



**UNIVERSIDADE
DO BRASIL**
UFRJ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CIDE BRIZIO DANTAS

ESTUDOS DE ALTERNATIVAS PARA A OBTENÇÃO DE NOVOS
NANOSISTEMAS TERAPÊUTICOS PARA O COMBATE DE NEOPLASIAS
SISTÊMICAS

RIO DE JANEIRO

2009

Cide Brizio Dantas

ESTUDOS DE ALTERNATIVAS PARA A OBTENÇÃO DE NOVOS
NANOSISTEMAS TERAPÊUTICOS PARA O COMBATE DE NEOPLASIAS
SISTÊMICAS

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como requisitos parcial à obtenção do
título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Orientador:

Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral

Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica

RIO DE JANEIRO

2009

Ficha catalográfica

D192e Dantas, Cide Brizio.
Estudos de alternativas para a obtenção de novos nanosistemas terapêuticos para o combate de neoplasias sistêmicas / Cide Brizio Dantas ; orientador Lúcio Mendes Cabral . – Rio de Janeiro: UFRJ, 2009.
xvii, 88f. : il. col. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, 2009.
Inclui bibliografia.

1. Nanocompósito. 2. Argila. 3. Poliquart H. 4. 5-Fluorouracila
5. Doxazosina. I. Cabral, Lúcio Mendes. II. Título.

CDD 616.994

Cide Brizio Dantas

ESTUDOS DE ALTERNATIVAS PARA A OBTENÇÃO DE NOVOS
NANOSISTEMAS TERAPÊUTICOS PARA O COMBATE DE NEOPLASIAS
SISTÊMICAS

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como requisitos parcial à obtenção do
título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Aprovada em:

Orientador:

(Lúcio Mendes Cabral, DSc – UFRJ)

Banca examinadora:

(Marcelo de Pádula, DSc - UFRJ)

(Valéria Pereira de Sousa, DSc - UFRJ)

(Luiza Rosária Sousa Dias, DSc - UFF)

*“Deus fez o homem do barro,
e nós o utilizamos para promover a vida.”*

Cide Brizio Dantas

AGRADECIMENTOS

À Deus por me manter com saúde, por me dar forças para ultrapassar dos os obstáculos neste período e por ter me dado uma família maravilhosa.

Ao professor Lúcio Mendes Cabral pela orientação, pela paciência e compreensão nos momentos que não fiz o que deveria ser feito e por, principalmente, ter demonstrado ser um amigo além de orientador.

Agradecer a todos do Laboratório TIF, Carolina Pupe, Jaqueline Vilaça, Luiz Cláudio Rodrigues (Lula), Ana Paula Rodrigues, Arídio Mattos Júnior, Lidiane Mota, Flávia Almada, Michele Villardi, Alex Moura, Maísa Toledo, Thiago Honório, Marcos Giovani Rodrigues, Luiza Falcão, Daisy Melo, Túlio Elisiário, Karla Andrade, pois sem a ajuda, amizade e companheirismo de todos esse trabalho não teria sido tão bom de ser feito e quiçá poderia ter sido finalizado.

Aos meus primos, primas, tios e tias por serem compreensivos quando não comparecia a eventos familiares por estar estudando ou tendo que ficar até tarde no laboratório.

Aos meus amigos por serem relevantes e pacientes, sempre ouvindo meus desabafos sobre as coisas erradas da minha dissertação e vibrando comigo quando as notícias eram positivas, especialmente a Bruna Targa Coelho, Viviane Napoleão e Leonardo Rodrigues Cunha.

Aos meus pais pelo suporte financeiro e emocional, pela dedicação mais que exclusiva e por sempre demonstrarem seu amor por mim. Espero que com essa dissertação não se encerre apenas mais um ciclo da minha vida, mas também que eu possa, com isso, proporcionar mais um capítulo de orgulho na vida de meus pais.

RESUMO

Segundo dados da OMS, em 2007, o câncer acarretou em 7,9 milhões de mortes no mundo. Utilizando o conceito de nanotecnologia na área farmacêutica, tomou-se como objetivo deste trabalho, a produção de nanopartículas compostas de uma argila sódica (Montmorilonita sódica - MMTNa) e argila organofílica (Viscogel B8 - VB8) contendo moléculas do fármaco antineoplásico 5-fluorouracila (5-FU) ou doxazosina (DXZ) associados ou não ao polímero poliuretano H (PQH) com capacidade de otimizar suas atividades farmacológicas, por ser um polímero vetorial, de forma a serem depositadas preferencialmente nos tecidos neoplásicos. O 5-FU é um fármaco da classe dos antimetabólicos análogo da uracila, que inibe a timidilato sintetase, exercendo efeito citotóxico. A DXZ é um fármaco da classe de agentes diversos derivado da quinazolina, é um inibidor α -1-adrenérgico, induzindo apoptose das células cancerígenas da próstata. Com a preparação e caracterização destes novos sistemas, buscou-se avaliar a influência da inserção dos fármacos 5-FU e DXZ e do polímero PQH como agente de compatibilização em silicatos lamelares, buscando-se otimizar sua atividade antineoplásica com base no conceito de vetorização de fármacos, além de propor a sua utilização como um novo excipiente farmacêutico. Foi utilizada a metodologia de solução para a preparação dos silicatos lamelares intercalados, inicialmente com o uso de PQH em três diferentes proporções polímero / silicato (PQH x MMTNa ou VB8), isto é, (1:2, 1:1 e 2:1 [p/p]). Com os fármacos em estudo (5-FU e DXZ) apenas se investigou sua intercalação em MMTNa, variando-se a quantidade de fármaco utilizada em consonância com a capacidade de troca catiônica (CTC) da argila, empregando-se 60%, 80% e 100% da mesma. Todos os casos estudados foram caracterizados e observaram-se rendimentos de intercalação elevados evidenciando a formação destes novos nanocompósitos. Os quais se mostram como potenciais agentes

antineoplásicos vetorizados, além de serem qualificados como um excipiente farmacêutico promissor para a tecnologia de fabricação de sólidos orais.

ABSTRACT

According to WHO, in 2007, cancer has brought in 7.9 million deaths worldwide. Using the concept of nanotechnology in the pharmaceutical area, was taken as objective of this work, the production and characterization of nanoparticles composed of a sodium clay (sodium montmorillonite - MMTNa) and organoclay (Viscogel B8 - VB8) containing molecules of anticancer drugs as 5-fluorouracil (5-FU) or doxazosin (DXZ) associated or not with the polymer poliquart H (PQH) with ability to optimize its pharmacological activity, being a polycation vectorizante used in order to be deposited preferentially the nanocomposite in tumor tissue. The 5-FU is a drug class of antimetabolites analogue of uracil, that exerts cytotoxic effect by inhibiting thymidylate synthase. The DXZ is a drug class of agents of various quinazoline derivative, is a α -1-adrenergic receptor inhibitor, inducing apoptosis of prostate cancer cells. With the preparation and characterization of these new systems, we analyzed the influence of insertion of the drugs 5-FU and DXZ and polymer PQH as compatibilizing agents in lamellar silicates, seeking to optimize its antineoplastic activity based on the concept of drug vectorization. Was used the method of solution for the preparation of intercalated lamellar silicates, initially with the use of PQH in three different proportions polymer / silicate (PQH x MMTNa or VB 8), ie (1:2, 1: 1 and 2:1 [w / w]). With the studied drugs (5-FU or DXZ) only investigated the intercalation with MMTNa, varying the amount of drug used based in the cation exchange capacity (CEC) of clay, 60%, 80% and 100% of it. All studied cases were characterized and observed high yield intercalation showing the formation of these new nanocomposites. Which appear as potential antineoplastic drug delivery systems, addition to being qualified as a pharmaceutical excipient promising technology for manufacturing oral solid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1. Estimativas, para os anos 2008/2009, do número de casos novos de câncer, em homens e mulheres, segundo localização primária.	18
Figura 1. Secção transversal de um tumor vascularizado mostrando a diminuição da concentração de oxigênio (O ₂) em relação à distância capilar.	20
Quadro 2. Classificação dos Fármacos Antineoplásicos*.	21
Figura 2. Estrutura química do uracil (a) e do 5-fluorouracila (b) (adaptado de PURSER <i>et al</i> , 2008).	22
Figura 3. Estrutura molecular da doxazosina.	23
Figura 4. Estrutura química da molécula do poli quart H [®] , onde R = alquila; n = 10 - 20; m = 2 - 6 e; x = 2 - 4.	25
Figura 5. Esquema de como ocorre à distribuição da nanopartícula no tecido, onde (A) é o movimento de nanopartículas do sangue para o tumor e (B) o movimento de nano partículas do tumor para o fluxo sanguíneo.	26
Quadro 3. Algumas definições de nanotecnologia.	28
Figura 6. Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso; b) fármaco adsorvido à parede polimérica; c) fármaco retido na matriz polimérica; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica.	30
Figura 7. Resumo esquemático sobre os diversos arranjos das bicamadas dos lipossomas, (A) Vesícula unilamelar pequena; (B) Vesícula unilamelar grande e; (C) Vesícula multilamelar.	31
Figura 8. Representação esquemática das estruturas das microemulsões.	32
Figura 9. Estrutura dendrítica ramificada.	33
Figura 10. Representação esquemática da folhas tetraédrica e octaédrica, unidades estruturais das argilas minerais.	34
Quadro 4. Classificação sistemática das argilas minerais.	35
Quadro 5. Capacidade de troca catiônica (CTC) de aluminossilicatos.	35

Figura 11. Estrutura das esmectitas (2:1) mostrando duas camadas de silicato de alumínio com cátions sódio no espaço interlamelar.	36
Figura 12. Representação da hidratação da esmectita sódica e da esmectita cálcica.	37
Figura 13. Argila bentonítica seca e em meio aquoso.	37
Figura 14. Representação esquemática dos três casos mais comuns obtidos na interação Polímero + Argila Mineral e os resultados de difração de raio X (DRX) obtidos.	38
Figura 15. Processo de troca catiônica entre os íons alquilamônio e os cátions intercalados entre as lamelas da argila.	40
Figura 16. Orientações dos íons alquilamônio nas lamelas.	40
Figura 17. Fluxograma do processo de preparo e caracterização do nanocompósito.	46
Figura 18. Princípio da difração de raios X na argila.	52
Figura 19. Espectro de varredura do PQH.	58
Gráfico 1. Curva de calibração do PQH, sua respectiva equação da reta e o coeficiente de correlação calculado, localizado no quadro cinza a direita do gráfico.	59
Gráfico 2. Curva de calibração do 5-FU, sua respectiva equação da reta e o coeficiente de correlação calculado, localizado no quadro cinza a direita do gráfico.	60
Gráfico 3. Curva de calibração da DXZ, sua respectiva equação da reta e o coeficiente de correlação calculado, localizado no quadro cinza a direita do gráfico.	61
Figura 20. Difratoograma da VB8 pura.	62
Figura 21. Estrutura básica dos ionenos.	64
Figura 22. Difratoograma da MMTNa pura.	64
Figura 23. Difratoogramas das reações de intercalação de PQH com MMTNa pi na proporção 1:1 (p/p) nos 7 tempos reacionais diferentes, comparados com o difratograma da MMTNa pura.	65
Figura 24. Difratoogramas das reações de intercalação de PQH com MMTNa pi na proporção 1:2 (p/p) nos 7 tempos reacionais diferentes, comparados com o difratograma da MMTNa pura.	65

- Figura 25.** Difratoformas das reações de intercalação de PQH com MMTNa pi na proporção 2:1 (p/p) nos 7 tempos reacionais diferentes, comparados com o difratograma da MMTNa pura. 65
- Figura 26.** Difratoformas das reações de intercalação de PQH com MMTNa pi na proporção 1:1 (p/p) das triplicatas, comparados com o difratograma da MMTNa pura. 67
- Figura 27.** Espectro de FTIR da MMTNa, PQH, MF PQH com MMTNa e do nanocompósito PQH:MMTNa. 69
- Figura 28.** Termograma de ATG da MF de PQH:MMTNa e do nanocompósito de PQH:MMTNa. 70
- Figura 29.** Difratoformas das reações de intercalação de 5-FU com MMTNa pi nas proporções de 100, 80 e 60% da CTC comparados com o difratograma da MMTNa pura. 71
- Figura 30.** Difratoforma da montmorilonita (preto) e do compósito 5-FU com montmorilonita (cinza). 72
- Figura 31.** Espectro de FTIR da MMTNa, 5-FU, MF 5-FU com MMTNa e do nanocompósito 5-FU:MMTNa. 73
- Figura 32.** Espectro de FTIR da montmorilonita (MMT) do 5-FU e do compósito de 5-FU com MMT (5-FU:MMT) (AKALIN; AKYUZ; AKYUZ, 2007). 74
- Figura 33.** Espectro de FTIR da MMT do 5-FU e do compósito de 5-FU:MMT (LIN *et al*, 2001). 74
- Figura 34.** Difratoformas das reações de intercalação de DXZ com MMTNa pi nas proporções 100, 80 e 60% da CTC da MMTNa no tempo reacional de 18 h comparados com o difratograma da MMTNa pura. 76
- Figura 35.** Difratoformas das reações de intercalação de DXZ com MMTNa pi nas proporções 100, 80 e 60% da CTC da MMTNa no tempo reacional de 24 h comparados com o difratograma da MMTNa pura. 76
- Figura 36.** Difratoformas das reações de intercalação de DXZ com MMTNa pi nas proporções 100, 80 e 60% da CTC da MMTNa no tempo reacional de 48 h comparados com o difratograma da MMTNa pura. 77
- Figura 37.** Difratoformas das reações de intercalação de DXZ com MMTNa pi na proporção de 80% da CTC das triplicatas comparadas com o difratograma da MMTNa pura. 77

- Figura 38.** Espectro de FTIR da MMTNa, DXZ, MF DXZ com MMTNa e do nanocompósito DXZ:MMTNa. 78
- Figura 39.** (a) diferenças entre as formas polimórficas em toda a região espectral da DXZ; (b) bandas características no espectro FTIR das formas polimórficas. 79
- Figura 40.** Confômero mais estável do fármaco DXZ obtido por análise conformacional em vácuo. 81
- Figura 41.** Curva de ACVD da MF DXZ:MMTNa, da MF PQH:MMTNa + DXZ e do nanosistema PQH:MMTNa + DXZ. 82
- Figura 42.** Evidência da estrutura lamelar do novo nanomaterial combinado DXZ:PQH:MMTNa (setas). 82
- Figura 43.** Condição dos comprimidos após 30 segundos do teste de inchamento dinâmico, onde: (A), (B) e (C) são comprimidos de 1PQH:1MMTNa em meio aquoso, SGS e SES, respectivamente e (D), (E) e (F) são comprimidos de MMTNa em meio aquoso normal, SGS e SES, respectivamente. 84
- Figura 44.** Gráfico de viabilidade celular onde (T = 0) solução controle, (C1) DMEN + 1% SFB, (C2) DMEN + 10% SFB, (T1) DXZ, (T2) PQH:MMTNa+DXZ, (T3) PQH:MMTNa e (T4) DXZ:MMTNa. 86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados da curva de calibração do PQH.	59
Tabela 2. Dados da curva de calibração do 5-FU.	60
Tabela 3. Dados da curva de calibração do DXZ.	61
Tabela 4. Análise de DRX das intercalações de PQH:VB8.	62
Tabela 5. Análise de DRX das intercalações de PQH:MMTNa pi e seus rendimentos (%).	66
Tabela 6. Análise de DRX das triplicatas de PQH:MMTNa pi, no melhor ponto obtido, e seus rendimentos (%) em 30 minutos de intercalação com desvia padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR).	67
Tabela 7. Atribuições prováveis dos grupamentos funcionais do PQH dos modos vibracionais IR correspondentes.	68
Tabela 8. Análise de DRX das intercalações de 5-FU:MMTNa pi e seus rendimentos (%) em 24 h.	71
Tabela 9. Análise de DRX das reações de intercalação entre DXZ:MMTNa pi e seus rendimentos (%).	76
Tabela 10. Análise de DRX das triplicatas de DXZ:MMTNa pi, no melhor ponto obtido, seus rendimentos (%) em 18 h de intercalação com desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR).	77
Tabela 11. Análise de DRX das triplicatas do nanosistema PQH:MMTNa + DXZ, e seus rendimentos (%) em 18 h de intercalação com desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR).	81
Tabela 12. Dados utilizados para os estudos de intumescimento.	83
Tabela 13. Dados da absorção dinâmica de água do VB8.	84
Tabela 14. Dados e condições do estudo das características de compactação dos comprimidos de MMT e do nanocompósito intercalado de PQH:MMTNa.	85

