



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

CINDY SIQUEIRA BRITTO AGUILERA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO PROLONGADA DO
ANTIRRETROVIRAL ZIDOVUDINA A PARTIR DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR**

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE, 2016.

CINDY SIQUEIRA BRITTO AGUILERA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO PROLONGADA DO
ANTIRRETROVIRAL ZIDOVUDINA A PARTIR DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR**

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

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE, 2016.

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

A283d Aguilera, Cindy Siqueira Britto.
Desenvolvimento de sistema de liberação prolongada do antirretroviral zidovudina a partir de hidróxido duplo lamelar / Cindy Siqueira Britto Aguilera. – 2016.
87 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Pedro José Rolim Neto.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2016.
Inclui referências.

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

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2016-249)

CINDY SIQUEIRA BRITTO AGUILERA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO PROLONGADA DO
ANTIRRETROVIRAL ZIDOVUDINA A PARTIR DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR**

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

Aprovada em: 29/07/2016

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. Salvana Priscylla Manso Costa (Avaliadora externa)
UNINASSAU/Recife

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

Prof. 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 a vida, e ainda em sua infinita bondade, abençoando-me sempre.

Aos meus pais, Cássia e Omar, por lutarem sempre por minha educação e juntamente com Juju e Nati, me ensinarem o que é o amor.

Ao meu noivo, Junior, por sempre cuidar de mim, e fazer de tudo para tornar minhas subidas mais fáceis.

À toda minha família, por torcer e vibrar sempre com minhas conquistas, em especial a meus padrinhos, Tita e João, e minha prima-irmã Mariá, por me acolherem tão bem, no inicial dessa jornada.

À todas minhas amigas, pela compreensão nos momentos que fui ausente, e por estarem sempre comigo, eu tenho muita sorte!

Ao meu Orientador Professor Pedro Rolim, por me dar a oportunidade e o suporte para o desenvolvimento desse trabalho, além de todos os dias me ensinar coisas que vou levar durante toda a vida. Você é o melhor orientador que eu poderia ter, isso me faz ter mais vontade de continuar, e poder contribuir e retribuir sempre.

À família LTM, por deixar todos os meus dias mais felizes, com todas as conversas, brincadeiras e conhecimento compartilhado.

À todos os integrantes da Equipe HDL, Danilo Fontes, Magaly Lyra, Taysa Timóteo, Matheus Angelos, Laysa Silva, Lidiany Paixão, pela contribuição em todas nossas discussões e experimentos.

À Danilo Fontes, a quem hoje tenho como amigo, por sempre fazer questão de compartilhar comigo seu conhecimento, e ter sido essencial no desenvolvimento dessa pesquisa. Esse trabalho é nosso!

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite de participar deste momento especial, Prof^ª. Dra. Rosali Silva, Prof^ª. Dra. Salvana Manso e Prof. Dr. Pedro Rolim.

Aos laboratórios parceiros, Laboratório de Prospecção Farmacológica e Toxicológica/UFPE, Laboratório de Terras Raras/UFPE, e ao Centro de Tecnologias Estratégicas para o Nordeste (CETENE), à Central Analítica do Departamento de Química Fundamental/UFPE, pelo suporte na realização das análises.

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

RESUMO

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) vêm recebendo grande atenção no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos, devido à capacidade que esses sólidos inorgânicos apresentam, de intercalar na sua região interlamelar, ou adsorver em sua vasta área superficial, substâncias biologicamente ativas. Os HDL podem ser sintetizados em laboratório por rotas simples e de baixo custo, que permitem o isolamento de sólidos de alta pureza. O antirretroviral zidovudina (AZT) apresenta, como principal limitação, o baixo tempo de meia vida plasmática, sendo necessária a administração de várias doses diárias, e assim favorecendo o surgimento de reações adversas. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de sistema de liberação prolongada para o fármaco AZT, utilizando o HDL como carreador. Para isso, foi realizado, a síntese e caracterização de MgAl-Cl-HDL, e obtenção de sistemas HDL:AZT, através da síntese direta por coprecipitação, realizando variações na concentração de AZT no meio reacional e no tempo de agitação durante a síntese. Os materiais obtidos foram caracterizados pelas técnicas de difração de raios-X (DRX), termogravimetria (TG), análise térmica diferencial (DTA), espectroscopia no infravermelho (IV), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análises de tamanho de partícula, porosidade e área superficial, além da análise elementar de metais e de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN). Entre os sistemas HDL:AZT, o obtido com proporção molar 1:1 ($\text{Al}^{+3}/\text{AZT}$) no meio reacional e 1 hora de agitação, apresentou o melhor perfil de liberação prolongada do fármaco, alcançando 90% de liberação do AZT em 24 horas de estudo. O MgAl-Cl-HDL demonstrou ser um carreador biocompatível, além de proporcionar uma diminuição na citotoxicidade do AZT frente a linhagem de macrófagos humanos. Desta forma, o sistema de liberação prolongada obtido, para o fármaco AZT, poderá ser utilizado em formulações farmacêuticas, no intuito de otimizar a terapia antirretroviral atual.

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

ABSTRACT

Layered double hydroxides (LDH) have received great attention in the development of drug delivery systems because of the ability these inorganic solids present to intercalate in its interlayer region, or adsorb on its vast surface area, biologically active substances. The LDH can be synthesized in the laboratory by simple and low-cost routes that generate high-purity solids. The antiretroviral zidovudine (AZT) has as its main limitation, low plasma half-life, requiring the administration of multiple daily doses, and thus favoring the appearance of side effects. In this context, the present study aimed to develop sustained release systems for the AZT using LDH as a drug carrier. In order to accomplish this goal, it was carried out the synthesis and characterization of the MgAl-CI-LDH and obtained the systems LDH:AZT by coprecipitation, with variations of AZT concentration in the reactional medium and stirring time during synthesis. The materials were characterized by the following techniques: X-ray diffraction (XRD), Thermogravimetry (TG), Differential Thermal Analysis (DTA), Infrared Spectroscopy (IR), Scanning Electron Microscopy (SEM), Particle Size Analysis, Porosity and Surface Area, and Elemental Analysis of Metals and Carbon, Hydrogen and Nitrogen (CHN). Among the LDH:AZT systems, the one with molar ratio 1:1 (Al^{+3} /AZT) in the reaction medium and one hour of stirring presented the best sustained drug release profile, reaching the amount of 90% of AZT released within 24 hours of study. The MgAl-CI-LDH showed to be a biocompatible drug carrier, in addition to providing a decrease in cytotoxicity of AZT against human macrophage lineage cells. Therefore, the sustained release system obtained to AZT may be used in pharmaceutical formulations in order to optimize the current antiretroviral therapy.

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

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Prevalência de HIV em adultos no ano de 2014.	25
Figura 2: Estrutura morfológica do vírus HIV.....	27
Figura 3: Ciclo de replicação do vírus HIV	29
Figura 4: Estrutura química da zidovudina.	34
Figura 5: Representação esquemática da estrutura do HDL.....	36
Figura 6: 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.....	39
Figura 7: Solubilidade aparente do FLUR, MgAl-Cl-HDL/FLUR e mistura física entre MgAl-Cl-HDL e FLUR.	40
Figura 8: Síntese por coprecipitação a pH constante do MgAl-Cl-HDL.....	46
Figura 9: Simulação da ionização do AZT de acordo com o pH, através do software MarvinSketch 15.5.4. A) Formas ionizadas do AZT; B) Porcentagem de cada forma ionizada, em diferentes valores de pH.	52
Figura 10: Difratoograma do MgAl-Cl-HDL e seus precursores de síntese.....	53
Figura 11: Perfis difratométricos do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistemas HDL:AZT. .	54
Figura 12: Espectro de IV do MgAl-Cl-HDL.....	57
Figura 13: Espectros de IV do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistema HDL:AZT.	58
Figura 14: Gráfico de tamanho de partícula por granulometria a laser de A) MgAl-Cl - HDL B) AZT.....	59
Figura 15: Curvas TG/DTA do AZT (A), MgAl-Cl-HDL (B), MF (C) e Sistemas HDL:AZT (D).	62
Figura 16: Curvas TG/DTA da MF (C) e Sistemas HDL:AZT (D).	63
Figura 17: Perfis de liberação do AZT isolado, MF, e sistemas HDL:AZT em 2 horas de dissolução.	66

Figura 18: Perfis de liberação do AZT isolado, MF, e sistemas HDL:AZT em 24 horas de dissolução.	67
Figura 19: Fotomicrografias do AZT, (A) aumento de 450 X, e (B) aumento de 2700 X.	69
Figura 20: MEV do MgAl-CI-HDL (A e B), MF (C e D) e Sistema HDL:AZT 1:1(1h) (E e F).....	70
Figura 21: Viabilidade de macrófagos humanos frente a AZT, HDL e sistema HDL-AZT.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fármacos atualmente utilizados na TARV , mecanismoS de ação e principais efeitos adversos.	31
Tabela 2: Combinações de cátions divalentes com cátions trivalentes que produzem HDL.	37
Tabela 3: Reagentes utilizados para a preparação de MgAl-CI-HDL.	45
Tabela 4: Sistemas HDL:AZT obtidos.	47
Tabela 5- Espaçamento basal do MgAl-CI-MgAl e dos sistemas HDL:AZT obtidos..	55
Tabela 6- Resultados da análise, da área superficial, tamanho e volume de poros do MgAl-CI-HDL e dos sistemas HDL:AZT obtidos	61
Tabela 7: Eventos evidenciados nas curvas TG/DTA dos sistemas HDL:AZT, com seus respectivos valores.	64
Tabela 8: Composição química do MgAl-CI-HDL obtida por ICP-OES, análise elementar CHN e TG; e sua correlação com a fórmula química proposta.	65
Tabela 9: Composição química dos sistemas HDL:AZT obtidos por análise elementar CHN, e a concentração do fármaco em cada sistema.	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	Lamivudina
ABC	Abacavir
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Cloreto de Alumínio Hexahidratado
$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Cloreto de Alumínio Hexahidratado
ATV	Atazanavi
AZT	Zidovudina
BET	Método de Brunauer-Emmet-Teller
BJH	Método de Barrett- Joyner -Halenda
BNZ	Benznidazol
CD4	Cluster Differentiation 4
CHN	Análise química de elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio
D4T	Estavudina
Ddl	Didanosina
DMEM	Meio Eagle Modificado por Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfoxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DRV	Darunavir
DRX	Difração de Raios X
DTA	Análise Térmica Diferencial
eFb	Fenbufeno Intercalado no MgAl-Cl-HDL
EFZ	Efavirenz
FAPV	Fosamprenavir

FLUR	Flurbiprofeno
HCL	Ácido Clorídrico
HDL	Hidróxidos Duplo Lamelares
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HIV-1	Vírus da Imunodeficiência Humana TIPO 1
HIV-2	Vírus da Imunodeficiência Humana TIPO 2
ICP-OES	Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado
IDV	Indinavir
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
LPV	lopinavir
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Mistura Física
MgAl-Cl-HDL	Hidróxido Duplo Lamelar de Magnésio e Alumínio, com cloreto intercalado
MgAl-CO ₃ -HDL	Hidróxido Duplo Lamelar de Magnésio e Alumínio, com carbonato intercalado
MgCl ₂ .6H ₂ O	Cloreto de Magnésio Hexahidratado
MgCl ₂ .6H ₂ O	Cloreto de Magnésio Hexahidratado
M-O	Ligações Organo-Metálicas

MTT	brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio
NA	Não se aplica
NFV	Nelfinavir
NVP	Nevirapina
OMS	Organização Mundial da Saúde
RNA	Ácido Ribonucleico
RTV	Ritonavir
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida
SQV	Saquinavir
T CD4+	Linfócito T CD4+
T-20	Enfuvirtida
TARV	Terapia Antirretroviral
TDF	Tenofovir
TG	Termogravimetria
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UNAIDS	Programa conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
UV	Ultravioleta
Zn-Al-HDL	Hidróxido duplo lamelar de Zinco e Alumínio
H ₂ O	Água
NaOH	Hidróxido de Sódio

LISTA DE SÍMBOLOS

mL	mililitro
pH	potencial hidrogeniônico
M	Molar
v	deformação axial
δ	deformação angular
rpm	rotações por minuto
°C	graus celsius
%	porcentagem
Å	ângstrom
Al	Alumínio
°/s	graus por segundo
cm-1	centímetro elevado a menos um
°C.min-1	graus celsius por minuto
mg	miligramas
Kg	quilograma
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
Zn	Zinco
Sc	Escândio
Ni	Níquel
N	Nitrogênio
Mn	Manganês
Mg	Magnésio
Ga	Gálio
H	Hidrogênio
Fb	Fenbufeno
Fe	Ferro
I^-	Iodeto
F^-	Fluoreto
Cl^-	Cloreto
Co	Cobalto
CO_2	Dióxido de Carbono
Cr	Cromo
Cu	Cobre
Br^-	Brometo
C	Carbono

Ca

Cálcio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo Geral.....	23
2.2 Objetivos Específicos.....	23
3 REFERENCIAL TEÓRICO	25
3.1 HIV/AIDS	25
3.1.1 HIV: ciclo viral e fases da infecção.....	26
3.1.2 Fármacos utilizados na terapia antirretroviral.....	30
3.1.3 Zidovudina.....	34
3.2 Hidróxidos duplos lamelares.....	35
3.2.1 Aplicação de hidróxidos duplos lamelares na área farmacêutica.....	37
3.2.1.1 Promotor de solubilidade	38
3.2.1.2 Liberação de substâncias biologicamente ativas.....	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1 Material	45
4.2 Síntese do MgAl-Cl-HDL.....	45
4.3 Obtenção dos sistemas MgAl- HDL com Zidovudina (AZT).....	46
4.4 Caracterização dos materiais obtidos	47
4.4.1 Difração de Raios-x (DRX)	47
4.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	47
4.4.3 Análise de tamanho de partícula	48
4.4.4 Análise de área superficial e Tamanho de Poros	48
4.4.5 Termogravimetria(TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)	48
4.4.6 Análise elementar.....	48

4.5 Estudo de liberação <i>in vitro</i>	49
4.6 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos.....	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1 Obtenção do MgAl-Cl-HDL e dos sistemas HDL:AZT	52
5.2 Difração de Raios-x	53
5.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	56
5.4 Análises de tamanho de partícula.....	59
5.5 Área superficial e tamanhos de poros.....	60
5.6 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)	61
5.7 Análise elementar	64
5.8 Estudo de liberação <i>in vitro</i>	66
5.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	68
5.10 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos.....	71
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
REFERÊNCIAS.....	77
Anexo 1- Certificado de análise de matéria prima AZT	87

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A qualidade de vida de pessoas infectadas com o HIV (vírus da imunodeficiência humana) tem melhorado significativamente após a iniciativa da terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) (PERNET et al., 2016). Os ganhos com o tratamento são, em grande parte, responsáveis por um declínio de 26% das mortes, relacionadas ao vírus, entre os anos de 2010 e 2015, em todo o mundo (UNAIDS, 2016).

A zidovudina (AZT) é um dos fármacos utilizados na terapia antirretroviral. Esse fármaco apresenta meia-vida plasmática muito curta, e baixa biodisponibilidade, fazendo com que seja necessária a administração de várias doses diárias (CHANDIRA et al., 2010), acarretando o surgimento de efeitos adversos que dificultam a adesão ao tratamento (WALKER et al., 1988).

Uma estratégia para driblar essas limitações é a modulação da liberação de princípios ativos, nesse contexto diversos sistemas carreadores de fármacos vêm sendo desenvolvidos, através de excipientes inteligentes, obtendo os sistemas de liberação de fármacos (IMAZ, 2010).

Os Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL) vêm sendo utilizados no desenvolvimento de sistemas de liberação, devido à capacidade que esses sólidos lamelares inorgânicos apresentam de intercalar ou adsorver em sua superfície substâncias biologicamente ativas (ALI et al., 2012a).

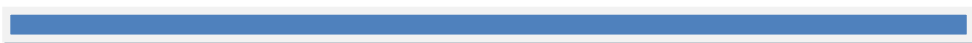
As propriedades desses materiais podem ser combinadas com as dos compostos ligados a essas estruturas, resultando em sistemas, nos quais a estabilidade térmica, química, fotoquímica entre outras, podem ser substancialmente elevadas comparadas às do composto livre (ZHAO et al., 2015). Em adição, o material incorporado pode obter um incremento de sua solubilidade, quando se tratar de substâncias hidrofóbicas ou ser submetido a um processo de liberação sustentada, a partir da matriz do HDL (ALI et al., 2012a; DEL-ARCO et al., 2010).

O desenvolvimento de formas farmacêuticas utilizando sistemas 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 dos 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.

Diante disso, esta pesquisa buscou avaliar as propriedades físico-químicas do HDL, e sua aplicação como carreador de fármacos, mais especificamente a capacidade de modular a liberação do AZT, através da obtenção de sistemas entre esse material e o fármaco.

OBJETIVOS



2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são apresentados abaixo, subdivididos em objetivo geral e objetivos específicos.

