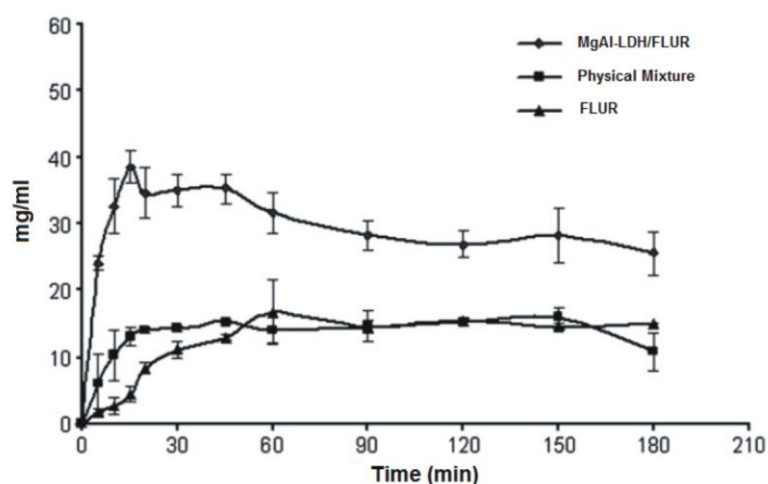
Figura 8 - Solubilidade aparente do Febufeno a partir de eFb, em comparação com Febufeno e mistura física (Fb+C) a pH 1.2, 4.5, e 6.8.



Fonte: Del-Arco e colaboradores (2010)

Perioli e colaboradores (2011) intercalaram o anti-inflamatório flurbiprofeno (FLUR) em MgAl-Cl-HDL, a fim de observar a ação da intercalação sobre a solubilidade do fármaco num meio gástrico (pH 1,2), como visto na figura 9. O FLUR possui baixa solubilidade aquosa, e é pertencente à classe II do sistema de classificação biofarmacêutico. O mesmo, ao ser intercalado em MgAl-Cl-HDL apresentou um aumento expressivo de solubilidade em meio aquoso. Após 15 minutos de teste, a concentração de fármaco livre no meio de dissolução foi de 4.46 mg/L, enquanto a concentração do FLUR intercalado em MgAl-Cl-HDL foi de 38,51 mg/L. Este incremento de solubilidade foi atribuído à perda de cristalinidade do fármaco quando associada ao MgAl-Cl-HDL, fazendo com que esse material amorfo obtivesse uma maior solubilidade que o mesmo na forma cristalina.

Figura 9 - Solubilidade aparente do FLUR, MgAl-Cl-HDL/FLUR e mistura física entre MgAl-Cl-HDL e FLUR.



Fonte: Perioli e colaboradores (2011)

3.4.5 Medicamento

A biocompatibilidade da hidrotalcita, HDL composto de magnésio, alumínio e carbonato, o torna um interessante aliado nas áreas medicinal e farmacológica, nas quais suas propriedades como antiácido são estudadas já há algum tempo (COSNIER *et al.*, 2006). Ela é encontrada comercialmente com o nome Talcid®, um antiácido patenteado pela empresa Bayer AG. Este efeito anti-ácido é devido a sua alta atividade antipéptica que pode ser

atribuída tanto à adsorção da pepsina na superfície do HDL, bem como ao efeito tamponante do HDL em pH = 4 por longo período (ARCO, et al., 2004).

3.4.6 Cosmético

Mohsin e colaboradores (2013), intercalaram cinamato, forma aniônica do ácido cinâmico, em ZnAl-HDL, para utilização como fator de proteção para radiação UVA e UVB. O ZnAl-HDL apresentou um alargamento do espaçamento basal, como resultado do cinamato intercalado no seu domínio interlamelar, contendo 40,4% p/p do ativo. O espectro de absorção UV-vis da associação ZnAl-HDL/cinamato mostrou excelente capacidade de absorção UVA e UVB para a associação Ensaio de MTT, avaliou a viabilidade celular do composto de intercalação sobre células fibroblásticas dérmicas humanas, mostrando que a citotoxicidade do ZnAl-HDL/cinamato diminuiu em relação ao cinamato isolado, além da associação apresentar-se menos tóxica que seu precursor ZnO.

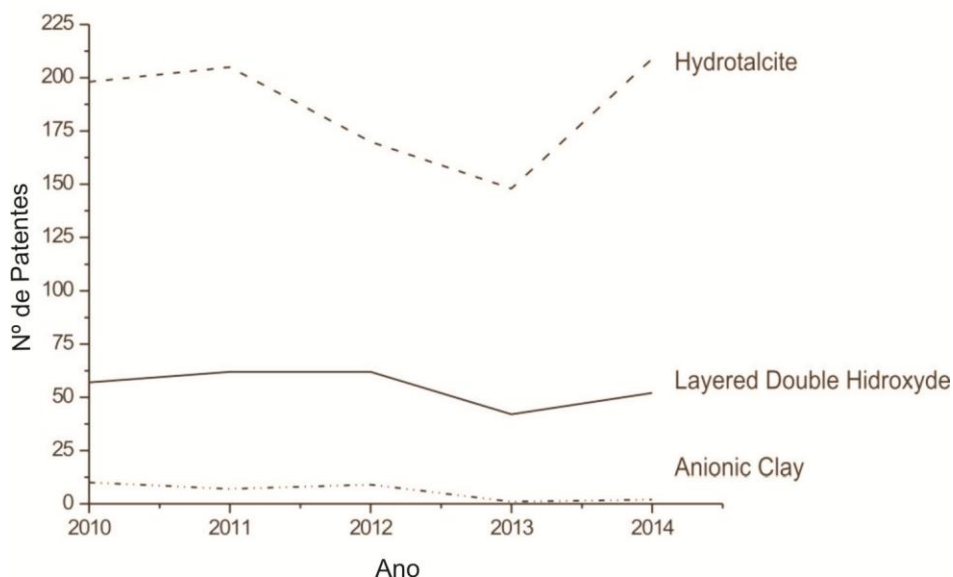
Yang e colaboradores (2003) prepararam um compósito contendo ZnAl-HDL, vitamina C, e um revestimento de sílica. Testes de permeabilidade mostraram que o sistema ZnAl-HDL/vitamina C obteve maiores taxas de penetração na pele do que a vitamina pura. A elevada capacidade de adsorção, facilidade para realizar trocas iônicas e o potencial para a estabilização de biomoléculas, levaram alguns estudos a explorar, cada vez mais, o potencial de HDL em produtos cosméticos.

3.5 PATENTES RELACIONADAS AOS HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES

A partir de um levantamento realizado em maio de 2015 no site da *World Intellectual Property Organization* (WIPO), usando o banco de dados PATENTSCOPE, verificou-se que 3111 patentes foram registradas contendo a palavra "hidrotalcite"; 585 patentes com o termo "Layered Double Hydroxide" e 991 patentes com o termo "Anionic Clay" para busca em todo o texto da patente.

De acordo com este levantamento, nos últimos cinco anos, 1193 patentes foram registradas contendo estes termos (figura 10); quantidade equivalente a 25,5% do total das patentes pesquisadas. Estes dados mostram que nos últimos anos, uma ampla gama de aplicabilidades destes compostos foi descoberta, ampliando cada vez mais a sua absorção pelas indústrias de diferentes áreas.

Figura 10. Número de patentes, por ano (2010-2014), encontradas no **site** WIPO/PATENTSCOPE, com os termos “hydrotalcite”, “layered double hydroxide” e “anionic clay”.



Fonte: Dados da pesquisa

Dentre as cinco patentes mais relevantes contendo a palavra "Hidrotalcite", foi possível encontrar aplicações no tratamento de efluentes poluídos, na adsorção de enxofre em processos químicos, na composição de polímeros antichamas, hidrotalcita como agente estabilizante em sínteses orgânicas, além de síntese de hidrotalcita granulada com baixo teor de água.

Dentre as cinco patentes mais relevantes contendo o termo "Anionic Clay", encontram-se aplicações em processos de dopagem de metais das argilas aniônicas por elementos do grupo de metais alcalino-terrosos, metais alcalinos, metais de transição, actinídeos e metais de terras raras; além de dispersões coloidais líquidas contendo argila aniônicas para liberação celular de fármacos e genes.

No entanto, no que se refere às patentes que contêm o termo "Layered Double Hydroxide" as cinco patentes mais relevantes mencionam processos de modificação estrutural do HDL, através de modificações nas proporções entre cátions, ânions e grau de hidratação; a síntese de HDL intercalados por ânions polioxometalato com estruturas do tipo Keggin, que são usadas como catalisadores de reações orgânicas.

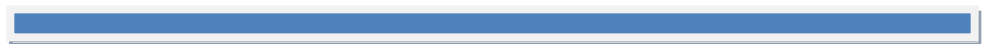
As aplicações de HDL na indústria química são já bem estabelecidas, como mostrado nas patentes mais relevantes citadas na busca no WIPO/ PATENTSCOPE. No entanto, aplicação destes materiais na área médica, farmacêutica e cosmética, tem ocupado cada vez

mais espaço nas publicações científicas e patentes depositadas em todo o mundo.

Como exemplo, a patente intitulada "Drug Delivery System", publicada com o número US 8747912 B2 2014, apresenta um sistema de liberação controlada de fármaco para uso oral de um compostos farmacologicamente ativos. Este sistema é constituído por HDL a base de lítio e alumínio, intercalado com ácido 4-bifenilacético, diclofenaco, gemfibrozil, ibuprofeno, naproxeno, ácido 2-propilpentanóico e ácido tolfenâmico (Michael, 2014).

Em outra patente intitulada "Cosmetic Makeup Composition Comprised Of Layered Double Hydroxide ", publicada com o número WO2012081133 A1 2012, HDL foi utilizado na intercalação de queratina para uso em batons e maquiagem. Esta tecnologia forneceu aos cosméticos maior durabilidade após aplicação na pele (Takehiko, 2012).

MATERIAL E MÉTODOS



4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Fármacos e Reagentes

Os insumos farmacêuticos ativos foram cedidos pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes (LAFEPE), Brasil, sendo: AZT teor 99,73% (BR-MAC Comercial[®], lote AT00N147001), EFZ teor 99,7% (Cristália[®], lote 0378/11) e BNZ teor 100,98% (Nortec Química[®], lote 2083361). A Tabela 1 apresenta a fórmula química, procedência e grau de pureza dos reagentes utilizados para a preparação de CaAl-HDL, MgAl-Cl-HDL e sistemas fármaco-HDL.

Tabela 1- Reagentes empregados nas sínteses dos HDLs e na obtenção dos sistemas.

Reagentes	Fórmula/especificação	Procedência	Pureza
Cloreto de Magnésio hexahidratado	MgCl ₂ .6H ₂ O	Sigma-Aldrich [®]	≥99.0%
Cloreto de Alumínio hexahidratado	AlCl ₃ .6H ₂ O	Sigma-Aldrich [®]	99%
Nitrato de Cálcio tetra hidratado	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	Sigma-Aldrich [®]	≥99.0%
Nitrato de Alumínio nonahidratado	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	Sigma-Aldrich [®]	99%
Hidróxido de Sódio	NaOH	Sigma-Aldrich [®]	≥98%
Ácido Clorídrico	HCl	Sigma-Aldrich [®]	37%
Acetona	C ₃ H ₆ O	Química Moderna [®]	P.A.
MTT	C ₁₈ H ₁₆ BrN ₅ S	Sigma-Aldrich [®]	-----
Soro fetal Bovino	-----	Gibco [®]	-----
Meio DMEM	(NCI-H292, HT-29),	Gibco [®]	-----

4.2 Síntese do CaAl-HDL (CaAl-HDL)

Para a obtenção do CaAl-HDL (figura 1), foi realizada uma adaptação do método proposto por Shafiei e colaboradores (2013). O CaAl-HDL foi sintetizado a partir da adição de 200 mL de uma solução contendo Nitrato de Alumínio nonahidratado a 0,050M, Nitrato de Cálcio Tetra hidratado 0,085M, sobre uma solução de hidróxido de sódio a 0,5M, pH 10, a uma razão de 1mL/min, sob agitação constante, à 25 °C e atmosfera de nitrogênio. Ao final da adição dos sais, atingiu-se um pH de $10,0 \pm 0,5$. A suspensão foi mantida sob agitação por 14 horas, e posteriormente foi filtrada. O precipitado foi ressuspendido em 100 mL de água, e centrifugado por 10 minutos a 2.000 rpm, para lavagem do material. Este processo foi realizado duas vezes. A secagem foi realizada em estufa de recirculação a 60°C durante 3 horas. Após a secagem, o material foi pulverizado em almofariz e pistilo, e acondicionado em dessecador para futuras análises. Toda água utilizada no processo foi ultra-purificada (Milli-Q System[®], MA, EUA) e sonicada por 10 minutos (sonicador Limp Sonic[®] - LS-3D-2-X) para eliminação de CO₂.

Figura 1 - Síntese por co-precipitação a pH constante do CaAl-HDL



Fonte: Dados da pesquisa

4.3 Síntese do MgAl-Cl-HDL

O MgAl-Cl-HDL foi sintetizado através do método de coprecipitação descrito anteriormente por Constantino & Hnnaia (1995) e Özgümüş et al.(2013). O MgAl-Cl-HDL foi sintetizado através do método de co-precipitação a pH constante (figura 2), onde um eletrôdo de pHmetro (Micronal[®]) foi inserido no meio reacional para controlar a variação do pH, que foi mantido em 10 através de ajustes com solução de hidróxido de sódio 0,4M. Uma solução de sais metálicos (150 mL) contendo cloreto de Alumínio hexahidratado a 0,1M e cloreto de magnésio hexahidratado a 0,2M, foi adicionada a 50 mL de uma solução de hidróxido de sódio a 0,4M, a uma razão de 1 mL/min, sob agitação constante, a 25°C e atmosfera de nitrogênio. Após o fim do gotejamento, a suspensão obtida foi mantida sob agitação por 1 hora, e posteriormente filtrada, ressuspensa em água, e centrifugada por 10 minutos a 2.000 rpm, para lavagem do material. A secagem foi realizada em estufa de recirculação a 50°C por 3 horas, pulverizado em almofariz e pistilo e acondicionado em dessecador para futuras análises. Toda água utilizada no processo foi ultra-purificada pelo sistema Milli-Q Millipore (Milli-Q System[®], MA, EUA) e sonicada por 10 minutos (sonicador Limp Sonic[®] - LS-3D-2-X) para eliminação de CO₂.

Figura 2 - Síntese por co-precipitação a pH constante do MgAl-Cl-HDL



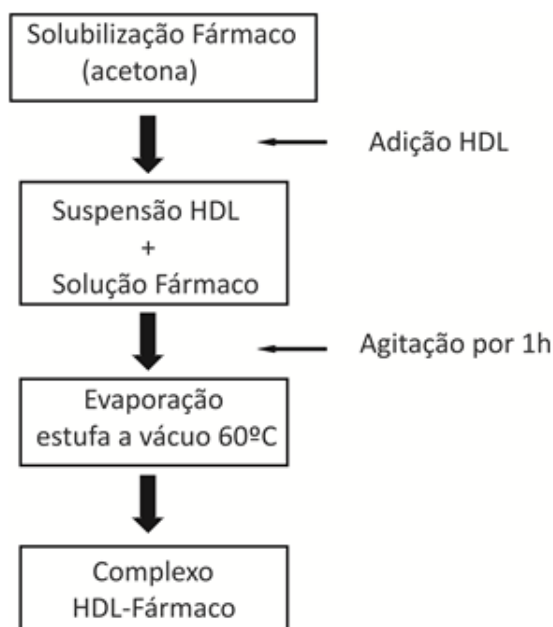
Fonte: Dados da pesquisa

4.4 Obtenção dos sistemas CaAL-HDL, com os fármacos Benznidazol (BNZ) e Efavirenz (EFZ)

A obtenção dos sistemas foi realizada pelo método descrito por Takahashi & Yamaguchi (1991). O fármaco foi completamente dissolvido em acetona e posteriormente adicionado o HDL. A suspensão formada foi colocada em chapa agitadora (MS 3 Digital) IKA® por 1 hora para evaporação do solvente, e o resíduo foi seco em estufa a vácuo (MOD 302) TekSet® à 60°C (figura 3). Desta maneira, obteve-se sistemas HDL:EFZ contendo 10, 20, 30, 50, 60 e 70% do fármaco disperso no carreador (m/m), e misturas físicas (MF) entre o HDL e o EFZ nas proporções 10, 30 e 70% (m/m), para comparação com os sistemas.

Posteriormente, foram obtidos sistemas HDL:BNZ contendo 5, 10, 20 e 30% do fármaco disperso no carreador (m/m), e MF entre o HDL e o BNZ nas proporções 5 e 30% (m/m), para comparação com os sistemas.

Figura 3 - Método de obtenção por solvente dos sistemas HDL:Fármaco.



Fonte: Dados da pesquisa

4.5 Obtenção dos sistemas MgAl- HDL com Zidovudina (AZT)

A preparação do sistema HDL: AZT foi feita seguindo a metodologia descrita por Cunha *et al.*, (2012) através de síntese direta também pelo método de coprecipitação. Essa metodologia consiste em adicionar o fármaco no meio reacional da síntese de HDL. Foi adicionado AZT a 0,03M numa solução de hidróxido de sódio 0,4M. Seguindo, a partir deste ponto, os procedimentos descritos no tópico 4.3 da metodologia (obtenção de MgAl-Cl-HDL).

4.6 Difração de Raios-X de pó (DRX)

As difrações de Raios-X das amostras, foram analisadas utilizando o equipamento Shimadzu modelo XRD-700, com radiação $\text{CuK}\alpha$ (1,5418 Å), equipado com ânodo de cobre. As amostras foram preparadas em suportes de vidro, com fina camada do material pulverizado, e analisadas no intervalo de $5 < 2\theta < 50^\circ$, a uma velocidade de 0,01°/s. O cálculo do espaçamento basal do composto lamelar foi obtido através da lei de Bragg:

$$n \lambda = 2 d \sin \theta$$

onde: n é a ordem de reflexão do pico ($n=1$), λ é o comprimento de onda da radiação de raios-X, d é a distância basal em ângstrons e θ é o ângulo de Bragg.

4.7 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)

As amostras foram analisadas utilizando espectrômetro IV PerkinElmer® (Spectrum 400) com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de selênio. Os espectros de IV foram obtidos utilizando uma média de 10 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} em comprimento de onda na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} .

4.8 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas TG/DTA foram obtidas por meio de equipamento Shimadzu[®] TGA 50, sob atmosfera de nitrogênio, fluxo de 50 mL.min⁻¹, razão de aquecimento 10°C.min⁻¹, massa da amostra de 4 mg, porta amostra de alumina e intervalo de temperatura entre 30 – 900 °C.

4.9 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os perfis térmicos do DSC foram obtidos em Calorímetro de Varredura Q200 (TA instruments, Shimadzu[®]), interligado ao software TA60 versão 2.20 (TA instruments), com atmosfera de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, na faixa de temperatura de 25–300°C. As amostras foram colocadas em porta-amostras de alumínio hermeticamente fechados com 5 mg (± 0.2). As determinações foram realizadas em triplicata.

4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para análises morfológica do material foi utilizado microscópio eletrônico de varredura ambiental FEI, Quanta[®] 200 FEG. As amostras foram dispostas em fitas de carbono e metalizadas em metalizador (Bal-Tec SCD 050 Sputter Coater).

4.11 Porosimetria

Para a realização deste ensaio, utilizou-se um analisador de área superficial e tamanho de poros –ASAP 2420 Micromeritics[®], munido de software próprio. A área específica foi determinada pelo método BET (Brunauer, Emmet e Teller), e a distribuição do volume de poro foi determinada a partir das isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio, pelo método BJH. Foi utilizado, aproximadamente, 100mg de amostra, que foi degaseificada a 50°C para remover qualquer material adsorvido no interior dos poros e na superfície do material (BARRET, 1951).

4.12 Microscopia de Luz Polarizada

A propriedade da luz polarizada das amostras do BNZ, do CaAl-HDL, das misturas físicas e dos sistemas BNZ-HDL obtidas foram avaliadas com auxílio de microscópio Motic BA400 (Opti-tech Scientific Inc) equipado com câmera de vídeo *Dinoeyepiece*□ acoplada ao programa *Dinocapture*□ 2.0. A mesma ampliação foi mantida para a análise de todas as amostras.

4.13 Análise elementar

A análise elementar (CHN) foi realizada em equipamento Perkin Elmer[®] modelo 2400 (Perkin Elmer Japan Co. Ltda). A análise de metais foi efetuada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) em um equipamento Spectro Analytical Instruments[®]. As amostras foram dissolvidas na concentração de 1mg/mL em solução de ácido nítrico 1% (v/v).

4.14 Teste de liberação em condições *non-sink*

Foram realizados utilizando o equipamento Sirius T3 (Sirius Analytical Instruments Ltda.) equipado com eletrôdo de pH de Ag/AgCl, e espectrômetro Sirius D-PAS com dispositivo de detecção de turbidez. Os sistemas testados continham o equivalente a 5mg do fármaco, adicionados ao meio na forma de pó. O ensaio foi realizado a 25°C, utilizando 15 mL de meio HCl a 0,5 M, com pH 1,2, nos primeiros 30 minutos, seguido de ajuste para pH 7,4 nos 30 minutos seguintes, com solução de NaOH a 0,5M, estabilizado com tampão *Sirius Neutral Linear UV* (Sirius Analytical Instruments Ltda.). Em intervalos pré-determinados, foram realizadas leituras da absorbância do fármaco através da sonda de UV acoplada ao equipamento.

4.15 Estudo de liberação em condições *sink*

Para a realização do estudo de liberação, foram preparadas cápsulas gelatinosas duras transparentes contendo AZT isolado, sistema HDL:AZT e MF entre HDL e AZT. Pesou-se o equivalente a 25 mg de AZT para cada amostra. O estudo seguiu metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), para cápsulas de AZT. Utilizou-se equipamento dissolutor Varian® modelo VK 7010, aparato 2 (pás) na velocidade de 50 rpm, o meio de dissolução água destilada (900 mL), e temperatura de $37 \pm 0,5$ °C. Alíquotas de 5 mL foram coletadas no intervalo de 5 minutos a 26 horas, filtradas e analisadas em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu® modelo Mini1240. As leituras seguiram metodologia descrita em Randau et al., (2005) para determinação da concentração de AZT liberado, no comprimento de 268 nm. Foi construída uma curva de calibração, garantindo linearidade no intervalo das análises ($6 - 24 \mu\text{g mL}^{-1}$) ($R^2 = 0,999$).

4.16 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos

A citotoxicidade do sistema em células foi determinado pelo ensaio de redução de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium). A linhagem de células de macrófagos foi obtida do banco de células do Rio de Janeiro/Brasil. As células foram mantidas em meio DMEM (NCI-H292, HT-29) suplementado com 10% de soro fetal bovino, 2mM de glutamina, 100 U/mL de penicilina e 100 $\mu\text{g/mL}$ de estreptomicina, a 37°C com 5% de CO₂. As células foram semeadas em placas de 96 poços ($100 \mu\text{L} = 10^5$ cells/mL) com EFZ (0,78125-100 $\mu\text{g/mL}$), HDL (3,125-400 $\mu\text{g/mL}$) e HDL-EFZ 30% (0,78125-100 $\mu\text{g/mL}$ de EFZ e 1,8203125-233 $\mu\text{g/mL}$ de HDL) dissolvido em DMSO (dimetilsulfóxido) na proporção (1:99 v/v) (DMSO:Meio). Para o BNZ, as células foram semeadas em placas de 96 poços ($100 \mu\text{L} = 10^5$ cells/mL) com BNZ (0,78125-100 $\mu\text{g/mL}$), HDL (3,125-400 $\mu\text{g/mL}$) e HDL-BNZ 30% (0,78125-100 $\mu\text{g/mL}$ de BNZ e 3,125-400 $\mu\text{g/mL}$ de HDL) dissolvido em DMSO (dimetilsulfóxido) na proporção (1:99 v/v) (DMSO:Meio). Para o AZT, as células foram semeadas em placas de 96 poços ($100 \mu\text{L} = 10^5$ cells/mL) com AZT (0,78125-100 $\mu\text{g/mL}$), HDL (2,75-352 $\mu\text{g/mL}$) e HDL-AZT (0,78125-100 $\mu\text{g/mL}$ de BNZ e 2,75-352 $\mu\text{g/mL}$ de HDL) dissolvido em DMSO (dimetilsulfóxido) na proporção (1:99 v/v) (DMSO:Meio). Após 72h de contato das células com os compostos, o sobrenadante foi aspirado e adicionados 25 μL de solução de MTT (5mg/mL). As placas foram deixadas por 3 horas em estufa 37°C e ao

final desse período, 100 μ L de DMSO foi adicionado a cada poço para a dissolução dos cristais de Formatam. A citotoxicidade em células isoladas foi determinado por ensaio de redução de MTT, como descrito acima, e a absorbância média foi mensurada a 540 nm em medidor de microplacas (Modelo 3550 BIORAD, Inc.) espectrofotômetro. Os experimentos foram analisados através de suas médias e respectivos erros padrão, realizados em triplicata. O gráfico da absorbância X log da concentração e determinadas suas CI50 e seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%), a partir de regressão não linear, utilizando o programa prisma versão 5 (Graph Pad Prism software versão. 5.0).

CAPÍTULO I

5.0 CAPÍTULO I

Síntese e Caracterização de Hidróxidos Duplos Lamelares para aplicação em sistemas de liberação de fármacos

5.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os HDL são argilas aniônicas constituídas de estruturas lamelares, que quando submetidas a interações com diferentes tipos de compostos hospedeiros, orgânicos ou inorgânicos, tem a capacidade de formar complexos, através da intercalação de compostos entre as suas lamelas, principalmente moléculas negativamente carregadas (CIOBANU et al., 2013). A distância entre duas lamelas adjacentes depende principalmente da natureza das espécies intercaladas e a sua interação eletrostática com as camadas principais, formada por metais (SABER et al., 2005).

Embora os HDL tenham mais afinidade por ânions, devido à sua capacidade de troca iônica com o ânion interlamelar, pesquisadores descobriram que estas argilas interagem com moléculas neutras por mecanismos diferentes da intercalação, dentre eles ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas (TAKAHASHI & YAMAGUCHI, 1991).

Os ânions são acomodados na região interlamelar, onde as moléculas de água também estão localizadas, espécies hóspedes intercaladas (BENES et al., 2005). Essa capacidade de troca iônica oferece aos HDL uma ampla gama de aplicações em áreas como catálise, farmacêutica, agricultura e aditivos alimentares (CIOBANU et al., 2013).

O processo de caracterização dos HDL, após sintetizado, é de extrema importância para se conhecer a natureza do composto. Suas aplicabilidades na área farmacêutica são dependentes de suas características físicas, químicas e morfológicas, que só podem ser evidenciadas através de técnicas analíticas de caracterização (RIVES et al, 2014;. KANEZAKI, 2003).

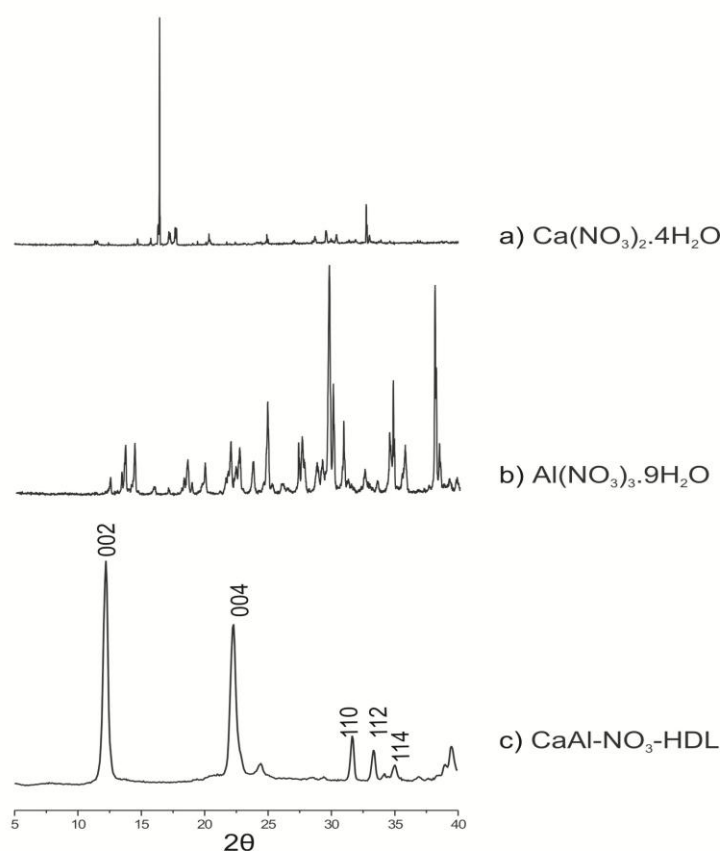
Diante do exposto, o presente capítulo apresenta as caracterizações aplicadas ao CaAl-HDL e MgAl-Cl-HDL, após síntese por co-precipitação. Foram aplicadas as técnicas de DRX, IV, TG, DTA, análise elementar e ICP-OES.