LISTA DE ABREVIATURAS**5-FU:** 5-fluorouracila**ACVD:** Análise calorimétrica de varredura diferencial**ATG:** Análise termogravimétrica**CTC:** Capacidade de troca catiônica**DHT:** Dihidrotestosterona**DMEM:** Meio essencial mínimo modificado por Dulbecco**DP:** Desvio Padrão**DRX:** Difração de raios X**DXZ:** Doxazosina**HPB:** Hiperplasia prostática benigna**IV:** Infravermelho**MF:** Mistura física**MMTNa:** Montimorilonita sódica**MTT:** brometo de 3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio**pi:** pré intumescida**PQH:** Poliquart H**SES:** Suco entérico simulado**SFB:** Soro fetal bovino**SGS:** Suco gástrico simulado**VB8:** Viscogel B8

SUMÁRIO

1 Introdução	18
1.1 Câncer	18
1.2 Terapia Clássica do Câncer	20
1.3 Técnicas para otimização da atividade farmacológica de fármacos antineoplásicos	24
1.3.1 Vetorização de fármacos	24
1.3.1.1 Nanotecnologia	27
1.3.1.2 Nanopartículas	29
1.3.1.3 Lipossomos e Microemulsões	30
1.3.1.4 Dendrímeros	32
1.4 Nanocompósitos de silicatos lamelares	33
1.4.1 Argilas Minerais	33
1.4.2 Organoargilas	39
2 Objetivos	42
2.1 Objetivo Geral	42
2.2 Objetivos Específicos	42
3 Material e Métodos	43
3.1 Material	43
3.1.1 Equipamentos:	43
3.1.2 Matérias-primas e reagentes:	43
3.2 Métodos	44
3.2.1 Preparo de montmorilonita pré-intumescida (MMTNapi)	44
3.2.2 Procedimento geral de preparação e caracterização de nanocompósitos	44
3.2.3 Preparo dos nanocompósitos do polímero PQH com os silicatos lamelares	47

3.2.4	Preparo dos nanocompósitos de 5-FU com a MMTNa pi	47
3.2.5	Preparo dos nanocompósitos do fármaco DXZ com a MMTNa pi	48
3.2.6	Preparação de nanosistemas combinado polímero (PQH) / silicato lamelar (MMTNa pi) / fármaco (DXZ)	48
3.2.7	Caracterização dos nanocompósitos de polímeros ou fármacos com silicatos lamelares preparados	49
3.2.7.1	Procedimento geral para o isolamento e análise do material obtido	49
3.2.7.2	Preparo das retas de calibração	50
3.2.7.3	Difração de Raios X (DRX)	50
3.2.7.4	Análise de espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR)	52
3.2.7.5	Análise calorimétrica de varredura diferencial (ACVD)	53
3.2.7.6	Análise termogravimétrica (ATG)	53
3.2.7.7	Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	54
3.2.8	Estudo da funcionalidade do novo nanocompósito PQH/silicato lamelar	55
3.2.8.1	Preparo dos comprimidos para teste de intumescimento	55
3.2.8.2	Estudos de Intumescimento/Inchamento Dinâmico (Dynamic Swelling)	56
3.2.8.3	Estudo das características de compactação	56
3.2.8.4	Teste de viabilidade celular	56
4	Resultados e Discussão	58
4.1	Preparo das retas de calibração	58
4.1.1	Curva de calibração do PQH	58
4.1.2	Curva de calibração do 5-FU	59
4.1.3	Curva de calibração do DXZ	60
4.2	Caracterização dos nanocompósitos preparados	61

4.2.1 Nanocompósitos de PQH com VB8	61
4.2.2 Nanocompósitos de PQH com MMTNa pi	63
4.2.3 Nanocompósitos de 5-FU com MMTNa pi	70
4.2.4 Nanocompósitos de DXZ com MMTNa pi	75
4.2.5 Nanosistema composto de nanocompósito PQH:MMTNa: DXZ	80
4.2.6 Avaliação de uso do nanocompósito PQH:MMTNa como excipiente farmacêutico (caracterização adicional)	83
4.2.6.1 Estudos de Intumescimento/Inchamento Dinâmico	83
4.2.6.2 Estudo das características de compactação	85
4.2.6.3 Teste de viabilidade celular	85
5 Conclusão	87
6 Perspectiva	88
Referências	89

1 Introdução

1.1 Câncer

Segundo dados da OMS, em 2007, o câncer acarretou 7,9 milhões de mortes, aproximadamente 13% do total de mortes relatadas em todo o mundo. Os cânceres de pulmão, estômago, fígado, cólon e de mama causam a maior parte dos óbitos por ano. No Brasil, as estimativas para 2008, válidas também para o ano de 2009, apontam que ocorrerão mais de 466 mil novos casos de câncer. Estima-se que o câncer de pele do tipo não melanoma será o mais incidente na população brasileira, seguido pelos tumores de próstata, de mama feminina, de pulmão, de cólon e reto, de estômago e de colo do útero, como evidenciado no quadro 1 (INCA, 2007).

Quadro 1. Estimativas, para os anos 2008/2009, do número de casos novos de câncer, em homens e mulheres, segundo localização primária.* (INCA, 2007)

Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativa de casos novos		
	Masculino	Feminino	Total
Próstata	49.530	-	49.530
Mama Feminina	-	49.400	49.400
Traquéia, Brônquio e Pulmão	17.810	9.460	27.270
Cólon e Reto	12.490	14.500	26.990
Estômago	14.080	7.720	21.800
Colo do Útero	-	18.680	18.680
Cavidade Oral	10.380	3.780	14.160
Esôfago	7.900	2.650	10.550
Leucemias	5.220	4.320	9.540
Pele Melanoma	2.950	2.970	5.920
Outras Localizações	55.610	62.270	117.880
Subtotal	175.970	175.750	351.720
Pele não Melanoma	55.890	59.120	115.010
Todas as Neoplasias	231.860	234.870	466.730

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

Uma célula normal passa por várias fases no seu ciclo celular, que é regulado de forma rígida por genes controladores do ciclo. Uma célula que dará origem ao câncer, diferente de uma célula normal, é independente desse controle, sendo necessário um acúmulo de mutações nos cromossomos para sua transformação em célula cancerosa (SOUTO, FALHARI & CRUZ, 2005). O tumor é um aglomerado de células cancerosas, podendo ser de dois tipos: benigno e maligno. No primeiro caso, o câncer se

desenvolve onde se originou o tumor, não atingindo outros tecidos e no segundo caso, uma célula cancerosa se desprende do tumor atingindo a corrente sanguínea e, desta maneira, o tumor se torna capaz de invadir outros tecidos do corpo, causando a chamada metástase (LOPES, OLIVEIRA & PRADO, 2002). Um aglomerado de células tumorais obtém nutrientes para o crescimento por difusão passiva até atingir um tamanho de cerca de 2 mm^3 . Após este estágio, para continuarem crescendo é necessária a formação de vasos sanguíneos para se nutrirem (angiogênese). Uma variedade de sinais biológicos, enviados pelo tumor, dá início a angiogênese tumoral. Os vasos sanguíneos formados para a nutrição do tumor são anormais, havendo ramificações aberrantes, possuindo grande porosidade e tortuosidade no tecido endotelial. No entanto, o tumor se desenvolve rapidamente. Observa-se então maior permeabilidade à passagem de moléculas pela parede do vaso para o interstício circundante das células tumorais (HALEY & FRENKEL, 2008).

O tumor vascularizado é estruturado, morfológicamente, da seguinte maneira:

- a) células bem oxigenadas, próximas aos vasos sanguíneos, em constante proliferação;
- b) células necróticas, no centro do tumor, distantes da vascularização e;
- c) células em hipóxia, localizada entre as células oxigenadas e necróticas, pois estão numa área de baixa oxigenação, ilustração representada na figura 1 (OLIVEIRA & ALVES, 2002).

Quando as taxas de proliferação e de necrose celular forem iguais, significará que o tumor alcançou seu tamanho máximo. Para continuar crescendo o tumor estimulará uma nova cascata de angiogênese (BRANNON-PEPPAS & BLANCHETTE, 2004).

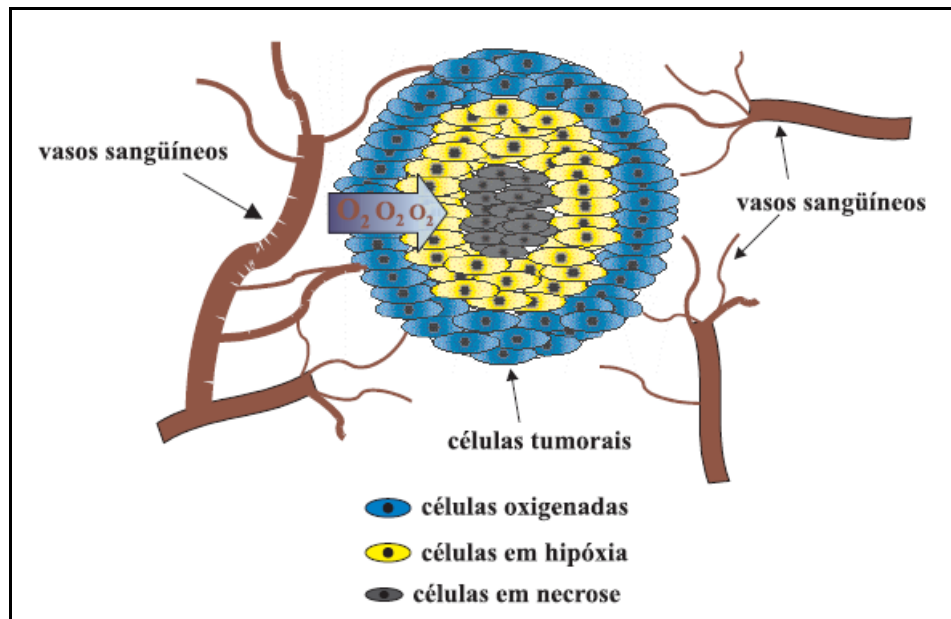


Figura 1. Seção transversal de um tumor vascularizado mostrando a diminuição da concentração de oxigênio (O_2) em relação à distância capilar (OLIVEIRA & ALVES, 2002).

Os tamanhos dos espaços entre as células endoteliais dos vasos gerados na angiogênese variam entre 100 a 780nm, dependendo do tipo de tumor, sendo que a variação normal, entre as células epiteliais dos vasos, é de 5 a 10nm (HALEY & FRENKEL, 2008).

1.2 Terapia Clássica do Câncer

O tratamento clássico do câncer envolve diversas estratégias como a quimioterapia, a cirurgia e a radioterapia. O objetivo da quimioterapia e da radioterapia é impedir a proliferação e destruir as células tumorais, que são mais susceptíveis à morte por possuírem uma maior velocidade de crescimento do que as células saudáveis. A cirurgia, por sua vez, é utilizada para a retirada de tecidos neoplásicos localizados (BRANNON-PEPPAS & BLANCHETTE, 2004; RANG e colaboradores, 2004).

A quimioterapia é um tratamento a base de fármacos citotóxicos e sua eficácia é limitada pela toxicidade desses fármacos que não apresentam seletividade total para as células tumorais. As neoplasias malignas que são, normalmente, tratadas por quimioterápicos, apresentam alta percentagem de células em processo de divisão. No entanto, os tumores sólidos apresentam uma divisão celular lenta, conseqüentemente,

respondem pouco aos agentes quimioterápicos. Os tumores sólidos representam mais de 90% de todos os tipos de câncer que acometem o homem (OLIVEIRA & ALVES, 2002).

Alguns fármacos antineoplásicos estão exemplificados no quadro 2, e pela dificuldade de se atingir a concentração terapêutica necessária no sítio do tumor pelo período de tempo desejado sem que o fármaco cause efeitos adversos em outros órgãos enquanto circula pelo organismo (CHAWLA & AMIJI, 2002; JAIN, 2008), sua formulação passa a ser considerada como um desafio de grande relevância.

Quadro 2. Classificação dos Fármacos Antineoplásicos (MARTINS, 2004).

<i>Classe de antineoplásicos</i>	<i>Exemplos de fármacos</i>
Agentes alquilantes	Ciclofosfamida, clorambucila, ifosfamida, melfalano, carmustina, fotemustina, lomustina, bussulfano, dacarbazina
Antimetabólitos	Metotrexato, raltitrexato, capecitabina, citarabina, 5-fluorouracila, gencitabina, cladribina, fludarabina, mercaptopurina, tioguanina
Compostos de platina	Carboplatina, cisplatina, oxaliplatina
Antibióticos	Bleomicina, doxorubicina, daunorubicina, dactinomicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina
Produtos vegetais	Vincristina, vimblastina, etoposido, teniposido
Hormônios e análogos	Dexametasona, prednisona, tamoxifeno
Agentes diversos	Aminoglutetimida, asparaginase, tretinoína, procarbazina, interferona α e β , interleucina-2

Os principais efeitos adversos relacionados à quimioterapia são: perda do apetite, êmese, trombocitopenia, úlceras, anemia, dores abdominais, diarreia e alopecia (SITZIA, HUGHES & SOBRIDO, 1995)

As novas alternativas tecnológicas visam matar células cancerígenas tem como um dos seus objetivos maiores poupar as células normais. Para alcançar este objetivo, se foca o desenvolvimento de novos sistemas de liberação, tanto para fármacos já existentes quanto para novos, buscando definir melhores alvos terapêuticos em relação à alterações moleculares nas células cancerosas e sua vascularização (HALEY &

FRENKEL, 2008). Uma variedade de estratégias tem sido investigada para aumentar a seletividade anti-tumoral de fármacos, incluindo anticorpos, lipossomas e moléculas transportadoras ao sítio alvo ou no ambiente de tumores, baseados no conceito de vetorização de fármacos (TATTERSALL & CLARKE, 2003; ABRAHAM & WALUBO, 2005).

Na classe dos antimetabólitos destaca-se o 5-Fluorouracila (5-FU), pois foi o primeiro fármaco sintetizado da classe dos fármacos antineoplásicos que possuem pelo menos um átomo de flúor em sua estrutura. O 5-FU é um fármaco análogo a uracila (a figura 2 mostra os dois compostos, 5-FU e o uracila), que possui um átomo de flúor inserido no carbono da posição 5 do grupo uracil no lugar do hidrogênio (PURSER e colaboradores, 2008).

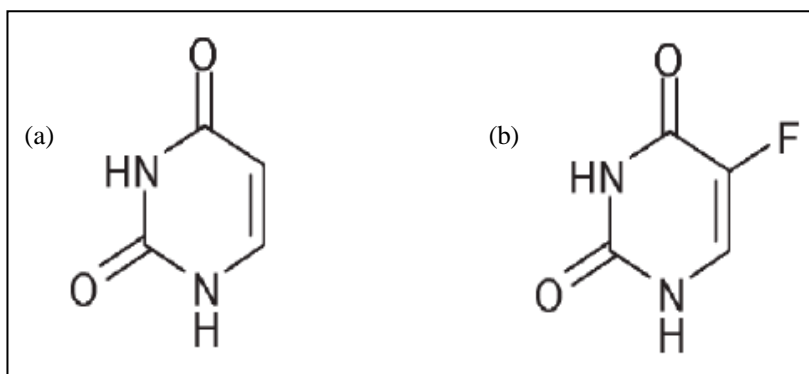


Figura 2. Estrutura química do uracil (a) e do 5-fluorouracila (b) (adaptado de PURSER e colaboradores, 2008).

No espaço intracelular o 5-FU sofre ação de enzimas dando origem a vários metabólitos ativos, como por exemplo, monofosfato de fluorodeoxiuridina, trifosfato de fluorodeoxiuridina e trifosfato de fluorouridina, os quais vão interromper a síntese de RNA e a ação do timidilato sintase (PURSER *et al*, 2008). Mais de 80% do 5-FU administrado é metabolizado, principalmente, no fígado (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003). Devido à curta meia-vida biológica da droga e seu perfil de absorção irregular, 5-FU é administrado por infusão contínua ou por via intravenosa. Infelizmente, o fármaco também exibe perfis cardiotoxíco, neurotóxicos e efeitos colaterais (PURSER e colaboradores, 2008). É o principal agente quimioterápico, utilizado em combinação com outros fármacos antineoplásicos no tratamento do câncer

de mama e utilizado em esquemas terapêuticos para câncer de próstata e ovário (WURZER, TALLARIDA & SIROVER, 1994).