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um sistema de liberação prolongada do fármaco antirretroviral zidovudina, utilizando o hidróxido duplo lamelar.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar HDL a partir dos íons metálicos Mg^{2+} e Al^{3+} ;
- Obter sistemas HDL:AZT através da síntese direta por coprecipitação;
- Realizar caracterizações físico-químicas do AZT, HDL e dos sistemas obtidos através de diferentes técnicas analíticas;
- Avaliar o perfil de liberação prolongada dos sistemas HDL:AZT;
- Realizar estudo de citotoxicidade do AZT isolado, HDL e do melhor sistema obtido.

REFERENCIAL TEÓRICO

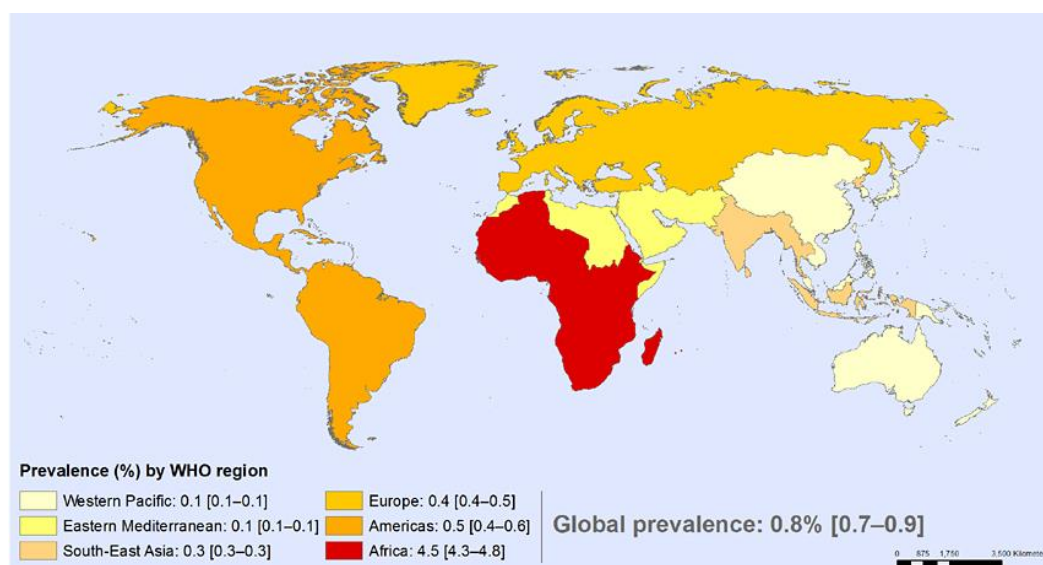


3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 HIV/AIDS

No início da década de oitenta do século passado, foram identificados os primeiros casos da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), conhecida internacionalmente como AIDS. 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 CD4+ (LANCELLOTTI & GAGLIANI, 2005).

Figura 1: Prevalência de HIV em adultos no ano de 2014.



Fonte: UNAIDS, 2016

Desde o início da epidemia, estima-se que 71 milhões de pessoas foram infectadas com o vírus HIV e cerca de 34 milhões de pessoas morreram em decorrência das complicações causadas pelo vírus. No final de 2014, constatou-se que no mundo havia 36,9 milhões de pessoas infectadas pelo HIV, e uma prevalência de 0,8% entre adultos de 15-49 anos, embora o fardo da epidemia continua a variar consideravelmente entre os países e regiões. Conforme a Figura 1, pode-se notar que a África Subsaariana continua a ser mais afetados, com cerca de 1 em cada 20 adultos

(4,8%) que vivem com HIV que corresponde por quase 70% das pessoas que vivem com HIV em todo o mundo (UNAIDS, 2016).

Desde 2014, o número de pessoas que vivem com HIV em terapia antirretroviral aumentou em cerca de um terço, chegando a 17,0 milhões pessoas, 2 milhões a mais da meta estabelecida pelas nações para 2015, na Assembleia Geral das Nações em 2011. Desde o primeiro alvo de tratamento global, as mortes anuais relacionadas com a AIDS diminuíram em 43% (UNAIDS, 2016).

No Brasil, o Departamento de Doenças Sexualmente Transmissíveis, AIDS e Hepatites Virais estimou que aproximadamente 781 mil pessoas viviam com HIV/AIDS no país no ano de 2014, correspondendo a uma prevalência de 0,39% da população (BRASIL, 2015).

O acesso universal e gratuito à terapia antirretroviral combinada (TARV), ou seja, a utilização simultânea de duas ou mais drogas antirretrovirais, 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 (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 T-CD4⁺, considerando a motivação do paciente (BRASIL, 2013).

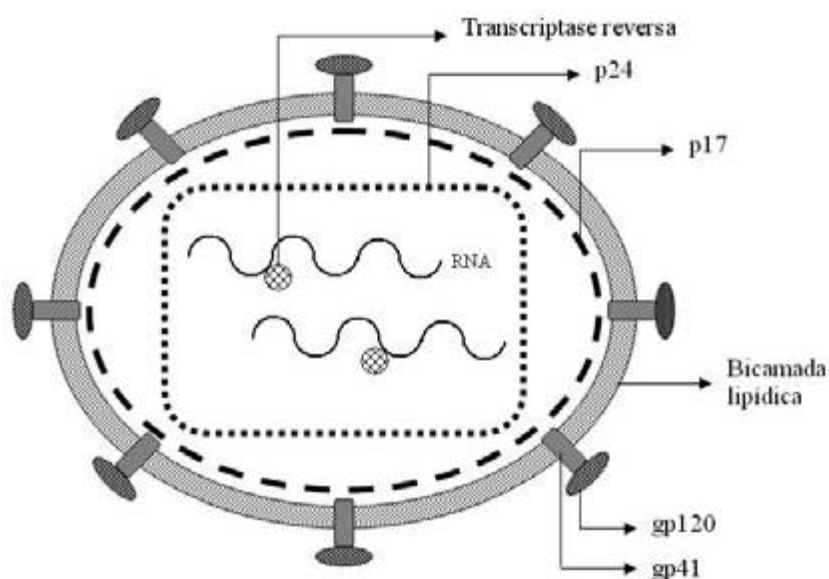
O número total de pessoas vivendo com HIV/AIDS em tratamento tem crescido a cada ano no país. Entre 2009 e 2014, observou-se um aumento de 53,2% no número de pessoas que iniciaram o tratamento. Em 2015, mais de 65 mil indivíduos iniciaram TARV no país. Totalizando quase 450 mil pessoas fazendo o tratamento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

3.1.1 HIV: ciclo viral e fases da infecção

Foram identificados dois tipos diferentes do vírus HIV, conhecidos como HIV tipo 1 (HIV-1) e HIV tipo 2 (HIV-2), sendo o tipo 1 o mais virulento e o principal responsável pela pandemia da AIDS (GRANT; COCK, 2001).

As principais estruturas morfológicas (Figura 2) dos vírus HIV tipo 1 e 2 incluem proteínas estruturais e funcionais, e também um genoma de RNA protegidos pelo envelope viral. O envelope é constituído por uma bicamada lipídica e contém uma proteína complexa, conhecida como env. Essa proteína é constituída pelas glicoproteínas gp41, transmembrana e gp120, exposta à camada externa do envelope (MELO; BRUNI; FERREIRA, 2006).

Figura 2: Estrutura morfológica do vírus HIV.



Fonte: MELO et al., 2006

Na face interior o HIV possui a proteína viral denominada p17 (matriz) e, envolvido por esta proteína, está o capsídeo composto pela p24. Na parte mais interna encontram-se os elementos mais importantes: dois filamentos simples de RNA, a proteína p7 (nucleocapsídeo) e três enzimas essenciais, p51 (transcriptase reversa), p11 (protease) e p31 (integrase) (MELO; BRUNI; FERREIRA, 2006).

As células-alvo do HIV expressam marcador de superfície celular CD4, e o passo inicial do ciclo replicativo viral (figura 3) ocorre com a ligação da proteína gp120 do envelope viral com a molécula de CD4 da célula-alvo. Após essa interação inicial, a alça V3 da gp120 torna-se exposta e apta à ligação com coreceptores (receptores de citocinas), principalmente CCR5 e CXCR4. Após estas interações, ocorre fusão das membranas celular e viral, processo mediado pela gp41. O nucleocapsídeo viral penetra no citoplasma celular, liberando o RNA do vírus, que pela ação da transcriptase reversa é convertido em DNA. Uma vez sintetizado, o DNA viral é

integrado ao cromossomo celular pela ação da enzima integrase (GROTTO; PARDINI, 2006).

Desta forma, o vírus pode permanecer latente e o DNA viral não ser transcrito em RNA viral, apenas permanecendo integrado ao DNA celular e ser replicado pela célula hospedeira. Quando a célula for ativada ocorrerá transcrição do DNA viral e a formação de novos vírus. O ciclo replicativo encontra-se na dependência do genoma viral. O genoma do HIV-1 é constituído por três genes estruturais (gag, env, pol) e seis genes regulatórios (vif, vpr, tat, rev, vpu, nef) flanqueados por duas sequências análogas denominadas LTR (long terminal repeat) (GROTTO; PARDINI, 2006).

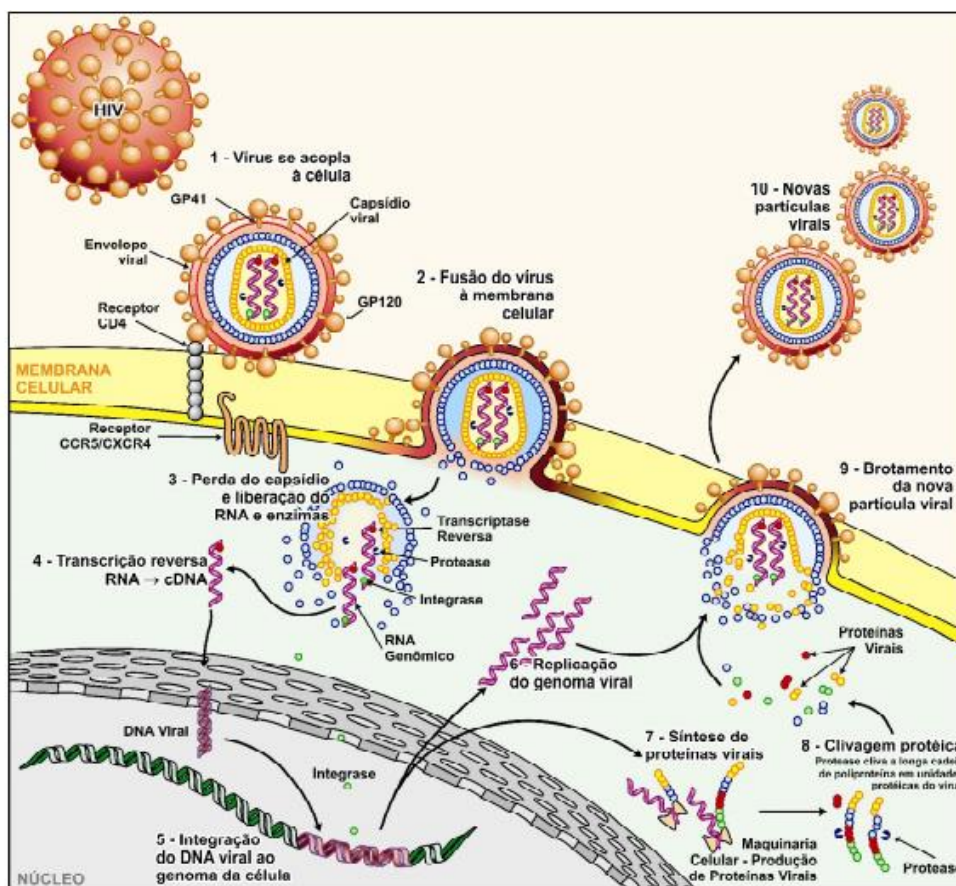
O gene gag codifica uma poliproteína, a qual após clivagem origina várias proteínas virais da matriz do capsídeo e do nucleocapsídeo viral. As proteínas da matriz interagem com proteínas do envelope auxiliando na atração de proteínas para a formação de novos vírions; as proteínas do capsídeo são importantes na formação do nucleocapsídeo e estas se ligam inespecificamente ao RNA viral auxiliando sua compactação no interior do novo vírion. O gene pol codifica uma poliproteína gag-pol de 160 KDa que após clivagem proteolítica origina as enzimas virais (protease, transcriptase reversa, e integrase) (GROTTO; PARDINI, 2006).

O processamento proteolítico das poliproteínas ocorre apenas em um estágio avançado do ciclo de replicação, provavelmente em virtude de uma baixa atividade enzimática da protease não processada, requerendo assim altas concentrações de substrato, o que é alcançado apenas durante o “brotamento”. Após uma hidrólise inicial, a protease liberada pode então exercer sua atividade máxima, processando de forma rápida as poliproteínas. O processamento das poliproteínas no vírion completa o ciclo de replicação do HIV. Os vírions maduros são então capazes de infectar um linfócito adjacente (PEÇANHA, 2002).

As perturbações mais características no sistema imunitário das pessoas portadoras do vírus HIV, são as alterações quantitativas e qualitativas de linfócitos T CD4+ circulantes, que resultam no aparecimento de uma marca da imunodeficiência, com o agravamento progressivo, o organismo diminui a sua capacidade em produzir uma resposta imune eficaz, possibilitando o desenvolvimento de infecções oportunistas e/ou neoplasias. Os principais alvos atingidos são o aparelho respiratório, principalmente os pulmões, o sistema nervoso, o aparelho digestivo, o sistema hemolinfopoiético, a pele e as mucosas (MIRANDA, 2003).

A infecção primária ou síndrome viral aguda, é definida pelo período de tempo entre a infecção inicial e o desenvolvimento da resposta imunológica, e tem uma duração não superior a duas ou três semanas, e nesse momento surgem alguns sintomas, como febre e mal-estar (CLARK et al., 1991).

Figura 3: Ciclo de replicação do vírus HIV



Fonte: SILVA, 2009.

Após a primo-infecção segue-se a fase assintomática onde ocorre a recuperação clínica, com redução da replicação viral, em consequência do desenvolvimento da resposta imunitária. É nesta fase que ocorre a soroconversão, com desenvolvimento de anticorpos que persistem no organismo durante toda a vida. A fase assintomática caracteriza-se, pela existência de cargas virais reduzidas, devido à forte resposta imunológica do hospedeiro e pela ausência de sintomas e sinais clínicos da doença, a duração média desta latência clínica pode ir, no caso de infecção por HIV-1, dos 8 aos 12 anos (SIERRA; KUPFER; KAISER, 2005).

O aparecimento de infecções oportunistas e neoplasias é definidor da AIDS, entre as infecções oportunistas destacam-se: pneumocistose, neurotoxoplasmose, tuberculose pulmonar atípica ou disseminada, meningite criptocócica e retinite por citomegalovírus. As neoplasias mais comuns são sarcoma de Kaposi, linfoma não Hodgkin e câncer de colo uterino, em mulheres jovens (BRASIL, 2013).

Nessas situações, a contagem de linfócito T-CD4⁺ está abaixo de 200 células/mm³, na maioria das vezes. Além das infecções e das manifestações não infecciosas, o HIV pode causar doenças por dano direto a certos órgãos ou por processos inflamatórios, tais como miocardiopatia, nefropatia e neuropatias que podem estar presentes durante toda a evolução da infecção pelo HIV-1 (BRASIL, 2013).

3.1.2 Fármacos utilizados na terapia antirretroviral

Uma vez identificado o HIV, sua morfologia e mecanismo de replicação, 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).

Desde o surgimento dos primeiros esquemas antirretrovirais, buscou-se definir critérios para início do tratamento com base nas estimativas de risco de infecções oportunistas, evolução para AIDS e óbito. Entretanto, já existem evidências de que, mesmo em indivíduos assintomáticos com contagens elevadas de T-CD4⁺, a replicação viral e a ativação imune crônica estão associadas ao desenvolvimento de doenças não tradicionalmente relacionadas à infecção pelo HIV, tais como eventos cardiovasculares (BRASIL, 2013).

Também se observa que pessoas com reconstituição imune, em uso de TARV, que mantêm contagens de T-CD4⁺ acima de 500 células/mm³ e carga viral indetectável, atingem expectativa de vida semelhante à da população geral. Ressalta-se que, quando o tratamento é iniciado precocemente aumentam-se as chances de se alcançar níveis elevados de T-CD4⁺ (BRASIL, 2013).

O desenvolvimento da TARV proporcionou a melhoria no prognóstico e na qualidade e expectativa de vida dos portadores do HIV; entretanto, fatores como a possibilidade do desenvolvimento de resistência viral aos medicamentos, a potencial

toxicidade dos fármacos em médios e em longos prazos, e a necessidade de adesão à TARV permanecem como principais empecilhos ao seu sucesso. A sua prescrição deve ser individualizada, seguindo critérios como eficácia, durabilidade e tolerabilidade (KRAMER et al., 2009).