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2.1 Difração de Raio-X do pó

O difratograma do CaAl-HDL sintetizado apresentou-se com um padrão típico de estrutura lamelar (figura 1c) corroborando com trabalhos previamente descritos na literatura quando analisado no intervalo entre 5-2 θ -40° (SHAFIEI et al., 2013; KIM et al, 2012). Percebeu-se, nitidamente, que no difratograma do HDL sintetizado por co-precipitação (figura 1c), foi formada uma nova estrutura, com padrões cristalinos totalmente diferenciados dos compostos de partida, nitrato de alumínio e nitrato de cálcio (figura 1a, 1b). Sendo assim, o difratograma do CaAl-HDL evidenciou planos característicos do composto nas posições 12,2°, 22,3°, 31,6° e 33,2°, com espaçamento basal de 8,59 Å (VARGA et al, 2016; SHAFIEI et al., 2013; WANG et al, 2013).

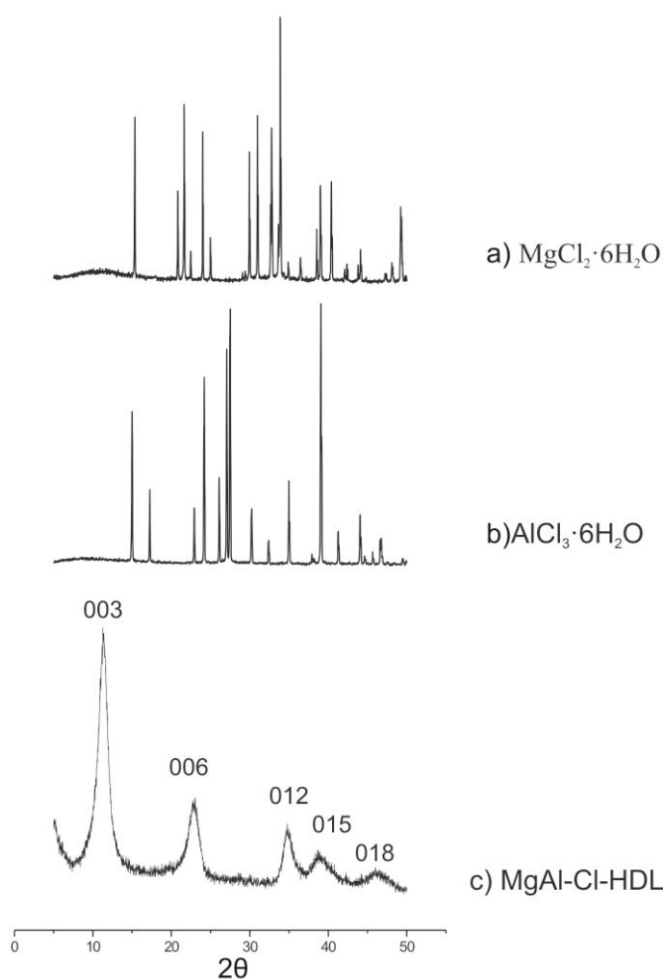
Figura 1 - Difratograma do CaAl-HDL e seus precursores de síntese.



Fonte: Dados da pesquisa

O difratograma do MgAl-Cl-HDL (figura 1c) apresenta três picos intensos, característicos de material cristalino, com planos de difração em 11,3 Å, 22,8 Å, 34,8 Å, 38,6 Å e 46 Å; apresentando um espaçamento lamelar de 7,8 Å, quando aplicada a lei de Bragg para o plano de maior intensidade (ÖZGÜMÜS et al., 2013; CUNHA et al., 2012; PERIOLI et al., 2011). Assim como evidenciado para o CaAl-HDL, foi possível notar que a síntese por co-precipitação do MgAl-Cl-HDL (figura 1c), formou uma nova estrutura com características cristalinas totalmente diferentes dos seus respectivos precursores de síntese, o cloreto de magnésio e cloreto de alumínio (Figura 2a, 2b).

Figura 2 - Difratograma do MgAl-Cl-HDL e seus precursores de síntese

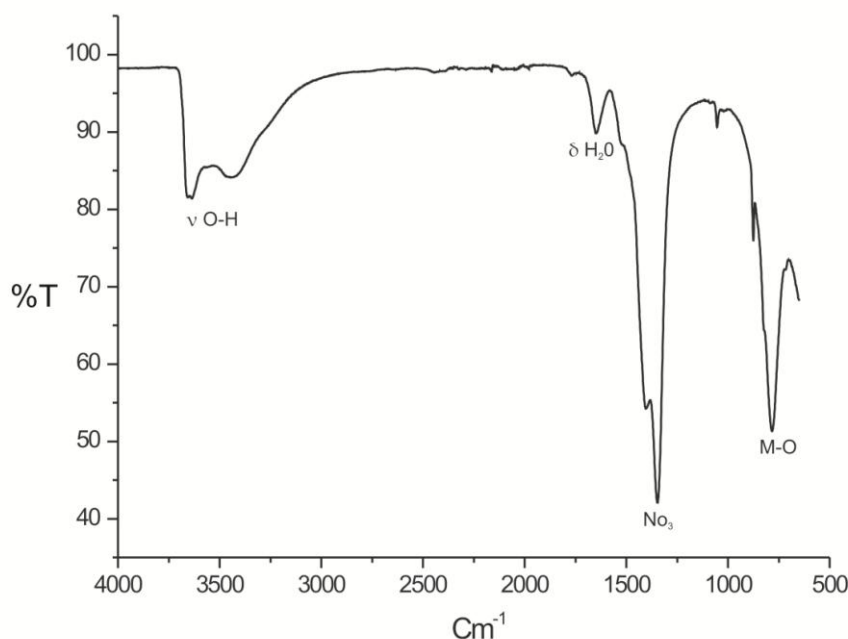


Fonte: Dados da pesquisa

5.2.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)

O espectro de absorção IV do CaAl-HDL evidenciou bandas características do composto (figura 3), corroborando com dados previamente publicados na literatura para o carreador (SHAFIEI et al., 2013; ZHANG et al., 2012). Em 3689 e 3085 cm^{-1} , observa-se uma banda larga correspondente à deformação axial de O-H pertencente às hidroxilas e água interlamelar. Em 1641 cm^{-1} , evidenciou-se uma pequena banda característica da deformação angular de moléculas de água interlamelar. Em 1360 cm^{-1} , uma banda evidenciou a presença de ânions nitrato. Devido a alta intensidade dessa banda, e seu duplo pico, percebeu-se que há vibrações correspondentes à íons carbonato, que normalmente encontram-se entre 1360-1370 cm^{-1} , provenientes do ar atmosférico residual, no ambiente da síntese (RAKI, BEAUDOIN & MITCHEL, 2004). Bandas abaixo de 1050 cm^{-1} , são resultantes de deformações axiais entre metais e o oxigênio.

Figura 3 - Espectro de IV do CaAl-HDL.



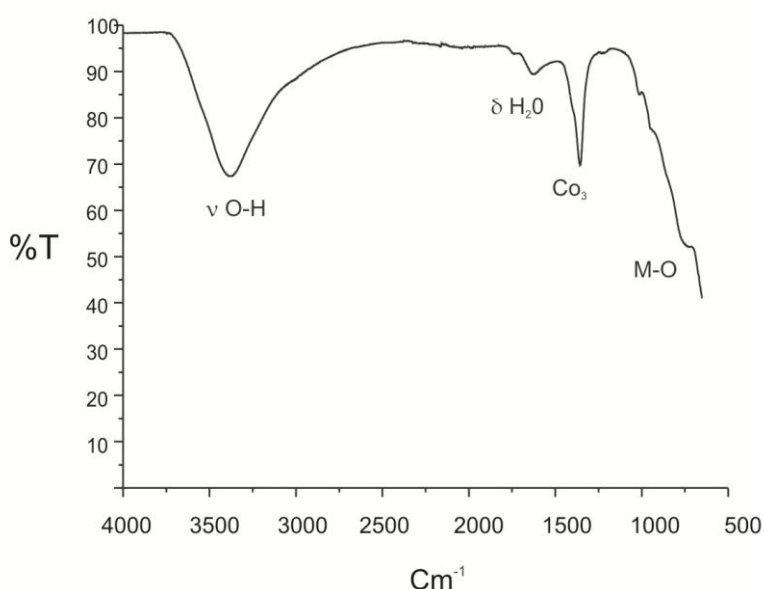
*ν = deformação axial; δ = deformação angular; M-O= Ligações organo-metálicas.

Fonte: Dados da pesquisa

O espectro de absorção IV de MgAl-Cl-HDL (figura 4) exibiu bandas de absorção características a esse tipo de material, corroborando com trabalhos anteriormente publicados (GU et al., 2008; WANG et al., 2011; CUNHA et al., 2012; ÖZGÜMÜS et al., 2013). A

banda mais intensa, justificada pelo alto grau de hidratação do composto, situa-se em 3381 cm^{-1} representa vibrações de deformação axial de O-H das hidroxilas e da água interlamelar. Em 1627 cm^{-1} observa-se a vibração de deformação angular das moléculas de água. As bandas referentes às ligações organo-metálicas (Al-Cl/Mg-Cl), normalmente identificadas em materiais do tipo HDL entre 625 cm^{-1} e 400 cm^{-1} , não puderam ser observadas na região do espectro estudada. Em 1363 cm^{-1} é evidenciado uma banda afiada provavelmente associada à adsorção o íon carbonato, através do CO_2 atmosférico residual, no momento da síntese.

Figura 4 - Espectro de IV do MgAl-Cl-HDL.



*ν = deformação axial; δ = deformação angular; M-O = Ligações organo-metálicas.
Fonte: Dados da pesquisa

5.2.3 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

Segundo Malherbe & Besse (2000) durante a decomposição térmica dos HDL acontecem quatro eventos principais: (1) a evaporação da água adsorvida, (2) a eliminação da água estrutural, (3) a desidroxilação das lamelas, e por último (4) a perda do ânion volátil (Cl^- , NO_3^-). No entanto, a ocorrência desses quatro eventos bem definidos depende de fatores como a umidade da amostra, estabilidade do ânion intercalado, e a maneira com que as espécies interlamelares interagem com os grupamentos hidroxila (Sara, Frost & Nguye, 2009; Malherbe & Besse, 2000).

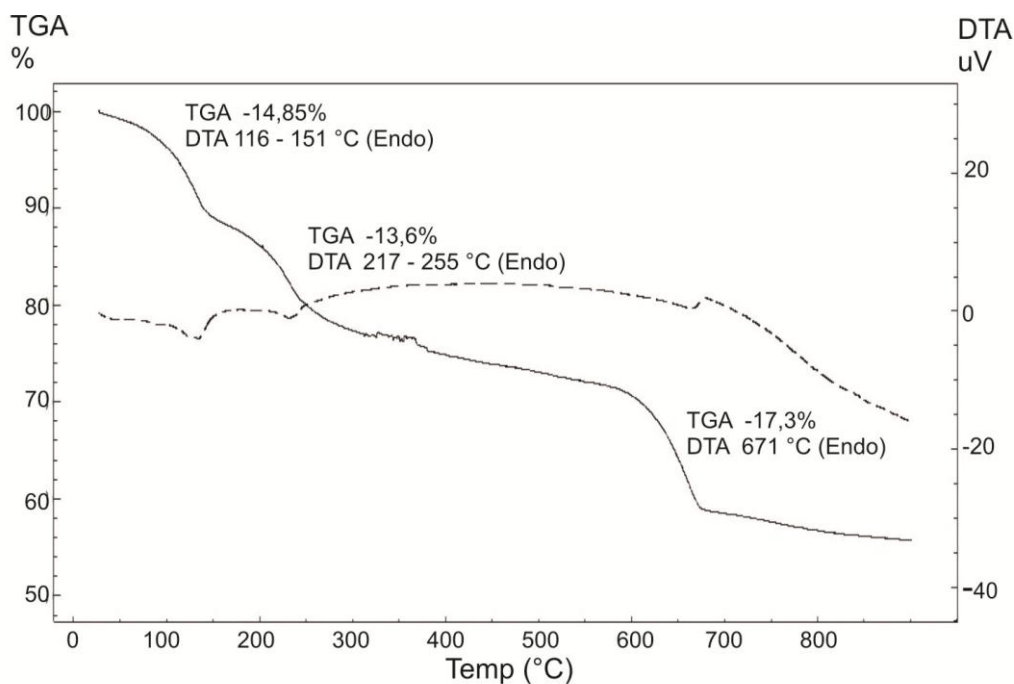
Os eventos apresentados nas curvas TG/DTA do CaAl-HDL (figura 5) corroboraram com trabalhos descritos anteriormente na literatura (KIM, 2012 et al, 2012; SHAFIEI et al, 2013).

Observou-se, na curva termogravimétrica, que a primeira etapa de decomposição corresponde à perda de água interlamelar e de moléculas de água que possivelmente se encontram adsorvidos na superfície do material. Essa faixa iniciou-se na temperatura ambiente até 152°C e corresponde a uma perda de massa de 14,85%; com evento endotérmico, presente na curva DTA na faixa de 116-151°C, com pico em 134,5°C.

A segunda etapa de decomposição ocorreu entre 153 - 259°C, com perda de massa de 13,6%, estando relacionada à decomposição parcial das hidroxilas presentes nas lamelas e redução do nitrato em nitrito; com evento endotérmico na faixa de 217 - 255 °C, tendo seu pico em 232,5°C.

A terceira etapa da curva TG/DTA, de 260 - 697°C está relacionada com a decomposição do nitrito e com a desidroxilação residual, com perda de massa de 17,3%, apresentando pico endotérmico em 671°C na curva DTA.

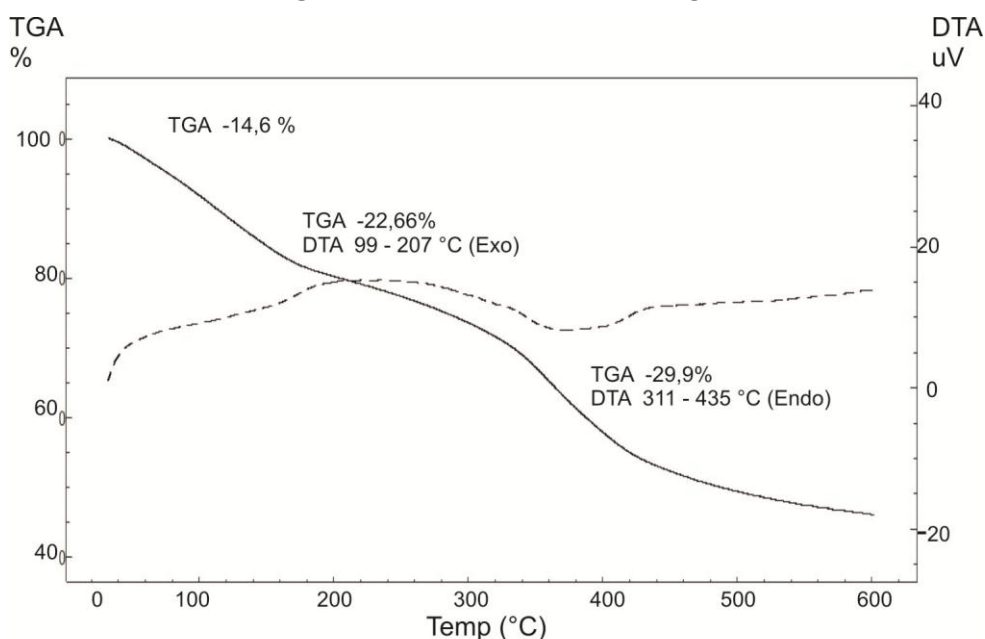
Figura 5 - Curvas TG e DTA do CaAl-HDL.



Fonte: Dados da pesquisa

Na curva TG/DTA do MgAl-Cl-HDL (figura 6), podemos observar dois eventos principais de perda de massa. O primeiro entre 25 – 250°C foi referente à perda de água superficial e lamelar, com diminuição de 22,66% da massa da amostra. Este evento foi acompanhado de uma banda endotérmica, na curva DTA, localizado entre 99 - 207 °C.

Figura 6 - Curvas TG e DTA do MgAl- Cl-HDL



Fonte: Dados da pesquisa

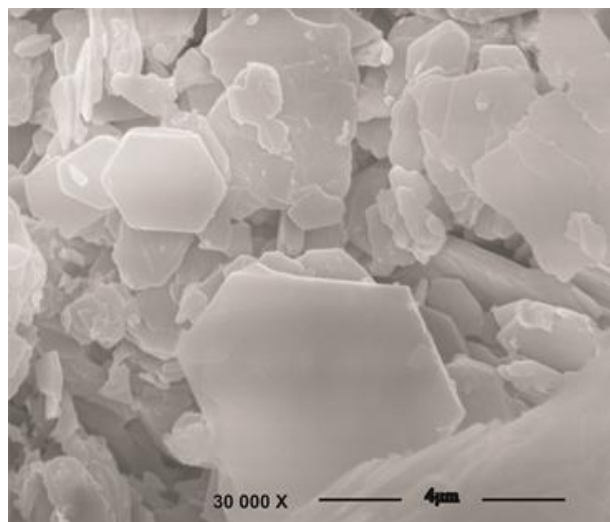
No segundo evento, proveniente da desidroxilação e decomposição dos ânions de cloro, ocorreu uma perda de massa de 29,9%, seguida de uma banda endotérmica no DTA que localiza-se entre 311°C e 435°C (MIYATA, 1975; PALMER, FROST & NGUYE, 2009 , ÖZGÜMÜS et al., 2013).

5.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na micrografia apresentada na figura 7, o CaAl-HDL apresentou-se como um material cristalino, em forma de placas hexagonais, em sua maior parte, com dimensões variando entre 0,5 – 4 µm. Estas características são típicas deste tipo de material, assim como relatado previamente na literatura para o CaAl-HDL (SHAAIFEL et al., 2013; VARGA et al, 2016; KIM, 2012), para o CaAl-Cl-HDL (KIM et al, 2014; ZHANG et al, 2012; XU et al, 2011) e para o CaAl-OH-HDL (FERENCZ et al, 2015). Desta maneira, percebe-se que independente

do ânion interlamelar, a estrutura cristalina dos CaAl-HDL mantêm-se com formas cristalinas semelhantes, quando analisadas através de MEV.

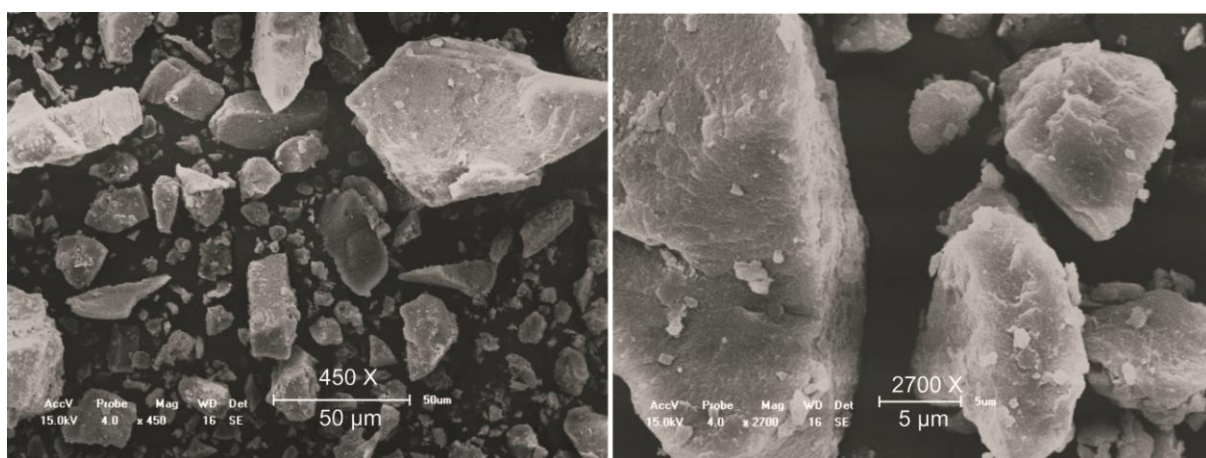
Figura 7 - Fotomicrografia do CaAl-HDL obtida por MEV.



Fonte: Dados da pesquisa

Nas fotomicrografias apresentadas na figura 8, o MgAl-Cl-HDL evidenciou um material cristalino, de formato irregular e com dimensões variando entre 5 – 100 µm; sendo a maior parte das partículas entre 10 - 20 µm. As características físicas descritas para o MgAl-Cl-HDL corroboram com trabalhos previamente publicados na literatura para o material (WANG et al., 2011; ALEXA et al., 2011).

Figura 8. Fotomicrografia do MgAl-Cl-HDL obtida por MEV



Fonte: Dados da pesquisa.

5.2.5 Porosimetria

A área superficial do CaAl-HDL apresentou valor de 70,67 m²/g, e volume de poro de 0.15 cm³/g, e tamanho de poro de 82,46 Å. Zang e colaboradores (2012), ao sintetizarem CaAl-HDL, com o Cl⁻ como íon interlamelar, avaliaram a área superficial que ficou em torno de 6.26 m²/g, cerca de três vezes menor que o HDL sintetizado com o NO₃⁻ como íon interlamelar. A área superficial obtida para o MgAl-Cl-HDL foi de 82,5 m²/g, com volume de poro de 0.11 cm³/g, e tamanho de poro de 47,01 Å. A área superficial do MgAl-Cl-HDL foi bem superior aos encontrados por Ambrogi e colaboradores (2007) e de Dupin e colaboradores (2004) para o MgAl-CO₃-HDL; apresentado valores de área superficial de 29.3m²/g e 31.3m²/g, respectivamente.

O volume e tamanho de poros do CaAl-HDL, apresentaram-se com valores superiores aos do MgAl-Cl-HDL, visto que o nitrato, ânion interlamelar do CaAl-HDL, possui tamanho maior que o cloreto, presente no MgAl-Cl-HDL.

5.2.6 Análise elementar

A composição química dos materiais foi avaliada pelas técnicas de ICP-OES, análise elementar CHN e TG. A tabela 1 apresenta o percentual dos elementos calculados e obtidos experimentalmente, do CaAl-HDL. A partir da análise destes valores, foi possível calcular a fórmula química do composto, obtendo-se Ca₂Al(OH)₆(NO₃).2,5 H₂O, com massa molar de 316,14.

Tabela 1. Composição química do CaAl-HDL obtida por ICP-OES, análise elementar CHN e TG; e sua correlação com a fórmula química proposta.

Elementos	Experimental (%)	Calculado (%)
Ca	26,63	25,32
Al	9,15	8,54
C	0,94	----
H	2,92	3,48
N	4,30	4,43
H ₂ O (TG)	14,85	14,24

A tabela 2 apresenta o percentual dos elementos encontrados na amostra de MgAl-Cl-HDL. A partir destes valores foi possível propor a fórmula química do composto, ficando Mg_{1,5}Al(OH)₅Cl.3(H₂O), com massa molar de 237,5.

Tabela 2. Composição química do MgAl-Cl-HDL obtida por ICP-OES, análise elementar CHN e TG; e sua correlação com a fórmula química proposta

Elementos	Experimental (%)	Calculado (%)
Mg	16,44	15,34
Al	11,15	11,37
C	0,28	-----
H	4,22	4,63
N	0,04	-----
H ₂ O (TG)	22,66	22,74

Para fins de cálculos das fórmulas químicas dos HDL, eliminou-se o pequeno percentual de impurezas presente na amostra, oriundas do carbonato atmosférico; obtendo-se um alto grau de correlação do percentual experimental com o calculado nas fórmulas químicas propostas. A partir das fórmulas propostas, foi possível calcular o rendimento das sínteses, que ficaram em 86% e 89%, em média, para o MgAl-Cl-HDL e CaAl-HDL.

CAPÍTULO II

6.0 CAPÍTULO II

CaAl-HDL como sistema de liberação de fármaco: efeitos na solubilidade e toxicidade do antiretroviral Efavirenz

6.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Desde sua descoberta, no início dos anos 80, a epidemia da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) representa um fenômeno global, dinâmico e instável, cuja forma de ocorrência nas diferentes regiões do mundo depende, entre outros determinantes, do comportamento humano individual e coletivo. A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) destaca-se entre as enfermidades infecciosas emergentes pela grande magnitude e extensão dos danos causados às populações e, desde a sua origem, cada uma de suas características e repercussões tem sido exaustivamente discutida pela comunidade científica e pela sociedade em geral (UNIAIDS, 2016)

Por volta de 1984, pesquisadores de São Francisco conseguiram isolar um retrovírus a partir de pacientes aidéticos de diferentes grupos de riscos, que foi identificado como o possível agente etiológico da SIDA, sendo posteriormente designado pelo Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus como Vírus do HIV; cuja fisiopatologia atacava especialmente os linfócitos T CD 4+ (“helper”). (LANCELLOTTI & GAGLIANI, 2005).

Uma vez identificado o retrovírus, começaram as pesquisas por agentes que pudessem agir em diferentes enzimas e estruturas do vírus, possibilitando a pesquisa de diferentes fármacos que evitassem a multiplicação viral, diminuindo a progressão da infecção (LANCELLOTTI & GAGLIANI, 2005).

Em 1986, surgiu o primeiro antirretroviral da classe dos Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídicos, a Zidovudina (AZT), sintetizado inicialmente como um agente antitumoral, que demonstrou atividade inibitória contra HIV-1 in vitro, tornando-se o primeiro fármaco a ser aprovado para o tratamento da SIDA e condições relacionadas a ela (PEÇANHA & ANTUNES, 2002).

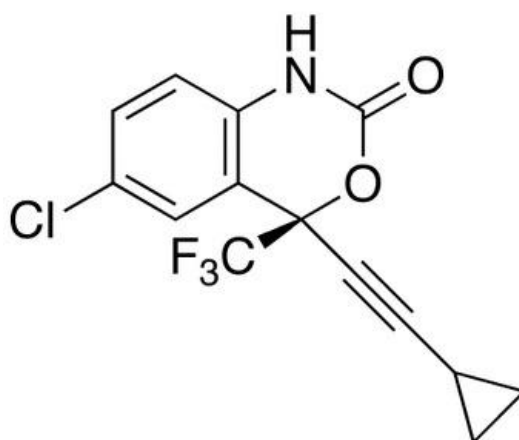
No final da década de oitenta, novas descobertas evidenciaram novos fármacos que foram qualificados como Inibidores de Transcriptase Reversa Não Nucleosídicos. Dentre os compostos que apresentaram atividade, a nevirapina (Viramune[®]), delavirdina (Rescriptor[®]) e efavirenz (Sustiva[®]), foram aprovados para o tratamento da SIDA (PEÇANHA &

ANTUNES, 2002).

Com o passar dos anos, a partir do desenvolvimento de novas classes de medicamentos antiretrovirais, e estudos clínicos realizados, foi proposto o tratamento dos pacientes utilizando associações de fármacos, sendo introduzida no ano de 1996 a terapia tríplice (BONOLO, GOMES & GUIMARÃES, 2007). A eficiência dos esquemas terapêuticos está fundamentada na atuação conjunta dos diversos fármacos nas diferentes etapas do ciclo de replicação viral, que apresentam eventos exclusivamente relacionados a componentes virais, que podem ser utilizados como alvos para intervenção quimioterápica (MARIER et al., 2007).

Desde então, o EFZ (figura 1) é considerado como fármaco de primeira escolha no tratameto antiretroviral de adultos infectados, exceto para gestantes. Essa opção está fundamentada na sua elevada potência de supressão viral, comprovada eficácia a longo prazo e ao menor risco de efeitos adversos sérios (BRASIL, 2016).

Figura 1 - Estrutura química do EFZ.