Na classe dos agentes de mecanismos de ação diversificados, pode-se citar o fármaco doxazosina (DXZ), pertencente à família das drogas quinazolídicas, assim como a prazosina e o terazosina, antagonistas dos receptores α_1 -adrenérgicos. O DXZ é comercializado como um racemato para o uso terapêutico. Na figura 3 ilustra-se a estrutura molecular da DXZ onde o asterisco (*) sinaliza o centro quiral da molécula, possibilitando, assim, a formação de dois enantiômeros (R e S). É utilizada para patologias do trato urinário inferior, hipertensão arterial (conferindo efeito antitrombótico) e tratamento da hiperplasia prostática benigna (HPB) por induzir apoptose das células estromais na musculatura lisa da próstata (CHON e colaboradores, 1999; SUN e colaboradores, 2002; LABIÓS e colaboradores, 2003; RAO, NAGARAJU & RAJU, 2006).

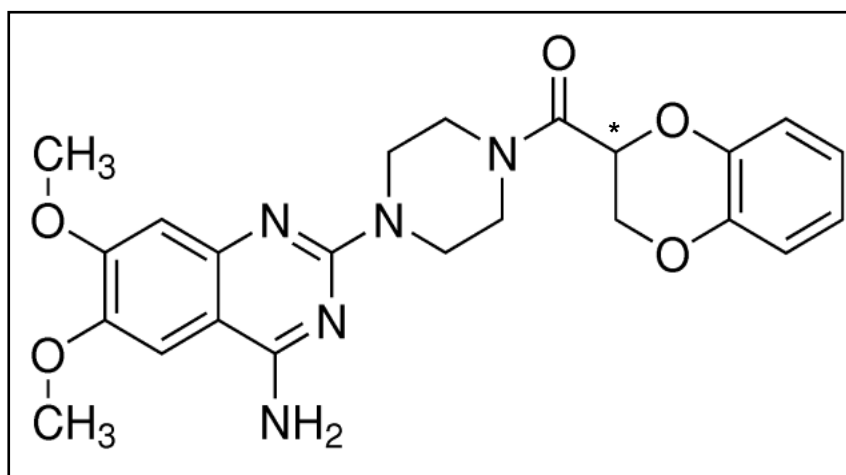


Figura 3. Estrutura molecular da doxazosina (ALTIOKKA & ATKOSAR, 2001).

A HPB é uma das patologias mais comuns ao envelhecimento de homens, afetando cerca de 50% deles entre 50 e 60 anos de idade e aproximadamente 90% daqueles com mais de 80 anos de idade (KIRBY e colaboradores, 2003). Estudos indicam que o DXZ pode ser importante para outras desordens neoplásicas da próstata, não apenas para a HPB, mas também para o combate ao câncer de próstata (CHON e colaboradores, 1999).

O DXZ é de eliminação lenta pelo organismo humano, tendo meia vida elevada, possibilitando o tratamento com uma dosagem única diária (HATANO e colaboradores, 1996).

1.3 Técnicas para otimização da atividade farmacológica de fármacos antineoplásicos

1.3.1 Vetorização de fármacos

A modulação do comportamento de fármacos no organismo, baseada nas características da forma administrada, é um dos objetivos da pesquisa galênica. Com os sistemas cognominados de liberação modificada, o pesquisador possui, pelo menos em parte, a possibilidade de manipular o processo de absorção dos fármacos. Através de sistemas de distribuição modulada, isto é, dos vetores de fármacos, a pesquisa atual tenta ir mais longe, direcionando, se possível, a distribuição dos medicamentos no organismo do paciente (PUISIEUX & ROBLOT-TREUPEL, 1988).

Os vetores atualmente propostos podem ser divididos em três grupos principais:

- a) Vetores de primeira geração, além de vetores propriamente ditos, são sistemas caracterizados por liberarem uma substância ativa no seio do alvo visado. É necessário, neste caso, empregar um modo de administração especial. A este grupo pertencem as microesferas e microcápsulas magnéticas;
- b) Vetores de segunda geração são vetores propriamente ditos, capazes, sem necessitar de um modo de administração especial, de transportar a substância ativa até o alvo visado. A este grupo pertencem certos vetores coloidais, denominados de passivos, tais como lipossomas, nanocápsulas e nanoesferas. Pertencem igualmente a este grupo certos vetores coloidais chamados de ativos, tais como lipossomas termo- ou pH-sensíveis e nanoesferas magnéticas e;
- c) Vetores de terceira geração são capazes de reconhecer o alvo visado. A este grupo pertencem, entre outros, os anticorpos monoclonais e certos vetores coloidais dirigidos por anticorpos monoclonais (PUISIEUX & ROBLOT-TREUPEL, 1988).

A aplicação de polímeros para a vetorização de fármacos se baseia na formação de matrizes poliméricas biodegradáveis ou biocompatíveis e degradáveis, isto é, degradadas *in vivo* em fragmentos menores que podem ser excretados pelo corpo. Os polímeros empregados nessas preparações são macromoléculas que apresentam varias unidades monoméricas iguais (homopolímeros) ou diferentes entre si (copolímeros), podendo ser iônicos (polieletrólitos) ou não iônicos (neutros) (LIMA, 2008). A vetorização de fármacos, utilizando polímeros, pode ser caracterizada, basicamente, entre o uso de polímeros solúveis (micelas poliméricas e lipossomos) e polímeros sólidos (nano e microsferas) (DRUMMOND e colaboradores, 2005; 2006).

Polímeros biologicamente degradáveis estão disponíveis, para uso, nas formas: a) naturais biodegradáveis como, por exemplo, o colágeno, a celulose e a quitosana, muito utilizados como matrizes em liberação de fármacos; b) naturais modificados, levam muito tempo para degradar. Isto pode ser resolvido adicionando-se grupos polares às cadeias, que, por serem mais lábeis, diminuem o tempo de degradação. Modificações enzimáticas também são utilizadas, como a modificação de quitosana por tirosinase e; c) sintéticos, também largamente utilizados, como, por exemplo, poli(etileno), poli(álcool vinílico), poli(ácido acrílico), poli(acrilamidas), poli(etilenoglicol) e poliésteres (AZEVEDO, 2002). Na figura 4 tem-se um exemplo de poli(etileno) comercializado como Potiquart H[®] (PQH) (WENNINGER & McEWEN, 1997).

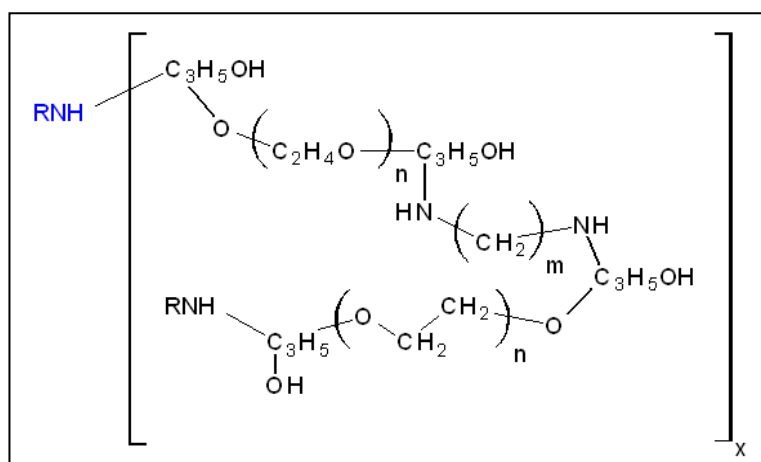


Figura 4. Estrutura química da molécula do poliquest H[®], onde R = alquila; n = 10 - 20; m = 2 - 6 e x = 2 - 4.

A vetorização de fármacos visa proteção contínua da degradação e eliminação, além do redirecionamento e distribuição no organismo. Os fármacos utilizados na quimioterapia antineoplásica, agentes radioterápicos antineoplásicos, antibióticos, proteína e ácidos nucleicos, são exemplos muito utilizados na tecnologia de vetorização (GUO, 2006). Estudos demonstraram que as nanopartículas infundidas (vetores de segunda geração) são encontradas no sangue, nas células endoteliais, no interstício e no interior das células do tumor. A cinética do movimento das nanopartículas a partir do sangue ao tumor e, depois do tumor de volta para o fluxo de sangue (os caminhos ilustrados com setas pretas na figura 5) ainda não foram completamente avaliados. Espera-se que essas nanopartículas carregadas com fármaco possam sair da circulação sanguínea e atingir a célula alvo, ainda carregada, onde o fármaco será liberado e a nanopartícula, sem fármaco, retornará para a corrente sanguínea para ser eliminada (GEHO e colaboradores, 2006), caminho ilustrado na figura 5.

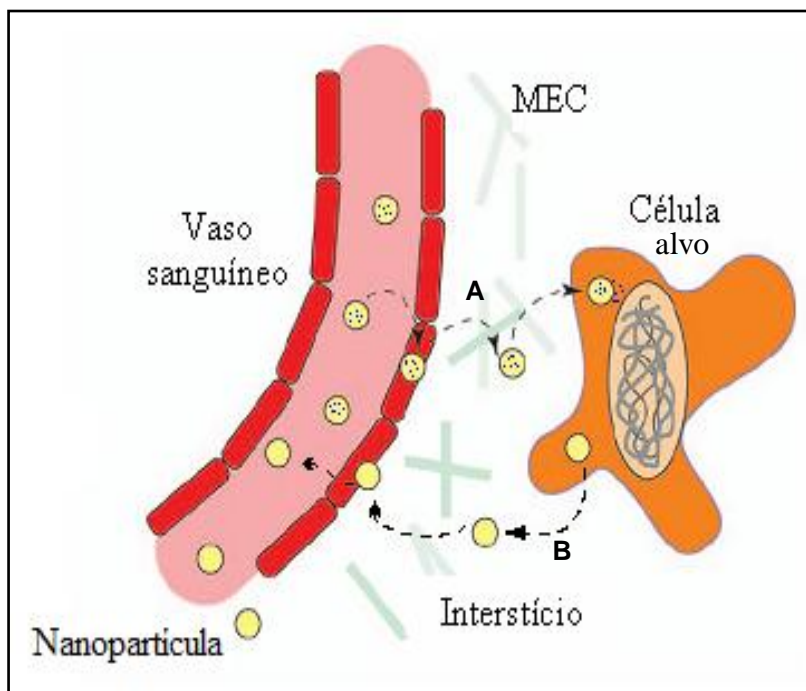


Figura 5. Esquema de como ocorre a distribuição da nanopartícula no tecido, onde (A) é o movimento de nanopartículas do sangue para o tumor e (B) o movimento de nanopartículas do tumor para o fluxo sanguíneo (Adaptado de GEHO e colaboradores, 2006).

1.3.1.1 Nanotecnologia

Nos dias atuais, a área de nanotecnologia se encontra em rápida expansão, com grandes investimentos nos setores acadêmico, industrial e estatal. Existem várias definições para nanotecnologia e algumas delas estão descritas no quadro 3. No entanto, em aplicações farmacêuticas, mais especificamente na liberação de fármacos, a aplicação da nanotecnologia está baseada na produção de nanopartículas que contêm moléculas do fármaco a serem liberadas preferencialmente no órgão alvo com a vantagem de serem inertes (SCHEU e colaboradores, 2006).

A nanotecnologia desempenha um papel importante na terapia do futuro, como “nanomedicamentos”, que são sistemas de liberação de tamanho nanométrico onde o fármaco estará encapsulado, disperso, adsorvido ou conjugado no sistema. Esses sistemas de liberação de fármacos incluem uma grande variedade de formas, principalmente as baseadas em lipídios ou nanopartículas poliméricas (nanoesferas e nanocápsulas), microemulsões, lipossomas, como também micelas poliméricas, ciclodextrinas e silicatos lamelares (argilas). Esses novos sistemas de liberação de fármacos possibilitam a diminuição de doses requeridas para a resposta terapêutica, assim como o aumento do índice terapêutico e perfis de segurança de novas terapêuticas (KOO, RUBINSTEIN & ONYUKSEL, 2005; SCHMIDT & LAMPRETTCH, 2009).

Quadro 3. Algumas definições de nanotecnologia (adaptado de SCHEU e colaboradores, 2006).

Fonte	Definições
IPC (Classificação Internacional de Patentes) subclasse B82B	<p>Nanoestrutura é uma combinação precisa da matéria atômica, tendo sua configuração especialmente moldada, incluindo, pelo menos, um elemento integrante essencial que:</p> <p>(i) é formado exclusivamente a partir de um átomo, uma molécula ou uma coleção extremamente limitada de átomos ou moléculas, que na sua totalidade seja indetectável por um microscópio ótico, e;</p> <p>(ii) foi formado por terem seus átomos ou moléculas manipuladas individualmente como unidades distintas durante sua fabricação.</p>
NASA E.U.A. (Administração Nacional do Espaço e da Aeronáutica):	Criação de materiais funcionais, dispositivos e sistemas através do controle da matéria de escala nanométrica (1-100 nm), e a exploração de novos fenômenos e propriedades (física, química, biológica, mecânica, elétrica...) nessa escala de comprimento.
Sociedade Real de Londres	Estudo dos fenômenos e a manipulação de materiais às escalas atômica, molecular e macromolecular, nas quais as propriedades diferem significativamente das propriedades a uma maior escala.
Iniciativa Nacional de Nanotecnologia (E.U.A)	A nanotecnologia é a compreensão e o controle da matéria em dimensões de cerca de 1-100 nm, onde fenômenos únicos permitem novas aplicações.
Ministério Federal da Educação e da pesquisa da Alemanha	Nanotecnologia refere-se à criação, investigação e aplicação de estruturas, materiais moleculares, interfaces internas ou superfícies com, pelo menos, uma dimensão crítica ou com característica de fabrico (tipicamente) inferior a 100 nm. O fator decisivo é que a própria escala nanométrica dos componentes do sistema resultar em novas funcionalidades e propriedades para melhorar produtos ou desenvolver novos produtos e aplicações.

Enquanto alguns materiais naturais de estrutura nanométricas (10^{-9} m) são empregados comercialmente há muitos anos, como o nanquim e partículas coloidais de ouro, novos nanomateriais estão sendo estudados, sendo que alguns tipos têm demonstrado particularidades interessantes e propriedades promissoras (MESSERSCHMIDT e colaboradores, 2003). Dentre estes, podemos citar: materiais nanolamelares - constituídos de finas lamelas de diferentes materiais; nanopartículas - usadas em sistemas de liberação em local específico e em cosméticos tais como filtros solares; nanogrânulos e os nanotubos (SCHEU e colaboradores, 2006).

No que se refere aos novos materiais lamelares, uma “nanorede” de cadeia polimérica pode ser formada entre um nanosistema préformado e outros materiais, acarretando no aumento da resistência mecânica e temperatura de fusão do material. Como exemplo, temos a General Motors e Montell, que obtiveram sucesso na produção de um nanocompósito incorporando olefina termoplástica em um tipo de argila, uma esmectita, com o intuito de aumentar as propriedades físicas do plástico: o uso de 5% de esmectita aumentou a dureza do material significativamente, gerando um nanocompósito (SCHEU e colaboradores, 2006).

Nanocompósitos são materiais obtidos, em uma escala nanométrica, pela combinação entre duas ou mais substâncias, sendo que o material obtido apresenta características funcionais e estruturais diferentes daquelas dos materiais de origem (MENDES, TAVARES & MANO, 1996; RESENDE, 2006). Normalmente nanocompósitos exibem melhores propriedades de desempenho comparadas com as de compósitos convencionais, devido à sua morfologia de fase única e às suas propriedades interfaciais melhoradas (WANG, DU & LUO, 2008). Dentre os nanocompósitos, destacam-se os silicatos lamelares.

1.3.1.2 Nanopartículas

O termo “nanopartícula” inclui as nanocápsulas e as nanoesferas, as quais diferem entre si segundo a composição e a organização estrutural. As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso ou não, podendo o fármaco estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica. Por outro lado, as nanoesferas não apresentam um núcleo em sua estrutura, sendo formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode ficar retido ou adsorvido (figura 6) (SCHAFFAZICK e colaboradores, 2003).