Tabela 1: Fármacos atualmente utilizados na TARV , mecanismoS de ação e principais efeitos adversos.

Classe	Nome Genérico	Mecanismo de Ação	Efeitos Adversos
Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos (ITRN)	Abacavir (ABC), Didanosina (ddl), Estavudina (d4T), Lamivudina (3TC), Zidovudina (AZT), Tenofovir (TDF).	Impedem a infecção aguda das células, pois atuam sobre a transcriptase reversa, impedindo que o RNA viral se transforme em DNA complementar.	Toxicidade mitocondrial, Toxicidade hepática, lipoatrofia, anemia, miopatia, neuropatia periférica, pancreatite.
Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Análogos de Nucleosídeos (ITRNN)	Efavirenz (EFZ), Nevirapina (NVP), Delavirdina.		Elevação das enzimas hepáticas, dislipidemia, exantema e síndrome de Stevens-Johnson.
Inibidores da Protease (IP)	Fosamprenavir (FAPV), Atazanavir (ATV), Darunavir (DRV), Indinavir (IDV), Lopinavir (LPV), Nelfinavir (NFV), Ritonavir (RTV), Saquinavir (SQV)	Atuam impedindo a clivagem da protease do polipeptídeo precursor viral e bloqueia a maturação do vírus.	Toxicidade metabólica, lipodistrofia, dislipidemia, hiperglicemia, resistência à insulina, diabetes, intolerância gastrointestinal e toxicidade hepática.
Inibidores da entrada do HIV Inibidor da Fusão	 Enfuvirtida (T-20)	Impedem a entrada do material genético viral pela sua ação no local de entrada do HIV na célula expressa o receptor CD4.	Reações de hipersensibilidade, principalmente local, ou mais raramente sistêmica.

Fonte: KRAMER et al., 2009.

Hoje estão disponíveis no mercado diversos medicamentos antirretrovirais, de diferentes classes farmacológicas, que podem ser utilizados no tratamento da doença (Tabela 1). A terapia antirretroviral de alta atividade, 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 ministério da saúde preconiza que a terapia inicial em adultos deve sempre incluir combinações de três antirretrovirais, sendo dois ITRN/ITRNt associados a um ITRNN, preferencialmente: TDF + 3TC + EFV. A associação de tenofovir com lamivudina (TDF/3TC) apresenta um perfil de toxicidade favorável em relação à lipoatrofia e à toxicidade hematológica quando comparada ao AZT, o EFV apresenta posologia confortável (1 comprimido ao dia), facilitando a adesão ao tratamento. Promove supressão da replicação viral por longo prazo e possui perfil de toxicidade favorável (BRASIL, 2013).

Em caso em que o esquema TDF + 3TC + EFV tenha contra indicação, substituir o TDF por AZT. A associação AZT/3TC é uma das mais estudadas em ensaios clínicos randomizados: apresenta eficácia e segurança equivalentes a outras combinações de dois ITRN/ITRNt, sendo habitualmente bem tolerada (BRASIL, 2013).

A combinação ABC/3TC é alternativa para os pacientes com intolerância ou contraindicação aos esquemas com TDF/3TC ou AZT/3TC. Alguns ensaios clínicos mostram que essa associação apresentou maior risco de falha virológica em pacientes com carga viral mais elevada, devido à baixa barreira genética. Reações de hipersensibilidade estão relacionadas ao início do tratamento com ABC. A combinação ddl/3TC é recomendada na terapia inicial apenas nas situações de intolerância ao AZT, TDF e ABC. Pancreatite e neuropatia periférica estão relacionadas ao uso do ddl (BRASIL, 2013).

A NVP é considerada preferencial em relação ao EFV em algumas situações. Na contraindicação ou intolerância ao EFV, a NVP é uma opção segura, efetiva e de baixo custo, além de ser produzida pela indústria nacional. Sua indicação é preferencial em relação aos inibidores da protease, exceto nos casos de exantema com EFV. Alguns estudos demonstram melhor perfil metabólico, com redução de LDL e aumento de HDL colesterol, com uso de NVP quando comparada ao EFV e ao ATV, sendo a NVP, portanto, uma opção para pacientes com diabetes melitus, portadores de coronariopatia ou indivíduos com risco cardiovascular elevado (BRASIL, 2013).

Uma segunda linha de tratamento é utilizada nos casos em que o uso de EFV e NVP esteja impossibilitado, deve-se proceder à sua substituição por um Inibidor de Protease, de modo que o esquema consista em: 2 ITRN + IP/r. O LPV/r deve ser o IP/r preferencial, pelas seguintes razões: coformulação com r, experiência de uso,

maior número de estudos clínicos com seguimento no longo prazo, potência e durabilidade conferidas ao esquema, além de menor custo (BRASIL, 2013).

No tratamento de crianças e adolescentes preconiza-se como terapia inicial de primeira linha a utilização para pacientes com menos de 35kg de peso corporal: AZT+3TC+ITRNN, sendo o NPV e o EFZ utilizado para menores e maiores de 3 anos, respectivamente. Para com crianças com peso superior ao mencionado anteriormente, utiliza-se TDF+3TC+EFV (BRASIL, 2014).

A segunda linha de tratamento deve ser considerada nos casos de crianças com histórico de exposição intraútero ou perinatal à NVP ou situações em que o uso de EFZ e NVP esteja impossibilitado, deve-se proceder à sua substituição por um Inibidor de Protease, de modo que o esquema ARV fique estruturado da seguinte forma: 2 ITRN + IP/r. O LPV/r é a opção preferencial na classe dos inibidores de protease, quando da impossibilidade de uso de ITRNN na composição do esquema (BRASIL, 2014).

Nos casos de transmissão vertical, cerca de 65%, ocorre durante o trabalho de parto e no parto propriamente dito e que os 35% restantes ocorrem intra-útero, principalmente nas últimas semanas de gestação. Além disso, o aleitamento materno representa risco adicional de transmissão de 7% a 22%. São vários os fatores associados ao aumento do risco de transmissão do HIV da mãe para o filho. Dentre esses, reconhece-se como principais: o tempo entre a ruptura das membranas amnióticas e o parto, e a quantidade de vírus nas secreções cérvico-vaginais e no leite materno (SOUZA-JÚNIOR, et al., 2004).

Com a divulgação em 1994 do protocolo 076 do Aids Clinical Trial Group (PACTG 076), sabe-se que o uso do AZT pela gestante infectada e pelo recém-nascido, durante as primeiras semanas de vida, pode reduzir em cerca de 70% o risco de a criança ser infectada, sendo considerado um dos principais avanços no conhecimento sobre a Aids. A TARV é capaz de reduzir significativamente a carga viral plasmática da mãe para níveis não detectáveis, reduzindo, assim, o risco de transmissão do HIV para o recém-nascido (BRITO et al., 2006).

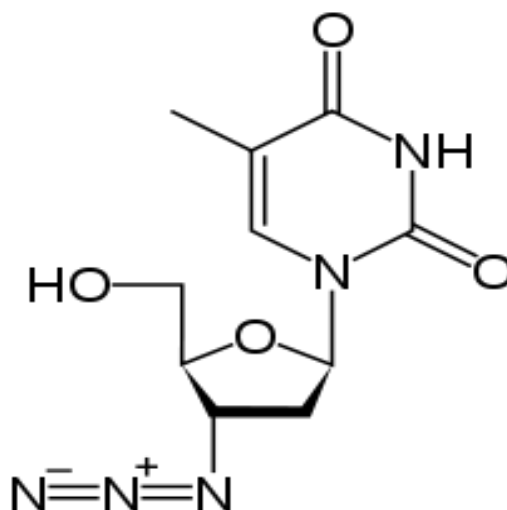
Para a terapia profilática ou o tratamento em gestantes, o esquema deve ser composto por três antirretrovirais de duas classes diferentes. A associação AZT/3TC é a mais estudada em gestantes infectadas pelo HIV; apresenta resposta virológica equivalente a outras combinações de 2 ITRN em adultos, sendo habitualmente bem

tolerada. Na escolha dos ITRNN, a NVP continua sendo a opção dessa classe, devido ao potencial teratogênico do EFZ (BRASIL, 2010).

3.1.3 Zidovudina

O AZT (Figura 4), 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. Foi o primeiro fármaco antirretroviral usado no tratamento de pessoas com HIV/AIDS (SEPKOWITZ, 2001). Desde sua liberação em 1987 pelo FDA, a eficácia do AZT foi estabelecida em numerosos estudos clínicos (HARDMAN; LIMBIRD, 2006).

Figura 4: Estrutura química da zidovudina.



Fonte: NASCIMENTO, 2004.

Após penetrar na célula do hospedeiro, o AZT é fosforilado pela timidinocinase em monofosfato; em seguida, pela timidilatoquinase em difosfato; e, por fim, pelo 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).

Esse fármaco é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, apresentando uma biotransformação pré-sistêmica e uma biodisponibilidade de 65%, e possui maior absorção na porção superior do jejuno (DE CLERCQ, 2001). Após alcançar a circulação sistêmica, o AZT apresenta a capacidade de atravessar a

barreira hematoencefálica e ser detectada no líquido cefalorraquidiano, nos adultos, numa concentração correspondente a metade da plasmática e, por difusão passiva, alcançar o sistema nervoso central (SANTOS et al., 2008).

O AZT sofre rápido metabolismo hepático de primeira passagem através de sua conversão em 5-glicuronil zidovudina. Esse metabolismo apresenta uma meia-vida de eliminação de 1 hora. A recuperação urinária total do fármaco e de seu metabólito principal é de cerca de 90% (WATTS et al., 1991).

A principal limitação do AZT para sua eficácia terapêutica, é a 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).

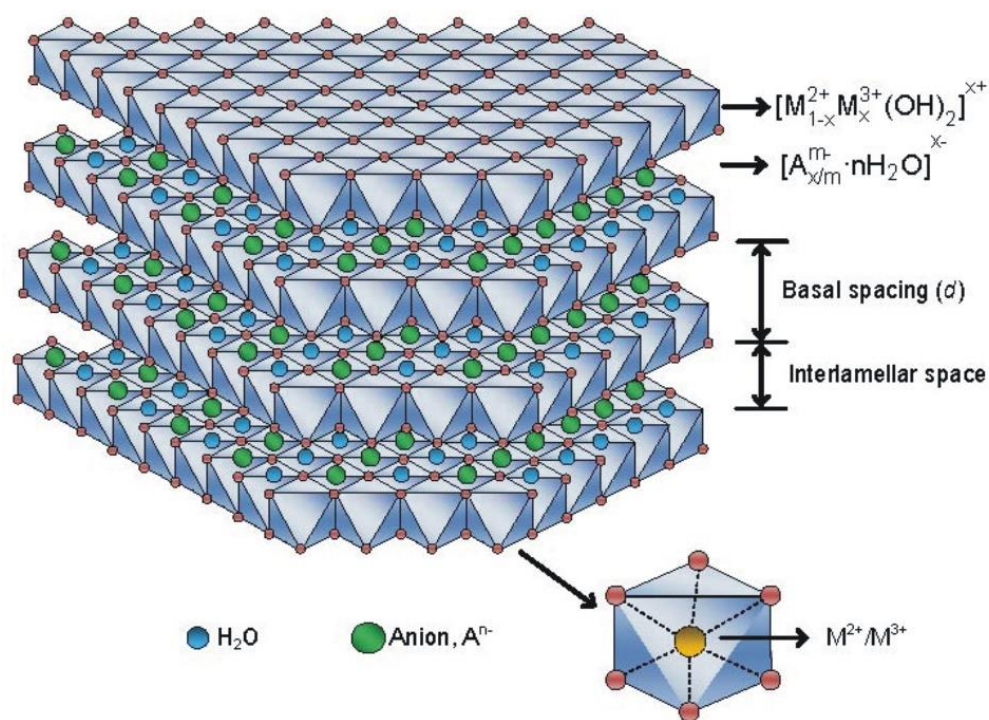
3.2 Hidróxidos duplos lamelares

Os HDL possuem uma formulação genérica do tipo $[M^{+2}_{1-x}M^{+3}_x(OH)_2]^{x+}(A^{m-})_{x/m}.nH_2O$, onde M^{+3} e M^{+2} representam cátions metálicos tri e divalentes, respectivamente, passíveis de ocuparem sítios octaédricos (Figura 5); 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 (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 et. al., 2008). Estas lamelas para serem

estabilizadas necessitam da presença de ânions de compensação interlamelares para manter a eletroneutralidade (IIIAlK, 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 5: Representação esquemática da estrutura do HDL.



Fonte: TRONTO et al., 2013

Várias combinações entre 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 à 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 2), sendo de extrema importância associar cátions com valores de raio iônico próximos. (LIU, et al., 2006; SUN, et al., 2008).

Tabela 2: Combinações de cátions divalentes com cátions trivalentes que produzem HDL.

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		

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 (CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , Cr_4^{2-}), ânions complexos ($[Fe(CN)_6]^{4-}$, $[NiCl_4]^{2-}$), polioxo-metalatos ($V_{10}O_{28}^{6-}$, $Mo_7O_{24}^{6-}$), 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).

3.2.1 Aplicação de hidróxidos duplos lamelares na área farmacêutica

Os 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., 2012a; 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., 2012a; DEL-ARCO et al, 2010).

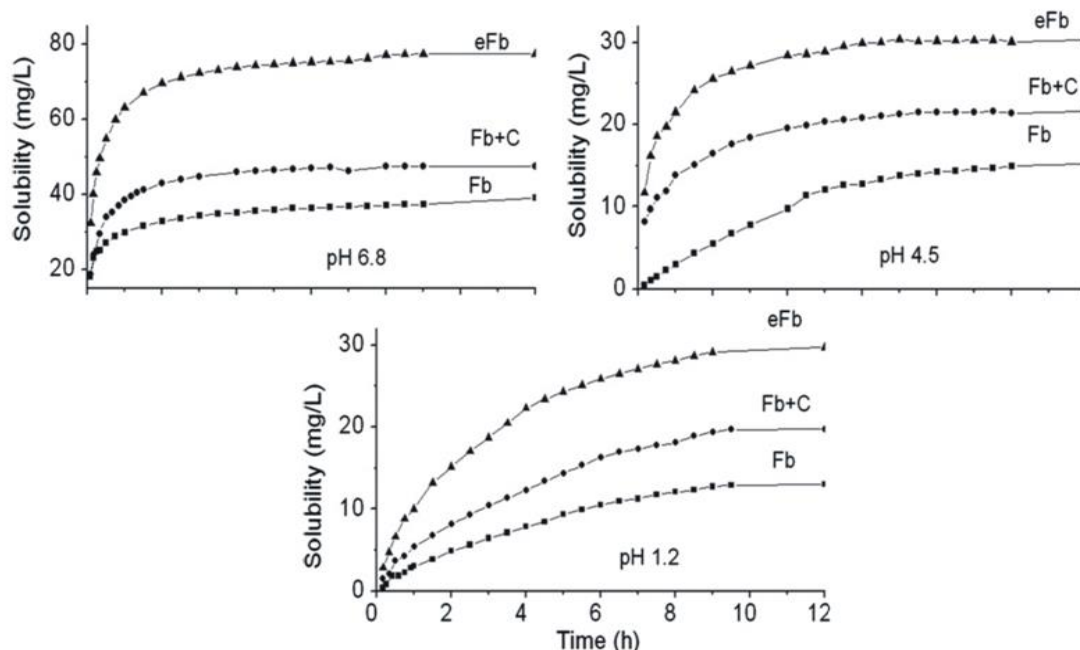
Essas propriedades permitem que o HDL seja um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para uso como suporte para o armazenamento e a liberação sustentada da substância intercalada, que pode ser fármacos, reguladores de crescimento vegetal, porfirinas para uso em terapia fotodinâmica, aminoácidos,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

3.2.1.1 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 MgAl-CO₂-HDL (Fb+C) (figura 6). O estudo foi realizado em três condições de pH diferentes (1.2, 4.5 e 6.8).

Figura 6: 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.

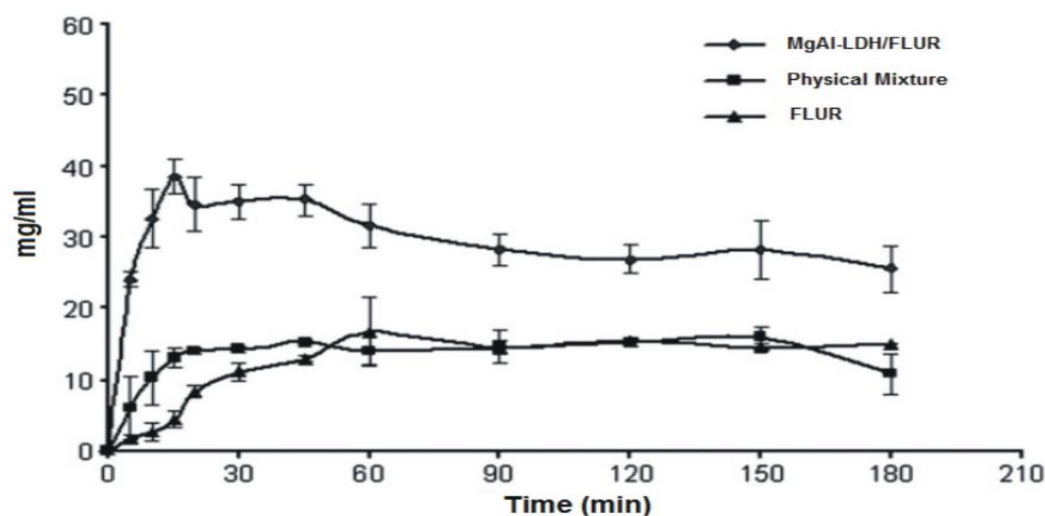


Fonte: Del-Arco et al., 2010.