Fonte: (MADHAVI et al., 2011)

A terapia padrão é conhecida como terapia antirretroviral de alta atividade, a qual combina pelo menos três fármacos, sendo dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo (ITRN) associados a um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (ITRNN) ou um inibidor de protease (IP), sendo o primeiro, em geral, de posologia mais simples facilitando a adesão ao tratamento (WISSENT et al., 2005; LAURENT et al., 2005).

Apesar das vantagens terapêuticas proporcionadas pelo EFZ, a sua baixa solubilidade

aquosa (cerca de 9 µg/mL) proporciona problemas de absorção no trato gastrointestinal e consequentemente biodisponibilidade oral inadequada (16 – 42% em ensaios pré-clínicos), sendo este classificado como de Classe II (baixa solubilidade, alta permeabilidade), segundo o sistema de classificação biofarmacêutico (SATHIGARI et al., 2009). Essa característica, portanto, torna-se um aspecto relevante a ser superado uma vez que o aumento da hidrossolubilidade de fármacos pouco solúveis é considerado um dos mais desafiantes aspectos no desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos (RATHBONE, HADGRAFT & ROBERTS, 2003; KARAVAS et al., 2007).

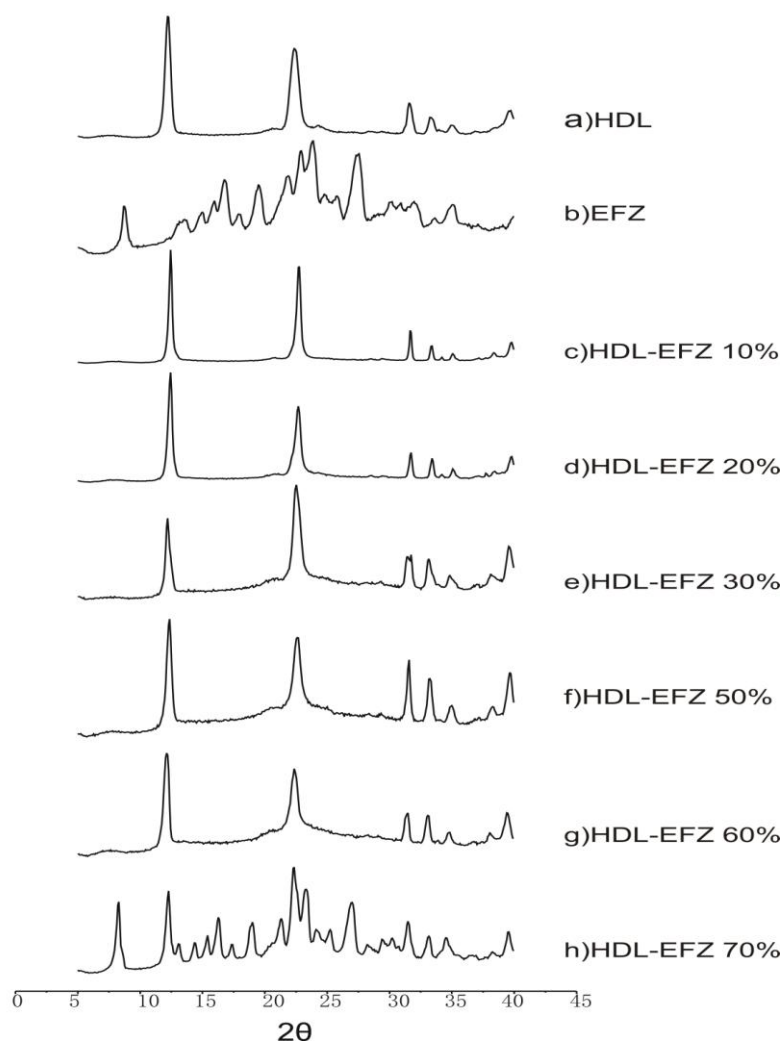
6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.2.1 Difração de raios-X de pó

A natureza cristalina do EFZ foi verificada através do aparecimento de diferentes planos cristalinos com intensidades variadas, sendo os mais expressivos 8,7°, 16,8°, 19,4°, 21,8°, 22,9°, 27,5° e 35,1° (figura 2b) (ALVES et al., 2014).

Analizando os difratogramas dos sistemas HDL-EFZ, obtidos pelo método de Takahashi & Yamaguchi (1991), notamos que todas as proporções, com exceção da HDL-EFZ 70%, evidenciaram picos com reflexões referentes ao HDL, não sendo evidenciada a presença de picos referentes ao fármaco, mostrando que a interação dos componentes nas amostras HDL-EFZ (10, 20, 30, 50 e 60%), promoveram uma diminuição da cristalinidade do fármaco. A partir da proporção HDL-EFZ 70%, foi possível observar a presença de planos cristalinos referentes ao EFZ, comportando-se com uma sobreposição de picos cristalinos do fármaco e do HDL.

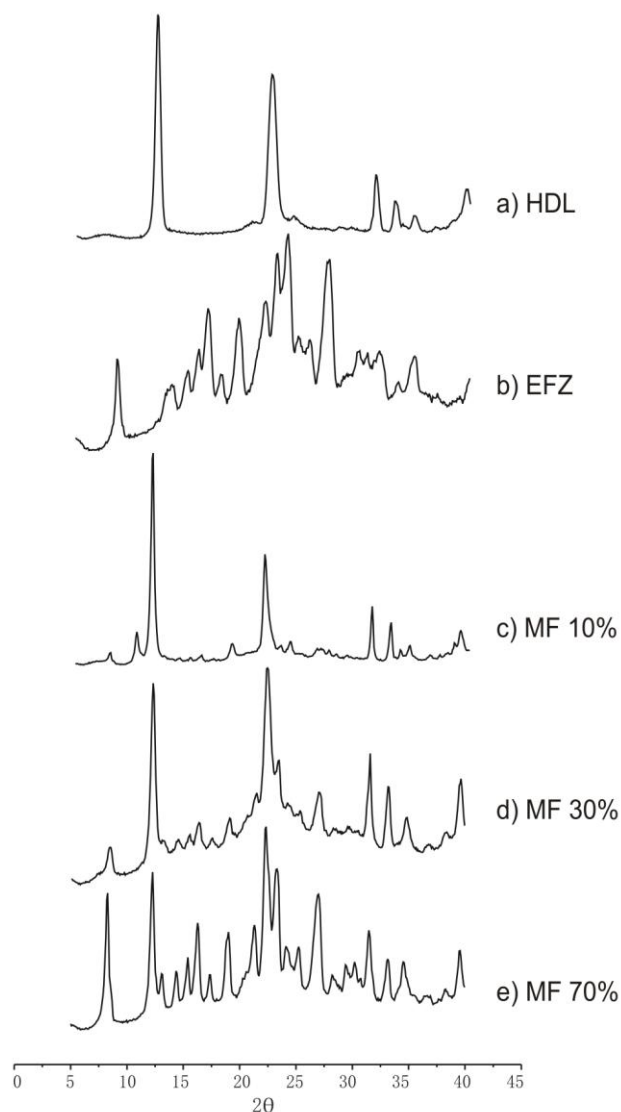
Nos sistemas HDL-EFZ obtidos, as partículas de EFZ possivelmente tornaram-se estruturalmente desorganizadas, com características de material amorfo, mediante a formação de um complexo com o HDL, acarretando na ausência de cristalinidade do fármaco, até uma proporção de 60% (Figura 2c, 2d, 2e, 2f, 2g). O fenômeno de amorfização de um composto pouco solúvel, frequentemente reflete na sua capacidade de solubilização em meios aquosos com diferentes valores de pH, refletindo em melhores resultados de dissolução e liberação do fármaco (WLODARSK et al, 2015). Este fato é de extrema importância para o EFZ, que devido à sua baixa solubilidade em meio aquoso, possui uma reduzida biodisponibilidade via oral (ALVES et al., 2014).

Figura 2 - Difratomogramas do HDL, EFZ e seus sistemas HDL-EFZ.

Fonte: Dados da pesquisa

Analisando os difratogramas das MF entre o HDL e o EFZ (figura 3), podemos notar que foram evidenciados picos referentes aos planos cristalinos do EFZ e do HDL, comportando-se apenas como uma sobreposição de ambos os compostos da mistura, não mostrando alterações evidentes no estado cristalino do fármaco ou do HDL. Os picos referentes ao EFZ tornam-se mais evidentes a medida que a concentração do insumo farmacêutico ativo aumenta na mistura.

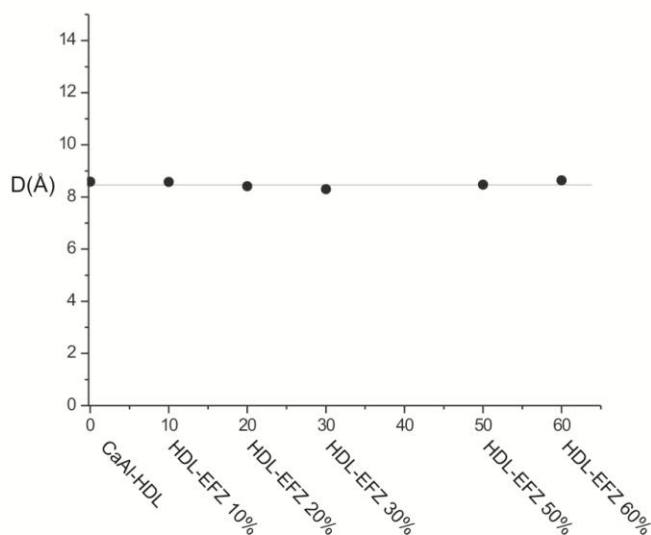
Figura 3 - Difratomogramas do HDL, EFZ e suas misturas físicas.



Fonte: Dados da pesquisa

Os resultados sugerem que nas MF, não houveram interações químicas, as interações ocorridas foram predominantemente de natureza física, não alterando assim a estrutura cristalina do fármaco.

Nos sistemas que apresentaram ausência de planos cristalinos (HDL-EFZ 10%, 20, 30, 50 e 60%), referente ao EFZ, foi realizado o cálculo do espaçamento lamelar do HDL, no intuito de evidenciar se o fármaco ficou inserido nas lamelas do carreador (figura 4).

Figura 4 - Espaçamento lamelar dos sistemas HDL-EFZ.

Fonte: Dados da pesquisa

Desta maneira, foi possível constatar que o HDL sintetizado apresentou um espaçamento basal (d) de 8,59 Å e, após a obtenção dos sistemas HDL-EFZ em diferentes proporções, não foi evidenciado o fenômeno de intercalação do fármaco nas lamelas do HDL, pois o valor do espaçamento basal do carreador não sofreu variações significativas, permanecendo praticamente do mesmo tamanho (figura 4). Sendo assim, supõe-se que o EFZ formou uma fase não cristalina adsorvida na superfície do HDL, já que uma das propriedades deste carreador é a sua alta capacidade de adsorção, não havendo, desta maneira, o fenômeno de intercalação no interior das lamelas (TAKAHASHI & YAMAGUCHI, 1991).

Resultados semelhantes foram encontrados por Gordijo e colaboradores (2005), ao realizar complexação de Ibuprofeno em Mg_3Al -HDL, pelo método de reconstrução. O fármaco tornou-se amorfo ao interagir com o HDL, não sendo possível detectar os planos cristalinos característicos do mesmo ao realizar o DRX da amostra, além de não evidenciar alterações no valor de espaçamento basal do HDL.

6.2.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)

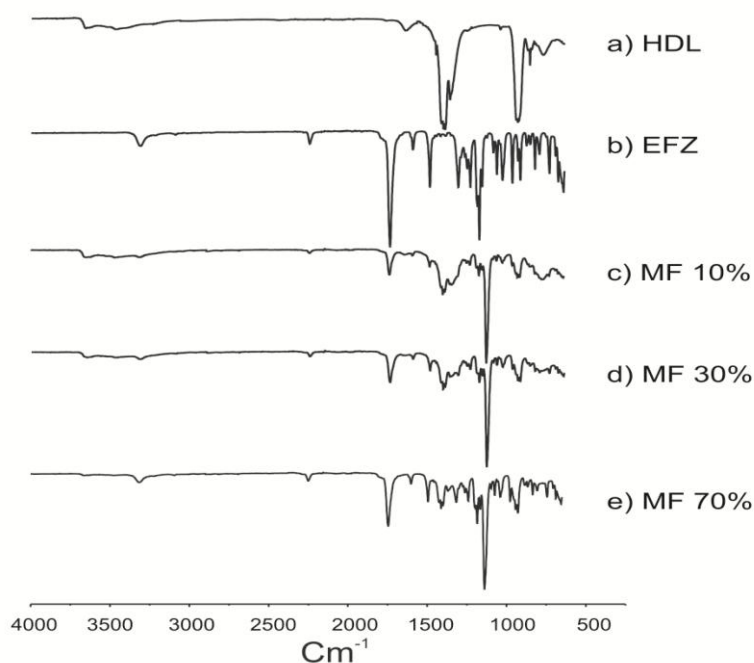
O espectro de IV do HDL (figura 5a) foram evidenciadas bandas características do composto, corroborando com dados previamente publicados na literatura para o carreador (SHAFIEI et al., 2013; ZHANG et al., 2012).

Em 3689 e 3085 cm^{-1} , observa-se uma banda larga correspondente à deformação axial de O-H pertencente às hidroxilas e água interlamelar. Em 1641 cm^{-1} evidencia-se um pequeno pico característico da deformação angular de moléculas de água interlamelar. Em 1360 cm^{-1} , aproximadamente, uma banda de alta intensidade evidencia a presença de ânions nitrato, e bandas abaixo, de 1050 cm^{-1} resultantes das ligações entre metais e o oxigênio.

No espectro de EFZ (figura 5b), bandas características do fármaco foram evidenciadas: 3313 cm^{-1} (vibração de estiramento N-H), 2246 cm^{-1} (vibração de estiramento C=C), 1748 cm^{-1} (vibração de estiramento C=O), 1600 e 1495 cm^{-1} (vibração de estiramento C=C do anel benzeno), 1242 cm^{-1} (vibração de estiramento C-N) e 1169 cm^{-1} (vibração de estiramento C-O). Na região de baixa frequência, as bandas em 1073 e 1032 cm^{-1} correspondem à vibração de deformação C-H no plano, enquanto as bandas 977 e 914 cm^{-1} correspondem à vibração de deformação C-H fora do plano. (ALVES et al., 2014).

Os espectros de IV das MF (figura 5c, 5d, 5e), apresentam apenas uma sobreposição de bandas referentes aos espectros do HDL e do EFZ.

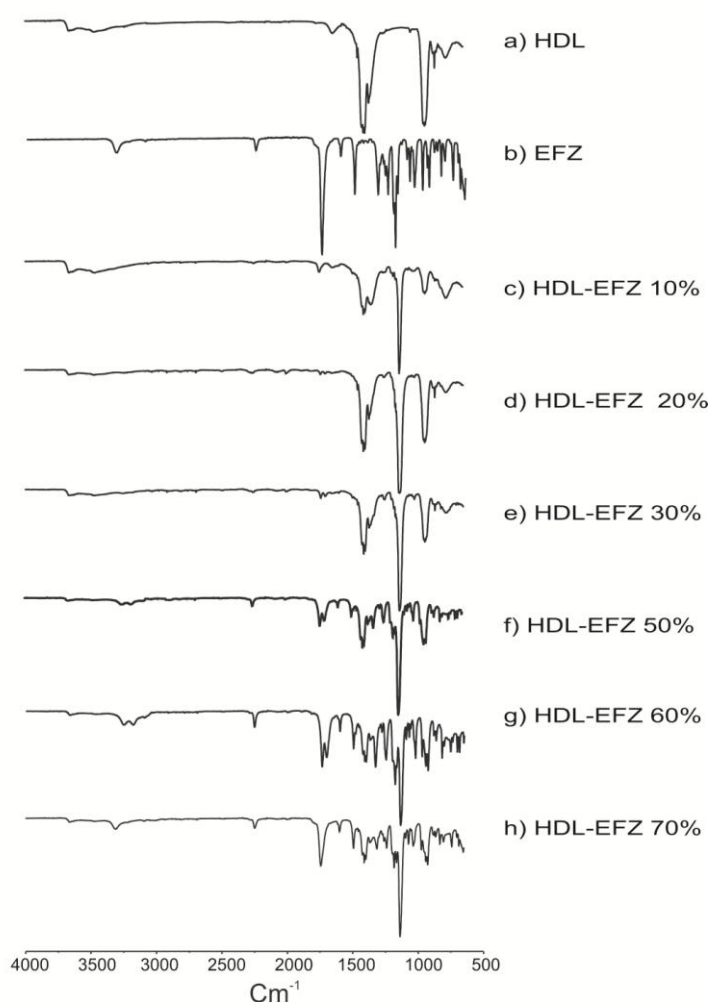
Figura 5. Espectros de IV do HDL, EFZ e suas misturas físicas



Fonte: Dados da pesquisa

Nos espectros dos sistemas HDL-EFZ (figura 6), as proporções 10, 20 e 30% (figura 6c, 6d, 6e) apresentaram alterações no espectro de IV, referente às bandas do EFZ, como ausência da vibração de estiramento N-H de amina primária (3313 cm^{-1}), redução da vibração de estiramento C=O (1748 cm^{-1}), redução da vibração de estiramento C=C do anel aromático (1600 e 1495 cm^{-1}), e com predominância das bandas referentes ao HDL. Nas proporções 50, 60 e 70%, houve, predominantemente, uma sobreposição de bandas dos componentes da mistura, assim como evidenciado nas MF.

Figura 6 - Espectros de IV do HDL, EFZ e seus sistemas HDL-EFZ.



Fonte: Dados da pesquisa

Estes resultados evidenciam uma possível interação entre o HDL, com a molécula do EFZ em grupos como o N-H e C=O presentes no fármaco, fazendo com que esta vibração seja

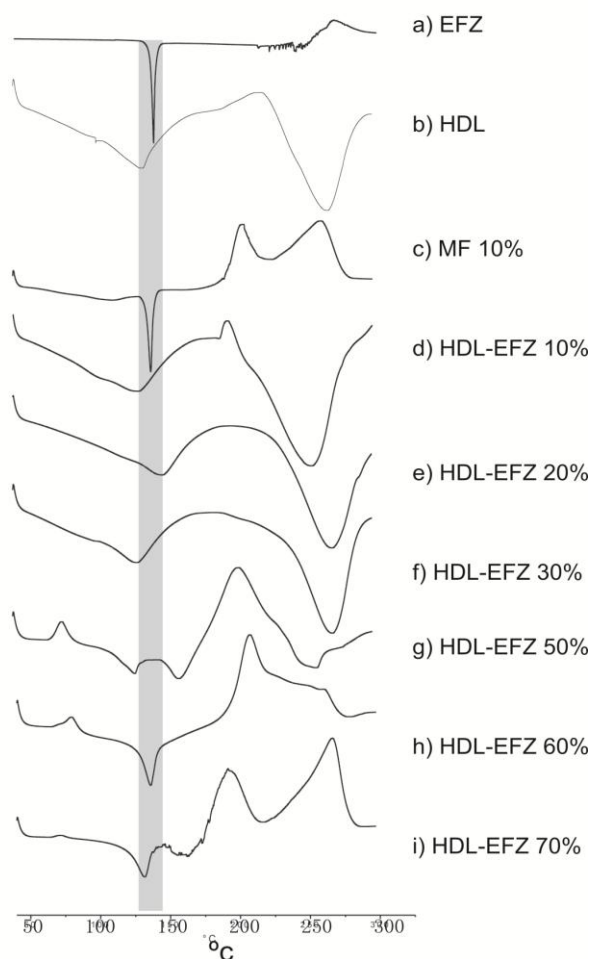
detectada de maneira mais branda no espectro de IV. Este fenômeno de diminuição da intensidade das bandas do fármaco, após interação com o HDL, também foi relatado por Gordijo e colaboradores (2005) em estudos com o Ibuprofeno em Mg_3Al -HDL; onde a banda referente à vibração de estiramento $C=O$ do ibuprofeno, em 1720 cm^{-1} , desaparece após imobilização no HDL. Além da redução de bandas referentes ao anel aromático do fármaco em 1508 e 1462 cm^{-1} .

6.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os resultados obtidos por DSC dos sistemas HDL-EFZ estão expostos na figura 7. O comportamento térmico do EFZ pode ser evidenciado através de um evento endotérmico em $139,2^\circ\text{C}$ característico do processo de fusão da sua forma cristalina corroborando com os resultados encontrados por Alves e colaboradores (2014). O $CaAl$ -HDL (figura 7b) apresentou um evento endotérmico na faixa entre 93 e 150°C correspondente a evaporação da água de adsorção e interlamelar. O segundo evento, caracterizado por uma banda endotérmica larga entre $210 - 275^\circ\text{C}$, refere-se ao fenômeno de desidroxilação das lamelas (SHAFIEI et al., 2013).

Para os sistemas HDL-EFZ, percebeu-se ausência do evento de fusão do fármaco nas proporções 10, 20 e 30% (figura 7d, 7e, 7f), mostrando que nestas proporções o fármaco presente sofreu alterações de cristalinidade, tornando-se um material amorfo, em relação ao fármaco isolado, em corroborando com os dados obtidos no DRX, onde os planos cristalinos referentes ao EFZ não estavam mais presentes nestas amostras (figura 2c, 2d, 2e). Estes resultados de ausência de evento de fusão, indica que a cristalinidade do EFZ desaparece, resultado em um composto com fármaco na forma amorfa (GANESAN et al, 2015).

Figura 7 - Curvas DSC do HDL, EFZ e suas misturas físicas e sistemas HDL:EFZ.



Fonte: Dados da pesquisa

Nos sistemas HDL:EFZ 50%, 60 e 70% (figura 7g, 7h, 7i) foi possível notar a presença do evento endotérmico de fusão do EFZ, indicando que nestes sistemas, o fármaco ainda continha forma cristalina, o que não pôde ser afirmado apenas como DRX para os sistemas HDL-EFZ 50 e 60% (figura 2f, 2g), onde os picos referentes ao fármaco apresentavam-se ausentes.

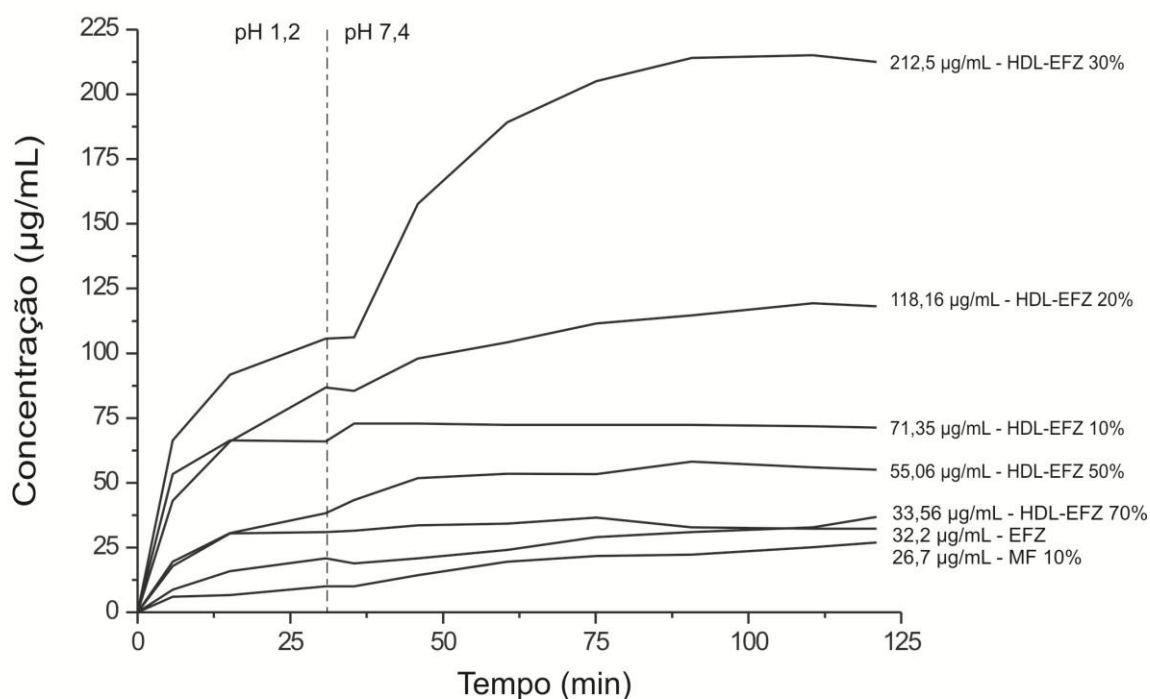
Analizou-se apenas a MF 10%, por ser a amostra mais passível de sofrer alterações provenientes do HDL, devido ao seu baixo aporte do fármaco em relação às demais. Sendo assim, a análise de DSC da MF 10% evidenciou que havia em sua constituição EFZ na forma cristalina, já que o evento endotérmico de fusão do fármaco permaneceu evidente na amostra analisada (figura 7c). Desta maneira, não se fez necessário avaliar MF com proporções maiores do fármaco, visto que, a menor concentração não sofreu alteração de cristalinidade.

6.2.4 Teste de liberação em condições *non-sink*

Estudo de dissolução, em condições *non-sink*, vem sendo comumente aplicado para sistemas contendo fármacos de baixa solubilidade complexadas com carreadores que incrementam solubilização. Sun, Ju e Lee (2012) afirmam que esta condição permite visualizar eventos de supersaturação, nucleação e cristalização do fármaco em solução, além de ser uma simulação do sistema fisiológico, mais adequada do que a condição *sink*, devido ao pequeno volume encontrado no trato gastrointestinal.

O perfil de dissolução do EFZ, mistura física e sistemas HDL:EFZ em diferentes concentrações são exibidos na figura 8. Após duas horas de análise, o EFZ atingiu uma concentração de $32 \mu\text{g.mL}^{-1}$ no meio de dissolução, sendo os demais sistemas comparados a este valor para se obter a proporção do incremento da solubilidade do fármaco no meio.

Figura 8. Perfil de dissolução do EFZ isolado e seus sistemas HDL:EFZ e MF.



Fonte: Dados da pesquisa

Os sistemas em que o fármaco se apresentou amorfo, com ausência de planos cristalinos no DRX, e sem evidência de evento de fusão no DSC (HDL:EFZ 10, 20 e 30%), foram os que obtiveram melhores resultados no estudo de dissolução. A dissolução de uma

substância amorfa atinge uma concentração significativamente maior que a obtida pela mesma substância no estado cristalino, fato este, devido à fraca energia da rede cristalina dos sólidos amorfos (SUN & LEE, 2015).

O sistema HDL:EFZ 30% foi o que mais se destacou, proporcionando ao EFZ um incremento de solubilidade de aproximadamente 558%, quando comparado ao fármaco isolado, após duas horas de dissolução. Seguido dos sistemas HDL:EFZ 20 e 10%, que proporcionaram incremento de 266% e 121%, respectivamente.

Nos sistemas HDL:EFZ 50 e 70%, nos quais o fármaco apresentou-se na forma cristalina, evidenciado através de evento de fusão pronunciado, observou-se um incremento na dissolução do EFZ de 71% e 4%, respectivamente.

Na MF 10%, observou-se um decréscimo de solubilidade do EFZ após duas horas de dissolução, reduzindo em 17% o valor da solubilidade final do EFZ, quando comparado ao fármaco isolado.