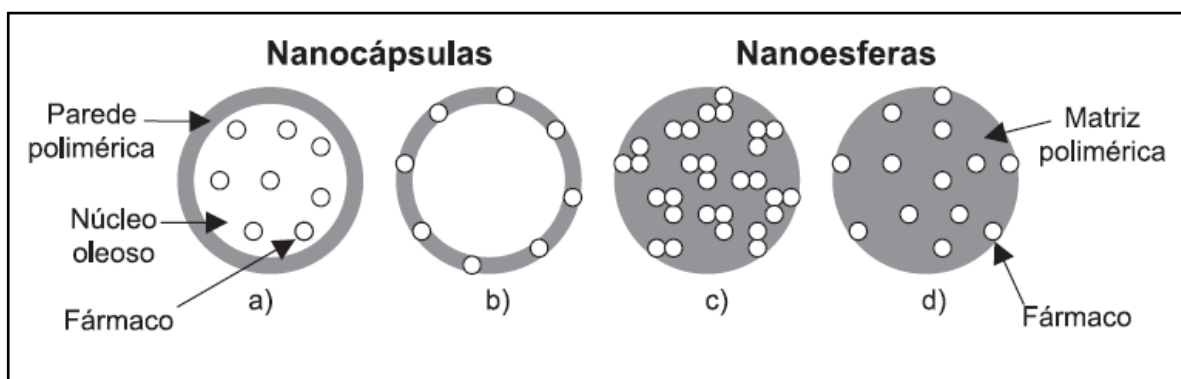


Figura 6. Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso; b) fármaco adsorvido à parede polimérica; c) fármaco retido na matriz polimérica; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica (SCHAFFAZICK e colaboradores, 2003).

1.3.1.3 Lipossomos e Microemulsões

Lipossomos são transportadores vesiculares que compreendem um núcleo hidrofílico rodeado por uma ou mais membranas de bicamadas lipídicas. Inicialmente, foram utilizados como modelos para membranas fisiológicas, antes de serem considerados carreadores de fármacos. A bicamada lipídica consiste de fosfolipídeos (lecitinas), colesterol e glicolipídios, com uma espessura de cerca de 5 nm. Lipossomas podem ser produzidos em tamanhos abaixo de 50 nm até vários micrômetros, dependendo da composição e do processo de fabricação. Eles podem transportar fármacos hidrofílicos no seu núcleo, assim como substâncias lipofílicas sendo dissolvida ou dispersa na membrana (PELLEQUER & LAMPRECHT, 2009).

São transportadores vesiculares compreendendo um núcleo hidrofílico rodeado por uma ou mais membranas de bicamadas lipídicas (Figura 7). Eles podem transportar fármacos hidrofílicos no seu núcleo, assim como substâncias lipofílicas sendo dissolvidas ou dispersas na sua membrana. É um veículo utilizado para reforçar a solubilidade em formulações parenterais, para permitir uma maior circulação na corrente sanguínea e atuam também como vetores de segunda geração. Além disso, são amplamente utilizados na preparação dermatológica, bem como em cosméticos, devido à sua capacidade de penetrar em níveis mais profundos da pele. Já para o uso oral, em muitos casos, não é recomendado, devido a sua susceptibilidade ao pH do estômago e as enzimas intestinais (SCHMIDT & LAMPRECHT, 2009).

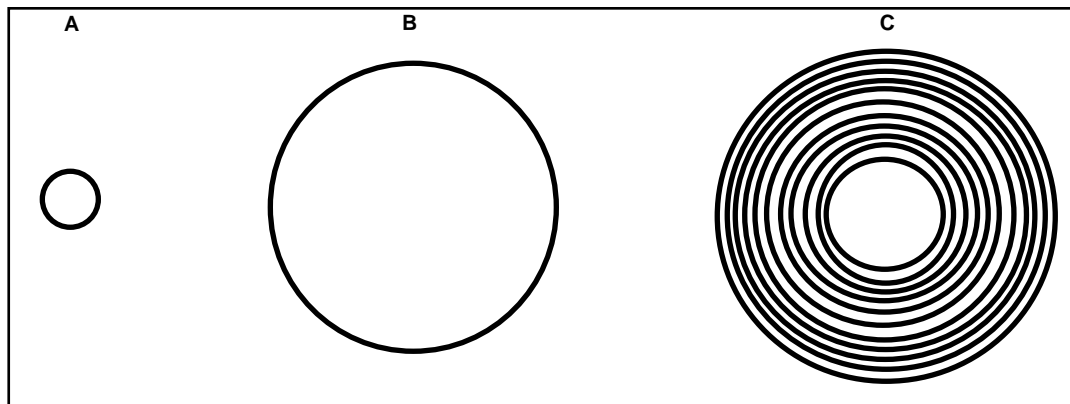


Figura 7. Resumo esquemático sobre os diversos arranjos das bicamadas dos lipossomas, (A) Vesícula unilamelar pequena; (B) Vesícula unilamelar grande e; (C) Vesícula multilamelar (SCHMIDT & LAMPRECHT, 2009).

Microemulsões são sistemas compostos por dois líquidos imiscíveis e pelo menos um agente emulsionante, aplicados principalmente em conjunto com um co-tensioativo. Macroscopicamente, são de aparência clara formando um sistema de fase isotrópica. A fase dispersa consiste de gotículas muito pequenas (5 – 140 nm) e suas propriedades se assemelham às de uma fase de *bulk* ao invés de uma fase interna de emulsão. A enorme redução na tensão interfacial é fornecida por uma grande quantidade de surfactante e co-tensioativo (FORMARIZ e colaboradores, 2005; SCHMIDT & LAMPRECHT, 2009).

As microemulsões podem ser de três tipos: 1) O/A formados na presença de baixa concentração de fase oleosa e com emulsionantes que apresentam equilíbrio hidrofílo-lipófilo (EHL) na faixa de 8-18, 2) bicontínua, formada quando as concentrações de fase aquosa e fase oleosa são similares e 3) A/O, formados quando a concentração de fase aquosa é baixa e com emulsionantes com EHL na faixa de 3-8 (Figura 8) (CUNHA JUNIOR e colaboradores, 2003).

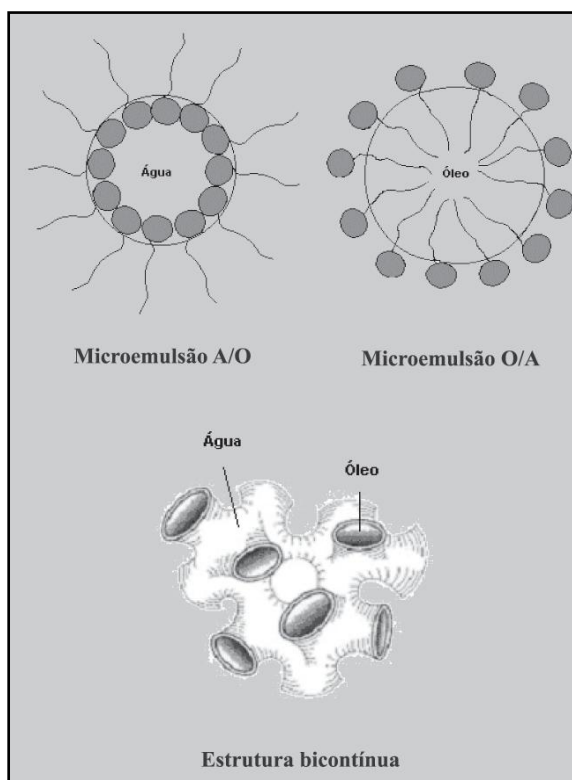


Figura 8. Representação esquemática das estruturas das microemulsões (FORMARIZ e colaboradores, 2005).

1.3.1.4 Dendrímeros

Dendrímeros são estruturas poliméricas que possuem inúmeras ramificações e oferecem como vantagem uma alta capacidade de carregamento de fármacos. Em relação ao tamanho, massa molar e forma, eles podem ser classificados pelo número de gerações (0 a 10) e tamanho dos grupos de ramificações e, desta forma, proporcionam a obtenção de micelas em solução de tamanho muito reduzido (dimensões em torno de 100 Å). A figura 9 mostra uma estrutura dendrítica altamente ramificada. As sínteses dendríméricas envolvem um núcleo a partir do qual gerações ramificadas estendem-se concentricamente. (MONTANARI e colaboradores, 1998; NAFEE, BHARDWAJ & SCHNEIDER, 2009).

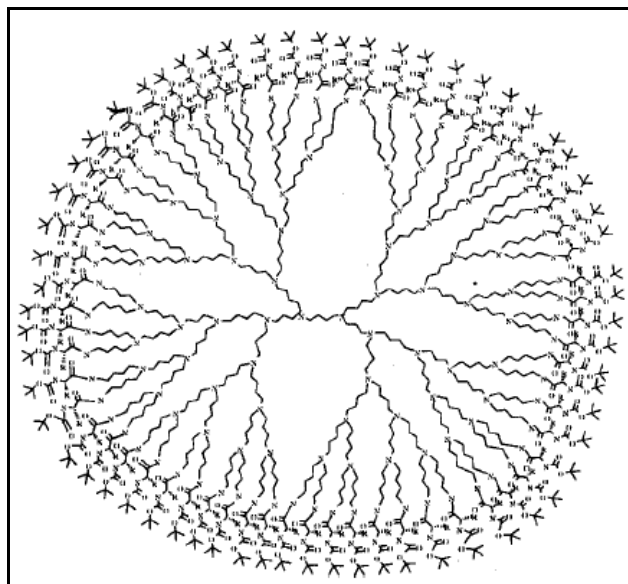


Figura 9. Estrutura dendrítica ramificada (MONTANARI e colaboradores, 1998).

O efeito antitumoral da doxorrubicina conjugado a um dendrímero biodegradável foi avaliado em camundongos com carcinomas do cólon e mostrou-se eficaz na modulação farmacocinética, favorável, do fármaco (PELLEQUER & LAMPRECHT, 2009), prestando-se desta forma, como vetor para fármacos antineoplásicos.

1.4 Nanocompósitos de silicatos lamelares

1.4.1 Argilas Minerais

A definição clássica conferida a uma argila é de ser um material natural, terroso, de granulação fina que quando umedecido com água apresenta plasticidade. Quimicamente, são materiais formados essencialmente por silicatos hidratados de alumínio, ferro e magnésio, denominados argilas minerais (MENEZES e colaboradores, 2008).

As argilas minerais possuem estruturas cristalinas em camadas, constituídos por folhas contínuas de tetraedros SiO_4 , ordenados de forma hexagonal, condensados com folhas octaédricas de hidróxidos de metais tri e divalentes (representação esquemática dessas folhas na figura 10), podem conter uma fração com dimensões na faixa de 1 a 100nm, e são muitas vezes chamados “silicatos lamelares”. São utilizadas nas indústrias de produtos farmacêuticos, veterinários, plásticos, tintas e inseticidas,

principalmente, devido ao seu baixo custo. Elas possuem diferentes arranjos de suas camadas (folhas) lamelares (COELHO, SANTOS & SANTOS, 2007).

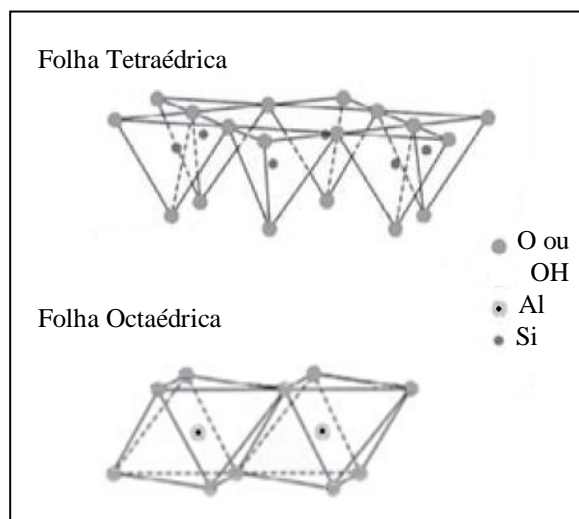
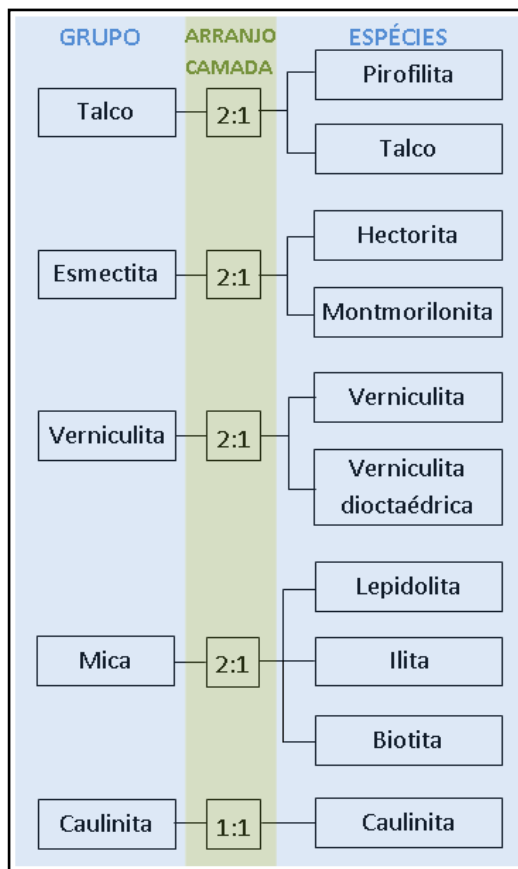


Figura 10. Representação esquemática da folhas tetraédrica e octaédrica, unidades estruturais das argilas minerais (adaptado de COELHO, SANTOS & SANTOS, 2007).

O grupo das argilas esmectíticas ou bentoníticas é constituído por um ou mais argilominerais esmectíticos e por alguns minerais acessórios, principalmente quartzo, cristobalita, micas e feldspatos. Essas argilas minerais são alumino-silicatos de sódio, cálcio, magnésio, ferro, potássio e lítio, que incluem: montmorilonita, nontronita, saponita, hectorita, sauconita, beidelita e volconsoíta, como é demonstrado, resumidamente, no quadro 4. Dentre as diferentes alternativas, a argila de uso farmacêutico mais relevante é a esmectita/bentonita, devido a alta capacidade de troca catiônica (CTC) das espécies pertencentes ao seu grupo. A espécie de mineral mais utilizada é a montmorilonita (MMTNa), com capacidade de troca catiônica (CTC) 80-200 mEq/100 g de argila, como é demonstrado no quadro 5 (AGUIAR, NOVAES & GUARINO, 2002; MENEZES e colaboradores, 2008). A CTC de uma argila é mensurada de acordo com o número total de cátions trocáveis que ela pode reter (quantidade de sua carga negativa). Quanto maior a CTC da argila, maior a capacidade de cátions que ela pode reter (MENEZES e colaboradores, 2008).

Quadro 4. Classificação sistemática das argilas minerais (Adaptado de AGUIAR, NOVAES & GUARINO, 2002).



Quadro 5. Capacidade de troca catiônica (CTC) de aluminossilicatos (adaptado de AGUIAR, NOVAES & GUARINO, 2002).

Argila	CTC (mEq/100 g da argila)
Caulinita 2H ₂ O	3-15
Haloisita 4H ₂ O	5-10
Haloisita	10-40
Ilita	10-40
Clorita	10-40
Sepiolita-ataulgita	20-35
Esmectita	80-150
Montmorilonita	80-200
Verniculita	100-150

As esmectitas sódicas, ou seja, contendo o sódio como cátion interlamelar preponderante conforme estrutura esquemática demonstrada na figura 11, podem ser

obtidas, por meio da interação química com soluções de carbonato de sódio, uma vez que na sua forma natural ela não é predominantemente sódica. Elas são caracterizadas por apresentarem, ou por poder ser desenvolvido nelas, propriedades de uso tecnológico (PAIVA, MORALES & GUIMARÃES, 2006).

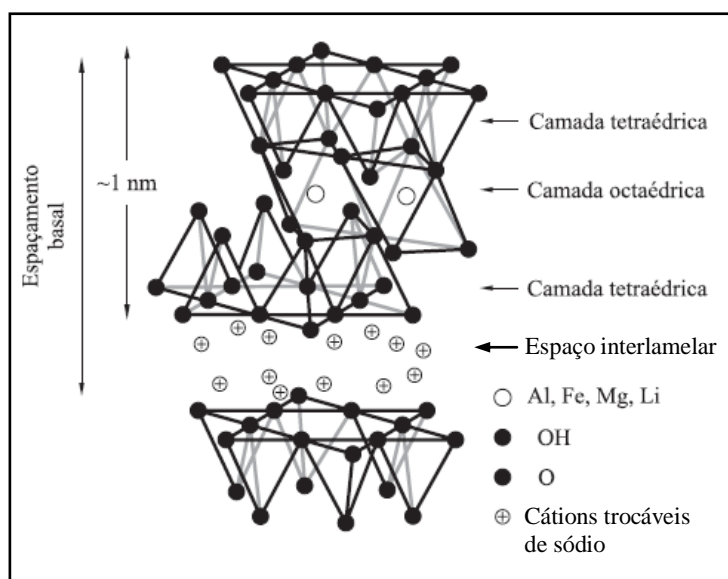


Figura 11. Estrutura das esmectitas (2:1) mostrando duas camadas de silicato de alumínio com cátions sódio no espaço interlamelar (adaptado de PAIVA, MORALES & GUIMARÃES, 2006).