A intercalação do Fb na matriz MgAl-CI-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.

Perioli e colaboradores (2011) intercalaram o anti-inflamatório flurbiprofeno (FLUR) em MgAl-CI-HDL, a fim de observar a ação da intercalação sobre a solubilidade do fármaco num meio gástrico (pH 1,2), como visto na figura 7. O FLUR possui baixa solubilidade aquosa, e é pertencente à classe II do sistema de classificação biofarmacêutico. O mesmo, ao ser intercalado em MgAl-CI-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-CI-HDL foi de 38,51 mg/L. Este incremento de solubilidade foi atribuído à perda de cristalinidade do fármaco quando associada ao MgAl-CI-HDL, fazendo com que esse material amorfo obtivesse uma maior solubilidade que o mesmo na forma cristalina (figura 7).

Figura 7: Solubilidade aparente do FLUR, MgAl-Cl-HDL/FLUR e mistura física entre MgAl-Cl-HDL e FLUR.



Fonte: Perioli et al., 2011.

3.2.1.2 Liberação de substâncias biologicamente ativas

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).

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 (TAKASHI, YAMAGUCHI, 1991).

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 compostos básicos, estes se dissolvem 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).

Quando o sistema composto por HDL e o fármaco intercalado, encontra-se rodeado por ambiente intestinal a pH 6,8-7,5, a estruturação lamelar onde está presente a substância ativa aniônica, anteriormente imobilizada, funciona como matriz de liberação, onde acontece troca iônica entre o produto intercalado e os íons fosfatos, os hidróxidos, carbonatos presentes no meio intestinal (COSTANTINO et al., 2008).

Os sistemas de liberação controlada de fármacos permitem aplicações relevantes para medicamentos com baixa meia-vida e terapêutica crônica, permitem que uma dosagem efetiva permaneça na corrente sanguínea por um intervalo de tempo maior (GUNAWAN & XU, 2008), esta estratégia, de fato, pode permitir a redução das administrações diárias, além dos efeitos colaterais, aumento a adesão do paciente ao tratamento (COSTANTINO et al., 2008).

Ali e colaboradores (2012a), 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. 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., 2012a).

Barahuie e colaboradores (2014) desenvolveram sistemas de Zn-Al-HDL e o fármaco anticancerígeno ácido clorogênico (CA), através de duas metodologias diferentes, troca iônica nomeado e coprecipitação, obtendo os sistemas nomeados de CZAE e CZAC, respectivamente.

Os perfis de liberação do fármaco através de CZAE, CZAC e a mistura física de CA com HDL, foram avaliadas em soluções a pH 7,4 e 4,8. A mistura física não apresentou quaisquer efeito de liberação prolongada nos meios testados, o CA puro

foi libertado rapidamente e completamente aos 91 e 158 minutos em pH 4,8 e 7,4, respectivamente.

Os sistemas CZAE e CZAC apresentaram liberação mais lenta do fármaco em pH 7,4, quando comparado com a mistura física e fármaco puro, o que indica que ambos os sistemas foram capazes de promover a liberação prolongada do fármaco. Este efeito pode ocorrer devido à atração eletrostática entre os ânions do CA e as lamelas do HDL. Os perfis de liberação do CA intercalados no HDL, em pH 4,8, apresentaram uma liberação rápida dentro do primeiro 240 min (69% e a liberação de 64% para CZAE e CZAC, respectivamente) que podem ser explicados devido à dissolução parcial das lamelas do Zn-Al-HDL, em meio ácido.

Xia e colaboradores (2008) obtiveram sistemas de liberação prolongada dos fármacos anti-hipertensivos, enalapril, lisinopril, captopril e Ramipril, através da intercalação dessas substancias em HDL. Os perfis de liberação dos fármacos isolados e dos sistemas obtidos foram avaliados em pH 4,25 e 7,45. Todos os fármacos quando avaliados isoladamente foram liberados rapidamente, mais de 75% a partir dos 12 minutos.

No entanto, todos os anti-hipertensivos intercalados em HDL apresentaram uma liberação gradual, em ambos os meios avaliados. No meio ácido, a primeira alíquota revelou uma grande quantidade do princípio ativo, o qual o autor relacionou ao efeito de rebentamento, que ocorre devido à liberação dos ânions do fármaco adsorvido na superfície do HDL, subsequentemente, com o ataque ácido, há uma desestruturação das lamelas e os fármacos anti-hipertensivos intercalados são libertados. A destruição das camadas aumenta o pH da solução, devido à liberação de grupos hidroxilo a partir das camadas. Posteriormente, o aumento nos valores de pH faz com que comece a ocorrer uma sustentação na liberação, atingindo a liberação total dos fármacos em até 92 minutos.

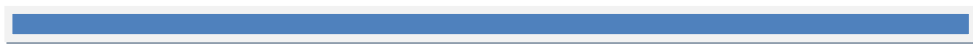
Em pH 7,45 a liberação dos fármacos também foi muito rápida durante os primeiros 7 min, com a liberação primeiramente dos princípios ativos adsorvidos na superfície do LDH. No entanto, posteriormente a liberação tornou-se mais baixa e sustentada em comparação com a que ocorreu em pH 4,25, com liberação total em até 232, 232, 172 e 192 min para os sistemas formados entre o HDL e enalapril, lisinopril, captopril e ramipril, respectivamente.

Bonina e colaboradores (2008), ao compararem os diferentes sistemas obtidos entre o fármaco diclofenaco e HDL, observou que o HDL após tratamento térmico à

500°C promoveu maior adsorção do fármaco, possivelmente pelo tamanho de poros elevado, como também evidenciou que a solução etanólica sem a presença de água utilizada durante a incorporação favorece a adsorção, possivelmente porque em solução aquosa, a presença de ânions OH^- competem com ânion diclofenaco no processo de adsorção.

No mesmo estudo, também foram realizados testes de permeação utilizando células de Franz, e o sistema obtido através do HDL sem tratamento térmico, apesar de sua adsorção menos elevada, se mostrou mais eficiente e com melhor perfil de permeação, sendo mais adequado para a formulação tópica pretendida.

MATERIAL E MÉTODOS



4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

O AZT (Northeast®, lote 17554) foi cedido pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes (LAFEPE). A Tabela 3 apresenta a fórmula química, procedência e grau de pureza dos reagentes utilizados para a preparação de MgAl-Cl-HDL e sistemas fármaco-HDL.

Tabela 3- Reagentes utilizados para a preparação de MgAl-Cl-HDL.

Reagentes	Fórmula	Procedência	Pureza (%)
Cloreto de Magnésio Hexahidratado	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Sigma- Aldrich®	≥ 99,00
Cloreto de Alumínio Hexahidratado	$AlCl_3 \cdot 6H_2O$	Sigma- Aldrich®	99, 00
Hidróxido de Sódio	NaOH	Sigma- Aldrich®	≥98, 00

Fonte: Dados da pesquisa.

4.2 Síntese do MgAl-Cl-HDL

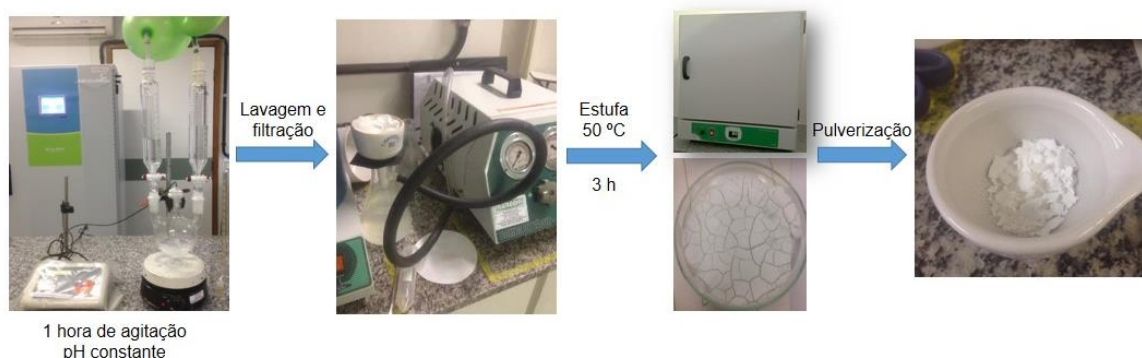
O MgAl-Cl-HDL foi sintetizado através do método de coprecipitação descrito anteriormente por Constantino, Hnnavia (1995) e Özgümüş et al.(2013). O MgAl-Cl-HDL foi obtido a pH constante (figura 8), onde um pHmetro (Micronal®) foi inserido no meio reacional para controlar a variação do pH, que foi mantido em 11 através de ajustes com solução 0.4 M de hidróxido de sódio.

Uma solução de sais metálicos (150 mL), contendo 0,1 M de cloreto de alumínio hexahidratado e 0,2 M de cloreto de magnésio hexahidratado, foi adicionada a 50 mL de uma solução 0,4 M de hidróxido de sódio 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, posteriormente filtrada em papel filtro, ressuspensa em água, para lavagem do material, e filtrada novamente. 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.

A secagem foi realizada em estufa de recirculação a 50°C por 3 horas. Após a secagem, o material foi pulverizado em almofariz e pistilo, e acondicionado em dessecador para futuras análises.

Figura 8: Síntese por coprecipitação a pH constante do MgAl-CI-HDL.



Fonte: Dados da pesquisa.

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

A obtenção do sistema HDL:AZT seguiu a metodologia descrita por Cunha et al. (2012) através de síntese direta também pelo método de coprecipitação, onde o fármaco foi adicionado no meio reacional da síntese de HDL, na proporção molar 1:1 (Al⁺³/AZT). Os outros passos da obtenção seguiram os procedimentos descritos anteriormente para a síntese de MgAl-CI-HDL.

Conforme mostra a tabela 4, outros sistemas foram obtidos através da alteração nos parâmetros de obtenção. A proporção molar do AZT no meio reacional foi dobrada, sendo utilizado 1:2 (Al⁺³/AZT). Além disso foi testado o aumento do tempo de envelhecimento, submetendo as suspensões à 12 horas de agitação.

O software MarvinSketch® 15.5.4 foi utilizado para simular o comportamento do AZT em diferentes pH, visando selecionar o pH básico em que o fármaco se encontrasse de maneira mais ionizada no meio reacional.

Tabela 4: Sistemas HDL:AZT obtidos.

Proporção Al ³⁺ /AZT	Tempo de Agitação (h)	Amostra Obtida
1:1	1	HDL:AZT 1:1 (1 h)
1:2	1	HDL:AZT 1:2 (1 h)
1:1	12	HDL:AZT 1:1 (12 h)
1:2	12	HDL:AZT 1:2 (12 h)

Fonte: Dados da pesquisa.

4.4 Caracterização dos materiais obtidos

As técnicas descritas a seguir foram utilizadas para avaliar as propriedades físico-químicas dos materiais obtidos a fim de corroborar a formação dos sistemas. Para fins comparativos, foi obtida Mistura Física (MF) entre o HDL e o fármaco AZT, na mesma proporção do material obtido durante a síntese HDL:AZT 1:1 (1 h).

4.4.1 Difração de Raios-x (DRX)

As difrações de Raios-X das amostras, foram analisadas utilizando o equipamento Shimadzu® modelo XRD-700, com radiação CuK α (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 θ <50°, a uma velocidade de 0,01°/s.

O cálculo do espaçamento basal do composto lamelar foi obtido através da lei de Bragg, cuja fórmula está representada por 1:

$$n \lambda = 2 d \sin \theta \quad (1)$$

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.

4.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As amostras foram analisadas utilizando espectrômetro infravermelho (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} .

4.4.3 Análise de tamanho de partícula

Foi determinado o tamanho de partícula de MgAl-Cl-HDL e AZT, através do equipamento Microtac® S3500. As amostras foram dispersas em água e agitadas no banho ultrassônico Unique. Mod USC-1400^a, com potência ultrassônica 135 watts, durante 3 minutos, antes de serem analisadas em quintuplicata. Esse equipamento emprega um sistema de três lasers operando em conjunto com um arranjo de fotodetectores que varre ângulos de espalhamento unificado da luz (UST- Unified Scatter Technique). Desta forma, a técnica utilizada se baseia no espalhamento que a luz aplicada sofre ao entrar em contato com matérias particuladas de diferentes tamanhos.

4.4.4 Análise de área superficial e Tamanho de Poros

A área de superfície específica (SBET) foi calculada com base no método Brunauer-Emmett-Teller (BET) e a distribuição dos tamanho e volume do poro foi derivada do método de Barrett-Joyner-Halenda (BJH). Foi utilizado o equipamento ASAP2420 Micromeritics®, munido de software próprio para determinar os resultados.

4.4.5 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 $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, massa da amostra de 4 mg, porta amostra de alumina e intervalo de temperatura entre $30 - 900^{\circ}\text{C}$.

4.4.6 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®, antes de analisadas as amostras foram dissolvidas na concentração de 1mg/mL em solução de ácido nítrico 1% (v/v).

4.4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram preparadas sobre dupla fita de carbono contida em suporte (*stub*) de cobre e metalizada sob vácuo com a deposição de uma fina camada de ouro em equipamento BAL-TEC® modelo SCD 050. As análises de MEV foram obtidas por microscópio eletrônico de varredura ambiental FEI, Quanta® 200 FEG, utilizando aumento 300 e 5000 vezes.

4.5 Estudo de liberação *in vitro*

Para a realização do estudo de liberação, foram preparadas cápsulas gelatinosas duras transparentes contendo AZT isolado, sistema HDL:AZT e MF. 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 $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Alíquotas de 5 mL foram coletadas no intervalo de 5 minutos a 24 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 µg/mL) ($R^2 = 0,999$).

4.6 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos

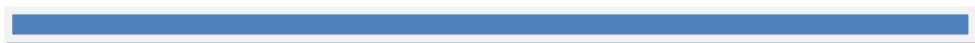
A citotoxicidade do sistema em células foi determinado pelo ensaio de redução de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium). As células foram

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 µg/mL de estreptomicina, a 37°C com 5% de CO₂.

As células foram semeadas em placas de 96 poços (100 µL = 105 cells/mL) com AZT (0,78125-100 µg/mL), HDL (2,75-352 µg/mL) e HDL-AZT (0,78125-100 µg/mL de BNZ e 2,75-352 µg/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 µL de DMSO foi adicionado a cada poço para a dissolução dos cristais de Formatam.

A citotoxicidade em células isoladas foi determinada 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®) 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 IC₅₀ 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).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

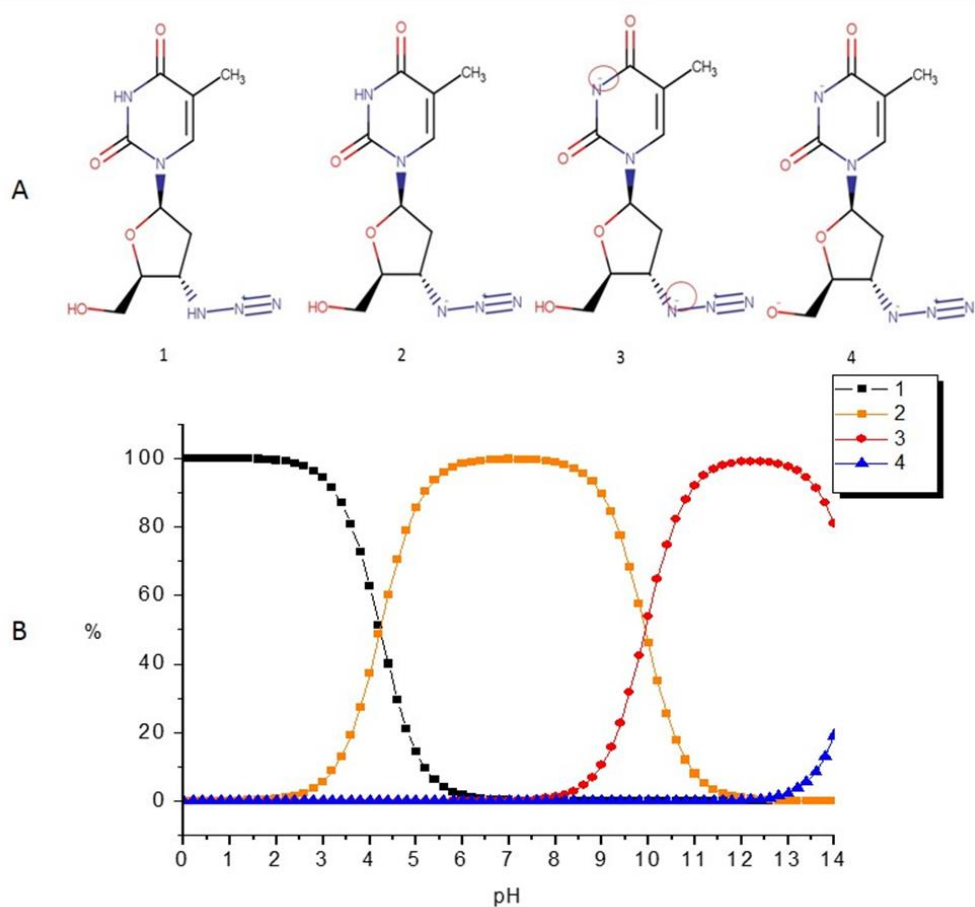


5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção do MgAl-Cl-HDL e dos sistemas HDL:AZT

MarvinSketch® 15.5.4 é um software de modelagem molecular que possibilita a visualização de desenhos e estruturas químicas e reações, como também a previsão das propriedades físico-químicas das estruturas (ChemAxon, 2016). Através dessa ferramenta foi evidenciado que o AZT apresenta maior ionização em pH 11, como pode-se evidenciar na Figura 9, o fármaco nesse pH encontra-se cerca de 80 % na sua forma ionizada.