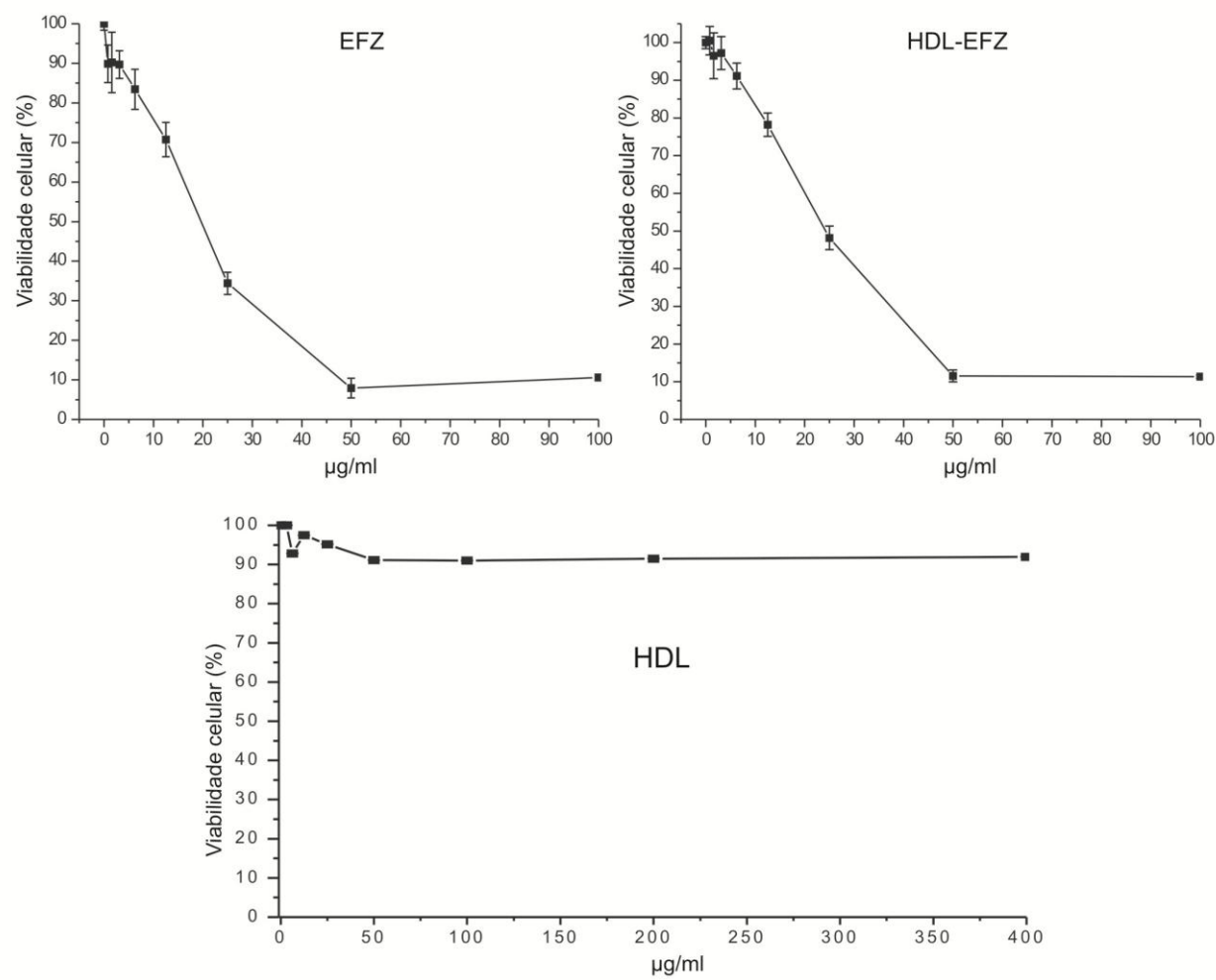
6.2.5 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos

O estudo de citotoxicidade em células de macrófagos foi realizado com o sistema HDL-EFZ 30%, proporção que se mostrou mais promissora no incremento de solubilidade do fármaco. Além do sistema, avaliou-se também o EFZ e o HDL isolados, a fim de se obter a citotoxicidade destes insumos separadamente (figura 9).

O EFZ isolado apresentou valor médio de IC₅₀ de 15,71 µg/mL (13,3-18,45 µg/mL), enquanto o do sistema HDL-EFZ foi de 20,83µg/mL (19,12-22,71 µg/mL). Este resultado demonstra que a associação proporcionou uma leve redução na toxicidade do insumo farmacêutico ativo. Resultados semelhantes foram alcançados por Kura e colaboradores (2014), utilizando o anti-parkinsoniano Levodopa com o carreador ZnAl-HDL, obtendo menor toxicidade do sistema Levodopa-HDL em relação ao fármaco isolado.

O HDL isolado não apresentou toxicidade nas concentrações e linhagem de células utilizadas, apresentando segurança no uso dessa substância. A baixa citotoxicidade do CaAl-HDL corrobora com resultados anteriores encontrados para o carreador, mostrando pouco efeitos do material na proliferação e viabilidade celular (KIM et al, 2014; SHAFIEI et al., 2013).

Figura 9 - Viabilidade celular de macrófagos humanos frente a EFZ, HDL e sistema HDL-EFZ 30%.



Fonte: Dados da pesquisa

CAPÍTULO III

7.0 CAPÍTULO III

CaAL-HDL como sistema de liberação de fármaco - Efeitos na solubilidade e toxicidade do antichagásico Benznidazol

7.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A doença de Chagas é classificada pela Organização Mundial de Saúde como uma doença negligenciada e que não dispõe de tratamentos eficazes ou adequados. Estima-se que, apenas na América latina, 6 a 7 milhões de pessoas sejam portadoras da doença (WHO, 2015).

Diversas pesquisas científicas relacionadas à doença de Chagas e à sua quimioterapia têm sido publicadas em periódicos nacionais e internacionais. O interesse em realizar tais pesquisas tem crescido significativamente no Brasil e em países vizinhos em razão do grande número de pessoas infectadas (RIBEIRO et al, 2009; SOARES-SOBRINHO et al, 2012; CHATELAIN, 2015).

A busca por uma terapia medicamentosa adequada ao tratamento da doença de Chagas continua a ser um desafio para muitos pesquisadores desde a descoberta da moléstia em 1909. Um século se passou, diversas moléculas foram sintetizadas e estudadas. Pesquisas promissoras apontam novas moléculas com atividade terapêutica anti-Trypanosoma cruzi e baixos efeitos tóxicos. Entretanto, ainda há um grande caminho a ser percorrido para que a comunidade científica e as indústrias farmacêuticas tornem disponíveis no mercado consumidor, novos medicamentos seguros e eficazes.

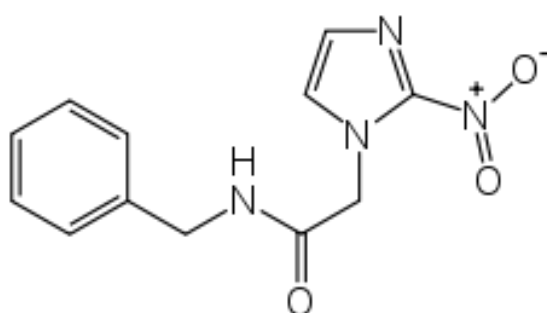
O Benznidazol (figura 1) é o fármaco utilizado no tratamento da doença de Chagas em diversos países da América do Sul, embora apresente limitações em relação a sua solubilidade em meio aquoso; o que dificulta a sua dissolução e biodisponibilidade adequadas (MEDEIROS, 2010).

Estudos biofarmacêuticos e biofarmacotécnicos comprovam que o conceito de qualidade de medicamento vai além dos aspectos da natureza do fármaco, tais como a identidade, a pureza, o teor, a potência, entre outros, sendo indispensável que o medicamento libere o fármaco na quantidade e na velocidade adequadas ao objetivo terapêutico pretendido. Os estudos relacionados aos processos de liberação, dissolução e biodisponibilidade

adquiriram importância vital no desenvolvimento farmacotécnico de medicamentos, sendo pré-requisito para o registro dos mesmos (STORPIRTIS et al., 1999).

Diante do exposto, pretende-se utilizar HDL como carreadores para a molécula do BNZ, no intuito de melhorar sua propriedade biofarmacêutica de dissolução em meio aquoso, fornecendo uma alternativa terapêutica que poderá ser aplicada na otimização de formulações já existentes do medicamento.

Figura 1 - Estrutura química do fármaco BNZ.



Fonte: (SOARES-SOBRINHO et al., 2009)

7.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.2.1 Difração de raios-X de pó

A natureza cristalina do BNZ pode ser verificada através da observação de planos característicos do fármaco, bem definidos e com intensidades variadas nas seguintes posições 9,7°, 13,3°, 19,1°; 23°; 24,2°, 26,2° e 27,5°, como mostrado na figura 2b (MAXIMIANO et al, 2010).

O difratograma do CaAL-HDL evidenciou picos característicos do composto nas posições 12,2°, 22,3°, 31,6° e 33,2° como mostrado na figura 2a (SHAFIEI et al., 2013; WANG et al, 2013).

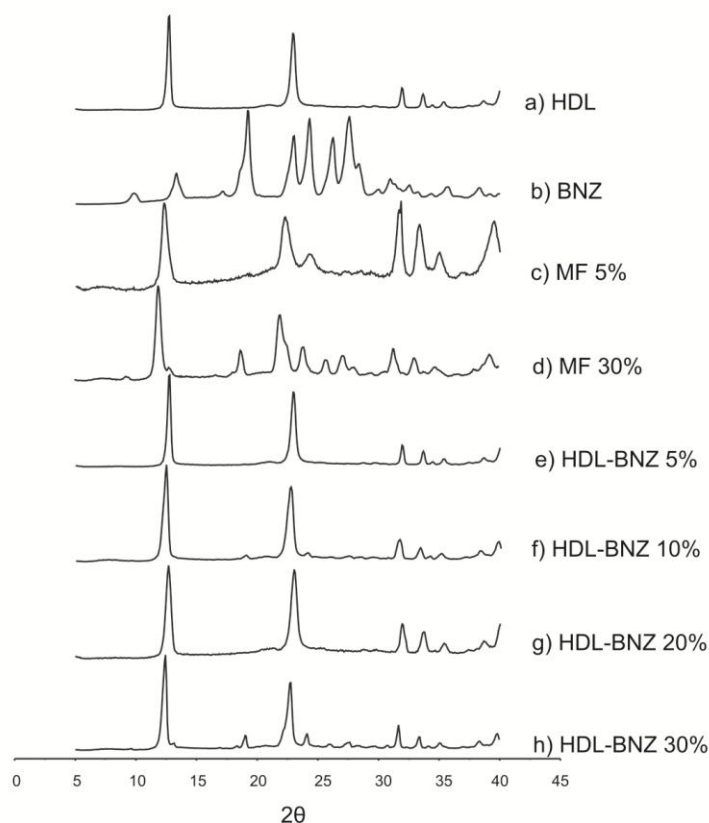
Analizando os difratogramas das MF contendo 5 e 30% de fármaco (figura 2c, 2d), podemos notar que ambas apresentaram uma sobreposição dos padrões difratométricos referentes às substâncias isoladas, observando-se uma redução da intensidade de alguns picos característicos do fármaco, mas ainda evidenciando a presença em sua forma cristalina.

Analisando os difratogramas dos sistemas HDL-BNZ 5%, 10%, 20% e 30% (figura 2e, 2f, 2g, 2h), pôde-se observar que, nas proporções entre 5 - 20%, os perfis difratométricos apresentam-se apenas com predominância de planos cristalinos ao CaAl-HDL. Entretanto, no sistema HDL-BNZ 30%, foi possível notar, nitidamente, a presença de planos cristalinos referentes ao BNZ

Os resultados sugerem que, através da MF, as interações ocorridas foram predominantemente de natureza física, não alterando assim a estrutura cristalina do fármaco. Enquanto que, através dos sistemas, obtidos pelo método do solvente, as moléculas de BNZ possivelmente tornaram-se menos cristalinas, estruturalmente desorganizadas, com características de material amorfo, mediante a formação de um complexo com o HDL, acarretando na ausência dos planos cristalinos, até uma proporção de 20% de fármaco (TAKAHASHI & YAMAGUCHI, 1991).

A forma amorfa de uma determinada substância, comumente torna-se mais solúvel que a forma cristalina em solventes aquosos, o que pode proporcionar melhores resultados nos estudos de dissolução (WLODARSK et al, 2015).

Figura 2 - Difratogramas do BNZ, CaAl-HDL, MF e sistemas HDL-BNZ.

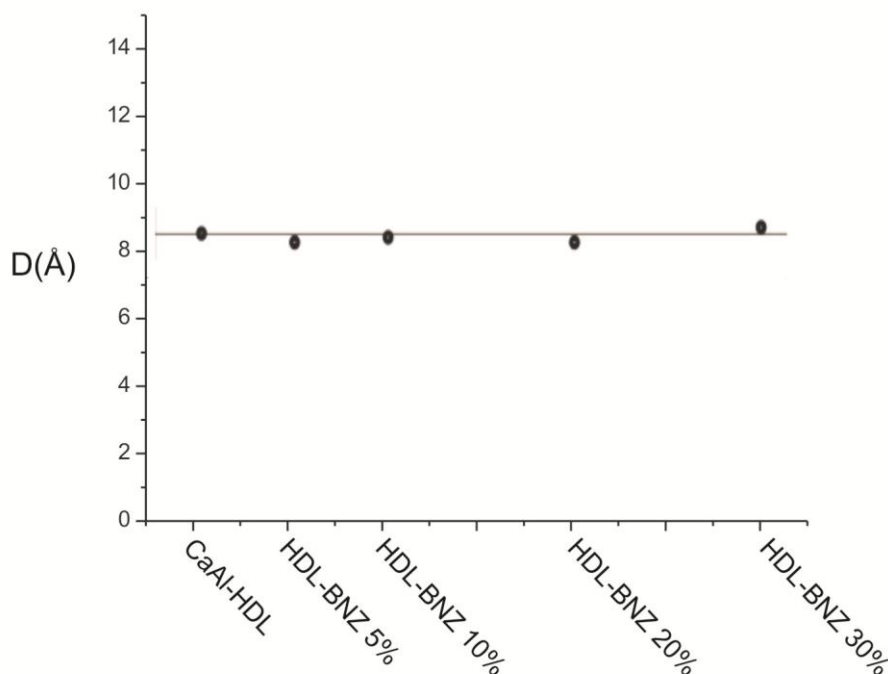


Fonte: Dados da pesquisa

A fim de evidenciar melhor a ausência dos picos relativos ao fármaco, em alguns sistemas, foram realizados cálculos dos espaçamentos basais destas amostras, para comparar com o HDL isolado (figura 3).

O espaçamento basal do CaAl-HDL foi 8,59 Å (VARGA et al, 2016; SHAFIEI et al., 2013). Após o processo de obtenção dos sistemas HDL-BNZ, não ficou evidenciada a intercalação do fármaco nas lamelas do HDL, pois não houve aumento do espaçamento basal do HDL.

Figura 3. Valores do espaçamento basal (d) do CaAl-HDL e sistemas HDL-BNZ.



Fonte: Dados da pesquisa

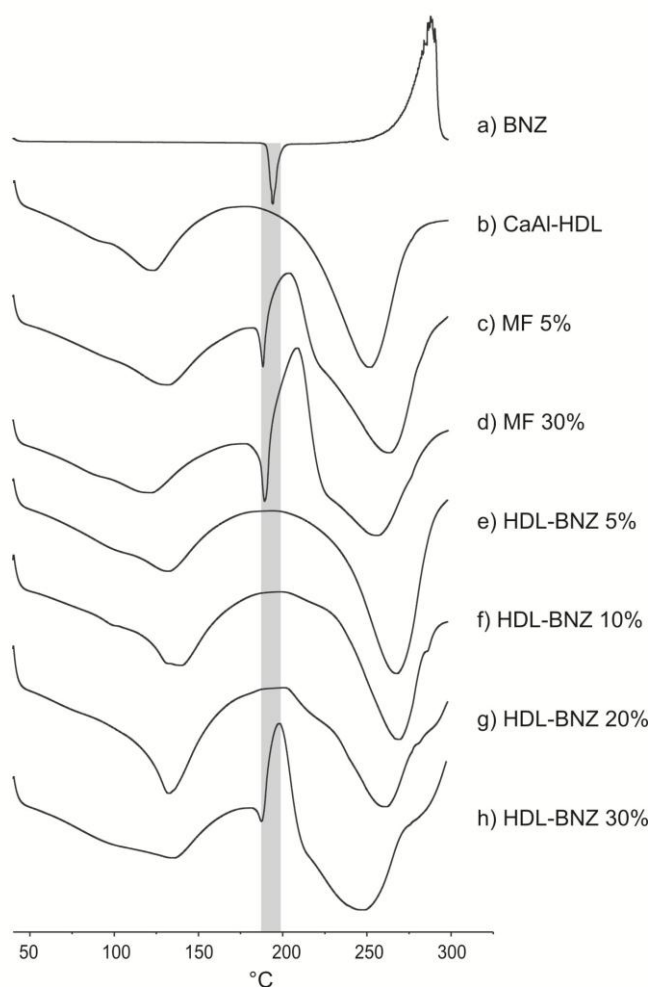
Desta maneira, supõe-se que houve interações entre os materiais, a nível de superfície, já que uma das propriedades do HDL é a sua capacidade de adsorção de moléculas, devido a diversas formas de interação que o HDL pode realizar como interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, troca iônica, entre outras (TAKAHASHI & YAMAGUCHI, 1991).

7.2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O comportamento térmico do BNZ (figura 4a) pode ser evidenciado através de um evento endotérmico em 192°C característico do processo de fusão da sua forma cristalina, e um evento exotérmico em 287°C evidenciando o início de sua decomposição (SANTOS et al.; 2013, SOARES-SOBRINHO et al, 2010).

O CaAl-HDL (figura 4b) apresentou um evento endotérmico na faixa entre 93-150 °C correspondente à evaporação da água de adsorção e interlamelar. O segundo evento, caracterizado por uma banda endotérmica larga entre 210 e 275 °C, refere-se ao fenômeno de desidroxilação das lamelas (SHAFIEI et al., 2013).

Figura 4 - Perfil térmico do BNZ, CaAl-HDL, e de suas misturas físicas e sistemas HDL:BNZ.



Fonte: Dados da pesquisa

Nas misturas físicas (figura 4c, 4d), foi possível observar a presença do evento de fusão do BNZ em 188°C, um pouco antecipada em relação ao fármaco isolado, mas não caracterizando-se como incompatibilidade.

Para os sistemas obtidos pelo método do solvente, não foi evidenciado o evento de fusão do BNZ nas amostras HDL-BNZ 5, 10 e 20%, sendo um indício de perda de cristalinidade do fármaco. Contudo, no sistema HDL-BNZ 30%, foi possível visualizar um evento endotérmico característico do ponto de fusão do BNZ em 188 °C, evidenciando que nesta proporção, já era possível encontrar o fármaco na sua forma cristalina.

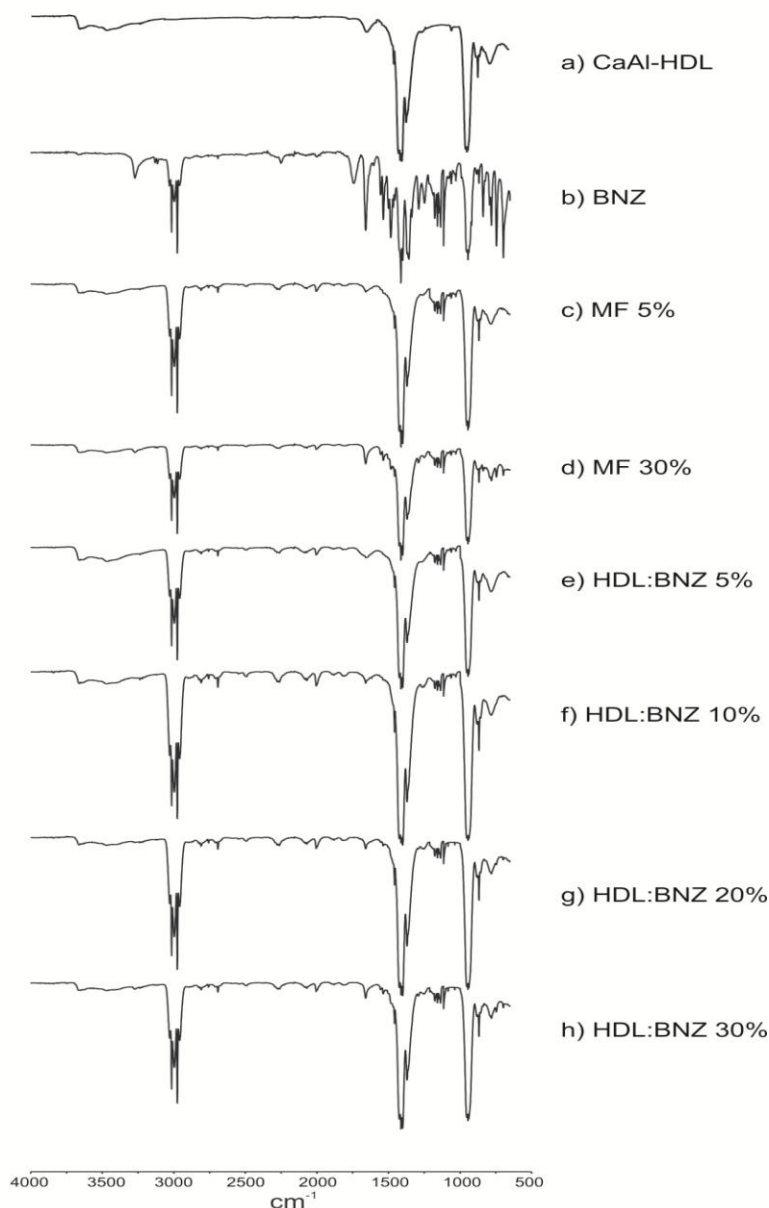
A ausência do ponto de fusão, nestes sistemas, é indicativo de que o fármaco possivelmente tornou-se amorfo, perdendo sua estrutura de organização cristalina (GANESAN et al, 2015).

7.2.3 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)

O espectro de IV do HDL (figura 5a) evidenciou bandas característica do composto, corroborando com dados previamente publicados na literatura para o carreador (SHAFIEI et al., 2013; ZHANG et al., 2012). Em 3689 e 3085 cm^{-1} , observa-se uma banda larga correspondente à deformação axial de O-H pertencente às hidroxilas e água interlamelar. Em 1641 cm^{-1} evidenciou-se um pequeno pico característico da deformação angular de moléculas de água interlamelar. Em 1360 cm^{-1} , aproximadamente, uma banda de alta intensidade evidencia a presença de ânions nitrato e, abaixo de 1050 cm^{-1} , bandas resultantes de ligações entre metais e o oxigênio.

O espectro de IV do BNZ (figura 5b) apresentou bandas características para o fármaco, tais como 3271 cm^{-1} (estiramento N-H), bandas entre 3024-2973 cm^{-1} (estiramento simétrico e assimétrico C-N de benzila), 1653 cm^{-1} (estiramento C=O), 1395 cm^{-1} e 1467 cm^{-1} (estiramento simétrico e assimétrico do grupo nitro, respectivamente). Na região de menor frequência pode-se atribuir a 1281 cm^{-1} e 1117 cm^{-1} às deformações C-H no plano e fora do plano, respectivamente, corroborando com trabalho previamente publicado (SOARES-SOBRINHO et al., 2010).

Figura 5 - Espectro de IV do BNZ, CaAl-HDL, e de suas MF e sistemas HDL:BNZ.



Fonte: Dados da pesquisa

Em todas as MF e sistemas HDL:BNZ, observou-se a predominância das vibrações características do CaAl-HDL. Várias bandas referentes ao BNZ foram sobrepostas pelo espectro do HDL, tanto nos sistemas quanto nas MF. Ficando apenas as bandas referentes ao estiramento N-H em 3271 cm^{-1} , e estiramento de carbonila em 1653 cm^{-1} e de deformação fora do plano de C-H do anel imidazólico em 1177 cm^{-1} . Portanto, só foi possível avaliar a interação HDL:BNZ nestas bandas que não foram sobrepostas.

Nos espectros das MF e sistemas HDL:BNZ, houve um suave desaparecimento da banda referente a vibração de estiramento de N-H do BNZ. Podendo indicar que a amida,

presente no BNZ, é um grupo que possivelmente faz interações com o HDL, fazendo com que esta vibração seja detectada de maneira mais branda no espectro de IV. Em contrapartida, a banda referente à carbonila permaneceu em todas as misturas, sendo menos evidente no sistema HDL:BNZ 5%. Mostrando que, provavelmente, a carbonila do BNZ não tenha apresentado fortes interações com o HDL, mantendo presente seu sinal em todos os espectros.

7.2.4 Microscopia de Luz Polarizada

A microscopia óptica de polarização é bastante útil ao analisar substâncias com atividade óptica, como, por exemplo, na investigação do fenômeno de birrefringência de cristais orgânicos e inorgânicos (EERDENBRUGH & TAYLOR, 2011).

O fenômeno da birrefringência foi descoberto, em 1669, por Erasmus Bartholinus. Baseia-se na propriedade que certos cristais anisotrópicos possuem de originar raios refratados ao desviar o plano da luz incidente, gerando uma dupla refração do feixe. Sob um plano de luz polarizada, a amostra é anisotrópica se for capaz de desviar o plano da luz incidente e isotrópica se não desviar a luz (FORMARIZ et al., 2005; JHA, 2009).

As fotomicrografias das amostras analisadas estão ilustradas na figura 6. O BNZ apresentou-se como um material anisotrópico, apresentando birrefringência evidenciada através de uma coloração amarelada. O CaAl-HDL apresentou-se como um material isotrópico, com ausência de birrefringência, apresentando um campo escuro, de coloração marrom e aparência opaca. Devido a esta diferença de birrefringência entre estes dois materiais, foi possível identificar a presença ou ausência do BNZ cristalino a partir das MF e sistemas HDL-BNZ.

Nas MF 5 e 30%, foi possível verificar a presença de birrefringência proveniente do BNZ proporcional à quantidade de fármaco presente na mistura. No sistema HDL-BNZ 30%, também foi possível notar o fenômeno de birrefringência proveniente do BNZ, confirmando a presença fármaco na forma cristalina na amostra.

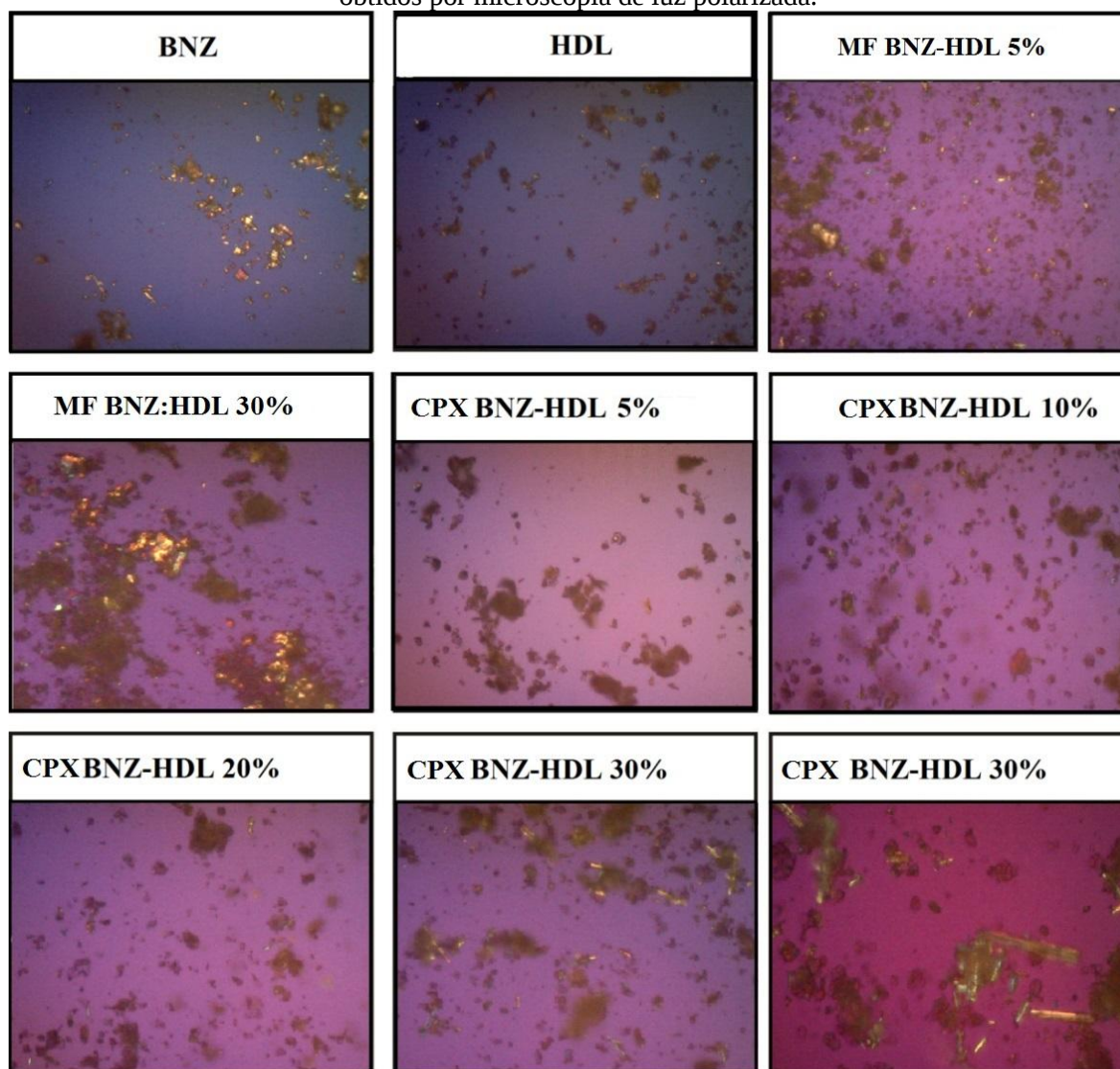
Analisando os sistemas HDL-BNZ 5, 10 e 20%, foi possível observar a ausência de birrefringência em todo o material. Este evento está ligado à possível alteração da estrutura cristalina do fármaco ao interagir com o carreador, formando um material possivelmente amorfo, tornando-se desta forma isotrópico e não birrefringente (GUPTA et al., 2003; Mallick et al., 2008).