Quando essas argilas sódicas são colocadas em água, o sódio é hidratado inserindo-se água no seu espaço interlamelar, havendo o aumento do espaçamento basal. Nessas condições os cátions de sódio ficam mais propensos a serem trocados por outros cátions por uma reação química estequiométrica. As argilas que não incham (intumescem) em meio aquoso possuem no seu espaço interlamelar a predominância de cálcio ou são policatiônicas (ARAÚJO e colaboradores, 2006; MENEZES e colaboradores, 2008). Nas figuras 12 e 13 pode ser observada, nitidamente, a diferença de hidratação entre as esmectitas sódica, cálcica ou policatiônica.

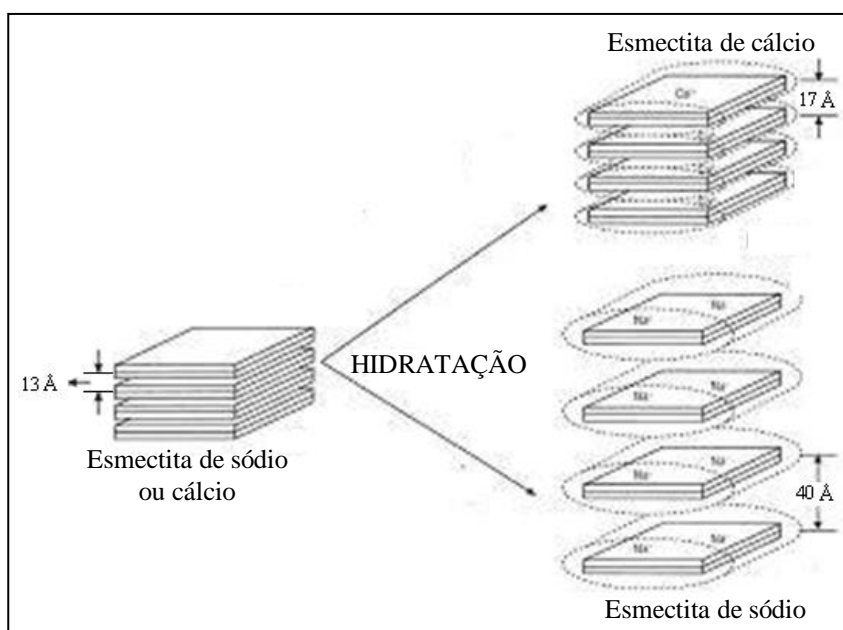


Figura 12. Representação da hidratação da esmeclita sódica e da esmeclita cálcica (adaptado de AMORIM e colaboradores, 2006).



Figura 13. Argila bentonítica seca e em meio aquoso (AMORIM e colaboradores, 2006).

É possível preparar nanocompósitos com materiais de diferentes naturezas: inorgânica/inorgânica, inorgânica/orgânica ou ainda, orgânica/orgânica (ESTEVES, BARROS-TIMMONS & TRINDADE, 2004). Os nanocompósitos poliméricos têm se destacado como uma classe promissora de materiais, demonstrando possibilidade de incremento e modificação em uma série de propriedades, como: incremento nas propriedades mecânicas e/ou de barreira; elevação da temperatura de transição térmica; redução da flamabilidade; aumento de transparência (ARAÚJO e

colaboradores, 2006; WANG, DU & LUO, 2008). Como material de característica inorgânica, destaca-se o uso de silicatos lamelares ou argilas.

Na intercalação de polímero e argila mineral visando a preparação de um nanocompósito pode-se obter basicamente três resultados: (1) microcompósitos, quando não ocorre a intercalação do polímero nas camadas lamelares da argila, sendo caracterizados por apresentarem propriedades similares aos compósitos tradicionais, (2) nanocompósito intercalado, quando as cadeias poliméricas são intercaladas nas lamelas da argila, caracterizado por apresentar propriedades superiores a de um compósito tradicional e (3) nanocompósito delaminado ou esfoliado, quando ocorre a total dispersão das lamelas da argila em uma matriz polimérica, aumentando as interações polímero-argila, caracterizado por melhorias nas propriedades físicas e mecânicas do material formado. Levando em consideração as características de cada componente (silicato lamelar, cátion orgânico, a matriz polimérica e o método de preparação), estas diferentes situações podem ser observadas na figura 14 (COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007; PAIVA; MORALES; GUIMARÃES, 2006, 2008; CAMARGO; SATYANARAYANA; WYPYCH, 2009).

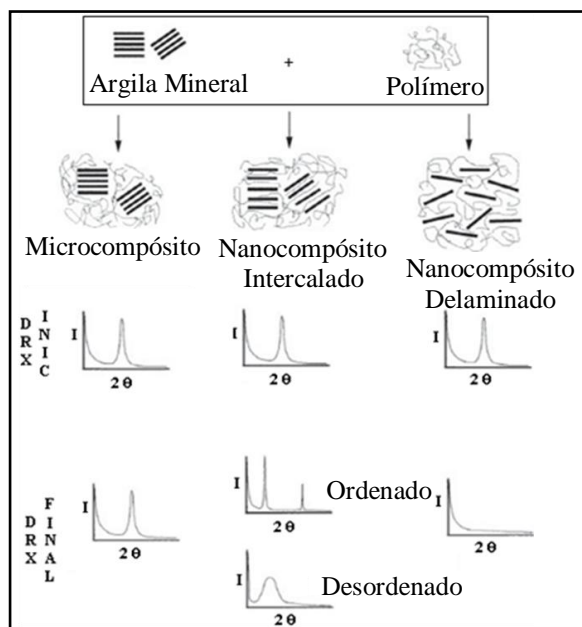


Figura 14. Representação esquemática dos três casos mais comuns obtidos na interação Polímero + Argila Mineral e os resultados de difração de raios X (DRX) obtidos (modificado de COELHO, SANTOS & SANTOS, 2007).

Com a análise de difração de raios X (DRX), ilustrada na figura 14, pode-se identificar os dois primeiros tipos de intercalação (microcompósito e nanocompósito intercalado). O terceiro (nanocompósito delaminado) não apresenta picos na DRX e somente é caracterizado indiretamente, por outras técnicas de análise (COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007), observando-se a total separação das lamelas.

Existem diversas maneiras de modificar as argilas minerais: (1) adsorção, (2) troca de iônica com cátions inorgânicos e complexos catiônicos, (3) adição de compostos orgânicos, (4) troca de íons orgânicos com cátions, (5) reação com ácidos, (6) ligação de ânions inorgânicos e orgânicos, principalmente, nas extremidades, (7) polimerização interlamelar, intra ou interpartícula, (8) pilarização por diferentes cátions metálicos, (9) delaminação e reação de argilas minerais, (10) desidroxilação e calcinação e (11) tratamentos físicos, tais como a liofilização, ultrassom e radiação de plasma (BERGAYA & LAGALY, 2001; PAIVA, MORALES & DÍAS, 2008).

O tratamento das argilas com moléculas orgânicas catiônicas resulta nas conhecidas “organoargilas”, dotadas de uma cavidade hidrofóbica, o que leva à modificação de inúmeras de suas propriedades iniciais. As argilas organofílicas são dispersáveis em meio orgânico, e, de modo similar às esmectitas sódicas, adsorvem outros compostos orgânicos, o que abre uma nova e vasta aplicação tecnológica para este tipo de argila (PAIVA, MORALES & DÍAZ, 2008).

1.4.2 Organoargilas

A dispersão das argilas em polímeros ou fármacos menos hidrofílicos se mostra semelhante ao resultado obtido da mistura de óleo e água, de modo que o papel do agente de compatibilização é agir como um tensoativo permitindo a dispersão da argila no polímero ou molécula lipofílica. Para a formação de organoargilas são utilizados íons alquilamônio de cadeia longa como agente de compatibilização, em substituição aos íons presentes entre as lamelas da argila, como o sódio na montmorilonita. Essa troca catiônica se torna possível entre a função NH_3^+ , presente no íon alquilamônio, e o cátion intercalado entre as lamelas da argila. A figura 15 demonstra de maneira esquemática a troca catiônica, sendo que, dependendo da densidade de cargas da

argila e o do íon surfactante, podem ser obtidos diferentes arranjos na estrutura das organoargilas, conforme é demonstrado na figura 16 (KORNMANN; LINDBERG; BERGLUND, 2001; PAIVA; MORALES; DÍAS, 2008). Quando os íons alquilamônio adotam uma conformação do tipo parafínica, onde há elevada densidade de cargas, e o espaço entre as lamelas cresce da ordem de 10 Å. Dessa forma, ocorre uma diminuição da energia da superfície da argila de tal modo que moléculas de diferentes polaridades possam ser intercaladas entre as lamelas (KORNMANN, LINDBERG & BERGLUND, 2001; KORNMANN e colaboradores, 2000; LeBARON, WANG & PINNAVAIA, 1999).

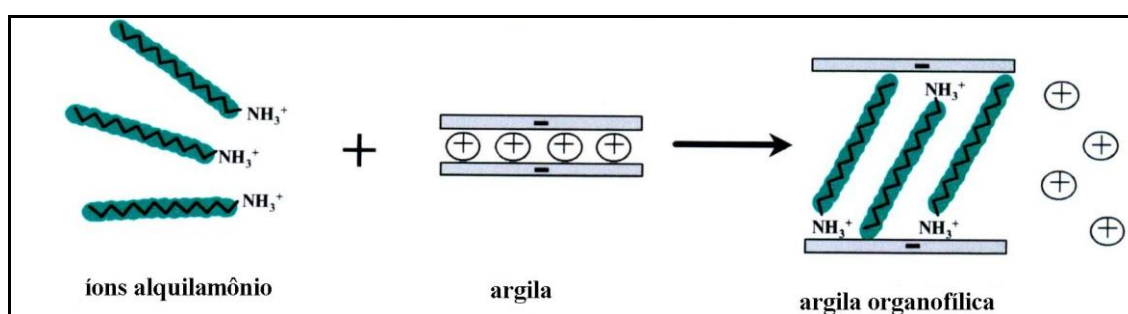


Figura 15. Processo de troca catiônica entre os íons alquilamônio e os cátions intercalados entre as lamelas da argila (RESENDE, 2006).

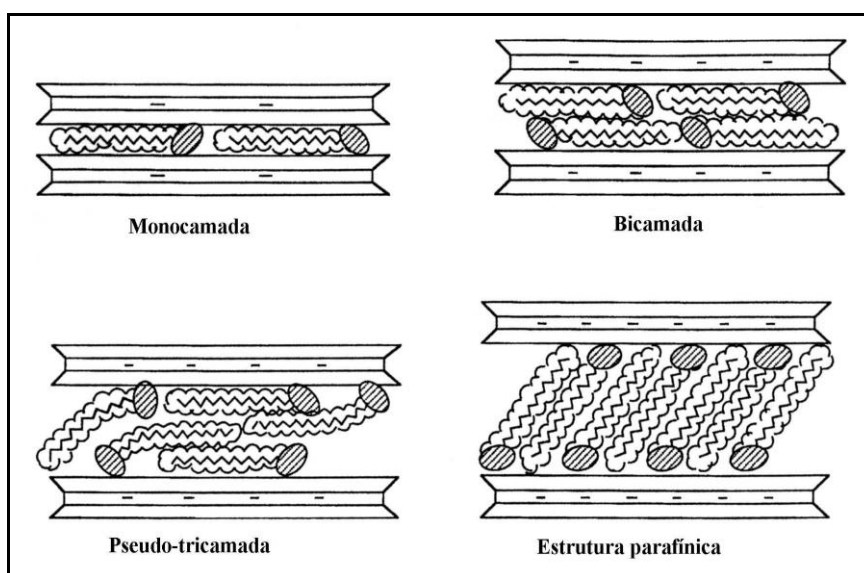


Figura 16. Orientações dos íons alquilamônio nas lamelas (LeBARON, WANG & PINNAVAIA, 1999).

O viscoigel B8[®], S4[®] e S7[®] são exemplos de organoargilas, que são formadas pela intercalação de íons alquilamônio na estrutura da argila montmorilonita. O material obtido combina capacidade de intumescimento com a ação tensoativa do sal de

alquilamônio (COUTINHO, 2004; BENTEC, 2009). O tratamento das argilas com moléculas orgânicas catiônicas resulta em uma superfície hidrofóbica, que leva à modificação de inúmeras de suas propriedades iniciais (KATZ & MILEWSKI, 1987; RESENDE, 2006).

Considerando-se o reduzido custo de obtenção, a grande versatilidade de trabalho e o fato de se apresentarem já em dimensões nanométricas, pode se considerar os silicatos lamelares como um dos mais promissores sistemas de liberação de fármacos para a preparação de sistemas vetorizados de moléculas antineoplásicas.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Tomou-se como objetivo geral deste trabalho a avaliação da intercalação de fármacos antineoplásicos em argilas lamelares, com a inserção combinada de PQH como agente de vetorização para a preparação de novos sistemas antineoplásicos nanométricos sistêmicos.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a intercalação de 5-FU e DXZ em MMTNa e VB8[®] visando a obtenção de um novo nanosistema carreador de fármacos antineoplásicos.

Estudar a intercalação do PQH na MMTNa de forma a inserir um agente de vetorização na argila e, posteriormente, nos sistemas argilas nanométricas - fármacos antineoplásicos.

Avaliar o rendimento de intercalação do processo.

Caracterizar, comparando-se com a MMTNa e o VB8[®], o comportamento deste novo nanocompósito, investigando-se seu intumescimento, perfil de compactação e propriedades filmogênicos, propondo sua utilização como um novo excipiente farmacêutico.

Estudar a intercalação e a caracterização de DXZ no novo nanocompósito MMTNa-PQH de forma a se obter novos agentes antineoplásicos nanométricos combinados.

3 Material e Métodos

3.1 Material

3.1.1 Equipamentos:

- Balança analítica METTLER TOLEDO – AG 204
- Balança para determinação de umidade SARTORIUS MA 30
- Banho de ultrasson UNIQUE
- Calorímetro de Varredura Diferencial PERKIN ELMER – DSC 7
- Analisador Termogravimétrico PERKIN ELMER – TGA-DSC 7
- Centrífuga SIGMA 6 – 15
- Rota evaporador BUCHI 209
- Compressora excêntrica FABBE
- Prensa hidráulica Perkin-Elmer
- Difrátômetro de Raios X RIGAKU, modelo Miniflex
- Durômetro NOVA ÉTICA
- Espectrofotômetro de absorção no infravermelho com transformada de Fourier PERKIN ELMER
- Espectrofotômetro de absorção UV-Vis BIOESPECTRO SP 220
- Microscopia eletrônica de transmissão JEOL, modelo 2000Fx
- Estufa de secagem LAWE
- Misturador cúbico ERLI
- Placa de agitação e aquecimento CORNING PC-230
- Potenciômetro QUIMIS
- Softwear Statística (STATSOFT Company)
- Softwear Spartan Pro[®]
- Vidraria Calibrada do Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica

3.1.2 Matérias-primas e reagentes:

- Poliquart H[®] COGNIS
- 5-Fluorouracila SIGMA

- Mesilato de Doxazozina DEG
- Bentonita sódica– Montmorilonita BENTEC
- Viscogel B8[®] BENTEC
- Ácido clorídrico 37% TEDIA
- Hidróxido de sódio PA VETEC
- Diclorometano PA TEDIA
- Água destilada obtida no Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica

3.2 Métodos

3.2.1 Preparo de montmorilonita sódica pré-intumescida (MMTNa pi)

Para o preparo de MMTNa pi foram pesados 50 g de argila sódica que foram adicionados, lentamente, em 100 mL de água destilada com agitação mecânica constante a temperatura ambiente, até total incorporação da argila sódica na água destilada. Após 24 h de intumescimento, a umidade da amostra foi determinada em balança SARTORIUS MA 30 à peso constante.

3.2.2 Procedimento geral de preparação e caracterização de nanocompósitos

A técnica de preparação de nanocompósitos consistiu na técnica de solubilização, onde o polímero ou fármaco é solubilizado no solvente de escolha e concomitantemente à adição do silicato lamelar no meio de intercalação, a saber, argila mineral sódica pré-intumescida (MMTNa pi) e argila intercalada com alquilamônio C₁₈ (trimetil octadecilamina), de nome comercial viscogel B8[®] (VB8), mantendo o sistema sob agitação magnética. Nos ensaios realizados, avaliou-se o efeito da variação do tempo e a proporção de polímero ou fármaco e MMTNa pi e VB8 na reação de intercalação. Foram preparados nanocompósitos de MMTNa pi e VB8 com PQH e de MMTNa pi com 5-FU e DXZ, todas em diferentes tempos reacionais e em diferentes proporções a temperatura ambiente.