Figura 9: Simulação da ionização do AZT de acordo com o pH, através do software MarvinSketch 15.5.4. A) Formas ionizadas do AZT; B) Porcentagem de cada forma ionizada, em diferentes valores de pH.



Fonte: Dados da pesquisa.

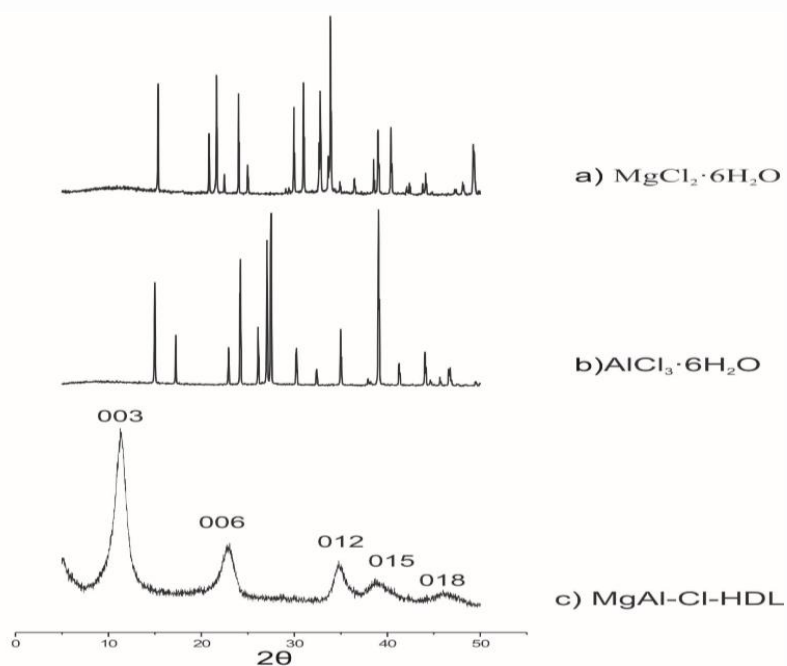
A síntese de MgAl-Cl-HDL e obtenção dos sistemas HDL:AZT aconteceram em pH 11, visando maior ionização do fármaco AZT, proporcionando maiores interações com o HDL. Na literatura as sínteses por coprecipitação de MgAl-Cl-HDL em pH constante, na maioria da vezes são realizadas em pH 10, no entanto em estudo Seron e Delorme (2008), evidenciaram que as sínteses realizadas entre pH 10 e 13,2 são capazes de formar os HDL, e em valores mais altos de pH, a cristalinidade é aumentada.

Dunge, Chakraborti e Singh (2004) realizaram testes de degradação forçada em amostras de AZT, e comprovaram a estabilidade desse fármaco em meio básico, através de estudos de hidrólise básica em NaOH 0,1 M, durante 72 horas. Por ser estável em pH básico o AZT pôde ser acrescentado no meio reacional da síntese de MgAl-Cl-HDL para obtenção dos sistemas, sem que houvesse a degradação do fármaco.

5.2 Difração de Raios-x

O MgAl-Cl-HDL (figura 10c) formou uma nova estrutura com características cristalinas totalmente diferentes dos seus respectivos precursores de síntese, o cloreto de magnésio e cloreto de alumínio (Figura 10a e 10b).

Figura 10: Difratoograma do MgAl-Cl-HDL e seus precursores de síntese.

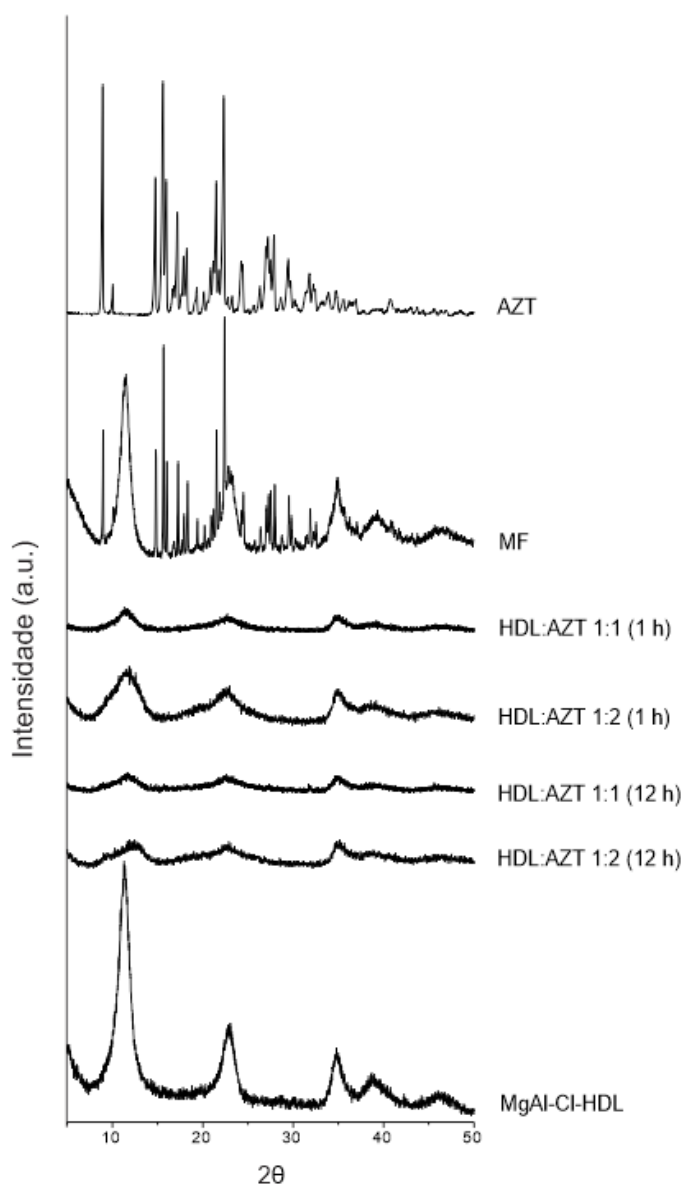


Fonte: Dados da pesquisa.

O difratograma do MgAl-Cl-HDL (figura 10c) apresenta picos em $2\theta = 11,3^\circ$, $22,8^\circ$, $34,8^\circ$, $38,6^\circ$ e 46° ; apresentando um espaçamento lamelar de $7,8 \text{ \AA}$, quando aplicada à lei de Bragg para o plano de maior intensidade, característico desse material (ÖZGÜMÜS et al., 2013; CUNHA et al., 2012; PERIOLI et al., 2011).

O difratograma do AZT (figura 11) demonstra o caráter cristalino do fármaco através de seus intensos picos, característico da molécula. Os picos mais acentuados, encontram-se em $2\theta = 8,8^\circ$, $15,4^\circ$, $17,1^\circ$, $21,3^\circ$, $22,2^\circ$, $26,8^\circ$, $27,8^\circ$ e $29,4^\circ$ característicos do fármaco (ARAÚJO et al., 2003; PANDA et al., 2013; MOHIMA et al., 2015).

Figura 11: Perfis difratométricos do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistemas HDL:AZT.



Fonte: Dados da pesquisa.

O difratograma da MF (figura 11) 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.

Nos sistemas HDL:AZT (figura 11), 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., 2015). 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 indícios de interação do fármaco com o HDL.

O fenômeno de intercalação normalmente se reflete em uma variação na posição do pico de maior reflexão do HDL, com aumento no espaçamento interlamelar. Esse evento não foi observado nos sistemas HDL:AZT obtidos (Tabela 5), uma vez que o valor do espaçamento basal do carreador não sofreu variações significativas, que represente o aprisionamento completo do fármaco nas lamelas do material (figura 12).

Tabela 5- Espaçamento basal do MgAl-Cl-MgAl e dos sistemas HDL:AZT obtidos.

Amostra	Pico (2θ)	Espaçamento Basal (Å)
MgAl-Cl-HDL	11,59	7,8
HDL:AZT 1:1 (1 h)	11,59	7,6
HDL:AZT 1:1 (12 h)	11,58	7,6
HDL:AZT 1:2 (1 h)	11,65	7,6
HDL:AZT 1:2 (12 h)	12,26	7,2

Fonte: Dados da pesquisa

Supõe-se que o AZT 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). Sendo necessária a utilização de técnicas complementares como IV, MEV, ressonância magnética nuclear, entre outras para elucidar tal fenômeno (VARGA et al., 2016).

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.

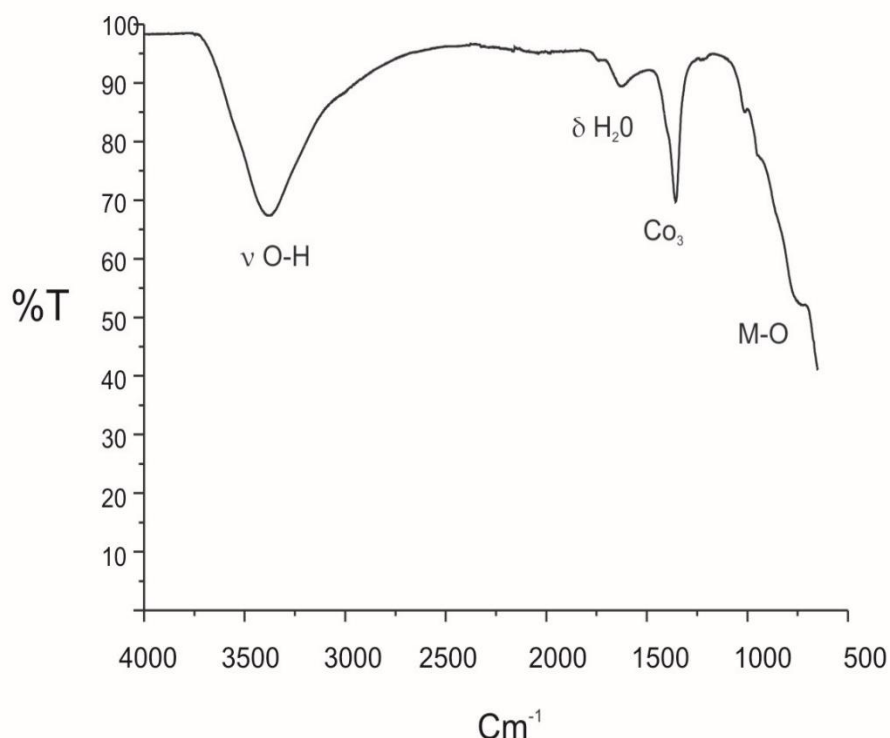
Estudos atuais mostram a capacidade que o HDL tem de intercalar pequenas biomoléculas, como fragmentos de DNA e RNA, e peptídeos; além de fármacos de baixo peso molecular. No entanto, devido ao espaço interlamelar restrito, pode ocorrer limitações no processo de intercalação de moléculas maiores. Dessa maneira, as grandes moléculas são fixadas na superfície do HDL. Estratégias visando o aumento da área de superficial do HDL podem ser categóricas para o carregamento e liberação de grandes biomoléculas (ZHANG et al., 2014).

5.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O espectro de absorção IV de $MgAl$ -Cl-HDL (figura 12) 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} e representa vibrações de deformação axial de O-H das hidroxilas e da água interlamelar.

Em 1627 cm^{-1} , observou-se a vibração de deformação angular das moléculas de água. As bandas referentes às ligações 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} , foi evidenciado uma banda afiada provavelmente associada à adsorção o íon carbonato, através do CO_2 atmosférico residual, no momento da síntese.

Figura 12: Espectro de IV do MgAl-Cl-HDL.



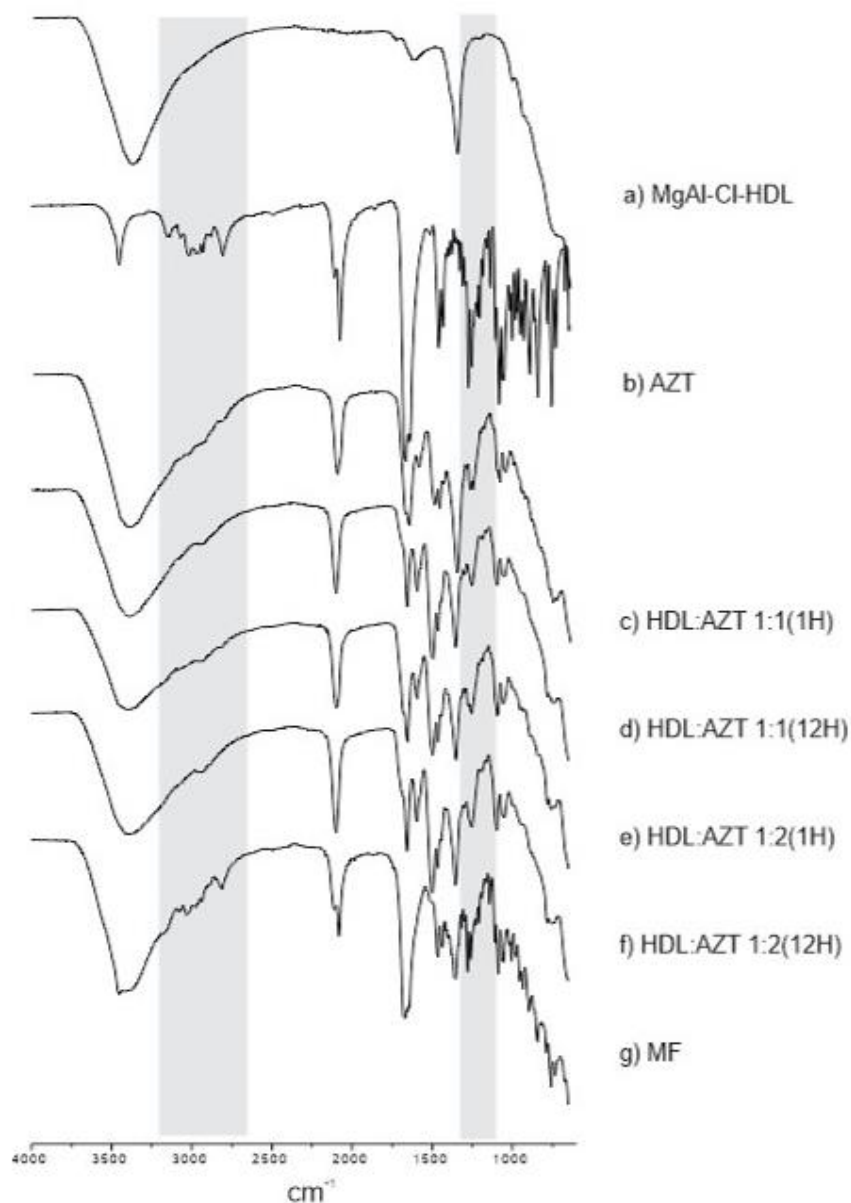
(Onde: *v = deformação axial; δ = deformação angular; M-O = Ligações metálicas)

Fonte: Dados da pesquisa.

O espectro de IV do AZT evidenciou bandas características do fármaco (figura 13b), 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 C=O ; vibração de estiramento de C-O do anel furano em 963 cm^{-1} .

No espectro IV da MF (figura 13g), foi possível notar que houve uma sobreposição das bandas do HDL e do AZT, não sendo evidenciadas alterações significativas nos picos característicos de ambas as amostras.

Figura 13: Espectros de IV do AZT, MgAl-Cl-HDL, MF e Sistema HDL:AZT.



Fonte: Dados da pesquisa.