Resultados semelhantes foram encontrados por Gupta e colaboradores (2003), ao

promover associação do antiinflamatório cetoprofeno com Neusulin (silicato de alumínio e magnésio). O fármaco, anteriormente cristalino e birrefringente, tornou-se amorfo e não birrefringente após interação com excipiente. Mallick e colaboradores (2008) obtiveram o antiinflamatório ibuprofeno amorfo após maceração em moinho de esferas do fármaco como kaolin (silicato de alumínio hidratado), confirmando o fenômeno através da ausência de birrefringência do ativo após aplicação da técnica.

As fotomicrografias da microscopia de luz polarizada corroboraram com os resultados obtidos no DRX e DSC, no sentido de confirmar o fenômeno de amorfização do fármaco nos sistemas HDL-BNZ 5%, 10% e 20%.

Figura 6 - Fotomicrografias do BNZ, CaAl-HDL, e suas misturas físicas e sistemas HDL:BNZ obtidos por microscopia de luz polarizada.



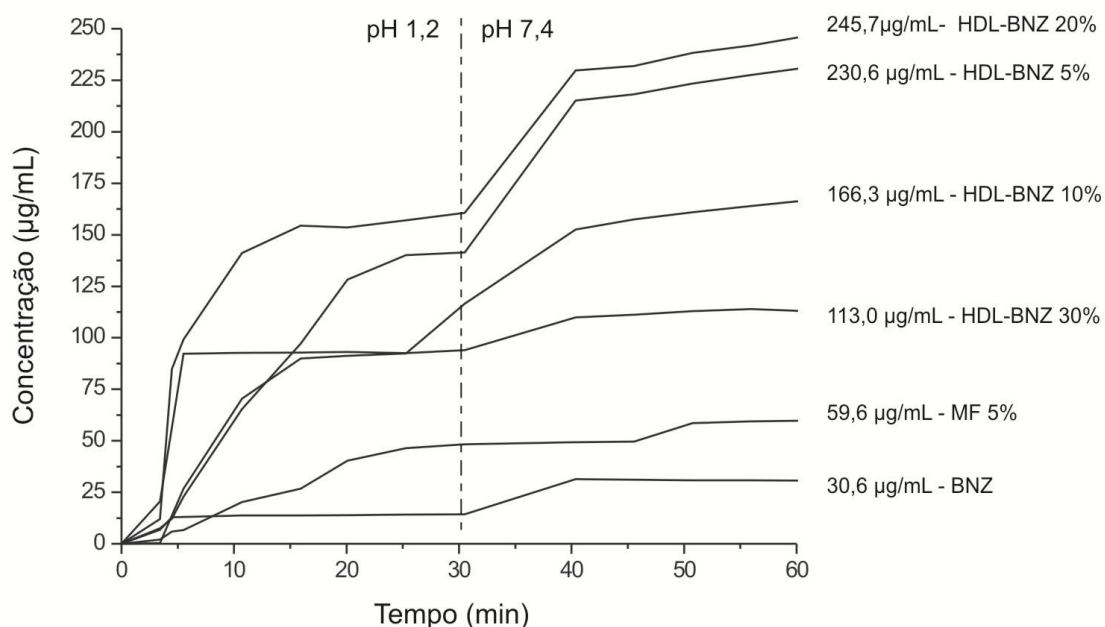
Fonte: Dados da pesquisa

7.2.5 Estudo de liberação em condições *non-sink*

Os perfis de dissolução condição *non-sink* do BNZ, MF e sistemas HDL-BNZ estão dispostos na figura 7. Após uma hora de análise, o BNZ atingiu uma concentração de $30,6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ no meio de dissolução, sendo os demais sistemas comparados a este valor para se obter o percentual de incremento da solubilidade.

Os sistemas HDL-BNZ destacaram-se em relação às MF no valores obtidos na dissolução. O sistema HDL-BNZ 20% proporcionou ao BNZ um incremento de solubilidade de aproximadamente 702%, quando comparado ao fármaco isolado, atingindo uma concentração final $245,7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Seguido do sistema HDL-BNZ 5%, que proporcionou um incremento de solubilidade de 653% em relação ao fármaco isolado. O sistema HDL-BNZ 10% proporcionou ao BNZ um incremento de 444% em sua solubilidade. O sistema HDL-BNZ 30% proporcionou um incremento na solubilidade do BNZ de aproximadamente 269%, um pouco abaixo dos demais sistemas, mostrando que a presença de BNZ na forma cristalina, refletiu no valor de dissolução deste sistema.

Figura 7 - Perfis de liberação do BNZ, MF e sistemas HDL-BNZ.



Fonte: Dados da pesquisa

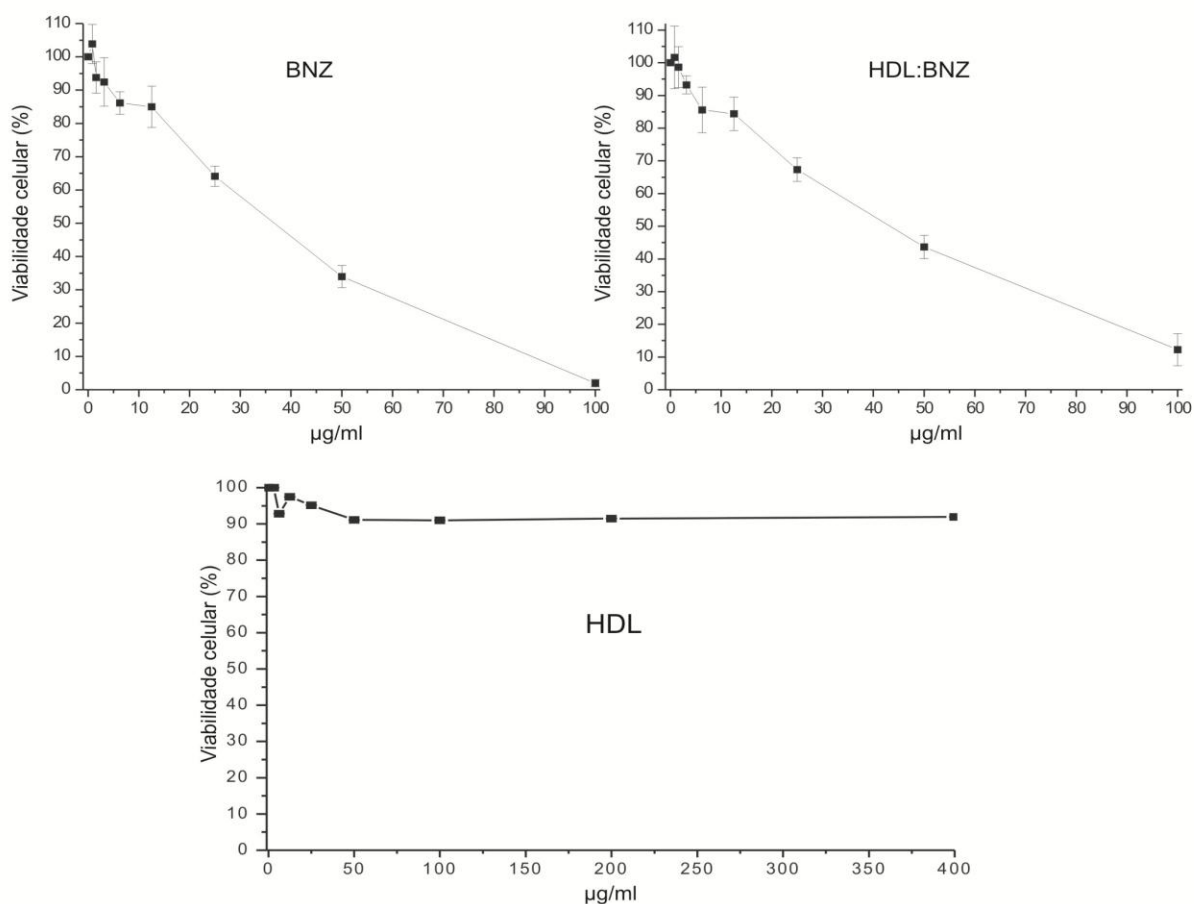
Os resultados encontrados no estudo de liberação, corroboraram com as demais caracterizações dos sistemas, mostrando que nos casos em que o BNZ tornou-se amorfo

(HDL-BNZ 5%, 10% e 20%), a solubilidade tornou-se mais elevada, enquanto nos casos em que haviam a presença de cristais de BNZ a solubilidade tende a ser reduzida, como evidenciado no sistema HDL-BNZ 30% e MF 5%.

7.2.6 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos

Os gráficos de viabilidade celular estão dispostos na figura 8. O BNZ isolado apresentou um valor de IC₅₀ de 34,95 $\mu\text{g/mL}$ (34,40-35,55 $\mu\text{g/mL}$), enquanto o do sistema HDL-BNZ foi de 39,10 (37,97-40,23 $\mu\text{g/mL}$); um pouco menos tóxico que o insumo farmacêutico ativo.

Figura 8 - Viabilidade celular de macrófagos humanos frente a BNZ, HDL e sistema HDL-BNZ.



Fonte: Dados da pesquisa

O HDL não apresentou toxicidade nas concentrações e linhagem de células utilizadas, apresentando segurança no uso dessa substância. A baixa citotoxicidade do CaAl-HDL corrobora com resultados anteriores encontrados para o carreador, mostrando pouco efeitos do material na proliferação e viabilidade celular (KIM et al, 2014; SHAFIEI et al., 2013).

CAPÍTULO IV

8.0 CAPÍTULO IV

Sistema de liberação prolongada do antiretroviral zidovudina, a partir da matriz de MgAl-Cl-HDL

8.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Departamento de doenças sexualmente transmissíveis, AIDS e Hepatites Virais estimou que aproximadamente 781 mil pessoas viviam com HIV/AIDS no Brasil no ano de 2014, correspondendo a uma prevalência de 0,39% da população (BRASIL, 2015).

O acesso universal e gratuito à terapia antirretroviral (TARV), implantado no Brasil desde 1996, causou importante impacto na morbimortalidade por AIDS (FAZITO-REZENDE et al., 2010), com aumento da sobrevida de pessoas vivendo com HIV/AIDS (CHEQUER et al., 1992, MARINS et al., 2003, MATIDA et al., 2008).

Em dezembro de 2013, o Brasil deu outro passo inovador e de vanguarda para a resposta à epidemia de HIV/AIDS: tornando-se o primeiro país em desenvolvimento a recomendar o início imediato da TARV para todas as pessoas vivendo com HIV/AIDS, independentemente da contagem de CD4, considerando a motivação do paciente (BRASIL, 2013).

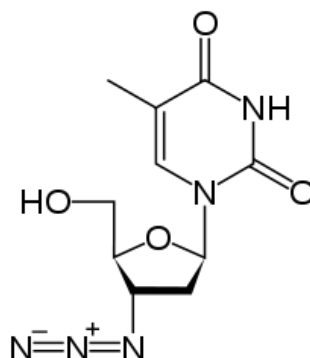
O número total de pessoas vivendo com HIV/AIDS em tratamento tem crescido a cada ano no país. Entre 2009 e 2014, observou-se um aumento de 53,2% no número de pessoas que iniciaram o tratamento. Em 2015, até o dia 31 de outubro mais de 65 mil indivíduos iniciaram TARV no país. Totalizando quase 450 mil pessoas fazendo o tratamento antirretroviral no Brasil (BRASIL, 2015).

A terapia padrão é conhecida como terapia antirretroviral de alta atividade, a qual combina pelo menos três fármacos, sendo dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo (ITRN) associados a um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (ITRNN) ou um inibidor de protease (IP), sendo o primeiro, em geral, de posologia mais simples facilitando a adesão ao tratamento (WISSENT et al., 2005; LAURENT et al., 2005).

O AZT (figura 1), análogo da timidina, é um nucleosídeo inibidor da transcriptase reversa, ativo contra o HIV-1, o HIV-2, foi o primeiro agente antirretroviral a mostrar eficácia clínica no tratamento da infecção pelo HIV. Desde sua liberação em 1987 pelo FDA, a

eficácia da zidovudina foi estabelecida em numerosos estudos clínicos (HARDMAN; LIMBIRD, 2006).

Figura 1 - Estrutura química da zidovudina.



Fonte: (NASCIMENTO et al., 2004)

Após penetrar na célula do hospedeiro, o AZT é fosforilado pela timidinocinase em monofosfato; em seguida, pela timidilatoquinase em difosfato; e, por fim, pela nucleosídeo difosfatocinase em 5-trifosfato de zidovudina ativo, esse interrompe o alongamento da cadeia de DNA ao competir com o trifosfato de timidina pela sua incorporação ao DNA (FURMAN et al. 1986).

O AZT tem como principal limitação para a eficácia terapêutica, a sua toxicidade hematológica dose-dependente. Esse fármaco apresenta baixo índice terapêutico, a meia-vida plasmática curta podendo variar entre 0.8 e 1.5 h, e baixa biodisponibilidade de 65%, fazendo com que seja necessária a administração de frequentes doses diárias (CHANDIRA et al., 2010).

A não adesão ao tratamento relacionada ao AZT é decorrente principalmente dos efeitos adversos que surgem durante o tratamento com esse fármaco. Os mais comuns consistem em anorexia, fadiga, cefaleia, mal-estar, mialgia, náuseas e insônia. Além do desenvolvimento de anemia, e neutropenia (WALKER et al., 1988). Essas reações indesejadas são dose-dependentes, sendo assim, a redução do total de administrações diárias, reduz drasticamente a severidade da toxicidade (MANDAL; TENJARLA, 1996).

O desenvolvimento de formas farmacêuticas utilizando excipientes que possibilitem a liberação modificada permite melhor controle da cinética de liberação do fármaco da sua respectiva forma farmacêutica. Nesse aspecto, é possível estabelecer níveis plasmáticos terapêuticos constantes, com menores efeitos tóxicos (CUNHA et al., 2010; PESSANHA et al., 2012). A extensão da liberação tem se mostrado vantajosa na medida em que aumenta a

adesão do pacientes ao tratamento, em especial quando a administração de diversas doses ao dia é necessária (KOESTER, 2003), a exemplo dos antirretrovirais, além de ocasionar diminuição de efeitos colaterais.

Uma das principais aplicações dos HDL no campo farmacêutico é como matriz de liberação de fármacos, quando intercaladas com os princípios ativos. O material intercalado poderá sofrer um processo de liberação sustentada, decorrente da dissolução da matriz lamelar em função do ataque ácido ou de uma reação de troca iônica. Sendo os HDL compostos básicos, estes dissolvem-se rapidamente a baixos valores de pH, mas a sua dissolução reduz-se consideravelmente para valores de pH mais elevados, permitindo a liberação lenta dos fármacos (WEI, et al. 2004).

O desenvolvimento de uma forma farmacêutica utilizando excipientes funcionais capazes de modificar a liberação do fármaco, pode resultar na diminuição da dose e/ou frequência de administração, e consequentemente a redução dos efeitos adversos, imprescindível para a adesão do paciente ao tratamento.

8.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.2.1 Difração de raios-X de pó

O difratograma do AZT (figura 2a) demonstra o caráter cristalino do fármaco através de seus intensos picos, característico da molécula. Os planos cristalinos mais acentuados, encontram-se em 8,8 Å, 15,4 Å, 17,1 Å, 21,3 Å, 22,2 Å, 26,8 Å, 27,8 Å e 29,4 Å (ARAÚJO et al., 2003; PANDA et al., 2013; MOHIMA et al., 2014).

O difratograma do MgAl-Cl-HDL (figura 2d) apresenta três picos intensos e bem definidos, característico de material cristalino, com planos de difração em 11,3 Å, 22,8 Å, 34,8 Å, 38,6 Å e 46 Å; apresentando um espaçamento lamelar de 7,8 Å, quando aplicada a lei de Bragg para o plano de maior intensidade (ÖZGÜMÜS et al., 2013; CUNHA et al., 2012; PERIOLI et al., 2011).

O difratograma da MF (figura 2b) apresenta-se como uma sobreposição de planos cristalinos referentes aos componentes da mistura, não sendo possível observar variação na intensidade, deslocamento ou ausência de picos do AZT ou MgAl-Cl-HDL.

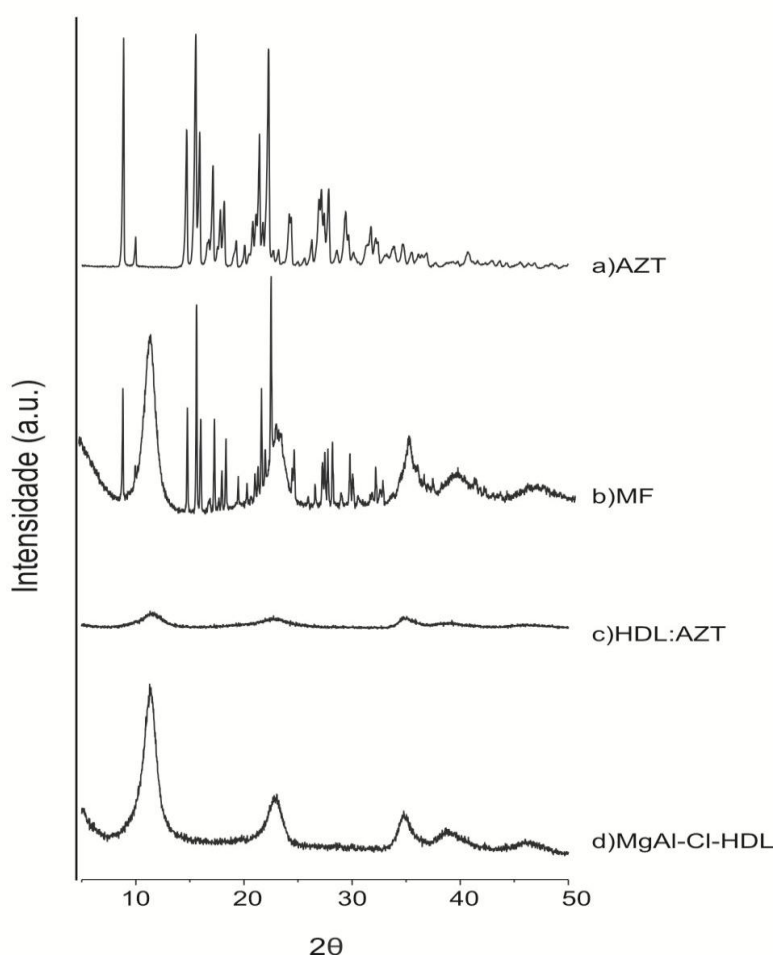
No difratograma do sistema HDL:AZT (figura 2c), não foi possível identificar planos cristalinos referente ao fármaco, sendo forte indicativo de uma amorfização da sua forma cristalina (SANTOS, CARVALHO & PINA, 2010; PANDA et al., 2013; MOHIMA et

al.,2014). A amostra apresentou um perfil semelhante ao encontrado para o MgAl-Cl-HDL, no entanto, com diminuição drástica da intensidade e alargamento dos picos de difração. Segundo Gu et al.(2008) e Varga et al. (2016), estes eventos são indício de interação do fármaco com as lamelas do HDL.

O fenômeno de intercalação normalmente se reflete em uma variação na posição do pico de maior reflexão do HDL. Mas, mesmo este evento não ocorrendo, a intercalação do material hóspede pode ocorrer na superfície externa do HDL, através de fortes interações entre os materiais, que são capazes de suportar lavagens com diferentes naturezas de solventes, sem serem afetadas.

O DRX isoladamente não é suficiente para elucidar este fenômeno, sendo necessária a utilização de técnicas complementares como IV, MEV, ressonância magnética nuclear, entre outras (VARGA et al., 2016).

Figura2 - Perfis difratométricos do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistema HDL:AZT.



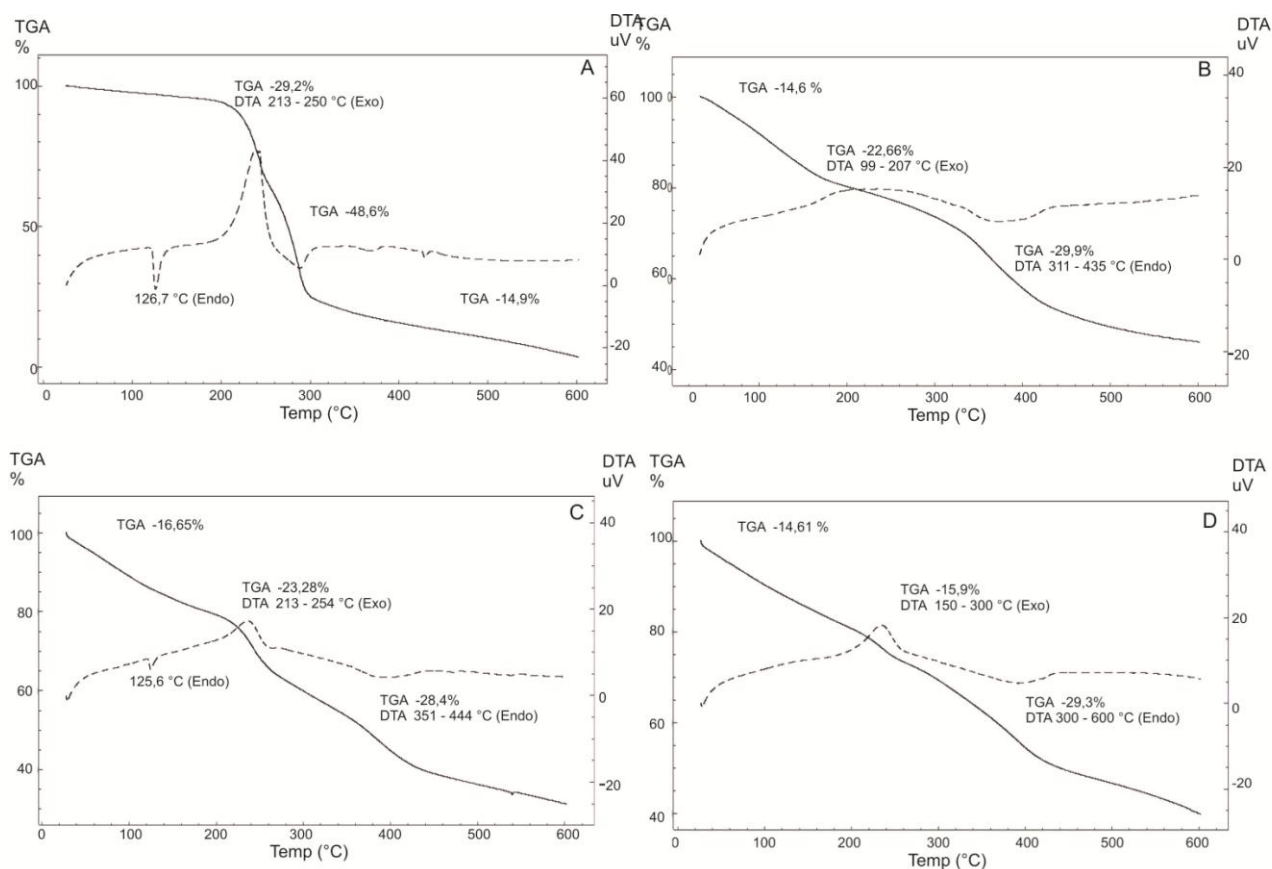
Fonte: Dados da pesquisa

8.2.2 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

Na curva DTA do AZT (figura 3a), foi possível observar um pico endotérmico em 126,7°C, correspondente ao ponto de fusão do fármaco. Na curva TG do AZT, é possível notar diversos eventos de perda de massa, referentes à degradação do fármaco. O primeiro evento, entre 150 - 250 °C, perda de 29,2% de massa; o segundo evento, entre 250 - 357 °C, perda de 48,6% de massa, e o terceiro evento, entre 357 - 600 °C, redução de 14,9% na massa do material, corroborando com dados encontrados por Araújo et al. (2003). O primeiro evento de degradação, é seguido de um pico exotérmico acentuado na curva DTA, na faixa de 213°C a 250°, referente à formação de timina ($C_5H_6N_2O_2$), seguido de clivagem do grupo azido (N_3) e liberação do anel 2-furanometanol do AZT (ARAÚJO et al., 2003).

Na curva TG do MgAl-Cl-HDL (figura 3b), foi possível observar dois eventos principais de perda de massa. O primeiro entre 25 - 250°C, referiu-se à perda de água superficial e lamelar, com diminuição de 22,66% da massa da amostra. Este evento é acompanhado de uma banda endotérmica na curva DTA, que localiza-se entre 127 - 207 °C. No segundo evento, proveniente da desidroxilação e decomposição dos ânions de cloro, ocorre uma perda de massa de 29,9%; evento seguido de uma banda endotérmica no DTA, localizada entre 311 - 435 °C (Miyata, 1975; Sara, Frost & Nguye, 2009 , ÖZGÜMÜS et al., 2013).

Figura 3 - Curvas TG/DTA do AZT (A), MgAl-Cl-HDL (B), MF (C) e Sistema HDL:AZT (D).



Fonte: Dados da pesquisa

Na curva DTA da MF (figura 3C), o pico de fusão do AZT foi evidenciado em 125,6 °C, demonstrando a natureza cristalina do fármaco presente na amostra. Na curva TG da MF (figura 3C), foi possível observar todos os eventos ocorridos no TG do AZT e MgAl-Cl-HDL, juntos numa mesma curva. Entre 25 - 150°C, houve uma perda de massa de 16,65%, relacionada à água superficial presente na mistura. Entre 150 - 300 °C, houve uma perda de massa de 23,28%, referente à perda de água interlamelar do HDL, e início de degradação do AZT. Este evento é acompanhado de uma banda exotérmica entre 213 - 254°C. Entre 300 - 600°C, o AZT permanece em decomposição, e o HDL sofre os eventos de decomposição das hidroxilas e íon cloreto. Este evento é acompanhado de uma curva DTA endotérmica entre 351 - 444°C.

No DTA do sistema HDL:AZT (figura 3D), foi possível notar a ausência do pico de fusão do AZT na curva. A falta deste evento corrobora com os dados do DRX, onde os planos de difração, referentes ao AZT cristalino, não estavam evidentes na amostra (figura

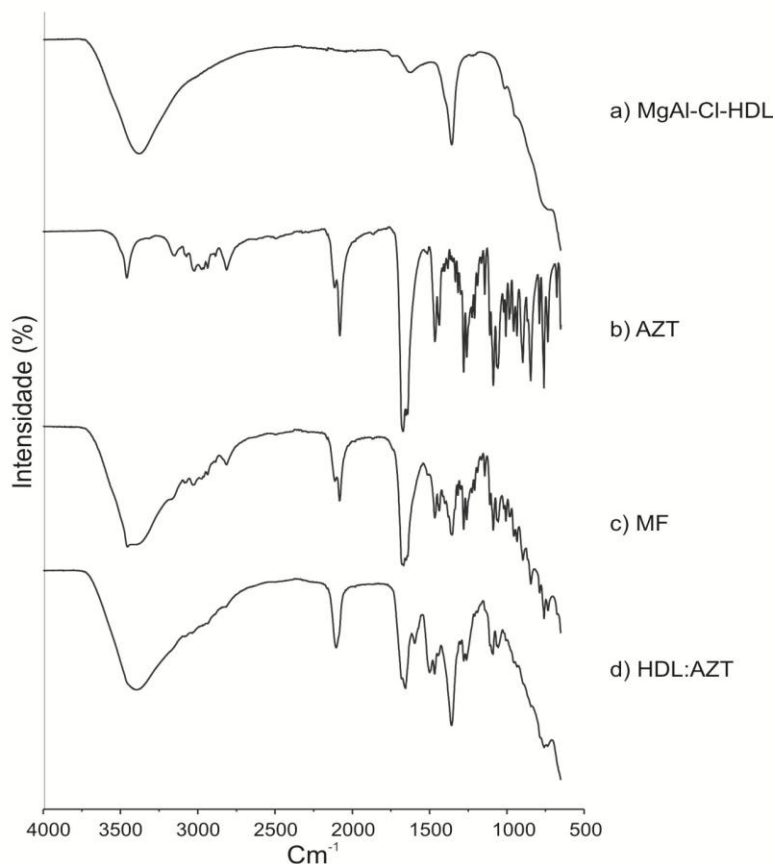
3D). Os demais eventos das curvas TG/DTA, evidenciaram, assim como na MF, eventos provenientes de ambos os materiais, dentre eles entre 25 - 150 °C, perda de 14,6%, relativo á água superficial presente no sistema. Entre 150 - 300 °C, perda de 15,9%, relativo à perda de água interlamelar do HDL, e início de degradação do AZT. Evento este, seguido de uma banda exotérmica na curva DTA entre 127 - 207 °C. Em um último evento entre 300 - 600 °C, houve uma perda de massa de 29,3%, referente à decomposição das hidroxilas e íon cloreto do HDL, além da continuidade da decomposição do AZT.