Para selecionar o melhor ponto de intercalação entre polímero ou fármaco com os silicatos lamelares, foi realizada a centrifugação da reação de intercalação ou

remoção do solvente a pressão reduzida em rotaevaporador, objetivando separar o solvente (sobrenadante) do material intercalado, que por sua vez foi levado ao dessecador sob vácuo para secar, e depois de triturado é analisado por difração de raio X (DRX), para análise do espaçamento basal dos nanocompósitos formados.

Os rendimentos das intercalações foram obtidos por medidas indiretas com a análise por espectrofotometria UV-Vis ou de forma direta por análise termogravimétrica (ATG). Somado aos resultados das análises de DRX, pode-se selecionar o melhor ponto de formação de nanocompósito para cada tipo de intercalação realizada.

Com a seleção dos melhores pontos de intercalação, foram realizados experimentos em triplicata dos mesmos, para se saber se há reprodutibilidade da técnica de intercalação utilizando a análise de DRX para tal confirmação. Havendo reprodutibilidade, elas são levadas para análise de infravermelho (IV), análise calorimétrica diferencial de varredura (ACDV) e ATG para caracterização do nanocompósito formado. Este procedimento geral de preparo e caracterização, dos nanocompósitos, pode ser observado no fluxograma da figura 17.

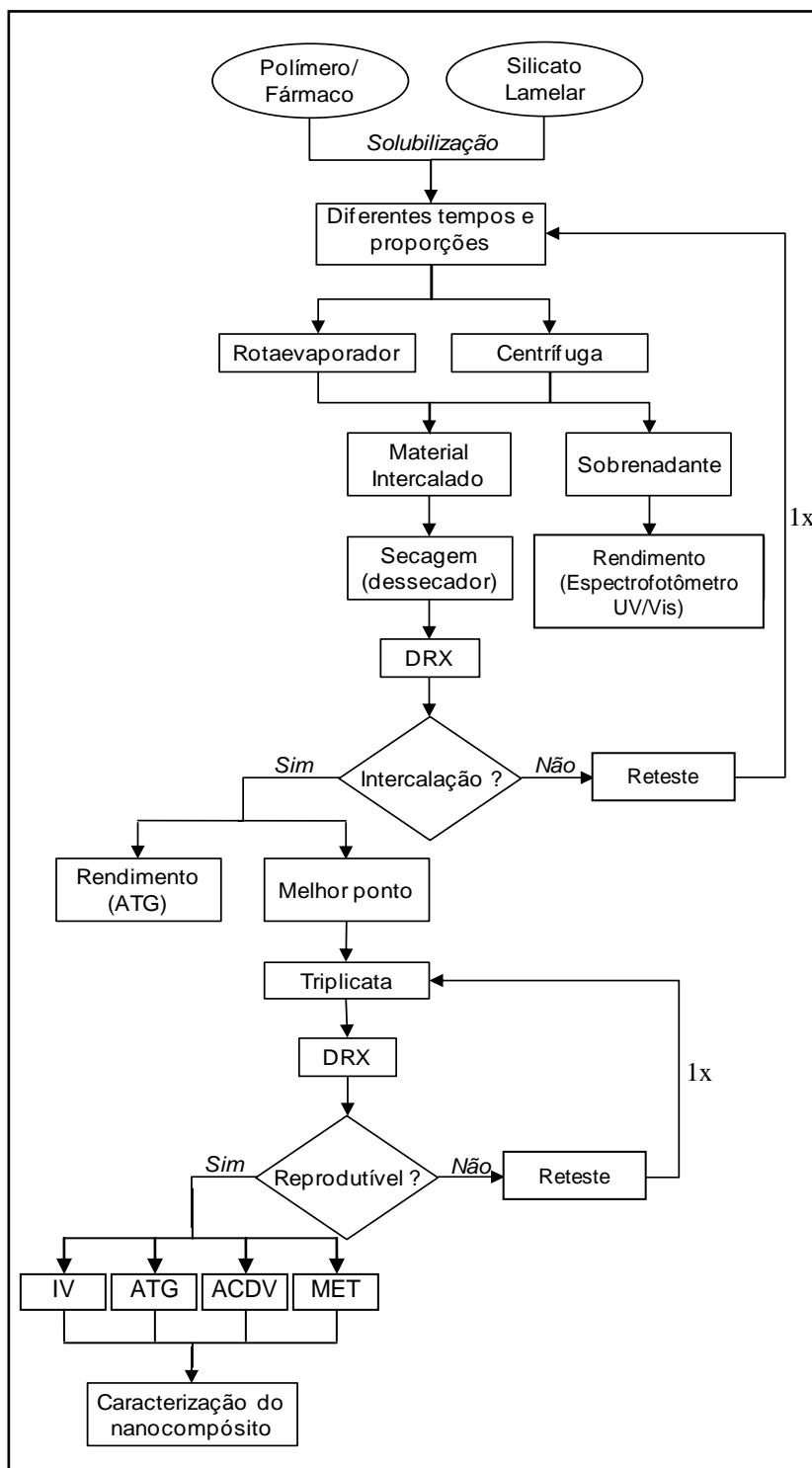


Figura 17. Fluxograma do processo de preparo e caracterização do nanocompósito.

3.2.3 Preparo dos nanocompósitos do polímero PQH com os silicatos lamelares

Foram realizados experimentos de intercalação de PQH com silicatos lamelares (MMTNa pi ou VB8), variando-se as proporções de PQH e silicatos lamelares e os tempos de experimento, empregando-se como solvente para as intercalações com MMTNa pi a água destilada e diclorometano como solvente para as reações com VB8, onde esta organoargila intumescce quase que imediatamente sem a sua dispersão nanométrica.

Os nanocompósitos foram preparados adicionando-se quantidades suficientes de PQH e MMTNa pi ou VB8, de modo a serem mantidas as proporções pré estabelecidas de 1:2, 1:1 e 2:1 [p/p], e o sistema foi mantido sob agitação magnética por 15, 30, 45, 60 min ou 24, 48 e 72 h a temperatura ambiente. A separação do material intercalado foi feita através de centrifugação a 4000 rpm por 1 h, em centrífuga, no caso das intercalações de PQH com MMTNa pi. Para as reações de PQH com VB8 a separação do material intercalado é feita por evaporação do solvente em rotaevaporador. O rendimento das interações de PQH com MMTNa pi foi estimado pela quantificação indireta da quantidade do polímero presente no sobrenadante através de espectrofotometria de ultravioleta-visível (UV-Vis) em espectrofotômetro BIOSPECTRO, baseando-se nos valores da curva de calibração elaborada de PQH. Nas reações de intercalação de PQH em VB8 o rendimento foi estimado por ATG, quando do indicativo de formação de nanocompósito por DRX.

3.2.4 Preparo dos nanocompósitos de 5-FU com a MMTNa pi

Foram realizados experimentos de intercalação de 5-FU com MMTNa pi variando-se a concentração de 5-FU de acordo com a CTC em 100%, 80% e 60%, levando-se em consideração o valor de 80 mEq/100 g de argila como sendo a CTC da MMTNa pi, em 24 h, empregando-se como solvente água destilada.

Os nanocompósitos foram preparados adicionando-se quantidades suficientes de 5-FU e MMTNa pi, de modo a serem atingidas as concentrações pré estabelecidas da CTC, mantendo-se a massa final em 0,5 g e o sistema foi mantido sob agitação magnética contínua de acordo com o tempo reacional a temperatura ambiente. A separação do material intercalado foi realizada através de centrifugação a 4000 rpm por 1 h, em centrífuga. O rendimento das intercalações de 5-FU com MMTNa pi foi estimado de forma indireta, pela quantificação do fármaco presente no sobrenadante através de espectrofotometria de ultravioleta-visível (UV-Vis), baseando-se na curva de calibração elaborada de 5-FU.

3.2.5 Preparo dos nanocompósitos do fármaco DXZ com a MMTNa pi

Foram realizados experimentos de intercalação de DXZ com MMTNa pi variando-se as concentrações de DXZ de acordo com a CTC (100%, 80% e 60%), levando-se em consideração o valor de 80 mEq/100 g de argila como sendo a CTC da MMTNa pi, e em três diferentes tempos reacionais (18 h, 24 h e 48 h), empregando-se a água destilada como solvente para as reações.

Os nanocompósitos foram preparados adicionando-se quantidades suficientes de DXZ e MMTNa pi, de modo a serem atingidas as concentrações pré estabelecidas da CTC, mantendo-se a massa final em 0,5 g e o sistema foi mantido sob agitação magnética contínua de acordo com o tempo reacional previsto a temperatura ambiente. A separação do material intercalado foi feita através de centrifugação a 4000 rpm por 1 h, em centrífuga. O rendimento das intercalações de DXZ com MMTNa pi foi estimado de forma indireta pela quantificação do fármaco presente no sobrenadante através de espectrofotometria de ultravioleta-visível (UV-Vis), baseando-se nos valores calculados da curva de calibração da DXZ.

3.2.6 Preparo de nanosistema combinado polímero (PQH) / silicato lamelar (MMTNa pi) / fármaco (DXZ)

Os materiais combinados foram preparados adicionando-se a 1,0 g do nanocomposito obtido da intercalação de PQH em MMTNa, uma massa de DXZ

equivalente a 100% da CTC da MMTNa, utilizando-se o tempo de 18 h de intercalação a temperatura ambiente, sob agitação magnética contínua, condições estas tidas como idéias de acordo com os estudos de intercalação já realizados com PQH / MMTNa isoladamente. Os produtos de intercalação tiveram sua separação feita através de centrifugação a 4000 rpm por 1 h, em centrífuga a 8000 rpm e o rendimento dos nanosistemas formados foi-se estimado pela quantificação do fármaco presente no sobrenadante através de espectrofotometria de ultravioleta-visível (UV-Vis), baseando-se nos valores da curva de calibração elaborada da DXZ.

3.2.7 Caracterização dos nanocompósitos de polímeros ou fármacos com silicatos lamelares preparados

3.2.7.1 Procedimento geral para o isolamento e análise do material obtido

Os materiais resultantes das intercalações foram submetidos à centrifugação a 4000rpm durante 1 h em centrífuga ou à evaporação em rotaevaporador, sendo o sedimento centrifugado recolhido e seco a temperatura ambiente em dissecador sob vácuo. Os materiais obtidos foram triturados e tamisados em malha 40 ASTM e caracterizados por difração de raios X (DRX).

Com o resultado da análise obtida por DRX são selecionados os nanocompósitos que obtiveram o maior espaçamento basal, o melhor rendimento (analisado por espectrofotometria UV-Vis), com menor tempo reacional gasto e menos polímero ou fármaco utilizado para a intercalação com os silicatos lamelares. Foram preparadas reações de intercalação em triplicata desses nanocompósitos selecionados, e após o tempo reacional determinado separa-se o sobrenadante do decantado por centrifugação, onde o sobrenadante é levado para leitura no espectrofotômetro com a finalidade de determinar o rendimento reacional. O material decantado, após secagem (em dissecador a vácuo), foi triturado e tamisado levado para caracterização no DRX novamente, avaliando-se, desta maneira, a capacidade de reprodutibilidade das condições reacionais selecionadas como as melhores para a intercalação.

Sendo constatada a reprodutibilidade, os nanocompósitos foram caracterizados por espectrofotometria de infravermelho (IV), em espectrofotômetro de absorção no infravermelho com transformada de Fourier PERKIN ELMER, por análise calorimétrica de varredura diferencial (ACVD), em calorímetro de varredura diferencial PERKIN ELMER, por analisador termogravimétrico (ATG), em analisador termogravimétrico PERKIN ELMER de forma a se evidenciar a inserção dos polímeros e fármacos no espaço interlamelar dos silicatos lamelares estudados (NIKKHAH e colaboradores, 2009).

3.2.7.2 Preparo das curvas de calibração

As curvas de calibração para todas as substâncias envolvidas no trabalho, 5-FU, DXZ e PQH, foram realizadas diluindo-se em água destilada, em cinco concentrações diferentes, e suas absorbâncias foram mensuradas no espectrofotômetro UV-Vis, no comprimento de onda adequado para cada substância, pesquisado em artigos ou monografias ou experimentalmente como o caso do PQH através de uma análise espectrofotométrica de varredura entre 190 a 800 nm.

Para escolha do melhor comprimento de onda para a análise espectroscópica do PQH preparou-se uma solução aquosa de PQH com a concentração de 3 mg/mL, essa solução foi lida em dois intervalos de comprimento de onda, o primeiro de 190 a 400 nm e o segundo de 400 a 800 nm, acionando-se a lâmpada de tungstênio.

3.2.7.3 Difração de Raios X (DRX)

As amostras previamente secas trituradas e tamisadas em malha 40 *mesh*, obtidas nos experimentos de intercalação, foram analisadas em um difratômetro de raio X Rigaku. O ângulo de difração (2θ) foi registrado de 2° a 10° a temperatura ambiente. O $\text{CuK}\alpha$ foi utilizada como fonte do raio X, que foi operado a 40 kV e 30 mA.

Na DRX, ocorre a interação entre o vetor elétrico de radiação X e os elétrons do material submetido à análise, gerando uma dispersão. Então, quando os raios X sofrem essa dispersão, devido à estrutura organizada presente no material, ambas as

interferências construtivas e destrutivas, surgem entre os raios dispersos, uma vez que as distâncias entre os centros de dispersão são de mesma ordem de magnitude do comprimento de onda da radiação, resultando, neste modo, na difração (SKOOG, HOLLER & NIELMAN, 1998).

Quando um feixe de raios X atinge uma superfície cristalina a um mesmo ângulo θ , uma parte destes raios é dispersa pela camada de átomos na superfície. A porção do feixe que não sofreu dispersão penetra na segunda camada de átomos onde novamente é dispersa, sendo que uma parte remanescente passa para uma terceira camada. Esse efeito cumulativo do espalhamento nos centros regularmente espaçados do material resulta na difração do feixe em sua grande parte, do mesmo modo que a radiação visível é difratada pela reflexão reticular (SKOOG, HOLLER & NIELMAN, 1998).

A figura 18 mostra a difração que ocorre entre duas lamelas consecutivas de silicatos lamelares separadas por uma distância d (espaçamento basal). Os raios X de comprimento de onda λ interceptam a argila no ângulo incidente θ . O valor experimental 2θ é correspondente ao ângulo entre a onda difratada e a onda que entra na argila. As ondas normais conectam dois pontos idênticos entre duas ondas incidentes e duas ondas difratadas de duas lamelas consecutivas. Para que essas duas ondas sejam consecutivas, a distância $A+B$ (espaço que difere o caminho percorrido pelas duas ondas) deve ser igual a um número inteiro de comprimento de onda ($A+B = n\lambda$). Uma vez que a distância d é normal (forma um ângulo de 90°) aos planos e a onda normal traçada na figura é normal aos raios incidentes e difratados, os ângulos opostos a A e B também são θ . Sendo assim $A = d \sin\theta$ e $B = d \sin\theta$. Logo, $A+B = 2d \sin\theta$, devendo a interferência construtiva ocorrer quando $\lambda = 2d \sin\theta$, que corresponde a Equação de Bragg (RESENDE, 2006).

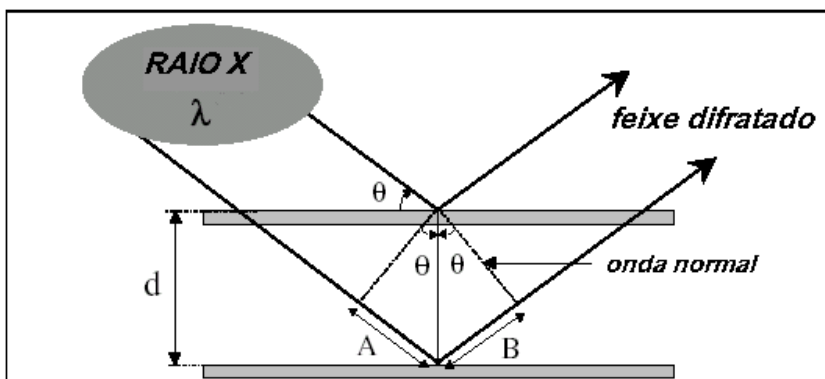


Figura 18. Princípio da difração de raios X na argila (RESENDE, 2006).

A análise de DRX foi utilizada com o objetivo de se observar a variação do espaçamento basal dos silicatos lamelares após as reações de intercalação para a formação de nanocompósitos (RESENDE, 2006), decorrente da inserção do polímero ou do fármaco antineoplásico no espaço interlamelar.