Nos espectros IV dos sistemas HDL:AZT (figura 13b), foi possível notar algumas alterações importantes, que fortalecem informações obtidas no DRX, indicando interações 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 nos espectros dos sistemas HDL:AZT estão

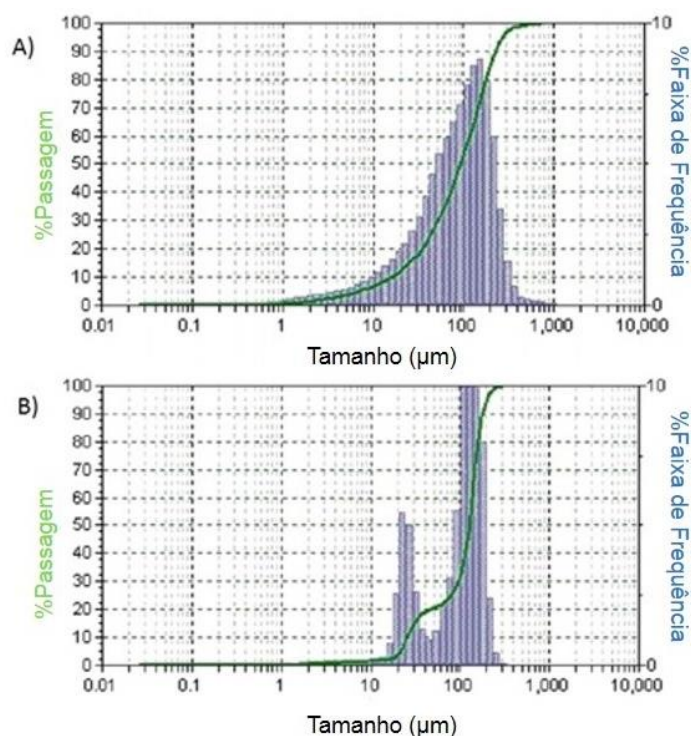
relacionadas, predominantemente, às ligações presentes no anel furano do AZT, mostrando que a interação entre o HDL e o AZT é predominantemente nesta região da molécula.

5.4 Análises de tamanho de partícula

As medidas de tamanho de partícula complementam os dados de caracterização estrutural do MgAl-Cl-HDL e AZT. Além das técnicas de imagem como o MEV, que indicam a morfologia dos materiais, as medidas de tamanho de partícula fornecem parâmetros de distribuição e homogeneidade do material isolado (CUNHA, 2012).

Os gráficos da distribuição granulométrica das amostras de MgAl-Cl-HDL e AZT estão representados pelas figuras 14a) e 14b). Os cristais de AZT apresentaram tamanho de partícula entre 25 e 195 μm , com tamanho médio de partícula de 115,5 μm . O MgAl-Cl-HDL apresentou tamanho partículas que variaram de 15 a 265 μm , e o tamanho médio de partícula em 112,2 μm .

Figura 14: Gráfico de tamanho de partícula por granulometria a laser de A) MgAl-Cl -HDL B) AZT.



Fonte: Dados da pesquisa.

5.5 Área superficial e tamanhos de poros

A porosidade e área superficial específica dos HDL são de grande importância para as propriedades adsorventes desse material, na literatura encontram-se valores de área superficial de 50 a 100 m²/g (DE ROY et al., 1991; CAVANI et al., 1991). A área superficial obtida para o MgAl-Cl-HDL foi de 82,5 m²/g, valor bem superior aos encontrados por Ambroggi e colaboradores (2007) e de Dupin e colaboradores (2004) para o MgAl-CO₃-HDL; apresentando valores de área superficial de 29.3m²/g e 31.3m²/g, respectivamente.

Diversos fatores podem influenciar nas propriedades de superfície dos HDL, entre eles, a velocidade de adição das soluções de sais no meio reacional, e a concentração das soluções utilizadas. Estes fatores afetam a coagulação, a forma e porosidade das partículas formadas, e assim têm influência sobre a área superficial do produto (REIS, 2009).

Quando ânions orgânicos estão envolvidos na síntese, a área superficial medida pode ser menor que a área superficial real, devido à adsorção destes ânions na superfície do material. Esse fenômeno foi observado nos sistemas HDL:AZT (Tabela 6), onde o fármaco está adsorvido no HDL. Para o HDL:AZT 1:1 (1 h), foi obtida a menor área superficial, de aproximadamente 38 m²/g, bem menor que os 83 m²/g, encontrados para o carreador sozinho.

Nas análises de porosidade, como pode-se observar na tabela 6, o MgAl-Cl-HDL apresentou um tamanho de poro de 47,01 Å, sendo caracterizado como material mesoporoso, por possuir poros entre 20 Å e 500 Å, seguindo a classificação da IUPAC (CIESLA et al., 1999).

O tamanho de poro não apresentou variação significativa entre o HDL isolado e os sistemas obtidos. Esses resultados corroboram com os resultados apresentados no DRX, onde não houve aumento do espaçamento lamelar, uma vez que o tamanho de poro sofre aumento quando o material encontra-se alojado entre as lamelas do material (ALI et al., 2012b). O volume de poro diminuiu nos sistemas em comparação ao MgAl-Cl-HDL, sendo um indicio da presença de fármaco nos poros.

Tabela 6- Resultados da análise, da área superficial, tamanho e volume de poros do MgAl-Cl-HDL e dos sistemas HDL:AZT obtidos

Amostra	Área de Superfície (método BET) (m².g⁻¹)	Volume de Poro (método BJH) (cm³.g⁻¹)	Tamanho do Poro (método BJH) (Å)
MgAl-Cl-HDL	83	0.11	47,010
HDL:AZT 1:1 (1 h)	38	0.03	46,849
HDL:AZT 1:1 (12 h)	73	0.06	48,683
HDL:AZT 1:2 (1 h)	73	0.06	47,687
HDL:AZT 1:2 (12 h)	104	0.08	47,228

Fonte: Dados da pesquisa

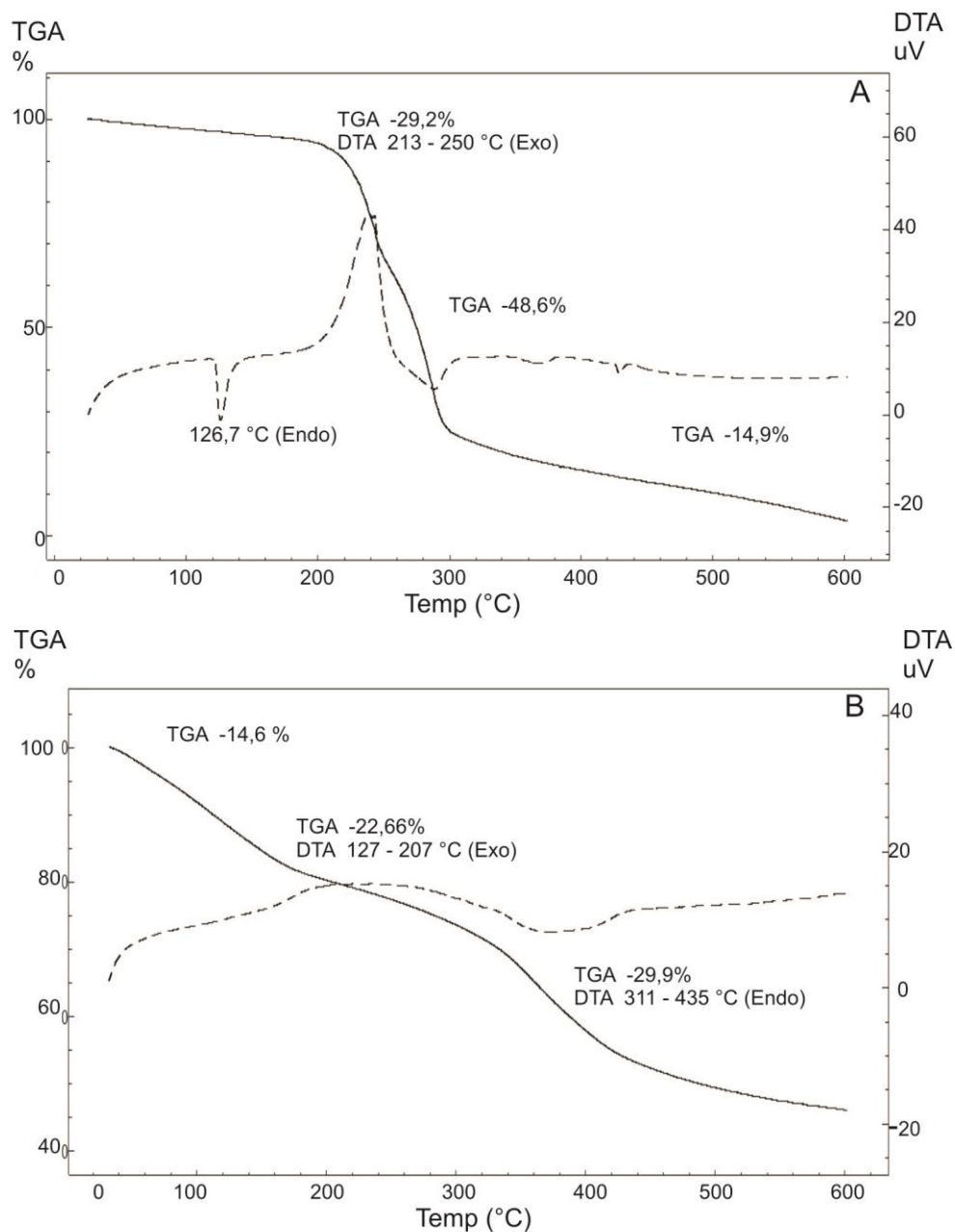
5.6 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

Na curva DTA do AZT (figura 15a), 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 a 250°C, referente à formação de timina (C₅H₆N₂O₂), seguido de clivagem do grupo azido (N₃) e liberação do anel 2-furanometanol do AZT (ARAÚJO et al., 2003).

Na curva TG do MgAl-Cl-HDL (figura 15b), 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

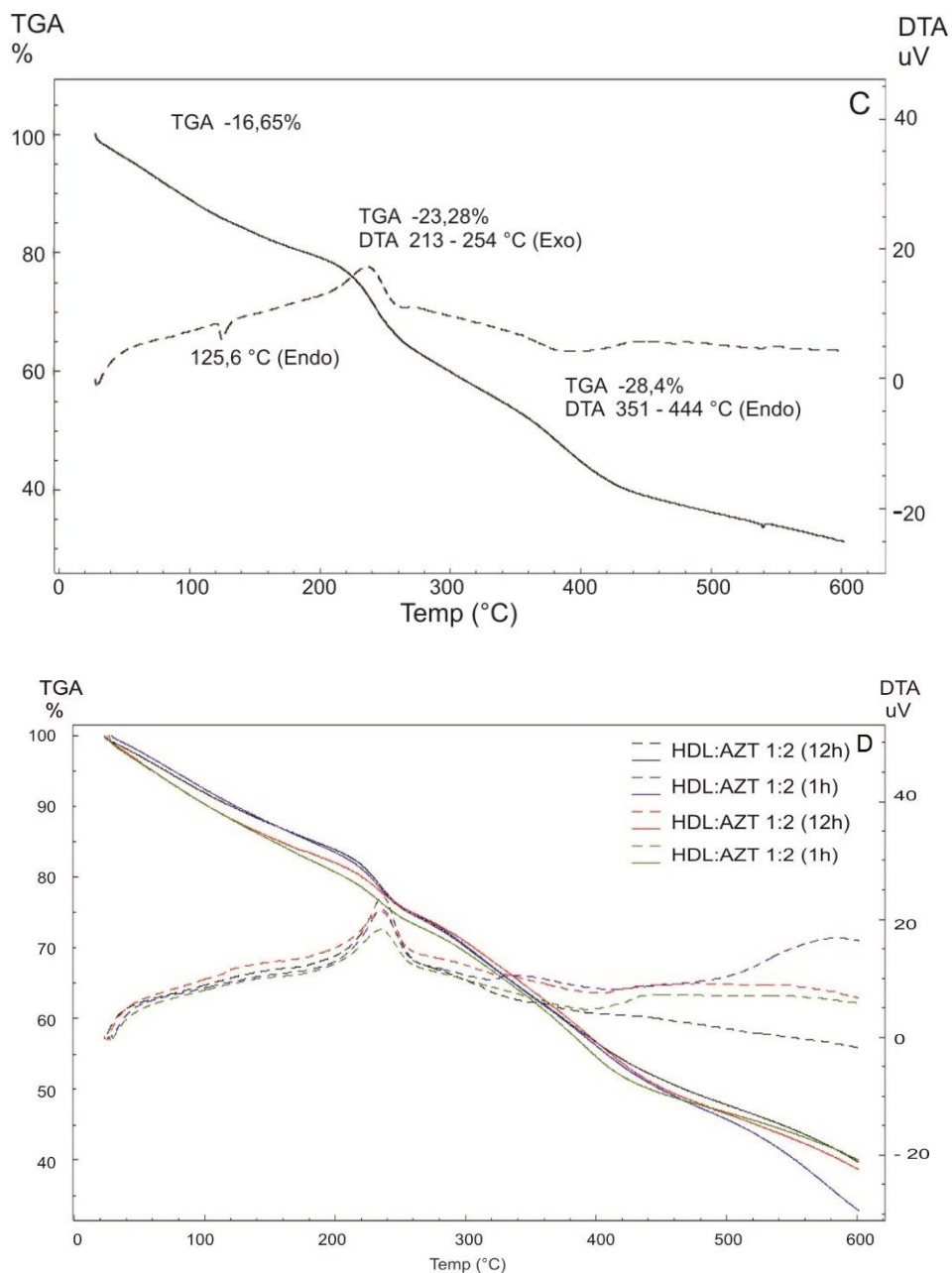
acompanhado de uma banda endotérmica na curva DTA, que localiza-se entre 127 - 207°C. No segundo evento, proveniente da desidroxilação e decomposição dos ânions de cloro, ocorre uma perda de massa de 29,9%; evento seguido de uma banda endotérmica no DTA, localizada entre 311 - 435°C (MIYATA, 1975; ÖZGÜMÜS et al., 2013).

Figura 15: Curvas TG/DTA do AZT (A), MgAl-Cl-HDL (B), MF (C) e Sistemas HDL:AZT (D).



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 16: Curvas TG/DTA da MF (C) e Sistemas HDL:AZT (D).



Fonte: Dados da pesquisa.

Na curva DTA da MF (figura 16C), 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 16C), 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 foi acompanhado de uma banda exotérmica entre 213 - 254°C. Entre 300 - 600°C, o AZT

permaneceu 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.

Nas curvas DTA dos sistemas HDL:AZT (figura 16D), foi possível observar a ausência do pico de fusão do AZT. A falta deste evento corrobora com os dados do DRX, onde os planos de difração, referentes ao AZT cristalino, não estavam evidentes na amostra. Os demais fenômenos ocorridos nas curvas TG/DTA dos sistemas, evidenciaram, assim como na MF, eventos provenientes de ambos os materiais, dentre eles, perda água superficial e interlamelar, degradação do AZT e decomposição das hidroxilas e íons cloreto do HDL, além da continuidade da decomposição do AZT, como descrito na tabela 7.

Tabela 7: Eventos evidenciados nas curvas TG/DTA dos sistemas HDL:AZT, com seus respectivos valores.

	TG (Perda de massa em %)			
	Água superficial (25-150°C)	Decomp. AZT + água interlamelar (150-260 °C)	Decomp. OH ⁻ /Cl ⁻ (260-460 °C)	Continuação Decomp. AZT (460-600 °C)
HDL:AZT (1:1) 1h	14,0	11,9	24,5	8,8
HDL:AZT (1:1) 12h	13,8	9,7	26,4	10,6
HDL:AZT (1:2) 1h	12,3	11,9	25,5	16,1
HDL:AZT (1:2) 12h	12,1	12,6	24,3	10,9
	DTA (ΔT)			
	Fusão do AZT	Evaporação da água superficial	Decomp. AZT	Decomp. OH ⁻ /Cl ⁻
HDL:AZT (1:1) 1h	Ausente	Suave (105-150 °C) endo	202-257 °C (exo)	301-437 °C (endo)
HDL:AZT (1:1) 12h	Ausente	Suave (134-149 °C) endo	210-254 °C (exo)	306-426 °C (endo)
HDL:AZT (1:2) 1h	Ausente	Suave (53-121 °C) endo	206-254 °C (exo)	290-407 °C (endo)
HDL:AZT (1:2) 12h	Ausente	Suave (60-167 °C) endo	211-254 °C (exo)	312-444 °C (endo)

Fonte: Dados da pesquisa.

5.7 Análise elementar

A composição química dos materiais foi avaliada pelas técnicas de ICP-OES, análise elementar CHN e TG. A tabela 8 apresenta o percentual dos elementos encontrados na amostra de MgAl-Cl-HDL. A partir destes valores, foi possível propor a fórmula química do composto, obtendo-se $\text{Mg}_{1,5}\text{Al}(\text{OH})_5\text{Cl} \cdot 3(\text{H}_2\text{O})$, com massa molar de 237,5.

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 médio da síntese de MgAl-Cl-HDL, que ficou em 86%.

Tabela 8: 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

Fonte: Dados da pesquisa.