8.2.3 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)

O espectro de IV do AZT evidenciou bandas características do fármaco (figura 4b), assim como relatado previamente na literatura (ARAÚJO et al., 2003; JAIN, PRABHAKAR & SINGH, 2013). Dentre as principais bandas evidenciadas, estão: vibração de estiramento O-H em 3465 cm^{-1} ; vibração de estiramento simétrico e assimétrico do CH_2 em 3028 cm^{-1} e 2968 cm^{-1} , respectivamente; vibração de estiramento CH do anel timina e do anel furano, em 3154 cm^{-1} e 2817 cm^{-1} respectivamente; vibração de estiramento simétrico e assimétrico do grupo azido N_3 em 1279 cm^{-1} e 2118 cm^{-1} , respectivamente; pico pronunciado em 1671 cm^{-1} referente à vibração de estiramento de carbonila $\text{C}=\text{O}$; vibração de estiramento de C-O do anel furano em 963 cm^{-1} .

No espectro IV da MF (figura 4d), foi possível notar que houve uma sobreposição das bandas do HDL e do AZT, não sendo evidenciadas alterações significativas nos picos característicos de ambas amostras.

Figura 4 - Espectros de IV do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistema HDL:AZT.



Fonte: Dados da pesquisa

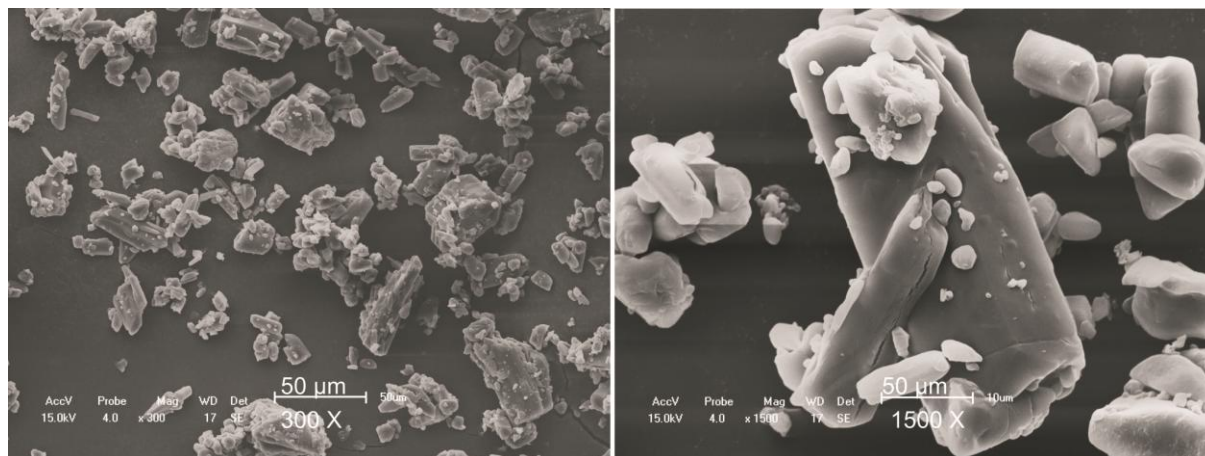
No espectro IV do sistema HDL:AZT (figura 4d), foi possível notar algumas alterações importantes, que fortalecem informações obtidas na DRX do sistema HDL:AZT (figura 2c), favorável a uma maior interação entre fármaco e carreador. Dentre elas, redução na intensidade da banda de estiramento simétrico do grupo azido N_3 em 1279 cm^{-1} ; redução das intensidades das bandas entre 3154 cm^{-1} e 2817 cm^{-1} , referente às vibrações de estiramento de C-H e CH_2 do anel furano e redução das intensidades de bandas abaixo de 1000 cm^{-1} , dentre elas, a de estiramento de C-O do anel furano em 963 cm^{-1} .

As alterações evidenciadas no espectro, estão relacionadas, predominantemente, às ligações presentes no anel furano do AZT, mostrando que a interação entre o HDL e o AZT é predominantemente nesta região da molécula.

8.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As fotomicrografias do AZT (figura 5), apresentaram partículas cristalinas do fármaco com diferentes formatos, e dimensões variando entre 4 e 260 μm . Ficou evidenciada a presença de grumos entre as partículas de menores dimensões.

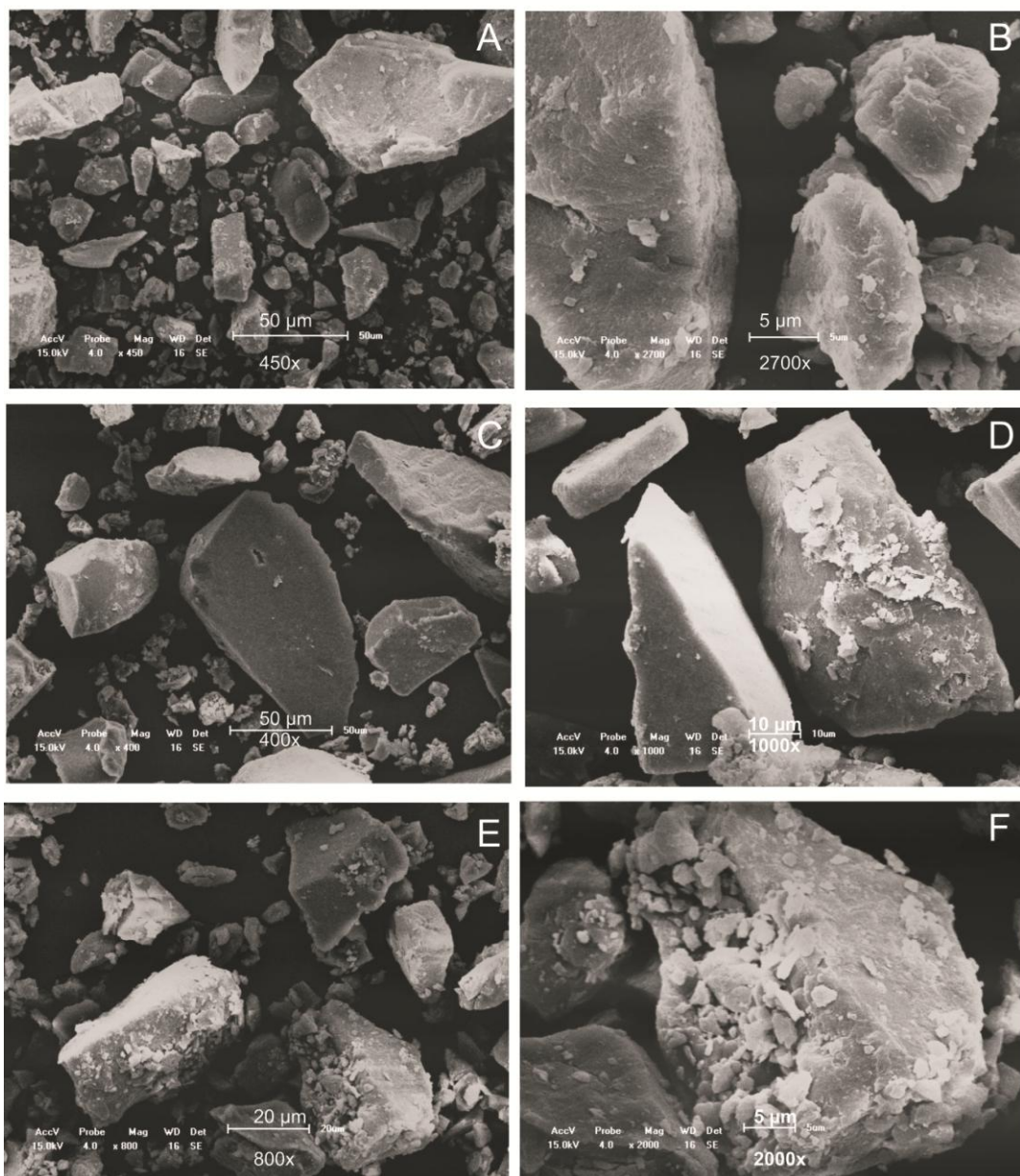
Figura 5 - Fotomicrografias do AZT, (A) 450 X, e (B) 2700 X.



Fonte: Dados da pesquisa.

As fotomicrografias do MgAl-Cl-HDL evidenciaram um material cristalino, de formato irregular e com dimensões variando entre 5 – 100 μm ; estando a maioria das partículas entre 10 - 20 μm (figura 6A e 6B). As características físicas descritas para o MgAl-Cl-HDL corroboram com trabalhos previamente publicados na literatura para o material (WANG et al., 2011; ALEXA et al., 2011).

Figura 6 - MEV doMgAl-Cl-HDL (a e B), MF (C e D) e Sistema HDL:AZT (E e F).



Fonte: Dados da pesquisa

As fotomicrografias da MF (figura 6C e 6D) apresentaram o HDL na sua forma cristalina, com superfícies lisas com dimensões próximas às do HDL isolado, e algumas partículas de AZT adsorvido à superfície. É possível notar uma grande quantidade de fármaco livre, na forma de grumos, entre as partículas do HDL.

As imagens do sistema HDL:AZT apresentaram um material formado por HDL com uma alta densidade de AZT adsorvido à sua superfície. Foi possível notar a diminuição das partículas do fármaco após obtenção do complexo com o HDL, ficando em sua maior parte abaixo de 5 µm.

8.2.4 Análise elementar

A partir dos percentuais dos elementos CHN obtidos através da análise elementar do sistema HDL:AZT (tabela 1), e da elucidação prévia da fórmula química do MgAl-Cl-HDL isolado $[Mg_{1,5}Al(OH)_5Cl.3(H_2O)]$, foi possível calcular o percentual de AZT intercalado no HDL, após síntese por co-precipitação na presença do fármaco.

Tabela 1. Composição química do sistema MgAl-Cl-HDL:AZT obtida por análise elementar CHN

	%C	%H	%N
MgAl-Cl-HDL:AZT	13,7	4,13	7,1

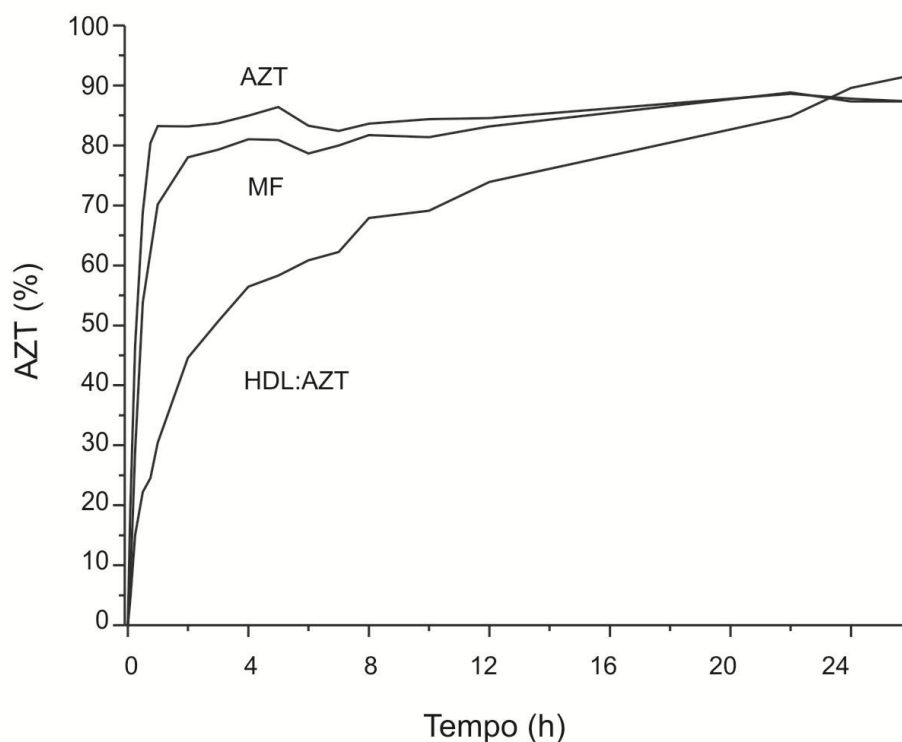
Dessa maneira, obteve-se um percentual de 27,1% de AZT presente no sistema HDL:AZT, sendo uma proporção fármaco/carreador de 1/3,03. A fórmula química sugerida, para cada mol de AZT presente na amostra, apresenta-se da seguinte forma: $Mg_{4,54} Al_{3,03} (OH)_{15,15} (Cl)_{3,03} . (C_{19}H_{13}N_5O_4) . 9,09(H_2O)$.

8.2.5 Estudo de liberação em condições *sink*

Os perfis de liberação do AZT e de sua MF e sistema MgAl-Cl-HDL estão dispostos na figura 7.

Os perfis de dissolução do AZT e da MF são bem semelhantes, pois apresentam uma liberação rápida do AZT, seguida de um platô, onde o percentual de dissolução permanece com variação mínima até o término do estudo. O AZT atinge 80% de dissolução em 45 minutos de teste, enquanto a MF atinge este mesmo percentual em 3 horas, devido a sua fraca interação com o HDL. Ao atingir 24 horas de estudo, a taxa de dissolução de ambas amostras ficou em 87%; demonstrando que a dissolução do fármaco ocorre primordialmente nas primeira hora para o AZT e nas três primeiras horas para a MF.

Figura 7. Perfis de liberação do AZT isolado, MF HDL:AZT e Sistema HDL:AZT.



Fonte: Dados da pesquisa

Na dissolução do sistema HDL:AZT, foi possível notar um perfil típico de sistemas de liberação prolongado, onde o fármaco é gradualmente liberado ao longo do tempo. Em uma hora de estudo, o sistema obteve uma taxa de dissolução de 30,4%, frente a 83% do AZT isolado. Após 6h de dissolução, a taxa elevou-se para 61%, atingindo, em 24 horas de estudo, a marca dos 90% de AZT solúvel no meio, promovendo uma liberação prolongada do fármaco durante 24h.

Jadhav e colaboradores (2013) também obtiveram liberação prolongada do AZT ao complexarem o fármaco em nanopartículas de gelatina e nanopartículas de gelatina contendo manose; obtendo uma liberação de gradual de 80,56% e 74,45% de AZT em 24h de teste, para os respectivos carreadores; em 900 mL de tampão fosfato pH 7,4, a 37°C e 50 rpm.

Emeje e colaboradores (2010), utilizaram carbopol 71G(C71) para aplicação na liberação prolongada em comprimidos de AZT. Comprimidos contendo 30% do polímero obtiveram liberação de 70% do fármaco em 3,9 horas, finalizando os 100% em 6 horas de estudo. O estudo foi procedido em 900 mL de suco gástrico simulado, 100 rpm, pH 1,2 nas 2 primeiras horas, e 7,4 nas demais horas do estudo.

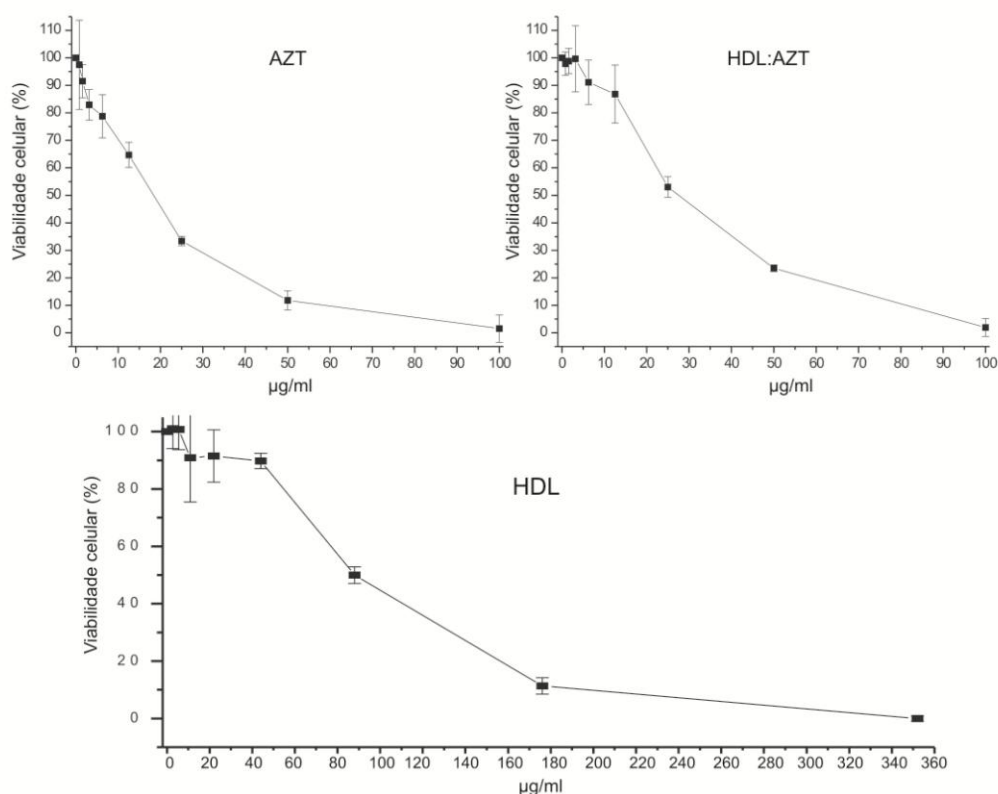
Na prática clínica, esta liberação gradual é responsável por manter a concentração plasmática em níveis terapêuticos, evitando níveis subterapêuticos ou tóxicos por período de tempo prolongado, requerendo administrações menos frequentes, quando comparadas às convencionais, aumentando a adesão do paciente ao tratamento (PEZZINI, SILVA & FERRAZ, 2007).

Além da liberação prolongada, o fármaco presente no sistema, obteve uma maior solubilidade em relação ao AZT isolado e à MF, provavelmente devido à amorfização do mesmo, como comprovado pelo DRX e DTA.

8.2.6 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos

Os gráficos do estudo de viabilidade estão dispostos na figura 8. O AZT isolado apresentou valor de IC₅₀ de 17,7 µg/mL (16,4-19,1 µg/mL), enquanto o do sistema HDL:AZT foi de 27,0 µg/mL (26,8-27,2 µg/mL). Este resultado evidencia a redução da toxicidade do sistema frente ao AZT isolado.

Figura 8 - Viabilidade de macrófagos humanos frente a AZT, HDL e sistema HDL-AZT.



Fonte: Dados da pesquisa

O MgAl-Cl-HDL apresentou IC₅₀ de 90,7 µg/mL (85,4-96,0 µg/mL), valor este, muito superior aos evidenciado pelo fármaco e sistema HDL:AZT, evidenciando a segurança e biocompatibilidade do carreador, frente a células de macrófagos humanos. Menezes e colaboradores (2014), evidenciaram que a aplicação de MgAl-Cl-HDL em linhagem de macrófagos peritoniais, não afetou significativamente a viabilidade celular, quando testado numa faixa de (10-100 µM) por 24 horas, confirmando a biocompatibilidade do material.

CONSIDERAÇÕES FINAIS



9.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- As sínteses do CaAl-HDL e MgAl-Cl-HDL foram obtidas com êxito, gerando compostos com características adequadas para as suas naturezas, quando comparado com trabalhos previamente descritos na literatura. A elevada área superficial apresentada, expõe uma ampla superfície de adsorção, que juntamente com a sua capacidade de intercalação de compostos, tornam os materiais promissores como carreadores de fármacos e outras substâncias;
- Os sistemas HDL:EFZ foram capazes de aumentar a solubilidade do EFZ, tornando-o amorfo, obtendo um sistema com grande potencial para aplicação em medicamentos contendo fármacos pouco solúveis, possibilitando ainda, a obtenção de um material híbrido com baixa toxicidade, em relação ao fármaco isolado; quando aplicado na proporção HDL:EFZ 30%;
- Nos sistemas HDL:BNZ, a interação entre o fármaco e o carreador, proporcionou ao fármaco um estado amorfo, principalmente quando aplicado na proporção HDL:BNZ 20%; sem elevar a toxicidade do fármaco;
- No sistema HDL:AZT, a síntese por co-precipitação do MgAl-Cl-HDL, na presença do antiretroviral AZT, foi obtida com êxito, gerando um material com fármaco intercalado na superfície do MgAl-Cl-HDL, formando um sistema menos tóxico que o AZT isolado, com fármaco amorfo, capaz de proporcionar uma liberação prolongada do AZT durante 24 horas de estudo de liberação.

Como perspectivas para o projeto, pretende-se:

- Realizar estudos de correlação espectral dos IV e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H dos sistemas obtidos, para elucidar melhor as interações ocorridas entre as moléculas;

- Realizar estudos de hidrólise, oxidação e fotólise dos sistemas obtidos, para avaliar estabilidade dos fármacos;
- Realizar estudos de permeabilidade dos fármacos, em modelos *in vitro*, em linhagem de células caco-2, MDCKou TC-7;
- Realizar estudos farmacocinéticos, com modelo animal, com os sistemas obtidos, por meio de parceria entre o Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos/UFPE e Laboratório de Toxicologia do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia - FCF-UNESP/Araraquara-SP.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALEXA, I.F.; POPOVICI, R.F.; IGNAT, M.; POPOVICI, E.; VOICU, V.A. Non-toxic nanocomposite containing captopril intercalated into green inorganic carrier. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v.6, n.3, p.1091-1101, 2011.
- ALI, S.H.; AL-QUBAISI, M.; HUSSEIN, M.Z.; ISMAIL, M.; ZAINAL, Z.; HAKIM, M.N. In Vitro Inhibition of Histamine Release Behavior of Cetirizine Intercalated in to Zn/Al- and Mg/Al-Layered Double Hydroxides. **International Journal of Molecular Science**, v.13, n.5, p. 5899-5916, 2012.
- ALMEIDA, M.M.; LIMA, C.R.R.C.; QUENCA-GUILLEN, J. S.; MOSCARDINI-FILHO, E.; MERCURI, L.P.; SANTORO, M.I.R.M.; KEDOR-HACKMANN, E.R.M. Stability evaluation of tocopheryl acetate and ascorbyl tetraisopalmitate in isolation and incorporated in cosmetic formulations using thermal analysis. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, v. 46, n. 1, p. 129-134, 2010.
- ALVES, L.D.S.; SOARES, M.F.L.R.; ALBUQUERQUE, C.T.; SILVA, E.R.; VIEIRA, A.C.C.; FONTES, D.A.F.; FIGUEIRÊDO, C.B.M., SOARES-SOBRINHO, J.L., ROLIM-NETO, P.J.: Solid dispersion of efavirenz in PVP K-30 by conventional solvent and kneading methods. **Carbohydrate Polymers**, v. 104, p. 166–174, 2014.
- AMBROGI, V.; FARDELLA, G.; GRANDOLINI, G.; PERIOLI, L. Intercalation compounds of hydrotalcite-like anionic clays with antiinflammatory agents — I. Intercalation and in vitro release of ibuprofen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 220, p.23–32, 2001.
- AMBROGI, V.; FARDELLA, G.; GRANDOLINI, G.; PERIOLI, L.; TIRALTI, M.C. Intercalation compounds of hydrotalcite-like anionic clays with anti-inflammatory agents, II: up take of diclofenac for a controlled release formulation. **AAPS PharmSciTech**, v.3, n. 3, p. 77-82, 2002.
- AMBROGI, V.; PERIOLI, L.; MARMOTTINI, F.; ROSSI, C. Use of calcined Mg–Al–hydrotalcite to enhanceth estabilyty of celecoxib in the amorphous form. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, p. 253–259, 2007.

ARAÚJO, A.A.S.; STORPIRTIS, S.; MERCURI, L.P.; CARVALHO, F.M.S.; SANTOS-FILHO, M.; MATOS, J.R. Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 260, p. 303–314, 2003.

BARRET, E. P., JOYNER, L. G., HALENDA, P. P., The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 73, n. 1, p. 373-380, 1951.

BENES, L.; ZIMA, V.Z.; SVOBODA, J.; MELANOVA, K. Intercalation of 2-Naphthol-3,6-disulfonate, 9,10-Anthraquinone-2,6-disulfonate, and 9,10-Anthraquinone-2-sulfonate Anions into Zn–Al Layered Double Hydroxide. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 41-46, 2005.

BENÍCIO, L.P.F.; SILVA, R.A.; LOPES, J.A.; EULÁLIO, D.; SANTOS, R.M.M.; AQUINO, L.A.; VERGÜTZ, L.; NOVAIS, R.F.; COSTA, L.M.; PINTO, F.G.; TRONTO, J. Layered double hydroxides: nanomaterials for applications in agriculture. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 1-13, 2015.

BONOLO, P.F; GOMES, R.R.F.M.; GUIMARÃES, M.D.C. Adesão à terapia anti-retroviral (HIV/aids): fatores associados e medidas da adesão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.16, n. 4, p. 261-278, 2007.

BOTAN, R.; NOGUEIRA, T. R.; LONA, L. M. F.; WYPYCH, F. Síntese e Caracterização de Nanocompósitos Esfoliados de Poliestireno – Hidróxido Duplo Lamelar via Polimerização in situ. **Polímeros**, v. 21, n.1, p. 34-38, 2011.

BRASIL. DST-AIDS-HEPATITES VIRAS. Como iniciar a TARV. Disponível em: http://www.aids.gov.br/pcdt/guia_rapida/2. Acesso em: 25 fev. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria De Políticas De Saúde. Coordenação Nacional De DST e AIDS e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico – Aids e DST**. Ano IV, n.1, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos.** Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/2013/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-adul>. Acesso em: 20 fev. 2016.

BRITO, A.; BORGES, M.E.; GARIN, M.; HERNANDEZ, A. Biodiesel Production from Waste Oil Using Mg-Al Layered Double Hydroxide Catalysts. **Energy & Fuels**, v. 23, p. 2952–2958, 2009.

BRUNAUER, S.; EMMET, P. H.; TELLER, E. Adsorption of Gases in multimolecular layers. **Journal of The American Chemical Society**, v. 60, p. 309-319, 1938.

CAVANI, F.; TRIFIRB, F.; VACCARI, A. Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications. **Catalysis Today**, v. 11, n. 2, p. 173-301.

CHANDIRA, M.; MURUGANATHAM, S.V.; DEBJIT; JAYAKAR, K.B. Formulation and evaluation of sustained release matrix tablets of zidovudine. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**, v.1, n.1, 2009.

CHATELAIN, E. Chagas disease drug discovery: toward a new era. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 20, n. 1, p. 22-35, 2015.

CHEQUER, P.; HEARST, N.; HUDES, E. S.; CASTILHO, E.; RUTHERFORD, G.; LOURES, L. et al. Determinants of survival in adult Brazilian AIDS patients, 1982-1989. **The Brazilian State AIDS Program Co-Ordinators**, v. 6, p. 483-7, 1992.

CHOY, J-H.; KWAK, S.Y.; PARK, J. S.; JEONG, Y. J. Cellular up take behavior of [γ -32P] labeled ATP-LDH nanohybrids. **Journal of Materials Chemistry**, v. 11, p. 1671-74, 2001.

CIOBANU, A.; RUELLAN, S.; MALLARD, I.; LANDY, D.; GENNEQUIN, C.; SIFFERT, S.; FOURMENTIN, S. Cyclodextrin-intercalated layered double hydroxides for fragrance release. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 75, n. 3, p. 333-339, 2013.