3.2.7.4 Análise de espectroscopia de absorção no infravermelho (IV)

Foram feitas análises dos nanocompósitos selecionados, preparando-se pastilhas de KBr com amostras de cada produto dos melhores experimentos, na proporção 1,0% p/p de amostra em relação a massa total de 150 mg, sendo essas realizadas em espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier PERKIN ELMER. As posições das bandas nos espectros são apresentadas em número de ondas (ν) cuja unidade é o centímetro inverso (cm^{-1}) e as intensidades das bandas estão expressas como transmitância (T). A radiação infravermelha (IR) corresponde à parte do espectro situada entre as regiões do visível e das microondas, sendo, para aqueles que trabalham com moléculas orgânicas, a região de maior interesse na identificação de estruturas situada entre 4.000 e 400 cm^{-1} . A radiação infravermelha em frequência menor do que aproximadamente 100 cm^{-1} , quando absorvida, converte-se em energia de rotação molecular. Esse processo é quantizado e, conseqüentemente, o espectro de rotação das moléculas consiste em uma série de linhas (SILVERSTEIN, BASSLER & MORRIL, 1994).

3.2.7.5 Análise calorimétrica de varredura diferencial (ACVD)

Os nanocompósitos foram corridos contra um padrão alumínio num fluxo de 50 mL/min N₂ com uma taxa de temperatura de 20°C/min de 25° a 800°C.

Através desta técnica, as diferenças no fluxo de calor dentro de uma amostra e uma referência são medidas em função da temperatura da amostra, enquanto ambas (referência e amostra) são submetidas a um programa de controle de temperatura, sendo que dois métodos são utilizados para obter dados de ACVD (SKOOG, HOLLER & NIELMAN, 1998; LUCAS, SORES & MONTEIRO, 2001): (1) análise calorimétrica de varredura de energia compensada, onde a amostra e referência são aquecidas separadamente de forma igual e linear; (2) análise calorimétrica de varredura com fluxo de aquecimento, onde a diferença no fluxo de aquecimento dentro da amostra e da referência é medida conforme a temperatura da amostra aumente ou diminua linearmente.

São muitas as aplicações da ACV, podendo-se citar a determinação das temperaturas de transição em polímeros: transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c) e temperatura de fusão (T_m), além de análises quantitativas como: calor específico (C_p), calor de fusão (ΔH_f), calor de cristalização (ΔH_c), teor de pureza, determinação de grau de cristalinidade, reações de decomposição e de desidratação, estabilidade térmica, além de outras aplicações (NOGUEIRA, 2002).

3.2.7.6 Análise termogravimétrica (ATG)

Na ATG, mede-se a variação de massa de uma amostra em função da temperatura (varredura de temperatura) ou do tempo a uma temperatura constante (modo isotérmico).

O instrumental básico utilizado para a análise é uma microbalança de precisão, um forno, um programador de temperatura e um sistema de aquisição de dados (computador). Os resultados são apresentados na forma de uma curva termogravimétrica (TG), na qual se registra a variação percentual de peso em função

da temperatura ou do tempo, ou na forma de curva termogravimétrica derivada (TGD), na qual se registra a primeira derivada da TG contra a variação da temperatura ou do tempo. Como a curva termogravimétrica é quantitativa, podemos calcular a estequiometria do composto em uma dada temperatura (LUCAS e colaboradores, 2001).

A estabilidade térmica de um material é avaliada por ATG, onde a perda de massa da amostra, devido à volatilização, é monitorada em função de uma faixa de temperatura. Quando o aquecimento é operado sob fluxo de um gás inerte, como o nitrogênio ou hélio, ocorre uma degradação não oxidativa, enquanto se for usado ar ou oxigênio se observa a degradação oxidativa da amostra (ALEXANDRE & DUBOIS, 2000).

Esta técnica é muito útil para se caracterizar nanocompósitos, pois permite avaliar mudanças no perfil de degradação do produto obtido, seja no melhoramento ou piora das propriedades térmicas (PANDEY e colaboradores, 2005), assim como, se quantificar a quantidade de polímero ou fármaco inserido na amostra.

3.2.7.7 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A interpretação dos resultados das análises obtidos pela DRX deve ser feita com cuidado uma vez que a sensibilidade da análise e os limites do equipamento podem levar a conclusões erradas. Desta forma, a microscopia eletrônica de transmissão é uma técnica necessária para complementar a caracterização dos nanocompósitos preparados, fornecendo uma medida direta da distribuição espacial das lamelas dos silicatos lamalares (RESENDE, 2006).

A MET é uma técnica poderosa para se estudar estruturas na escala nanométrica, podendo ser utilizada para confirmar os resultados obtidos pela DRX sobre a organização lamelar dos silicatos estudados (NIKKHAH e colaboradores, 2009).

Na MET, a formação da imagem se deve ao espalhamento de elétrons que ocorre quando um feixe destes atravessa a amostra. A MET pode ser dividida em três

componentes: (1) o sistema de iluminação; (2) as lentes objetivas e; (3) o sistema de imagem. O sistema de iluminação compreende a fonte, que produz os elétrons e as lentes equipadas com um diafragma, o qual direciona o feixe de elétrons para a amostra. A lente usa um campo eletromagnético para focalizar o feixe de elétrons. Os elétrons são espalhados após passarem pela amostra. Eles são então transferidos para as lentes objetivas. A primeira imagem da amostra é formada pelas lentes objetivas. A abertura da objetiva controla o espalhamento do feixe de elétrons e dá o contraste da imagem. O sistema de imagem utiliza diferentes lentes (lentes intermediárias e lentes projetoras) para ampliar a imagem e focá-la na tela de visualização onde o operador pode observar a imagem ampliada da amostra (RESENDE, 2006).

Para o preparo de amostra, uma pequena quantidade de pó foi dispersa em álcool etílico numa cuba de ultrassom por 2 minutos. Duas gotas da dispersão pó-álcool foram então gotejadas numa grade de cobre recoberta com filme de carbono especial para uso em microscopia eletrônica de transmissão. Após secagem em dessecador sob vácuo durante 24 h, as amostra são observadas no microscópio eletrônico de transmissão, operando com 200 kV.

3.2.8 Estudo da funcionalidade do novo nanocompósito PQH/silicato lamelar

3.2.8.1 Preparo dos comprimidos para teste de intumescimento

Foram preparados comprimidos de MMTNa, de VB8 puras e do nanocompósito ideal de PQH com MMTNa pi com 300 mg de peso teórico cada um. Os comprimidos foram feitos por compressão direta utilizando-se 1,5% de estearato de magnésio para cada um dos três materiais citados acima alcançando, assim, o peso médio, que variou de 293 a 304 mg. Em todos os casos, a compressão foi feita em uma compressora excêntrica FABBE a uma pressão máxima de 3,0 kgF. A dureza dos comprimidos foi medida no durômetro com 10 comprimidos e o desvio padrão da medida calculado.

3.2.8.2 Estudos de Intumescimento/Inchamento Dinâmico (Dynamic Swelling)

O comportamento do intumescimento dinâmico dos comprimidos de MMP, VB8 puros e do nanocompósito de PQH com MMTNa pi (nas condições de 1:1 em 30 minutos, tida como ideal), em meios aquosos de pH diversos (suco gástrico simulado [SGS – pH 1,2], suco entérico simulado [SES pH 7,4]) e água, a temperatura ambiente. Os comprimidos foram pesados e depois imersos nos meios aquosos (50 mL). Após 20 minutos os comprimidos foram removidos, secos com uma folha de papel e pesados em uma balança analítica. Este procedimento foi repetido até não haver mais ganho de peso. Em todos os casos, em que foi possível a re-pesagem após 20 minutos, o intumescimento no equilíbrio foi calculado a partir da equação abaixo citada equação:

$$\% \text{ inchamento} = (P_t - P_i) / P_i \times 100$$

Onde:

P_i = peso inicial do comprimido;

P_t = peso do comprimido no tempo t (minutos).

3.2.8.3 Estudo das características de compactação

Foram preparados comprimidos contendo peso médio de 300mg de MMTNa pura e do nanocompósito de PQH com MMTNa pi, que apresentou as melhores condições reacionais (1:1 em 30 minutos), adicionando-se 1,5% de estearato de magnésio usando-se uma prensa hidráulica Perkin-Elmer com punção de 15,0 mm de diâmetro aplicando-se cinco diferentes pressões: 0,5; 1; 2; 3; 4 e 5 toneladas, por 15 segundos (MICHOEL e colaboradores, 1986). A dureza dos comprimidos foram medidas através do durômetro.

3.2.8.4 Teste de viabilidade celular

O teste de citotoxicidade escolhido para avaliar os produtos obtidos neste trabalho em termos de seu potencial antineoplásico foi o ensaio MTT. Este é um teste usado para avaliar a viabilidade celular, de execução rápida e objetiva, baseado em uma reação colorimétrica. O sal MTT (brometo de 3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-difenil

tetrazólio) entra na mitocôndria da célula viável e é clivado pela enzima succinato desidrogenase, produzindo cristais formazan, de coloração azul escuro. A quantidade de cristais formada é diretamente proporcional ao número de células viáveis. Assim, quanto mais escura a coloração ao final da reação, maior é a viabilidade celular. A densidade óptica resultante do teste MTT é determinada em espectrofotômetro (THOMAS, 2006).

Utilizou-se neste experimento, células estromais isoladas à partir da 6ª passagem de cultura primária de HPB, que são plaqueadas 1×10^4 células por poço, em placa de 96 poços com o fundo plano, 72 h antes do início do experimento adicionado, 200 μ L de DMEM + DHT + SFB10% por poço. Após 72 h do plaqueamento das células, retira-se todo o meio que é substituindo-o pelos tratamentos e “controles” (em quadruplicata), que utilizou-se no experimento, exceto nos poços referentes ao tempo zero, nos quais, após a retirada do meio, adicionou-se 100 μ L de MTT. Em seguida cobre-se a placa com papel alumínio, pois o MTT é fotossensível. Incuba-se a mesma por três horas na estufa, a uma temperatura de 37°C e CO₂ 5%, passadas às três horas na estufa, retira-se o MTT e adiciona-se 100 μ L de DMSO por poço. Agitando-se a placa no *Shaker* por 3 minutos. Retira-se o conteúdo de cada poço, com o auxílio de micropipeta, passando-o para uma placa não estéril. Leu-se a placa no leitor de Elisa a 570 nm. Realizou-se o mesmo procedimento 72 h após o lançamento da placa, com seus respectivos tratamentos e controles (LEWIS & CHESTNER, 1981; THOMAS, 2006).

4 Resultados e Discussão

4.1 Preparo das curvas de calibração

4.1.1 Curva de calibração do PQH

Com o auxílio do espectro de varredura, exibido na figura 19, foi estipulado para a leitura do PQH o comprimento de onda de 210 nm, ligeiramente acima da absorção máxima vista a 193 nm de forma a se evitar interferências nas análises realizadas referentes a gases dissolvidos na amostra (SILVERSTEIN, BASSLER & MORRIL, 1994).

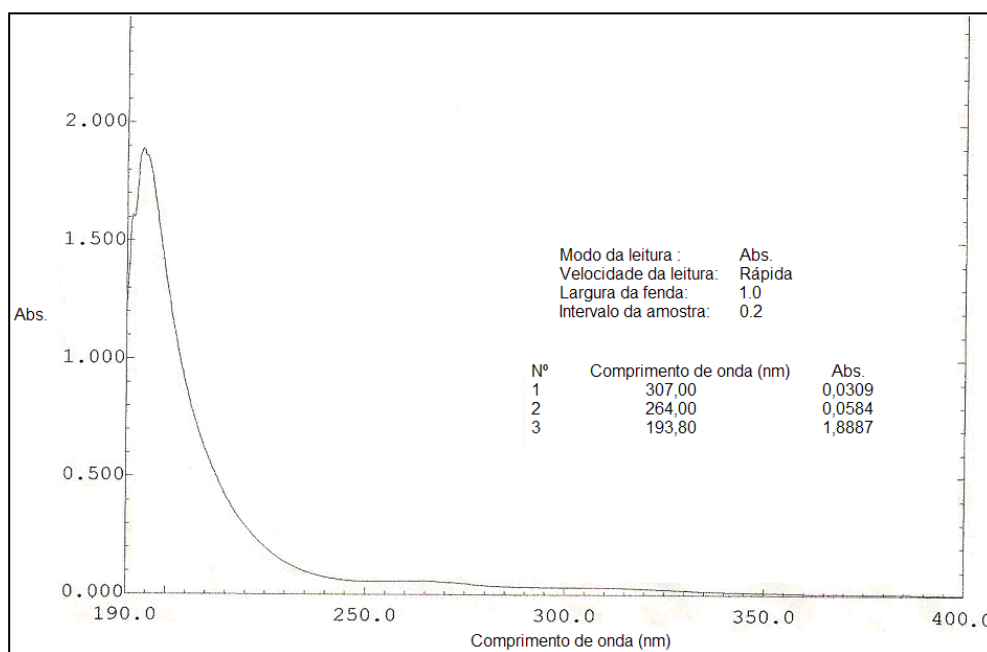
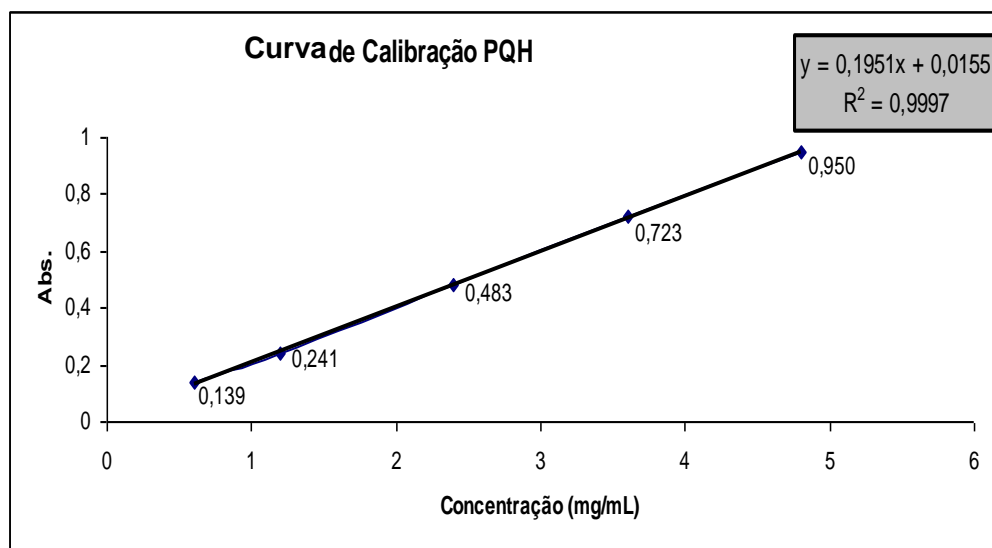


Figura 19. Espectro de varredura do PQH.

A curva de calibração do PQH foi preparada com as concentrações de 0,6; 1,2; 2,4; 3,6 e 4,8 mg/mL, utilizando como solvente água destilada e suas absorbâncias foram lidas no comprimento de onda de 210 nm (tabela 1). As absorbâncias lidas e o coeficiente de correlação calculado mostram a adequação da curva obtida (gráfico 1) para a quantificação do percentual de intercalação do polímero no silicato lamelar estudado.

Tabela 1. Dados da curva de calibração do PQH.

C (mg/mL)	Leitura
0,6	0,139
1,2	0,241
2,4	0,485
3,6	0,723
4,8	0,950

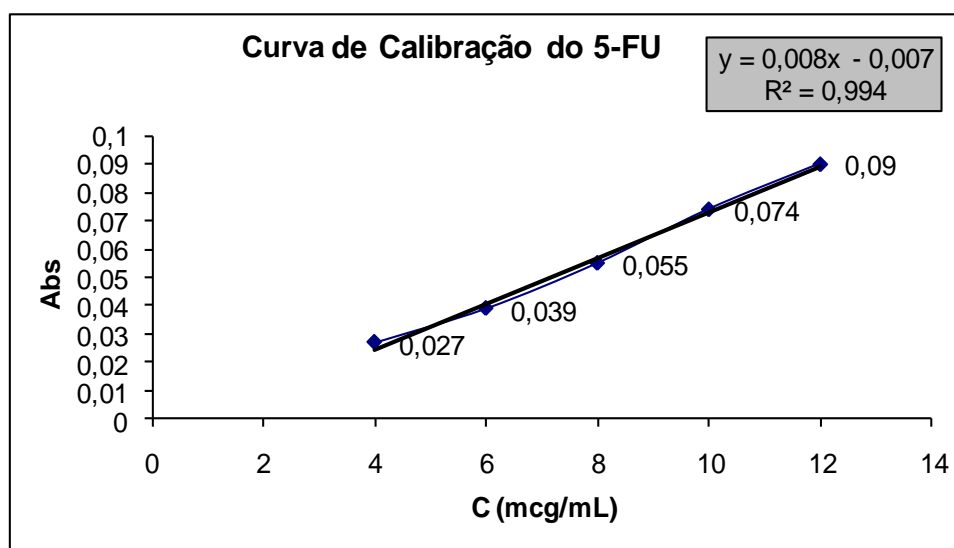
**Gráfico 1.** Curva de calibração do PQH, sua respectiva equação da curva e o coeficiente de correlação calculado, localizado no quadro cinza a direita do gráfico.