A partir dos percentuais dos elementos CHN obtidos através da análise elementar dos sistemas HDL:AZT (tabela 9), e da elucidação prévia da fórmula química do MgAl-Cl-HDL isolado $[\text{Mg}_{1,5}\text{Al}(\text{OH})_5\text{Cl} \cdot 3(\text{H}_2\text{O})]$, foi possível calcular o percentual de AZT presente nos diferentes sistemas HDL: AZT obtidos.

Tabela 9: Composição química dos sistemas HDL:AZT obtidos por análise elementar CHN, e a concentração do fármaco em cada sistema.

	%C	%H	%N	%AZT
HDL:AZT 1:1 (1 hora)	13,70	4,13	7,10	27,10
HDL:AZT 1:1 (12 hora)	14,68	3,95	7,88	30,08
HDL:AZT 1:2 (1 hora)	17,54	4,34	9,72	37,10
HDL:AZT 1:2 (12 hora)	19,23	4,20	10,81	41,25

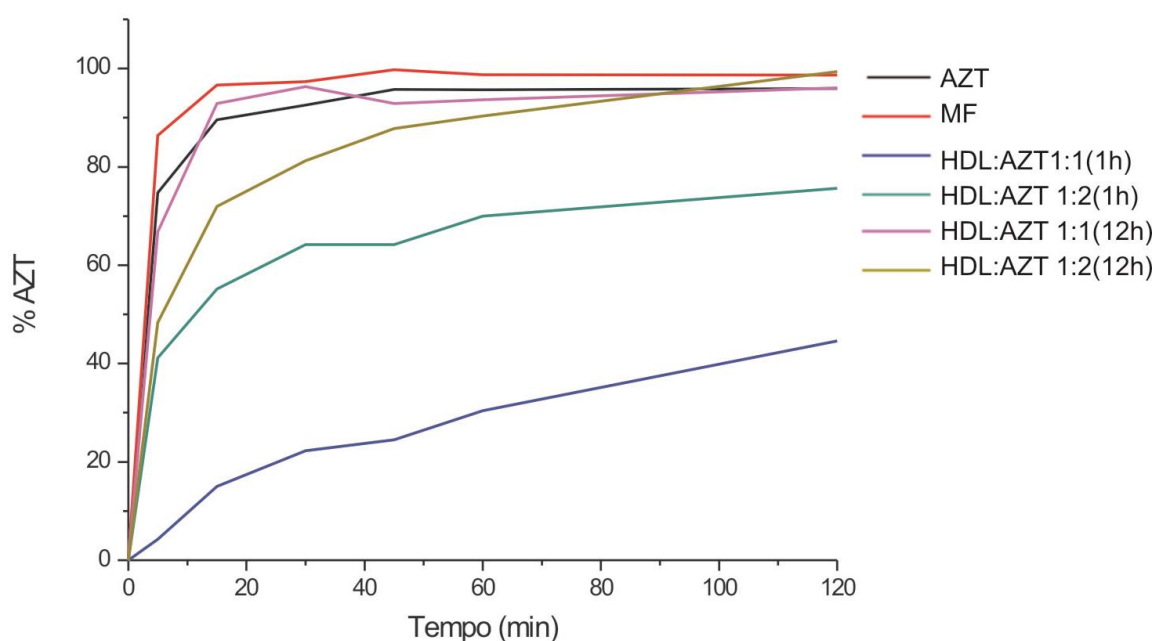
Fonte: Dados da pesquisa.

Dessa maneira, obteve-se um percentual de 27,1% de AZT no sistema HDL:AZT 1:1 (1 hora). Quando avaliadas as concentrações de fármaco nos sistemas obtidos a partir da variação dos parâmetros de obtenção, observou-se que o aumento do tempo de agitação, não aumentou a incorporação do AZT no sistema, de maneira significativa, havendo menos de 3 % de variação. O efeito do aumento da proporção molar do AZT no meio reacional, levou ao aumento superior a 10% na concentração de AZT nesses sistemas.

5.8 Estudo de liberação *in vitro*

Os perfis de liberação do AZT, da MF e dos sistemas HDL:AZT estão dispostos nas figuras 17 e 18. A figura 7 evidencia as primeiras duas horas de dissolução, onde em 30 minutos, observou-se uma rápida dissolução do AZT, MF e dos sistemas HDL:AZT 1:1(12h) e 2:1(12h), os quais apresentaram percentuais de AZT liberado de 92, 97, 96 e 81%, respectivamente. Neste mesmo ponto, os sistemas HDL:AZT 1:1(1h) e 2:1(1h) encontravam-se com 22 e 64% de AZT liberado, respectivamente.

Figura 17: Perfis de liberação do AZT isolado, MF, e sistemas HDL:AZT em 2 horas de dissolução.

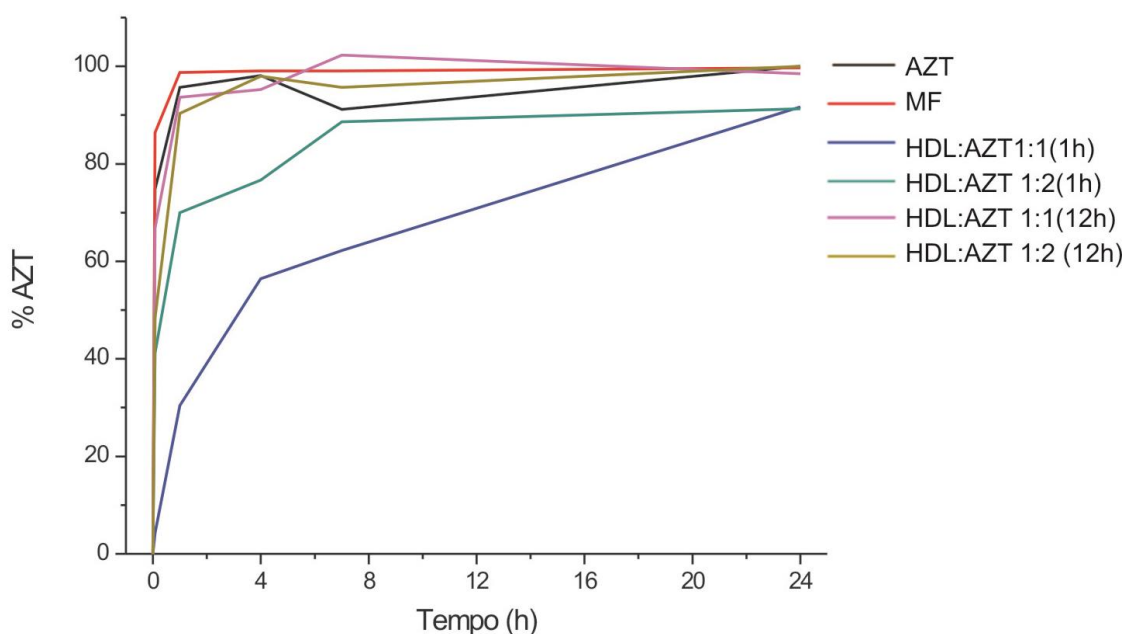


Fonte: Dados da pesquisa.

Após duas horas de dissolução, os sistemas HDL:AZT 1:1(1h) e 2:1(1h) atingiram 44% e 75% de liberação do AZT, demonstrando que nas primeiras horas, os sistemas obtidos através da síntese com apenas uma hora de agitação, apresentaram a capacidade de modular da liberação do fármaco.

Na figura 18 pode-se observar o perfil de dissolução de 24 horas de estudo, onde em 4 horas de estudo, os sistemas HDL:AZT 1:1(1h) e 2:1(1h) obtiveram 56% e 76% de liberação do AZT. No entanto, o HDL:AZT 1:1(1h), evidenciou um perfil típico de sistema de liberação prolongado, onde o fármaco é gradualmente liberado ao longo do tempo, atingindo até 24h de estudo, 90% de AZT solúvel no meio.

Figura 18: Perfis de liberação do AZT isolado, MF, e sistemas HDL:AZT em 24 horas de dissolução.



Fonte: Dados da pesquisa.

O aumento na concentração de fármaco no meio reacional e no tempo de agitação durante a síntese, aumentou a incorporação de fármacos no sistema, como demonstrado anteriormente, a partir do estudo da análise elementar. No entanto, o sistema HDL:AZT 1:1(1h) que apresentou menor concentração de fármaco dentre os sistemas obtidos, liberou o AZT prolongadamente de maneira mais efetiva.

Pressupõe-se que a adsorção do AZT na superfície do HDL tenha acontecido através de interações mais fortes para no HDL:AZT 1:1(1h), enquanto para os outros sistemas obtidos, com a variação nos parâmetros de síntese, a adsorção ocorreu de

maneira mais fraca, liberando e solubilizando rapidamente o fármaco no meio de dissolução.

Ao confrontar os resultados obtidos no estudo de dissolução com as análises de superfície dos materiais, e pode-se observar que o sistema que liberou de prolongadamente o fármaco, o HDL:AZT 1:1(1h) apresentou a menor área superficial e menor volume de poro, quando comparado aos outros sistemas obtidos, essas características estão relacionadas com a maior ocupação dos poros do HDL pelo AZT, e consequente redução da área superficial.

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.

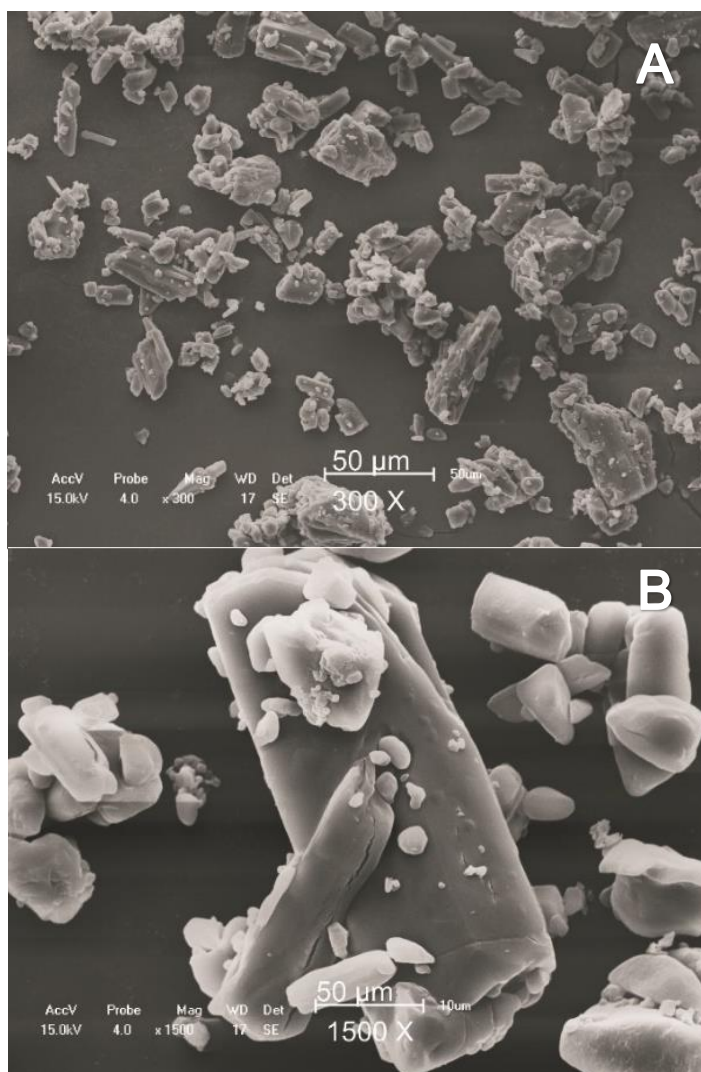
Na prática clínica, esta liberação gradual é responsável por manter a concentração plasmática em níveis terapêuticos, evitando níveis subterapêuticos ou tóxicos por período de tempo prolongado, requerendo administrações menos frequentes, quando comparadas às convencionais, aumentando a adesão do paciente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

5.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A fim de elucidar a morfologia, do sistema de liberação obtido, foram feitas análises de MEV, para as amostras de fármaco isolado, para o MgAl-Cl-HDL, MF e HDL:AZT 1:1(1h).

As fotomicrografias do AZT (figura 19), 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 19: Fotomicrografias do AZT, (A) aumento de 450 X, e (B) aumento de 2700 X.



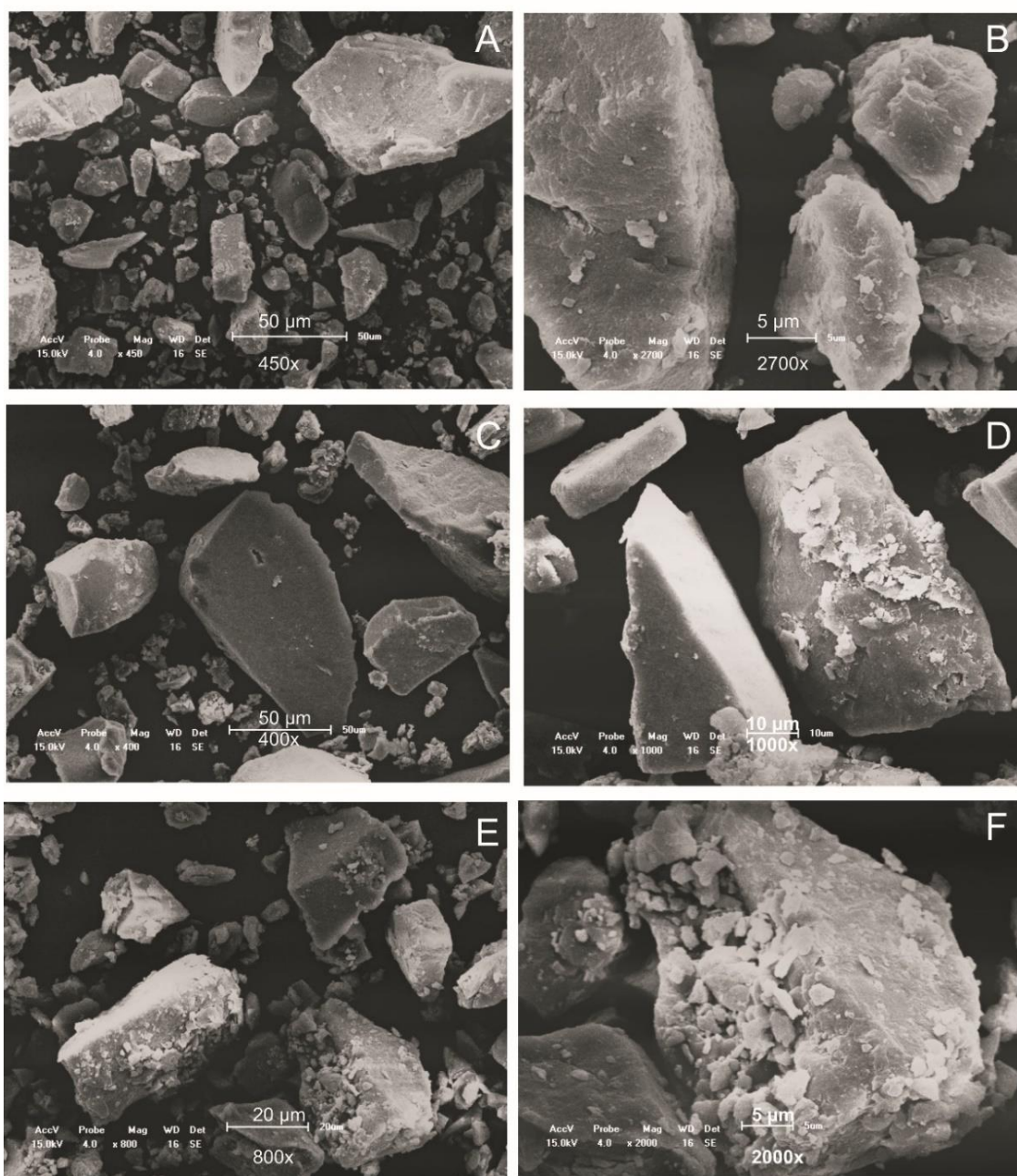
Fonte: Dados da pesquisa

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 20A e 20B), valores também encontrados na análise de tamanho de partícula. 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).

As fotomicrografias da MF (figura 20C e 20D) 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 1:1(1h) 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 .

Figura 20: MEV do MgAl-Cl-HDL (A e B), MF (C e D) e Sistema HDL:AZT 1:1(1h) (E e F).