COELHO, A. C. V.; SANTOS, P. S. Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas – uma revisão. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1282-1294, 2007.

CONCEIÇÃO, L.; PERGHER, S. B. C.; MORO, C. C.; OLIVEIRA, L. C. A. Compósitos magnéticos baseados em hidrotalcitas para a remoção de contaminantes aniônicos em água. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1077-1081, 2007.

CONCEICAO, L.; PERGHER, S. B. C.; MORO, C. C.; OLIVEIRA, L. C. A. Compósitos magnéticos baseados em hidrotalcitas para a remoção de contaminantes aniônicos em água. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1077-1081, 2007.

CONSTANTINO, V.R.L.; HNNAVAIA, T.J. Basic Properties of Mg^{2+} , Al^{3+} , Layered Double Hydroxides Intercalated by Carbonate, Hydroxide, Chloride, and Sulfate Anions. **Inorganic Chemistry**, v. 34, p. 883-892, 1995.

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

CUNHA, V.R.R.; PETERSEN, P.A.D.; GONÇALVES, M.B.; PETRILLI, H.M.; TAVIOT-GUEHO, C.; LEROUX, F.; TEMPERINI, M.L.A.; CONSTANTINO, V.R.L. Structural, Spectroscopic (NMR, IR, and Raman), and DFT Investigation of the Self-Assembled Nanostructure of Pravastatin-LDH (Layered Double Hydroxides) Systems. **Chemistry of Materials**, v. 24, p. 1415-1425, 2012.

DE ROY, A.; FORANO, C.; BESSE, J. P. Anionic clays - trends in pillaring chemistry. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v.202, p.127, 1991.

DEL ARCO, M.; CEBADERA, E.; GUTIÉRREZ, S.; MARTÍN, C.; MONTERO, M.J.; RIVES, V.; ROCHA, J.; SEVILLA, M.A. Mg-Al layered double hydroxides with intercalated indomethacin: synthesis, characterization, and pharmacological study. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 6, p. 1649 – 1658, 2004.

DEL ARCO, M.; FERNÁNDEZ, A.; MARTÍN, C.; RIVES, V. Release studies of different NSAIDs encapsulated in Mg,Al,Fe-hydrotalcites. **Applied Clay Science**, v.42, p.538–544, 2009.

DEL ARCO, M.; FERNÁNDEZ, A.; MARTÍN, C.; RIVES, V. Solubility and release of fenbufen intercalated in Mg, Al and Mg, Al, Fe layered double hydroxides (LDH): The effect of Eudragits S 100 covering. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 183, p. 3002–3009, 2010.

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

DUPIN, J. C.; MARTINEZ, H.; GUIMON, C.; DUMITRIU, E.; FECHETE, I. Intercalation compounds of Mg–Al layered double hydroxides with dichlophenac: different methods of preparation and physico-chemical characterization. **Applied Clay Science**, v. 27, p.95– 106, 2004.

EERDENBRUGH, V.; TAYLOR. An ab initio polymer selection methodology to prevent crystallization in amorphous solid dispersions by application of crystal engineering principles. **CrystEngComm**, v.13, p. 6171-6178, 2011.

EMEJE, M.; OLALEYE, O.; ISIMI, C.; FORTUNAK, J.; BYRN, S.; KUNLE, O.; OFOEFULE, S. Oral Sustained Release Tablets of Zidovudine Using Binary Blends of Natural and Synthetic Polymers. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.33, n.9, p.1561-1567, 2010.

FAZITO-REZENDE, E. L. L.; VASCONCELOS, A. M. N.; PEREIRA, M. G. Causes of death among people living with HIV/AIDS in Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 6, p. 558-563, 2010.

FENG, J.; HE, Y.; IU, Y.; DU Y.; LI, D. Supported catalysts based on layered double hydroxides for catalytic oxidation and hydrogenation: general functionality and promising application prospects. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 5291-5319, 2015.

FERENCZ, Z.; KUKOVECZ, A.; KÓNYA, Z.; SIPOS, P.; PÁLINKÓ, I. Optimisation of the synthesis parameters of mechanochemically prepared CaAl-layered double hydroxide. **Applied Clay Science**, v. 112-113, p. 94-99, 2015.

FORMARIZ, T.P.; URBAN, M.C.C.; SILVA-JÚNIOR, A.A.; GREMIÃO, M.P.D.; OLIVEIRA, A.G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, p. 301-313, n. 3, 2005.

FURMAN, P.A.; FYFE, J.A.; ST CLAIR, M.H.; WEINHOLD, K.; RIDEOUT J.L.; FREEMAN, G.A.; LEHRMAN, S.N.; BOLOGNESI, D.P.; BRODER, S.; MITSUYA, H. Phosphorylation of 3'-azido-3'-deoxythymidine and selective interaction of the 5'-triphosphate with human immunodeficiency virus reverse transcriptase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 83, p. 8333-8337, 1986.

GANESAN, P.; SOUNDARARAJAN, R.; SHANMUGAM, U.; RAMU, V. Development, characterization and solubility enhancement of comparative dissolution study of second generation of solid dispersions and microspheres for poorly water soluble drug. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 5, p. 433-441, 2015.

GAO, X.; CHEN, L.; XIE, J.; YIN, Y.; CHANG, T.; DUAN, Y.; JIANG, N. In vitro controlled release of vitamin C from Ca/Al layered double hydroxide drug delivery system. **Materials Science and Engineering C**, v. 39, p. 56-60, 2014.

GOLDENBERG, L.M.; WAGNER, J.; STUMPE, J.; PAULKE, B.; GORNITZ, E. Ordered Arrays of Large Latex Particles Organized by Vertical Deposition. **Langmuir**, v. 18, n. 8, p. 3319-3323, 2002.

GORDIJO, C.R.; BARBOSA, C.A.S.; FERREIRA, A.M.C.; CONSTANTINO, V.R.L.; SILVA, D.O. Immobilization of Ibuprofen and Copper-Ibuprofen Drugs on Layered Double Hydroxides. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 5, p. 1135-48, 2005.

GU, Z.; THOMAS, A.C.; XU, Z.P.; CAMPBELL, J.H.; LU, G.Q. In vitro sustained release of LMWH from MgAl-layered double hydroxide nanohybrids. **Chemical Materials**, v. 20, p. 3715-3722, 2008.

GUNAWAN, P.; XU, R. Direct Control of Drug Release Behavior from Layered Double Hydroxides through Particle Interactions. **Journal of pharmaceutical Sciences**, v. 97, n.10, p. 4367-78, 2008.

GUPTA, M.K.; VANWERT, A.; BOGNER, R.H. Formation of Physically Stable Amorphous Drugs by Milling with Neusilin. **Journal of pharmaceutical Sciences**, v.92, n.3, p. 536-51, 2003.

HANG, T.T.X.; TRUC, T.A.; DUONG, N.T.; VU, P.G.; HOANG, T. Preparation and characterization of nanocontainers of corrosion inhibitor based on layered double hydroxides. **Applied Clay Science**, v. 67–68, p. 18–25, 2012.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. **Goodman & Gilman As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 11. ed. McGraw Hill, 2006, cap. 51.

IIIK, A.; VUILLERMOZ, C.; COMMEREUC, S.; TAVIOT-GUE'HO, C.; VERNEY, V.; LEROUX, F. Reactive and functionalized LDH fillers for polymer. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 69, p. 1362-1366, 2008.

ISIS INNOVATION LIMITED (Oxford, GB), MICHAEL, O. D. DRUG DELIVERY SYSTEM. US PAT. 8747912 (B2), 28 jan., 2008, 10 jun., 2014.

JADHAV, N.R.; TONE, R.S.; IRNY, P.V.; NADAF, S.J. Development and characterization of gelatin based nanoparticles for targeted delivery of zidovudine. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v.3, n.3, p. 126-30, 2013.

JAGDALE, S.C.; JADHAV, V.N.; CHABUKSWAR, A.R.; KUCHEKAR, B.S. Solubility enhancement, physicochemical characterization and formulation of fast-dissolving tablet of nifedipine-betacyclodextrin complexes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 1, p. 131-145, 2012.

JAIN, N.; PRABHAKAR, S.; SINGH, R.A. Fourier transform infrared spectra and normal mode analysis of drug molecules: zidovudine. **Journal of Molecular Structure**, v. 1036, p. 414–421, 2013.

JHA, D.K. **Contemporary Optics**. 1. ed. Nova Delhi Índia: Discovery Publishing House pvt LTD, 264 p, 2009.

JITIANU, M.; GUNNESS, D.C.; ABOAGYE, D.E.; ZAHARESCU, M.; JITIANU, A. Nanosized Ni–Al layered double hydroxides —Structural characterization. **Materials Research Bulletin**, v. 48, p. 1864–1873, 2013.

KANEZAKI, E. Unexchangeable Interlayer Anions; Synthesis and Characterization of Zn/Al and Mg/Al-Layered Double Hydroxides with Interlayer Alizarin red S. J. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 46, p. 89–95, 2003.

KARAVAS, E.; GEORGARAKIS, E.; SIGALAS, M. P.; AVGOUSTAKIS, K.; BIKIARIS, D. Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug–polymer interactions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, n. 3, p. 334–347, 2007.

KHAN, A. I.; O'HARE, D. J. Intercalation chemistry of layered double hydroxides: recent developments and applications. **Journal of Materials Chemistry**, v. 12, p. 3191–3198, 2002.

KIM, T.; LEE, J.; CHOI, S.; OH, J. Polymer Coated CaAl-Layered Double Hydroxide Nanomaterials for Potential Calcium Supplement. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 12, p. 22563–22579, 2014.

KIM, T.H.; HEO, I.; PAEK, S.M.; PARK, C.B.; CHOI, A.J. Layered metal hydroxides containing calcium and their structural analysis. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 33, p. 1845–1850, 2012.

KOESTER, L.S. **Modulação da liberação de carbamazepina por meio de matrizes poliméricas de hidroxipropilmetilcelulose e β -ciclodextrina**. 2003. 244p. Tese (Doutorado

em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

KURA, A.U.; HUSSEIN-AL-ALI, S.H.; HUSSEIN, M.Z.; FAKURAZI, S. Preparation of Tween 80-Zn/Al-Levodopa-Layered Double Hydroxides Nanocomposite for Drug Delivery System. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-10, 2014.

LANCELLOTTI, F. G.; GAGLIANI, L. H. Avaliação do perfil laboratorial, sócio demográfico e evolução clínico terapêutico dos dez pacientes vivos mais antigos em atendimento no centro de referência de AIDS Santos- SP- Brasil. **Revista UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 2, p. 23-29, 2005.

LAURENT, C.; KOUANFACK, C.; KOULLA-SHIRO, S.; NKOUE, N.; BOURGEOIS, A. CALMY, A.; LACTUOCK, B.; NZEUSSEU, V.; MOUGNUTOU, R.; PEYTAVIN, G.; LIÉGEOIS, F.; NERRIENET, E.; TARDY, M.; PEETERS, M.; ANDRIEUX-MEYER, I.; ZEKENG, L.; KAZATCHKINE, M.; Mpoudi-Ngolé, E.; Delaporte, E. Effectiveness and safety of a generic fixed-dose combination of nevirapine, stavudine, and lamivudine in HIV-1-infected adults in Cameroon: open-label multicentre trial. **The Lancet**, v. 364, p. 29-34, 2005.

LEROUX, F.; BESSE, J.P.; WYPYCH, F.; SATYANARAYANA, K.G. Layered Double Hydroxide/Polymer Nanocomposites. In: WYPYCH, F. **Clay Surfaces: Fundamentals and Applications**. London: Elsevier, 2004. 553p.

LIMA, A. A. N.; SOARES SOBRINHO, J. L.; LYRA, M. A. M.; CORREA JUNIOR, R. A. C.; ROLIM NETO, P. J.; SILVA, J. L.; ROLIM, L. A. The Use Of Solid Dispersion Systems In Hydrophilic Carriers To Increase Benznidazole Solubility. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.100, p.2443 - 2451, 2011.

LIU, S.Q.; LI, S.P.; LI, X.D. Intercalation of methotrexatum in to layered double hydroxides via exfoliation-reassembly process. **Applied Surface Science**, v. 330, p. 253–261, 2015.

LIU, Z.; MA, R.; OSADA, M.; IYI, N.; EBINA, Y.; TAKADA, K.; SASAKI, T.; Synthesis, Anion Exchange, and Delamination of Co–Al Layered Double Hydroxide: Assembly of the

Exfoliated Nanosheet/Polyanion Composite Films and Magneto-Optical Studies. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, p. 4872-4880, 2006.

L'OREAL, KASAI TAKEHIKO. (Chiyoda-Ku, Tokyo). TAKEHIKO, K. Make-up cosmetic composition comprising a layered double hydroxide. JP Pat. WO/2012/081133, 21 jun., 2012, 17 dez., 2010.

MADHAVI, B. B.; KUSUM, B.; CHATANYAL, C. H. K; MADHU, M. N.; HARSHA, V. S.; BANJI, D. Dissolution enhancement of efavirenz by solid dispersion and PEGylation techniques. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 1, n. 1, p. 29-34, 2011.

MAI, Y-W, YU, Z-Z. **Polymer Nanocomposites**. 1.ed. New York: CRC press LLC, 2006. 594p.

MALHERBE, F.; BESSE, J.P. Investigating the Effects of Guest-Host Interactions on the Properties of Anion-Exchanged Mg+Al Hydrotalcites. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 155, p. 332-341, 2000.

MALLICK, S.; PATTNAIK, S.; SWAIN, K.; De, P. K.; SAHA, A.; GUOSHAL, G.; MONDAL, A. Formation of physically stable amorphous phase of ibuprofen by solid state milling with kaolin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, p. 346-351, fev. 2008.

MANDAL, T. K.; TENJARLA, S. Preparation of biodegradable microcapsules of zidovudine using solvent vaporation: Effect of the modification of aqueous phase. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 137, p. 187-197, jun. 1996.

MARIER, J. F.; DIMARCO, M.; GUILBAUD, R.; DODARD, C.; MORELLI, G.; TIPPABHOTLA, S. K.; SINGLA, A. K.; THUDI, N. R.; MONIF, T. Pharmacokinetics of Lamivudine, Zidovudine, and Nevirapine Administered as a Fixed-Dose Combination Formulation Versus Coadministration of the Individual Products. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 47, p. 1381-1389, nov. 2007.

MARINS, J. R. P.; JAMAL, L. F.; CHEN, S. Y.; BARROS, M. B.; HUDES, E. S.; BARBOSA-JR, A.; CHEQUER, P.; TEIXEIRA, P. R.; HEARST, N. Dramaticim provement in survival among adult Brazilian AIDS patients. **AIDS**, [S.l.], v. 17, p. 1675-1682, jul. 2003.

MATIDA, L. H.; RAMOS-JR, A. N.; MARQUES, H. H. S.; DELLA NEGRA, M.; SUCCI, R. C. M.; HEARST, N. Ampliação da sobrevivência de crianças com aids: uma resposta brasileira sustentável. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Boletim Epidemiológico AIDS DST**, Brasília, Ano V, n. 1, 2008.

MAXIMIANO, F. P.; COSTA, G. H. Y.; SOUZA, J.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Caracterização físico-química do fármaco antichagásico benznidazol. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 8, p. 1714-1719, 2010.

MEDEIROS, F. P. M. Potenciais formulações com o benznidazol para o tratamento de crianças com a doença de chagas. 2010. 173 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

MIYATA, S.; The Syntheses Of Hydrotalcite-Like Compounds And Their Structures And physico-Chemical Properties I: The Systems $MgZ^{+}-Al^{3+}-NO_3^{-}$, $MgZ^{+}-Al^{3+}-Cl^{-}$, $Mg^{2+}-Al^{3+}-ClO_4^{-}$, $Ni^{2+}-Al^{3+}-Cl^{-}$ AND $Zn^{2+}-Al^{3+}-Cl^{-}$. **Clays and Clay Minerals**, v. 23, p. 369-375, 1975.

MOHIMA, T.; DEWAN, I.; ISLAM, S. M. A.; RANA, S.; HOSSAIN, A. Encapsulation of zidovudine in different cellulosic acrylic and methacrylic polymers loaded microspheres: *in vitro* characterization and compatibility studies. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 7, n. 1, p. 487-495, 2015.

MOHSIN, S. M. N.; HUSSEIN, M. Z.; SARIJO, S. H.; FAKURAZI, S.; ARULSELVANAND, P.; HIN, T. Synthesis of (cinnamate-zinc layered hydroxide) intercalation compound for sunscreen application. **Chem. Cent. J.**, v.7, n. 26, p. 1-12, 2013.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, p. 55-63, dez. 1983.

NASCIMENTO, J. E.; MAGALHÃES, N. S. S.; RIBEIRO R. M.; PONTES, A.; ALVES, A. J. Avaliação farmacocinética de comprimidos contendo lamivudina e zidovudina em plasma humano. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n.1, p. 59-66, 2004.

ÖZGÜMÜS, S.; GÖK, M. K.; BAL, A.; GÜÇLÜ, G. Study on novel exfoliated polyampholyte nanocomposite hydrogels based on acrylic monomers and Mg–Al–Cl layered double hydroxide: synthesis and characterization. **Chemical Engineering Journal**, v. 223, p. 277–286, 2013.

PALMER, S.J.; FROST, R.L.; NGUYEN, T. Hydrotalcites and their role in coordination of anions in Bayer liquors: Anion binding in layered double hydroxides. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 250-267, 2009.

PANDA S.; PATTNAIK, S.; MAHARANA, L.; BOTTA, G.B.; MAHAPATRA, A.K. Design and evaluation of zidovudine loaded natural biodegradable microcapsules employing colophony resin as microencapsulating agent. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 5, n. 3, p. 799-805, 2013.

PATEL, R. P.; PATEL, D. J.; BHIMANI, D. B.; PATEL, J. K. Physicochemical Characterization and Dissolution Study of Solid Dispersions of Furosemide with Polyethylene Glycol 6000 and Polyvinylpyrrolidone K-30. **Dissolution Technologies**, p. 17-25, 2008.

PEÇANHA, E. P.; ANTUNES, O. A. C.; TANURI, A. Estratégias Farmacológicas para a Terapia Anti-AIDS. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p.1108-1116, 2002.

PERIOLI, L.; AMBROGI, V.; DI NAUTA, L.; NOCCHETTI, M.; ROSSI, C. Effects of hydrotalcite-like nanostructured compounds on biopharmaceutical properties and release of BCS class II drugs: The case of flurbiprofen. **Appl. Clay Sci.**, v 51, p. 407–413, mar. 2011.

PESSANHA, A. F. V., ROLIM L. A., PEIXOTO M. S., SILVA R. M. F., ROLIM-NETO, P. J. Influence of functional excipients on the performance of drugs in dosage forms, **Rev. Bras. Farm.**, v. 93, p. 136-145, 2012.

PETERSON, C. L.; PERRY, D. L.; MASOOD, H.; LIN, H.; WHITE, J. L.; HEM, S. Characterization of antacid compounds containing both aluminum and magnesium. I. Crystalline powders. **Pharmaceutical Research**, v. 10, p. 998, 1993.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n.4, p. 491-502, 2007.

PSHINKO, G. N. Layered Double Hydroxides as Effective Adsorbents for U (VI) and Toxic Heavy Metals Removal from Aqueous Media. **J. Chem.**, v. 2013, p. 1- 9, Article ID 347178, 2013.

RAKI, L.; BEAUDOIN, J. J.; MITCHELL, L. Layered double hydroxide-like materials: nanocomposites for use in concrete. **Cement and Concrete Research**, v. 34, p. 1717–1724, 2004.

RAMA, A. C. R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I. V.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 1, p. 59-68, 2006.

RATHBONE, M. J.; HADGRAFT, J.; ROBERTS, M. S. Drugs and the pharmaceutical sciences. **Modified-Release Drug Delivery Technology**, v. 126, p. 135-134, 2003.

REN, L.; HE, J.; ZHANG, S.; EVANS, D. J.; DUAN, X. Immobilization of penicillin G acylase in layered double hydroxides pillared by glutamate ions. **J. Mol. Catal. B-Enzym.**, v. 18, p. 3–11, 2002.

RIBEIRO, I.; SEVCSIK, A.; ALVES, F.; DIAP, G.; DON, R.; HARHAY, M.O.; CHANG, S.; PECOUL, B. New, Improved Treatments for Chagas Disease: From the R&D Pipeline to the Patients. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 7, p. 1-6, jul. 2009.

RIVES, R., DEL ARCO, M., MARTÍN, C. Intercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review. **App. Clay Sci.**, v. 88-89, p. 239-269, doi:10.1016/j.clay.2013.12.002.

SABER, O.; HATANO, B.; TAGAYA, H. Preparation of New Layered Double Hydroxide, Co-Ti LDH. **J. Inclusion. Phenom. Macro. Chemistry**, v. 51, p. 17–25, fev. 2005.

SAH, M. L.; JUYAL, V. Programmed delivery of verapamil hydrochloride from tablet in a capsule device. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 48, n. 2, p. 237-241, 2012.

SAHBAZ, Y.; WILLIAMS, H. D.; NGUYEN, T.; SAUNDERS, T.; FORD, L.; CHARMAN, S. A.; SCAMMELLS, P. J.; PORTER, C. J. H. Transformation of Poorly Water-Soluble Drugs into Lipophilic Ionic Liquids Enhances Oral Drug Exposure from Lipid Based Formulations. **Mol. Pharm.**, v. 12, n. 6, p. 1980-1991, 2015.

SALTÃO, R.; VEIGA, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.37, n. 1, p.1-17, 2001.

SANTOS, F. L. A.; ROLIM, L. A.; FIGUEIRÊDO, C. B. M.; LYRA, M. A. M.; PEIXOTO, M. S.; FERRAZ, L. R. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; LIMA, A. A.; LEITE, C. L.; ROLIM NETO, P. J. A study of photostability and compatibility of the anti-chagas drug Benznidazole with pharmaceutics excipientes. **Drug Dev Ind Pharm.**, v. 41, n. 1, p. 63-69, 2015.

SANTOS, J.V.; BATISTA DE CARVALHO, L.A.E.; PINA, M.E.T. The influence of the compression force on zidovudine release from matrix tablets. **Aaps Pharmscitech**, v. 11, n. 3, p. 1442-1448, 2010.

SANTOS, S.S.; CORRÊA, J.A.M. Síntese de hidróxidos duplos lamelares do sistema Cu, Zn, Al-CO₃: propriedades morfológicas, estruturais e comportamento térmico. **Cerâmica**, v. 57, p. 274-280, 2011.

SATHIGARI, S.; CHADHA, G.; LEE, Y-H. P.; WRIGHT, N.; PARSONS, D. L.; RANGARI, V. K.; FASINA, O; BAB, R. J. Physicochemical Characterization of Efavirenz–Cyclodextrin Inclusion Complexes. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 1, p. 81-87, 2009.

SHAFIEI, S. S.; SOLATI-HASHJIN, M.; RAHIM-ZADEH, H.; SAMADIKUCHAKSARAEI, A. Synthesis and characterisation of nanocrystalline Ca–Al layered double hydroxide $\{[Ca_2Al(OH)_6]NO_3.nH_2O\}$: in vitro study. **Advances in Applied Ceramics**, v. 112, n. 1, p. 59-65, 2013.

SILVA, K. E. R.; ALVES, L. D. S.; SOARES, M. F. R.; PASSOS, R. C. S.; FARIA, A. R.; ROLIM NETO, P. J. Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 30, n. 2, p. 129-135, 2009.

SOARES-SOBRINHO, J. L.; FONTES, D.A.F.; LYRA, M. A. M.; SOARES, M. F. R, ROLIM-NETO, P. J. Doença de Chagas: 100 anos de descoberta. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 4, p. 283-289, 2009.

SOARES-SOBRINHO, J. L.; LYRA, M. A. M.; ALVES, L. D. S.; ROLIM-NETO, P. J. Caracterização físico-química do tripanomicida benznidazol para o desenvolvimento de medicamentos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 5, p. 803-7, 2010.

SOARES-SOBRINHO, J. L.; SANTOS, F. L. A.; LYRA, M. A. M.; ALVES, L. D. S.; ROLIM, L. A.; LIMA, A. A. N.; NUNES, L. C. C.; SOARES, M. F. R.; ROLIM-NETO, P. J.; TORRES-LABANDEIRA, J. J. Benznidazole drug delivery by binary and multicomponent inclusion complexes using cyclodextrins and polymers. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 323-330, 2012.

STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e absorção de fármacos. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, São Paulo, v. 35, n. 1 p. 1-15, 1999.

SUAREZ, J. J. B.; MOZO, E. A. P.; OYAMA, S. T. Review of the synthesis of layered double hydroxides: a thermodynamic approach. **Quím. Nova**, v. 27, n. 4, p. 601-614, 2004.

SUAREZ, J. J. B.; MOZO, E. A. P.; OYAMA, S. T. Review of the synthesis of layered double hydroxides: a thermodynamic approach. **Química Nova**, v.27, n.4, p. 601-614, 2004.

SUN, D. D.; JU, T. R.; LEE, P. I. Enhanced Kinetic Solubility profiles of indomethacin amorphous solid dispersions. In poly (2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, p. 149-158, 2012.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Probing the mechanisms of drug release from amorphous solid dispersions in medium-soluble and medium-insoluble carriers. **Journal of Controlled Release**, v. 211, p.85–93, 2015.

SUN, Y.; ZHOU, Y.; YE, X.; CHEM, J.; WANG, Z. Fabrication and infrared emissivity study of hybrid materials based on immobilization of collagen on to exfoliated LDH. **Mater. Lett.**, v. 62, p. 2943-2946, 2008.

TAKAHASHI, T.; YAMAGUCHI, M. Host-Guest Interaction swelling clay minerals and poorly water-soluble drugs. 1: Complex formation between a swelling clay mineral and griseofulvin. **Journal of Inclusion Phenomena and Molecular recognition in Chemistry**, v. 10, p. 283-297, 1991.

TONGLAIROUM, P.; NGAWHIRUNPAT, T.; ROJANARATA, T.; OPANASOPIT, P. Lysozyme-immobilized electrospun PAMA/PVA and PSSA-MA/PVA ion-exchange nanofiber for woundhealing. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 20, n. 8, p. 1-8, 2015.

TRONTO, J.; BORDONAL, A.N.; NAAL, Z.; VALIM, J.B. Polymers/Layered Double Hydroxides Intercalated Nanocomposites. In MAISTAI, Y. (Materials Science: Advanced Topics). Ed. InTech, 2013. cap. 1, p. 6.

UNIAIDS. **Informações básicas sobre HIV e AIDS**. Disponível em: <<http://unaid.org.br/informacoes-basicas/>>. Acesso em: 25 fev. 2016.

VARGA, G.; KUKOVECZ, A.; KÓNYA, Z.; KORECZ, L.; MURÁTH, S.; CSENDES, Z.; PEINTLER, G.; CARLSON, S.; SIPOS, P.; PÁLINKÓ, I. Mn(II)–amino acid complexes intercalated in CaAl-layered double hydroxide – Well-characterized, highly efficient, recyclable oxidation catalysts. **Journal of Catalysis**, v. 335 p. 125–134, 2016.

VERWEIJ-VAN WISSEN, C.P.W.G.M.; AARNOUTSE, R.E.; BURGER, D.M. Simultaneous determination of the HIV nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors lamivudine, didanosine, stavudine, zidovudine and abacavir in human plasma by reversed phase high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 816, p. 121-129, 2005.

VIEIRA, A. C. C.; FONTES, D. A. F.; CHAVES, L. L.; ALVES, L. D. S.; FREITAS-NETO, J. L.; SOARES, M. F. R.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; ROLIM, L. A.; ROLIM-NETO, P. J. Multicomponent systems with cyclodextrins and hydrophilic polymers for the delivery of Efavirenz, **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 133–140, 2015.

WALKER, R. E.; PARKER, R. I.; KOVACS, J. A.; MASUR, H.; LANE, H.C.; CARLETON, S.; KIRK, L.E.; GRALNICK, H.R.; FAUCI, A.S. Anemia and erythropoiesis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and Kaposi sarcoma treated with zidovudine. **Ann. Intern. Med.**, v. 108, n. 3, p. 72-376, 1988.

WANG, Q.; WU, Z.; TAY, H.; CHEN, L.; LIU, Y.; CHANG, J.; ZHONG, Z.; LUO, J.; BORGNA, A. High temperature adsorption of CO₂ on Mg–Al hydrotalcite: Effect of the charge compensating anions and the synthesis pH. **Catalysis Today**, v. 164, p.198–203, 2011.