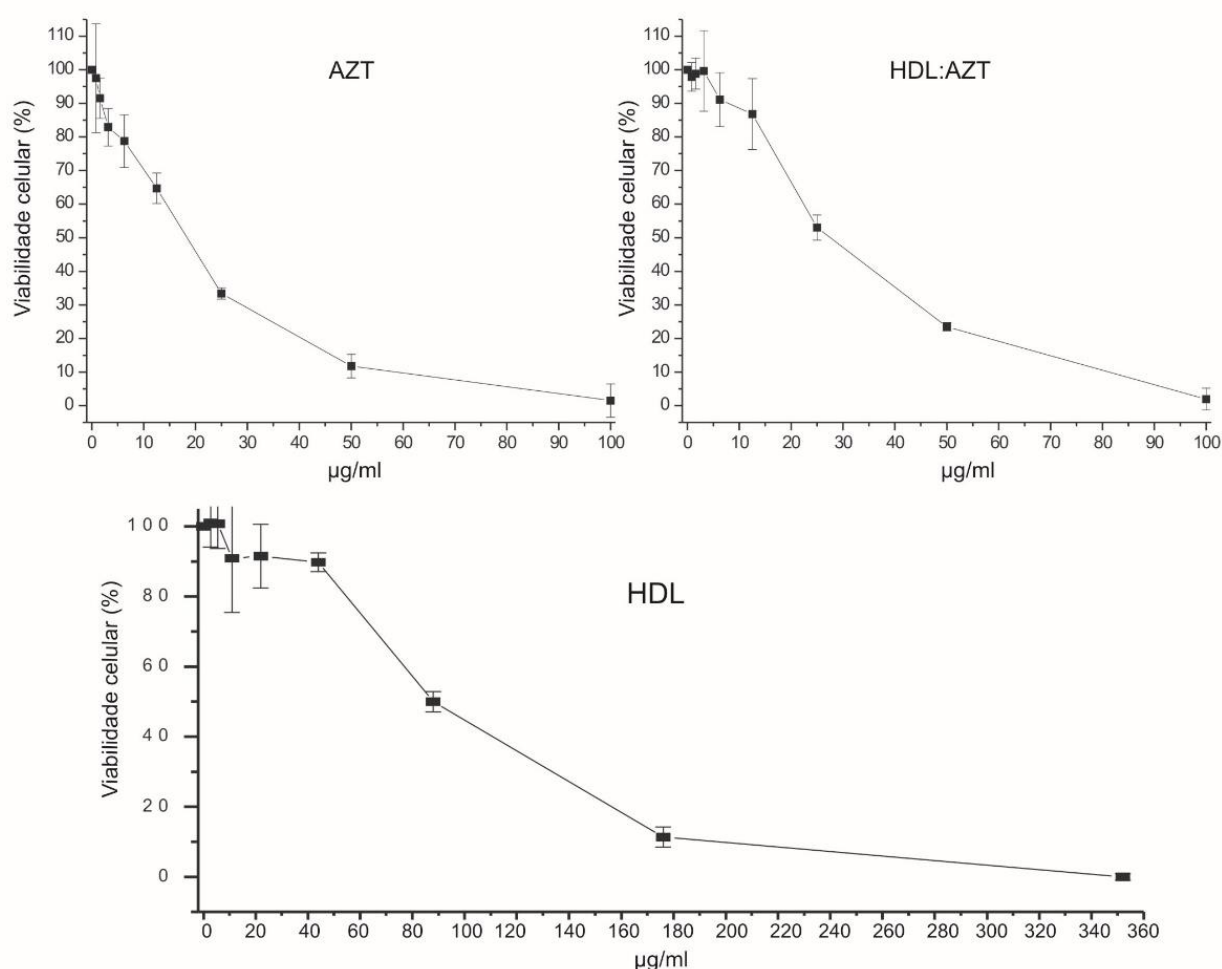
Fonte: Dados da pesquisa

5.10 Citotoxicidade em linhagem de macrófagos humanos

A citotoxicidade dos HDL, bem como dos sistemas de liberação obtidos através desses materiais, têm sido investigados em diferentes linhagens de células, devido ao extenso interesse em suas propriedades para aplicações médicas e biológicas em comparação com outras nanopartículas inorgânicas (BARAHUIE et al., 2014).

Os gráficos do estudo de viabilidade estão dispostos na figura 21. O AZT isolado apresentou valor de IC₅₀ de 17,7 µg/mL (16,4-19,1 µg/mL), enquanto o do sistema HDL:AZT 1:1(1h) 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 21: Viabilidade de macrófagos humanos frente a AZT, HDL e sistema HDL-AZT.



Fonte: Dados da pesquisa.

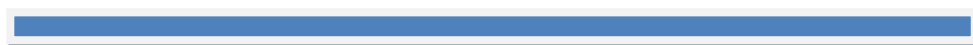
O MgAl-Cl-HDL apresentou IC₅₀ de 90,7 µg/mL (85,4-96,0 µg/mL), valor este, muito superior aos evidenciado pelo fármaco e sistema HDL:AZT, evidenciando a

segurança e biocompatibilidade do carreador, frente a células de macrófagos humanos.

Ali e colaboradores (2012a) realizaram estudo de citotoxicidade em células de Chang do fígado humano, dos sistemas entre o fármaco anti-histamínico cetirizina e Zn-Al-HDL ou Mg-Al-HDL, ambos os sistemas não mostraram qualquer efeito tóxico até 1000 ug / mL, e as viabilidades celulares foram de 74,5% e 91,9% para a cetirizina-Zn / Al-LDH e cetirizina-Mg / Al-LDH, respectivamente.

O efeito citotóxico do sistema antiparkinsoniano obtido a partir de levodopa intercalada em Zn-Al-HDL e do fármaco isolado, foram investigados através do ensaio de MTT em células de fibroblastos 3T3 normais. Os resultados mostraram o aumento da viabilidade celular de células expostas ao sistema obtido, em comparação com aqueles expostos a levodopa pura, após 72 horas de exposição (KURA, 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS



6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A síntese de MgAl-Cl-HDL foi obtida com êxito, gerando um composto com características adequadas para a sua natureza, quando comparado com trabalhos previamente descritos na literatura. A elevada área superficial apresentada proporciona uma ampla capacidade de adsorção, mostrando ser um material promissor para aplicação como carreador de fármacos e outras substâncias;
- As variações no tempo de envelhecimento e na concentração do fármaco no meio reacional levaram à uma incorporação maior de fármaco ao sistema, no entanto, foi observado que as elevações destas variáveis geraram sistemas com interações fármaco:HDL mais fracas, quando comparados ao sistema inicial HDL:AZT 1:1 (1 h), confirmado nos estudos de dissolução;
- O sistema HDL:AZT 1:1 (1 h) foi capaz de modular a liberação do AZT, proporcionando um perfil de liberação prolongada, onde foi liberado 90% do fármaco em 24 horas de dissolução;
- O MgAl-Cl-HDL demonstrou ser um carreador biocompatível, com baixa toxicidade, e capaz de diminuir a citotoxicidade do AZT frente a linhagem de macrófagos humanos, característica importante para a utilização desse material em produtos destinados a saúde humana;
- O sistema de liberação prolongada obtido, para o fármaco AZT, poderá ser utilizado em formulações farmacêuticas, no intuito de otimizar a terapia atual, com a possível diminuição da dosagem e frequência de administração, e consequente redução dos efeitos adversos, imprescindível para a adesão do paciente ao tratamento.

Como perspectivas para o projeto, pretende-se:

- Realizar estudo de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H dos sistemas obtidos, para melhor elucidar as interações ocorridas entre as moléculas dos sistemas obtidos;
- Realizar estudos de estabilidade do fármaco no sistema de liberação obtido;
- Desenvolver formulações sólidas orais a partir do melhor sistema de liberação.

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, 2012a.
- ALI, S.H.H.A.; AL-QUBAISI, M.; HUSSEIN, M.Z.; ISMAIL, M.; ZAINAL, Z.; HAKIM, M.N. Comparative study of Mg/Al- and Zn/Al-layered double hydroxide-perindopril erbumine nanocomposites for inhibition of angiotensin-converting enzyme. **International Journal of Nanomedicine**, v.7, p.4251–4262, 2012b.
- 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 enhance the stability of celecoxib in the amorphous form. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.66, p.253–259, 2007.
- ANTHONY, R.A.; PHILIP, C.A.; PETER, C.J.; LEONE, S. The adsorption behavior of C.I. Acid Blue 9 onto calcined Mg–Al layered double hydroxides, **Dyes Pigm.** v.81, p.103–112, 2009.
- 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.
- BARAHUIE, F.; HUSSEIN, M.Z.; FAKURAZI, S.; ZAINAL, Z. Development of Drug Delivery Systems Based on Layered Hydroxides for Nanomedicine. **Int. J. Mol. Sci.** v.15, p.7750-7786, 2014.
- BONINA, F. P.; GIANOSSO, M. L.; MEDICI, L.; PUGLIA, C.; SUMMA, V.; TATEO, F. Diclofenac-hydrotalcite: In vitro and in vivo release experiments. **Applied Clay Science**. v.41, p.165–171, 2008.
- BRASIL. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed., São Paulo: Atheneu, 2010.

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**. Brasília, 2013.

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 Crianças e Adolescentes**. Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Recomendações para profilaxia da transmissão vertical do HIV e terapia antirretroviral em gestantes**. Brasília, 2010.

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.

BRITO, A.M.; SOUSA, J.L.; LUNA, C.F.; DOURADO, I. Tendência da transmissão vertical de Aids após terapia antirretroviral no Brasil. **Rev Saúde Pública**. v.40, p.18-22, 2006.

CAVANI, F.; TRIFIRB, F.; VACCARI, A. Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications. **Catalysis Today**. v.11, n.2, p.173-301, 1991.

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.

CHAO, Y.F.; LEE, J.J.; WANG, S.L. Preferential adsorption of 2,4-dichlorophenoxyacetate from associated binary-solute aqueous systems by Mg/Al–NO₃ layered double hydroxides with different nitrate orientations, **J. Hazard. Mater.** v.165, p.846–852, 2009.

CHEMAXON. MarvinSketch, an advanced chemical editor for drawing chemical structures, queries and reactions. Disponível em: <https://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>. Acessado em: 20 de janeiro de 2016.

CHEN, S.L.; XU, Z.P.; ZHANG, Q.; MAX LU, G.Q.; HAO, Z.P.; LIU, S.M. Studies on adsorption of phenol and 4-nitrophenol on MgAl-mixed oxide derived from MgAl-layered double hydroxide. **Sep. Purif. Technol.** v.67, p.194–200, 2009.

CHOI, S.J.; OH, J.M.; PARK, T.; CHOY, J.H. Cellular toxicity of inorganic hydroxide nanoparticles. **J. Nanosci. Nanotechnol.** v.7, p.4017–4020, 2007.

CIESLA, U.; SCHUTH, F. Ordered mesoporous materials. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 27, p.131-149, 1999.

CLARK, S.J.; SAAG, M.S.; DECKER, W.D. et al. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. **N Eng J Med.** v.324, p.954-960, 1991.

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.

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.

COSTANTINO, U.; AMBROGI, V.; NOCCHETTI, M.; PERIOLI, L. Hydrotalcite-like compounds: Versatile layered hosts of molecular anions with biological activity. **Microporous and Mesoporous Materials.** v.107, p.149–160, 2008.

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 CLERCQ, E. Antiviral drugs: current state of the art. **J. Clin. Virol.** v.22, p.73-89, 2001.

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.; 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.

DUNGE, A.; CHAKRABORTI, A.K.; SINGH, S. Mechanistic explanation to the variable degradation behaviour of stavudine and zidovudine under hydrolytic, oxidative and photolytic conditions. **J Pharm Biomed Anal,** v.35, n.4, p. 965-970, 2004.

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.

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.

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.

GRANT, A.D.; COCK, K.M. ABC of AIDS HIV infection and AIDS in the developing world. **British Medical Journal**, London. v.322, p.1475-1478, 2001.

GROTTO, R. M. T.; PARDINI, M. I. M. C. Molecular biology of the HIV-1 and genetics of human resistance to AIDS. **Arq Ciênc Saúde**. v.13, n.3, p.61- 64, 2006.

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.

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

IIIAIK, 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.

IMAZ, I. et al. Coordination polymer particles as potential drug delivery systems. **Chemical communications**, v.46, p.4737–4739, 2010.

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.; JADHAV1, 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.

JAIME, S.V.; FRANCISCO, T.; JULIA, P.; JOSE, G.H.C.; RICARDO, G. Adsorption and photocatalytic degradation of phenol and 2,4 dichlorophenoxyacetic acid by Mg–Zn–Al layered double hydroxides, **Appl. Catal. B – Environ.** v.90, p.330–338, 2009.

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.

KOESTER, L.S. Tese de doutorado. 2003. Modulação da liberação de carbamazepina por meio de matrizes poliméricas de hidroxipropilmetilcelulose e β -ciclodextrina. **Faculdade de Ciências Farmacêuticas**, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

KRAMER, A.S.; LAZZAROTTO, A.R.; SPRINZ, A.; MANFROI, W.C. Alterações Metabólicas, Terapia Antirretroviral e doença Cardiovascular em idosos Portadores de HIV. *Arq Bras Cardiol*, v.93, n.5, p. 561-568, 2009.

KURA, A.U.; AL ALI, S.H.H.; HUSSEIN, M.Z.; FAKURAZI, S.; ARULSELVAN, P. Development of a controlled-release anti-parkinsonian nanodelivery system using levodopa as the active agent. **Int. J. Nanomed.** v.8, p. 1103–1110, 2013.

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. et al. 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.

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.

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

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.

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.I.].** 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.

MELO, E. B.; BRUNI, T. A.; FERREIRA, C. M. M. Inibidores da HIV-Integrase: Potencial abordagem farmacológica para tratamento da AIDS. **Quim. Nova**, v. 29, n.3, p.555-562, 2006.

MIRANDA, A. Evolução Natural da infecção por HIV – Aspectos clínicos. **Rev Port Clin Geral**. v.19, p.587-597, 2003.

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.

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.

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.

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.

PERNET, O.; YADAV, S.S.; NA, D.S. Stem cell-based therapies for HIV/AIDS. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.103, p.187-201, 2016.

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, **Ver Bras Farm.**, v.93, n.2, p.136-145, 2012.

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.

RANDAU, K.P.; MEIRA, J.L.; BRAGA, J.M.F.; MONTEIRO, D.M.; ROLIM-NETO, P.J. Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica para Antirretroviral Zidovudina (AZT)-Matéria-Prima. **Acta Farm. Bonaerense**, v.24, n.1, p.104-108, 2005.

REIS, M.J. Tese de doutorado.2009. Síntese e caracterização de hidróxidos duplos lamelares preparados na presença de polímeros orgânicos ou com macromoléculas intercaladas. USP, Ribeirão Preto, 2009.

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, J.V.; CARVALHO, L.A.E.B; PINA, M.E.S.R.T. O papel da Zidovudina na Erradicação da Transmissão Vertical da SIDA. **Lat. Am. J. Pharm.** v.27, n.2, p.303-313, 2008.

SEPKOWITZ, K. A. AIDS – the first 20 years. **N. Engl. J. Med.**, Boston. v.344, n.23, p.1764-1772, June 2001.

SERON, A.; DELORME F. Synthesis of layered double hydroxides (LDHs) with varying pH: A valuable contribution to the study of Mg/Al LDH formation mechanism. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**. v.69, p.1088–1090, 2008.

SIERRA, S.; KUPFER, B.; KAISE, R. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. **J. Clin. Virol.** v.34, p.233-244, 2005.

SILVA, F.E.S. Dissertação de mestrado. 2009. Avaliação da resistência genotípica ao Enfuvirtida em pacientes submetidos ao HAART. Fenotipagem virtual das cepas de HIV1 isolados de trinta e dois pacientes que apresentaram resistência aos antirretrovirais. USP, São Paulo, 2009.

SOUZA-JÚNIOR, P.R.B.; SZWARCOWALD, C. L.; BARBOSA-JÚNIOR, A.; CARVALHO, M.F.; CASTILHO, C.A. Infecção pelo HIV durante a gestação: Estudo-Sentinela Parturiente, Brasil, 2002. **Rev Saúde Pública**. v.38, n.6, p. 764-772, 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, 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.

UNAIDS- JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS. Global AIDS update 2016. Disponível em: http://www.who.int/hiv/pub/arv/global-AIDS-update-2016_en.pdf. Acessado em: 25 de junho de 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.

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.

WATTS, D.H.; BROWN, Z.A.; TARTAGLIONE, T.; BURCHETT, S.K.; OPHEIM, K., COOMBS, R.; COREY, L. Pharmacokinetic disposition of zidovudine during pregnancy. **J. Infect. Dis.** v.163, p. 226-232, 1991.

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.

WISSENT, V.V. et al. 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.

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.

XIA, S-J.; NI, Z-M.; XU, Q.; HU, B-S.; HU, J. Layered double hydroxides as supports for intercalation and sustained release of antihypertensive drugs. *Journal of Solid State Chemistry*, v.181, p.2610– 2619, 2008.

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, K.; XU, Z. P.; LU, J.; TANG, Z. Y.; ZHAO, H. J.; GOOD, D. A.; WEI, M. Q. Potential for Layered Double Hydroxides-Based, Innovative Drug Delivery Systems. **Int J Mol Sci.** v.15, n.5, p.7409–7428, 2014.

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.

ZHU, M.X.; LI, Y.P.; XIE, M.; XIN, H.Z. Sorption of an anionic dye by uncalcined and calcined layered double hydroxides: a case study, **J. Hazard. Mater.** v.120, p.163–171, 2005.

ANEXOS

ANEXOS

Anexo 1- 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