WEI, M.; SHI, S.; WANG, J.; LI, Y.; DUAN, X. Studies on the intercalation of naproxen into layered double hydroxide and its thermal decomposition by in situ FT-IR and in situ HT-XRD. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 177, p. 2534–2541, 2004.

WEI, M.; XU, X.; WANG, X.; LI, F.; ZHANG, H.; LU, Y.; PU, M.; EVANS, D. G.; DUAN, X. Study on the Photochromism of Ni–Al Layered Double Hydroxides Containing Nitrate Anions. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 14, p. 2831-2838, 2006.

WHO. World Health Organization. **Chagas disease (American tripanosomiasis)**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acesso em: 25 fev. 2016.

WLODARSKI, K., SAWICKI, W., KOZYRA, A., TAJBER, L.: Physical stability of solid dispersions with respect to thermodynamic solubility of tadalafil in PVP-VA. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 96, p. 237–246, 2015.

WYPYCH, F.; ARÍZAGA G. G. C.; SATYANARAYANA, K. G.; Synthetic layered materials/polymer nanocomposites. **Polym. Nanocomposite Res. Advances**, v. 1, p. 94-143, 2008.

WYPYCH, F.; ARIZAGA, G. G. C. Intercalation and functionalization of brucite with carboxylic acids. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 24-29, 2005.

XU, S.; ZHANG, B.; CHEN, Z.; YU, J.; EVANS, D. G.; ZHANG, F. A General and Scalable Formulation of Pure CaAl-Layered Double Hydroxide via an Organic/Water Solution Route. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 50, p. 6567-6572, 2011.

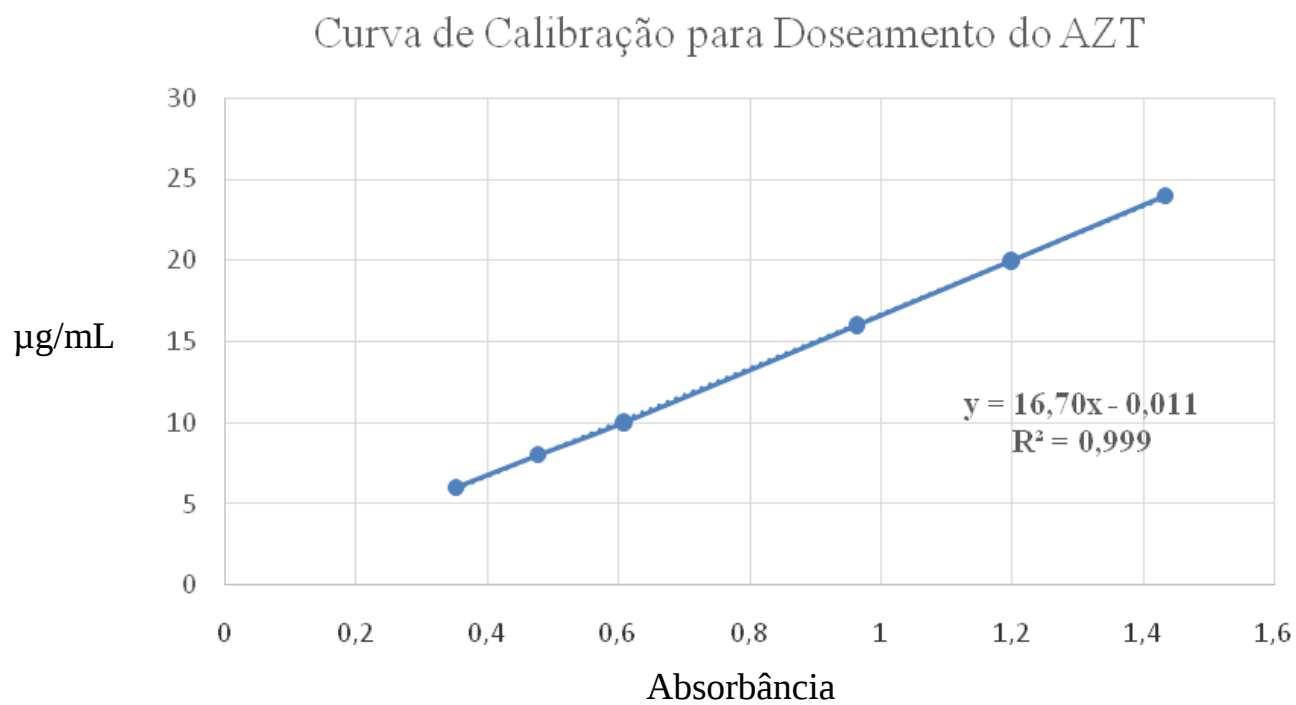
YANG, J. H.; LEE, S. Y.; HAN, Y. S.; PARK, K. C.; CHOY, J. H. Efficient Transdermal Penetration and Improved Stability of L-Ascorbic Acid Encapsulated in an Inorganic Nanocapsule. **Bull. Korean Chem. Soc.**, v. 24, n. 4, p. 499 - 503, 2003.

ZHANG, P.; QIAN, G.; XU, Z. P; SHI, H.; RUAN, X.; YANG, J.; FROST, R.L. Effective adsorption of sodium dodecylsulfate (SDS) by hydrocalumite (CaAl-LDH-Cl) induced by self-dissolution and re-precipitation mechanism. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 367, p. 264–271, 2012.

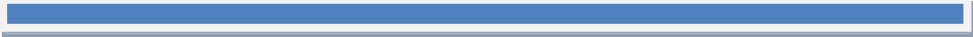
ZHAO, K.; RONG, G.; GUO, C.; LUO, X.; KANG, K.; SUN, Y.; DAI, C.; WANG, X.; WANG, X.; JIN, Z.; CUI, S.; SUN, Q. Synthesis, characterization, and immune efficacy of layered double hydroxide@SiO₂ nanoparticles with shell-core structure as a delivery carrier for Newcastle disease virus DNA vaccine. **Int. J. Nanomedicine**, v. 10, p. 2895–2911, 2015.

ZHU, J.; YUAN, P.; HE, H.; FROST, R.; TAO, Q.; SHEN, W.; BOSTROM, T. In situ synthesis of surfactant/silane-modified hydrotalcites. **J. ColloidInterf. Sci.**, v. 319, p. 498-504, 2008.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Curva de calibração para determinação do teor de AZT

ANEXOS



ANEXOS

ANEXO 1- Resumo apresentado no 3º Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica, Jaboatão dos Guararapes/PE.



CERTIFICADO

Certificamos que M.L.C.M. GONÇALVES; D.A.F. FONTES; I.M.F. OLIVEIRA; J.L.SOARES-SOBRINHO; L.A. ROLIM; M.A.M. LYRA; L.L.LUZ; A.S. BARRETO; S. ALVES-JUNIOR; P. J. ROLIM-NETO apresentaram um trabalho intitulado SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR A BASE DE CÁLCIO E ALUMÍNIO PARA OBTENÇÃO DE EXCIPIENTE FUNCIONAL na modalidade pôster.

Jaboatão dos Guararapes, 25 de Outubro de 2013


César Augusto Souza de Andrade
Presidente do 3º EBIT


Ivan da Rocha Pitta
Coordenador da Rede RISH

ANEXO 2 – Resumo apresentado oralmente no XIII Encontro da SBPMat, João Pessoa/PB.



ANEXO 3 – Resumo apresentado no II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas, Teresina/PI.



Certificado

II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas

II Seminário Ibero-Americano de P & D de Medicamentos



Certificamos que **VIEIRA, A. C. Q. M.; PONTES-NETO, J. G.; GONÇALVES, M. L. C. M.; FONTES, D. A. F.; LYRA, M. A. M.; ROLIM-NETO, P. J.; SOARES-SOBRINHO, J. L.** apresentaram o trabalho **"OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS BINÁRIOS DE OLANZAPINA COM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES COMO ALTERNATIVA TECNOLÓGICA NO INCREMENTO DE SOLUBILIDADE"** na sessão painel durante o II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas / II Seminário Ibero-Americano de P & D de Medicamentos / I Simpósio Internacional de Farmácia Clínica, realizado no período de 9 a 11 de abril de 2015, no Blue Tree Towers Rio Poty na cidade de Teresina, Piauí, Brasil.



Prof. Dr. Rivellison Mendes de Freitas
Coordenador Geral



Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes
Sub-coordenador Geral



Prof. Dra. Hiliris Rocha e Silva
Coordenadora Comissão Científica

Teresina, Piauí, 11 de abril de 2015.



Patrocinadores:



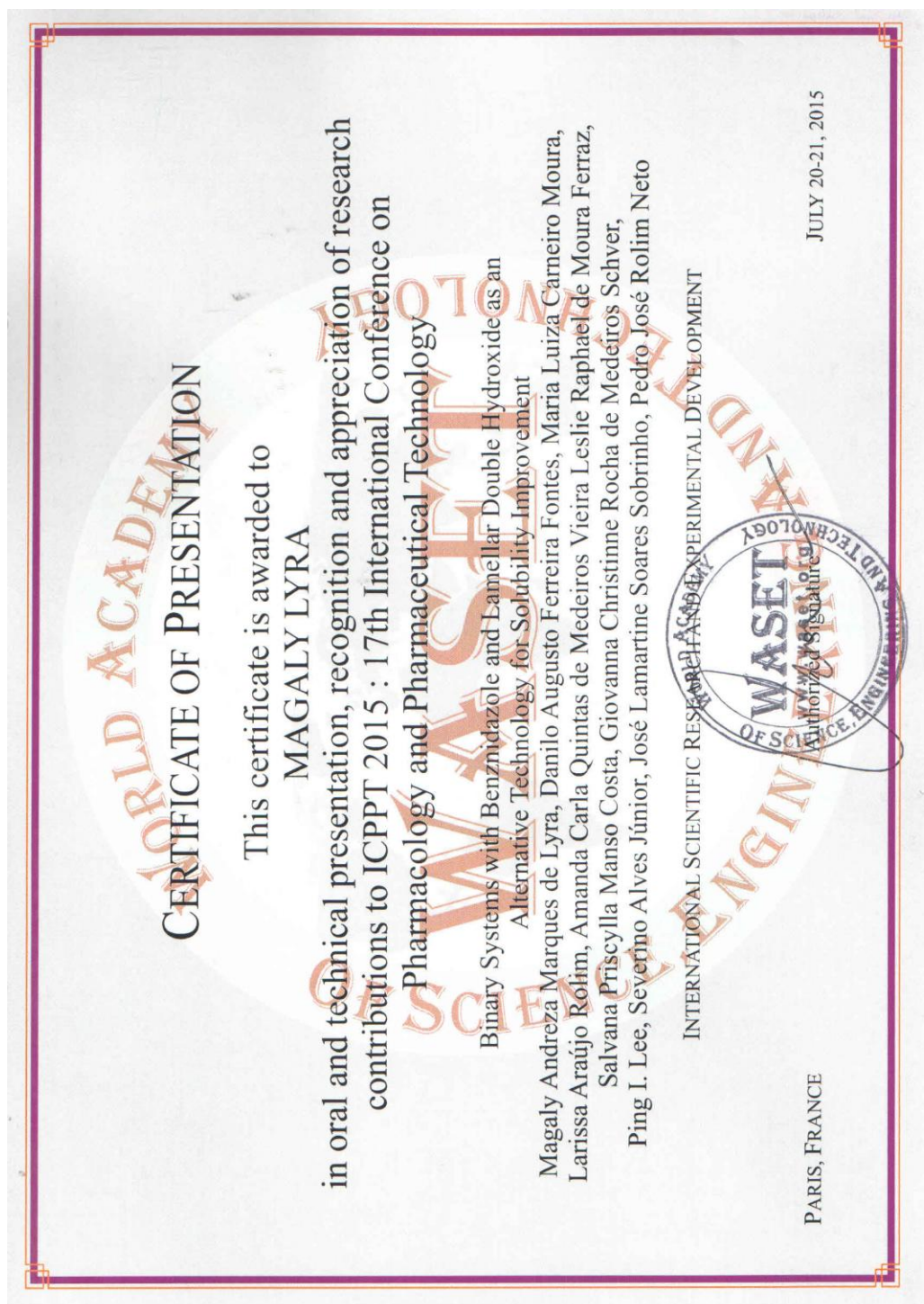
Apoio Institucional:



Co-organizadores:



ANEXO 5 – Resumo apresentado oralmente no 17th International Conference on Pharmacology and Pharmaceltical Technology, Paris.



ANEXO 6 – Participação na 1ª Reunião sobre Argilas Aplicadas,
Natal/RN.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE-UFRN
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA-CCET
INSTITUTO DE QUÍMICA-IQ

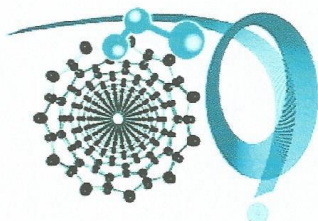
CERTIFICADO

Certificamos que **DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES** teve frequência integral na **1ª Reunião sobre Argilas Aplicadas - 1RAA**, realizada no período de 15/04/2015 até 17/04/2015.

Prof. Ana Paula de Melo Alves | Prof. Sibeles
Berenice Castellã Pergher
Organizadore(s)

Ótom Anselmo de Oliveira
Diretor(a) do Instituto

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <http://www.quimica.ufrn.br/>
código de verificação: 157V8s
código de inscrição: 215128
Data emissão: 14/05/2015



2015

ANEXO 7- Patente depositada no INPI intitulada “Sistemas binários de Benznidazol com Hidróxidos Duplos Lamelares destinado à formulação de medicamentos”.

< Uso exclusivo do INPI >



14/08/2015 01915000170
15-10 REPE



BR 10 2015 019602 4

Espaço reservado para o protocolo

Espaço reservado para a etiqueta Espaço reservado para o código QR



INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

Sistema de Gestão da Qualidade

Diretoria de Patentes

DIRPA	Tipo de Documento: Formulário	DIRPA	Página: 1/3
Depósito de Pedido de Patente		Código: FQ001	Versão: 2
		Procedimento: DIRPA-PQ006	

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:
O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas:

1. **Depositante (71):**
 - 1.1 Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
 - 1.2 Qualificação: IFES - INSTITUIÇÃO FEDERAL DE ENSINO SUPERIOR – AUTARQUIA FEDERAL
 - 1.3 CNPJ/CPF: 24134488/0001-08
 - 1.4 Endereço Completo: AV. PROF. MORAES REGO, 1235 – CIDADE UNIVERSITÁRIA – RECIFE – PE
 - 1.5 CEP: 50670-901
 - 1.6 Telefone: 81-2126-8958 1.7 Fax: 81-2126-8959
 - 1.8 E-mail: patentes_dine.propesq@ufpe.br

☒ continua em folha anexa

2. **Natureza:** ☒ Invenção ☐ Modelo de Utilidade ☐ Certificado de Adição

3. **Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):**
"SISTEMAS BINÁRIOS DE BENZNIDAZOL COM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES DESTINADO A FORMULAÇÃO DE MEDICAMENTOS"

☐ continua em folha anexa

4. **Pedido de Divisão: do pedido N°** XXXXXXXXXXXXXXXX **Data de Depósito:** XXXXXXXXXXXXXXXX

5. **Prioridade:** ☐ Interna (66) ☐ Unionista (30)

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

Pais ou Organização do depósito	Número do depósito (se disponível)	Data de depósito
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX

☐ continua em folha anexa

ANEXO 8- Patente depositada no INPI intitulada “Apliação de Hidróxidos Duplos Lamelares como excipiente funcional na obtenção de sistemas binários com Efavirenz para medicamento antiretroviral”.

< Uso exclusivo do INPI >



INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
PROTOCOLO GERAL
14/08/2015 019150000169
15:07 REPE

BR 10 2015 019601 6

Espaço reservado para o protocolo

Espaço reservado para a etiqueta

Espaço reservado para o código QR



INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Sistema de Gestão da Qualidade
Diretoria de Patentes

DIRPA	Tipo de Documento: Formulário	DIRPA Código: FQ001 Procedimento: DIRPA-PQ006	Página: 1/3 Versão: 2
Título do Documento: Depósito de Pedido de Patente			

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:
O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas:

1. **Depositante (71):**
 - 1.1 Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
 - 1.2 Qualificação: IFES - INSTITUIÇÃO FEDERAL DE ENSINO SUPERIOR – AUTARQUIA FEDERAL
 - 1.3 CNPJ/CPF: 24134488/0001-08
 - 1.4 Endereço Completo: AV. PROF. MORAES REGO, 1235 – CIDADE UNIVERSITÁRIA – RECIFE – PE
 - 1.5 CEP: 50670-901
 - 1.6 Telefone: 81-2126-8958
 - 1.7 Fax: 81-2126-8959
 - 1.8 E-mail: patentes_dine.propesq@ufpe.br

☒ continua em folha anexa

2. **Natureza:**

☒ Invenção

☐ Modelo de Utilidade

☐ Certificado de Adição

3. **Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):**
 “APLICAÇÃO DE HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES COMO EXCIPIENTE FUNCIONAL NA OBTENÇÃO DE SISTEMAS BINÁRIOS COM O EFAVIRENZ PARA MEDICAMENTO ANTIRETROVIRAL”

☐ continua em folha anexa

4. **Pedido de Divisão: do pedido Nº** XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX **Data de Depósito:** XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

5. **Prioridade:**

☐ Interna (66)

☐ Unionista (30)

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

País ou Organização do depósito	Número do depósito (se disponível)	Data de depósito
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX

☐ continua em folha anexa

ANEXO 9- Submissão da revisão da literatura para o Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES

RECEIPT

Register number: 191/15

The Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences received the article's submission:

Autoria: Danilo Augusto Ferreira Fontes, Maria Luiza Carneiro Moura Gonçalves, Magaly Andreza Marques de Lyra, Isabella Macedo de Oliveira, Cindy Siqueira Britto Aguilera, Larissa Araújo Rolim, Rosali Maria Ferreira da Silva, José Lamartine Soares-Sobrinho, Severino Alves Junior, Pedro José Rolim-Neto

Título: Layered double hydroxides: nanostructured compounds for applications in pharmaceutical field

São Paulo, 3rd October 2015.

Prof. Elizabeth Igne Ferreira
Scientific Editor

ANEXO 10 – Submissão do artigo oriundo do capítulo II para a revista Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry

Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry
CaAl-Layered Double Hydroxide as a drug delivery system: effects on solubility and toxicity of the antiretroviral Efavirenz
 –Manuscript Draft–

Manuscript Number:	JIPH-D-16-00016
Full Title:	CaAl-Layered Double Hydroxide as a drug delivery system: effects on solubility and toxicity of the antiretroviral Efavirenz
Article Type:	Original Research Article
Keywords:	Layered double hydroxide; Efavirenz; Improvement of Solubility; Toxicity.
Corresponding Author:	PEDRO JOSÉ ROLIM NETO, Ph.D. UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE RECIFE, PERNAMBUCO BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES, MSc
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES, MSc MAGALY ANDREZA MARQUES LYRA, PhD JEYCE KELLE FERREIRA ANDRADE, MSc TERESINHA GONÇALVES SILVA, PhD LARISSA ARAÚJO ROLIM, PhD JOSÉ LAMARTINE SOARES-SOBRINHO, PhD SEVERINO ALVES-JÚNIOR, PhD PEDRO JOSÉ ROLIM NETO, Ph.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	The use of layered double hydroxides associated with biologically active molecules is becoming a promising alternative in the development of drug delivery systems that may be applied to drug therapies for different diseases. Efavirenz is an antiretroviral belonging to class II of the biopharmaceutical classification system (low solubility, high permeability). Due to its low aqueous solubility, absorption problems occur in the gastrointestinal tract and, consequently, inadequate oral bioavailability. In this paper, the association between efavirenz and CaAl-Layered double hydroxide was obtained by stirring in an acetonic solution until complete evaporation of the solvent. The hybrid material obtained was characterized by x-ray diffraction, differential scanning calorimetry and fourier transform infrared spectroscopy. It was observed that in systems containing up to 30% of efavirenz, the drug became a molecule with amorphous characteristics and lost its crystalline character. This phenomenon can be demonstrated by the absence of the drug in crystalline plane diffractograms, as well as the absence of its melting point in thermal analysis. In the release test, these systems have been successful in increasing solubility. The system carrier-drug with 30% of efavirenz was more promising with an increase of 668% of soluble drug, compared to the drug alone. In antiproliferative activity on human macrophage cell lines, it was observed that the isolate efavirenz presented an IC50 value of 16.71 mg.ml ⁻¹ , while the system carrier-drug with 30% of efavirenz showed an IC50 value of 20.83 µg.ml ⁻¹ , demonstrating that efavirenz in association with a CaAl-NO3-Layered double hydroxide

ANEXO 11- Certificado de análise de matéria prima EFZ

CRISTALIA PRODS. QUÍM. FARMACEUT. LTDA.
 ROD. ITAPIRA-LINDOIA S/N - KM 14 Itapira-SP

**CÓPIA NÃO CONTROLADA
 (INFORMATIVA)**

CERTIFICADO DE ANALISE

N.: 423.681		DCB: 03.308
PRODUTO: EFAVIRENZ MICRONIZADO		
Codigo: 18.0396	Nro. RDP: 0	Lote: 0378/11
VALIDO ATE: 07/2013 06/2013		Data Fabr: 07/2011 07/2011
TESTES	ESPECIFICACOES	RESULTADOS
DESCRIÇÃO	PO CRISTALINO BRANCO, QUASE BRANCO OU LEVEMENTE ROSADO (INTERNA)	CONFORME
ABSORÇÃO	CONFORME PADRAO (INTERNA)	CONFORME
INFRAVERMELHO	TEMPO DE RETENÇÃO CONCORDANTE COM O PADRAO (INTERNA)	CONFORME
HPLC	CONFORME PADRAO (INTERNA)	CONFORME
DSC	NAO MAIS QUE 0,2% (INTERNA)	0,1 %
RESIDUO APOS IGNIÇÃO	NAO MAIS QUE 20 ppm (INTERNA)	< 20 ppm
METAIS PESADOS	NAO MAIS QUE 3880 ppm (INTERNA)	8 ppm
CICLOHEXANO	NAO MAIS QUE 5000 ppm (INTERNA)	0 ppm
ETBE	NAO MAIS QUE 5000 ppm (INTERNA)	0 ppm
ISOPROPANOL	NAO MAIS QUE 1,0% (INTERNA)	0,1 %
TEOR DE AGUA (KF)	NAO MENOS QUE 99,0% ee (INTERNA)	100,0 %
EXCESSO ENANTIOMERICO (HPLC)	NAO MAIS QUE 0,1% (INTERNA)	0,1 %
IMPUREZA INDIVIDUAL	NAO MAIS QUE 0,65% (INTERNA)	0,13 %
IMPUREZA TOTAL	98,0% A 102,0% (INTERNA)	99,7 %
TEOR (BA/ HPLC)	d 0,9 inferior a 20 µm d 0,5 inferior a 6 µm (INTERNA)	79% < 6 MICRAS 100% < 20 MICRAS

APROVADO [X]

REPROVADO []

OBSERVACOES:

Data: 27/07/2011

plmiana 27/07/11
 Supervisor C.Q.

APBertelle 27/07/11
 Garantia Qualidade
Ana Paula Bertelle
 Coordenadora Garantia Qualidade
 Divisão Farmoquímica

IMPUREZA
 INDIVIDUAL
 IMPUREZA TOTAL

ANEXO 12- Certificado de análise de matéria prima BNZ



Diretoria Técnica
Coordenadoria do Controle de Qualidade
Divisão de Físico-Química



Governo de Pernambuco

CERTIFICADO DE ANÁLISE		Nº 0000124	DATA	25.09.2012
MATÉRIA PRIMA	BENZNIDAZOL		CÓDIGO:	02.254
Nº/DANFE:	000006686	QUANTIDADE:	50,000Kg	VOLUMES:
Data Fabricação:	31.08.2012	Data Validade:	31.08.2014	02 Barricas
FORNECEDOR:	NORTEC QUÍMICA	LOTE LAFEPE:	17081	LOTE FABRICANTE:
				208336
DETERMINAÇÕES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS		
Caracteres	Pó cristalino, levemente amarelado, inodoro, insípido e estável ao ar.	Pó cristalino, levemente amarelado, inodoro, insípido e estável ao ar.		
Solubilidade	Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em dimetilformamida, muito solúvel em dimetilsulfóxido, ligeiramente solúvel em etanol, metanol, acetato de etila e diclorometano, pouco solúvel em acetona, muito pouco solúvel em clorofórmio, isopropanol glicerina, NaOH 0,1M, HCl 0,1M.	Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em dimetilformamida, muito solúvel em dimetilsulfóxido, ligeiramente solúvel em etanol, metanol, acetato de etila e diclorometano, pouco solúvel em acetona, muito pouco solúvel em clorofórmio, isopropanol, glicerina NaOH 0,1M, HCl 0,1M.		
Identificação	Infra-vermelho	O espectro de absorção no infra-vermelho apresenta as mesmas bandas de absorção e mesma intensidade que o padrão.		
pH	5,0 a 7,0	5,50		
Ponto de Fusão	Entre 189°C a 192°C	190,2°C		
Perda por Dessecação	No máximo 0,5%	0,40%		
Cloreto	Passa o Teste	Atende as especificações		
Teor	Entre 99 a 101%	100,98%		
Substâncias Relacionadas	2-aminoimidazol sulfato Máx. 0,1% 2-nitroimidazol Máx. 0,1% Impurezas desconhecidas Máx. 0,1%	< 0,1% < 0,1% < 0,1 %		
Contagem Microbiológica	No máximo 10 ⁴ UFC/g	Menor que 10 UFC/g		
Contagem de Fungos e Leveduras	No máximo 10 ² UFC/g	Menor que 10 UFC/g		
Patógenos	Ausência	Ausência		
OBSERVAÇÕES				
Conservar em recipiente bem fechado				
CONCLUSÃO				
APROVADO	X	REPROVADO		
Analista da microbiologia		Chefe da Microbiologia		
Analista da Físico Química		Chefe da Divisão		
		Coordenador		

F. Bras. 5ª ed., p.132 e 242
Stabilitata Report Studien Nº 07ST96002651 - Roche Farmacêutica®
Relatório de Validação nº 117 - REV A

Largo de Dois Irmãos, 1117, Dois Irmãos Recife-PE - CEP: 52.171-011 Fone: (081) 3183-1100 FAX: 3183-3375
sac.lafepe.pe.gov.br / http://www.lafepe.pe.gov.br

ANEXO 13- Certificado de análise de matéria prima AZT



Diretoria Técnica
Controle de Qualidade
Divisão de Físico-Química



Governo de Pernambuco

CERTIFICADO DE ANÁLISE		Nº 00000007	DATA	04.11.2014
MATÉRIA PRIMA	Zidovudina		CÓDIGO:	02.143
Nº/DANFE:	000.000.642	QUANTIDADE:	200,000Kg	VOLUMES:
Data de Fabricação:	05.07.2014	Data de Validade:	04.01.2016	
FORNECEDOR:	BR-MAC COMERCIAL	LOTE: LAFEPE:	17554	LOTE: FABRICANTE:
				AT00N1407001
DETERMINAÇÕES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS		
Caracteres	Pó cristalino branco a branco amarelado	Atende as especificações		
Identificação	RAMAN.	Atende as especificações		
Solubilidade	Solúvel em água e etanol e metanol.	Atende as especificações		
Ponto de Fusão	Funde aproximadamente 124°C	122,81°C		
Poder Rotatório	+ 60,5° a + 63,0°	+ 60,5°		
Aparência da Solução	≤ By5	Atende as especificações		
Metais Pesados	No máximo 20ppm	Atende as especificações		
Substâncias Relacionadas	<u>Impurezas:</u> - Composto B (3'-cloro-3' deoxitimidina): ≤ 1% - Composto C (Timina): ≤ 2% - Totais: ≤ 3%	- Composto B: Não detectado - Composto C: 0,012% - Totais: 0,070%		
Perda por Dessecação	No máximo 1%	0,0001%		
Teor	Entre 97% a 102%	99,73%		
OBSERVAÇÕES				
Conservar em recipientes bem fechados e protegido da luz.				
CONCLUSÃO				
APROVADO	X	REPROVADO		
Analista da Físico Química	Chefe da Divisão	Coordenador		

Referência: B. P. 2005, p. 2095; F. Bras. 5ª ed., p. 801; USP 30, P. 3489