4.1.2 Curva de calibração do 5-FU

A curva de calibração do 5-FU foi elaborada com as concentrações de 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12,0 $\mu\text{g/mL}$, utilizando como solventes na primeira diluição metanol PA e na segunda diluição água destilada, sendo suas absorvâncias lidas no comprimento de onda de 265nm (tabela 2) (USP, 2007). As absorvâncias lidas e o coeficiente de correlação calculado mostram a adequação da curva obtida (gráfico 2) para a quantificação de 5-FU nos experimentos realizados.

Tabela 2. Dados da curva de calibração do 5-FU.

C ($\mu\text{g/mL}$)	Leitura
4	0,027
6	0,039
8	0,055
10	0,074
12	0,090

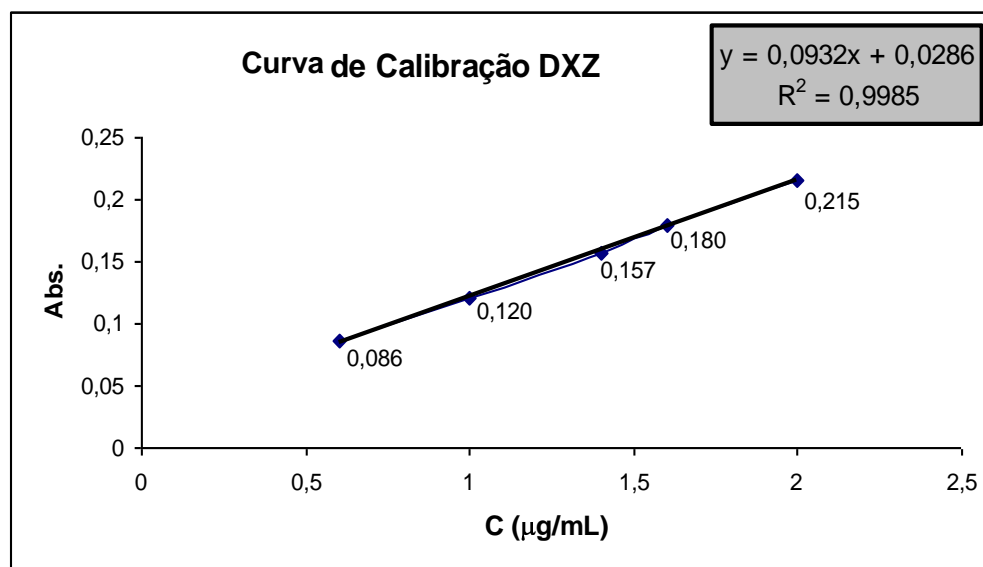
**Gráfico 2.** Curva de calibração do 5-FU, sua respectiva equação da curva e o coeficiente de correlação calculado, localizado no quadro cinza a direita do gráfico.

4.1.3 Curva de calibração do DXZ

A curva de calibração da DXZ foi elaborada com as concentrações de 0,6; 1,0; 1,4; 1,6 e 2,0 $\mu\text{g/mL}$, utilizando como solventes metanol na primeira diluição e água destilada na segunda diluição e suas absorbâncias foram lidas no comprimento de onda de 240 nm (tabela 3) (THOMAS e colaboradores, 2008). As absorbâncias lidas e o coeficiente de correlação calculado mostram a adequação da curva obtida (gráfico 3) para a quantificação de DXZ nos experimentos realizados.

Tabela 3. Dados da curva de calibração do DXZ.

C (µg/mL)	Leitura
0,6	0,086
1,0	0,120
1,4	0,157
1,6	0,180
2,0	0,215

**Gráfico 3.** Curva de calibração da DXZ, sua respectiva equação da curva e o coeficiente de correlação calculado, localizado no quadro cinza a direita do gráfico.

4.2 Caracterização dos nanocompósitos preparados

4.2.1 Nanocompósitos de PQH com VB8

Foram feitas reações de intercalação à temperatura ambiente do PQH com a VB8, estudando-se sete tempos diferentes (15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 h, 24 h, 48 h e 72 h). Em cada tempo trabalhou-se em três diferentes proporções de PQH e VB8 (1:1, 1:2 e 2:1 [p/p]) em solução de 150 mL (nas proporções 1:2 e 2:1) ou 200 mL de diclorometano (na proporção 1:1) de forma a se manter a concentração da solução

sempre em 1,0% p/v e o sistema foi mantido sob agitação magnética contínua de acordo com o tempo reacional a temperatura ambiente.

Ao final da agitação magnética as amostras foram levadas para a evaporação do solvente em rota evaporador, onde ocorreu a separação do material intercalado. O material intercalado foi triturado, com auxílio de gral e pistilo, e tamisado em malha 40 ASTM. O material tamisado foi levado para análise de DRX.

Foram realizadas as DRX dos materiais intercalados obtidos e da VB8 pura, objetivando compará-los para verificar se houve a formação de nanocompósitos. No difratograma da VB8 verificou-se uma banda de maior intensidade em $3,2^\circ$, com espaçamento basal em torno de $27,6 \text{ \AA}$ (figura 20). Os resultados de DRX dos materiais intercalados podem ser observados na tabela 4.

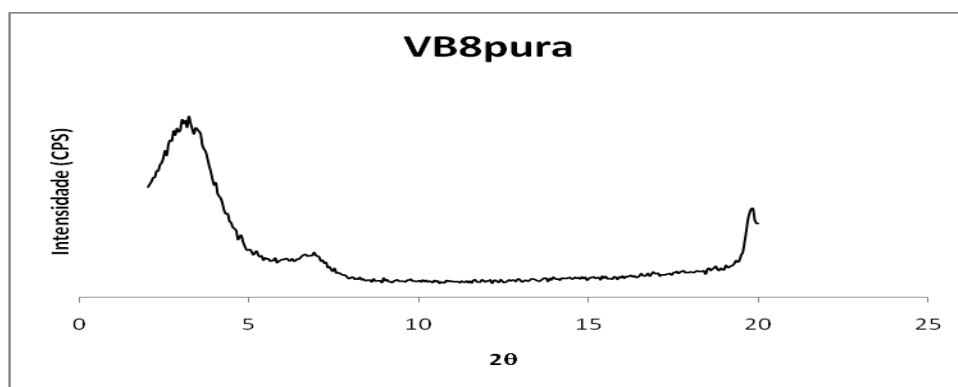


Figura 20. Difratograma da VB8 pura.

Tabela 4. Análise de DRX das intercalações de PQH:VB8.

Proporção	Espaçamento Basal (\AA) de acordo com o tempo reacional						
	15 m	30 m	45 m	1 h	24 h	48 h	72 h
1:1	19,209	18,603	17,498	17,673	17,498	18,409	17,852
1:2	18,603	19,636	17,852	18,603	17,852	17,673	18,409
2:1	18,034	18,603	18,220	18,034	19,209	18,409	18,409

Nas análises de DRX das reações de intercalação do PQH na VB8 não foram observados aumento no espaçamento basal da VB8, e sim uma diminuição indicando que não houve formação de nanocompósitos intercalados, isto é, não ocorreu à intercalação do PQH nas lamelas da VB8. Provavelmente, houve alteração da

conformação dos íons alquilamônio no interior das lamelas, o que levou a conformação de menor espaçamento interlamelar (RAY & OKAMOTO, 2003). Esta proposta se confirma com a preparação do branco do experimento de intercalação, onde a argila VB8 foi submetida as condições experimentais sem a adição do PQH. Neste caso, após isolamento do produto, observou-se espaçamento interlamelar de 21,82 Å, coerente com o resultado obtido nos experimentos iniciais. A metodologia foi retestada, sendo os nanocompositos obtidos caracterizados por IV, não foi observou evidência da presença de PQH nos mesmo, havendo indícios da formação de nanocompósitos intercalados.

4.2.2 Nanocompósitos de PQH com MMTNa pi

Foram feitas reações de intercalação à temperatura ambiente do PQH com MMTNa pi, variando-se em sete tempos diferentes (15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 h, 24 h, 48 h e 72 h). E para cada tempo trabalhou-se em três diferentes proporção de PQH e MMTNa pi (1:1, 1:2 e 2:1 [p/p]) em solução de 150 mL (nas proporções 1:2 e 2:1) ou 200 mL (na proporção 1:1) de água destilada, e o sistema foi mantido sob agitação magnética contínua de acordo com o tempo reacional a temperatura ambiente. Esta inserção do polímero catiônico no interior das lamelas, tomou por base a inserção bem sucedida de diferentes sais de amônio de cadeia longa utilizando-se a bentonita sódica bruta como substrato, de forma a se obter os diferentes derivados organofílicos, como a octadecilamina (Viscogel B8) e derivados de dimetil e trimetil amônio, comercializados pela Bentec[®] (BENTEC, 2009^a; 2009^b; 2009^c). A similaridade estrutural apresentada entre estes sais de amônio e o poliquart H, justificaria o investimento neste sentido. Ionenos metilados e outros policátions tem sido intercalados em MMTNa com rendimentos consideráveis, reforçando novamente, em especial quando se considera sua estrutura molecular, o sucesso da intercalação do PQH neste silicato, conforme pode se observar na figura 21 (COSTA FILHO, GOMES & LUCAS, 2005).

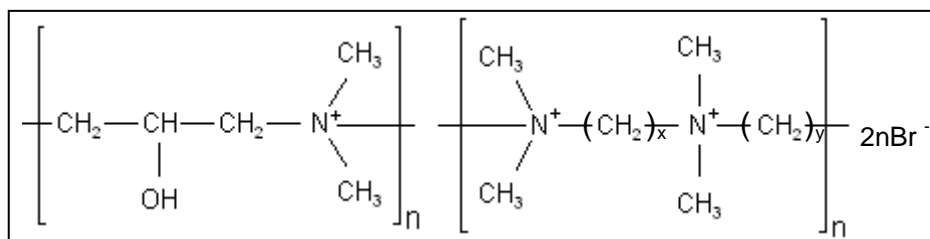


Figura 21. Estrutura básica dos ionenos.

Após agitação magnética as amostras são levadas para a centrifugação a 4000 rpm por 1 h, resultando em dois produtos, o sobrenadante e o material intercalado (decantado). O sobrenadante foi utilizado para estimar o rendimento da intercalação. O material intercalado foi transferido para placa de Petri e colocado no dessecador à vácuo para secagem, após secagem o material foi pulverizado, com auxílio de gral e pistilo, tamisado em malha 40 ASTM. O material tamisado foi levado para análise de DRX.

Foi realizada a DRX da MMTNa para finalidade comparativa, onde uma banda de maior intensidade foi observada em $2\phi = 6,05$ graus, com base neste valor foi calculado o espaçamento basal de $14,6 \text{ \AA}$ (figura 22).

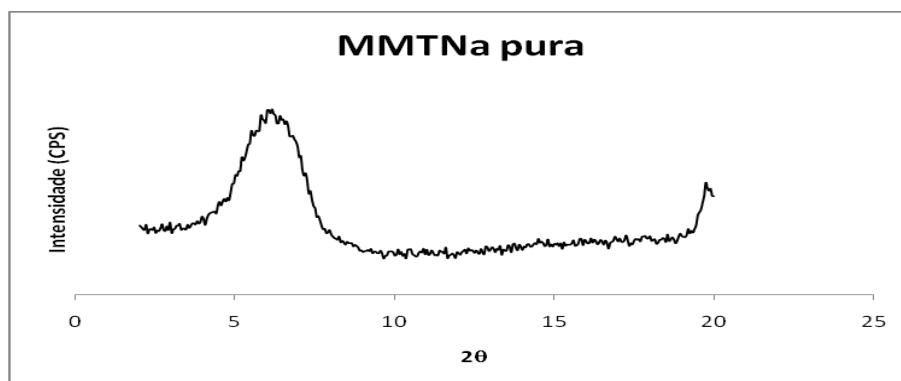


Figura 22. Difratoograma da MMTNa pura.

Nas reações com PQH e MMTNa pi, o aumento do espaçamento interlamelar evidencia a formação de nanocompósitos. Como pode ser observado nas figuras 23, 24 e 25 abaixo, houve deslocamento das lamelas e um aumento da intensidade dos registros quando comparadas com o difratograma da MMTNa pura nas três proporções polímero / silicato estudadas. Ainda, considerando-se o valor do branco, difratograma da MMTNa submetida às condições experimentais sem a adição do PQH, leva a uma

redução do espaço interlamelar, 13,0 Å, desta forma pôde-se confirmar a inserção do material polimérico nestes experimentos.

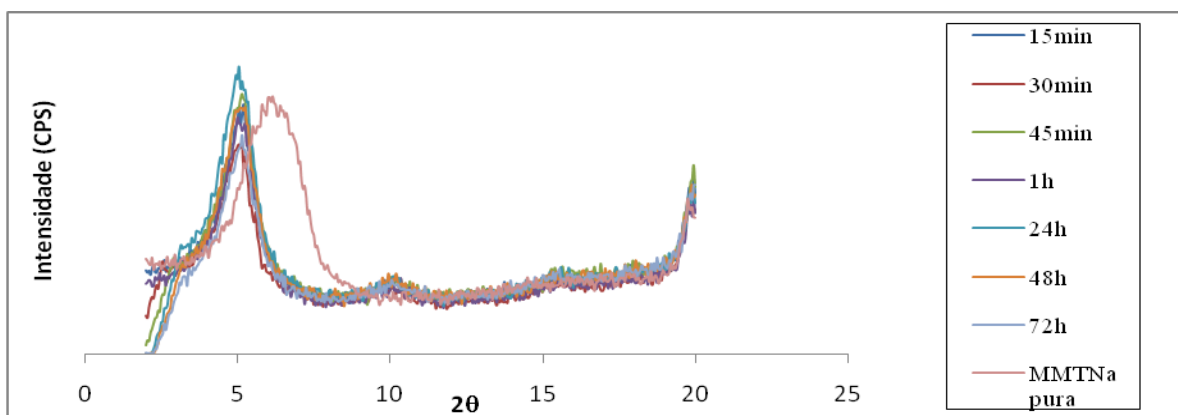


Figura 23. Difratogramas das reações de intercalação de PQH com MMTNa pi na proporção 1:1 (p/p) nos 7 tempos reacionais diferentes, comparados com o difratograma da MMTNa pura.

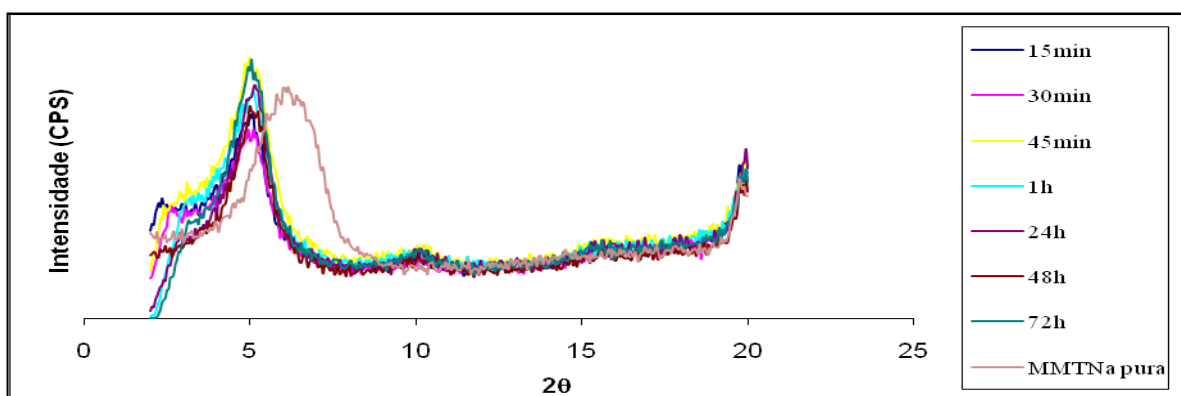


Figura 24. Difratogramas das reações de intercalação de PQH com MMTNa pi na proporção 1:2 (p/p) nos 7 tempos reacionais diferentes, comparados com o difratograma da MMTNa pura.

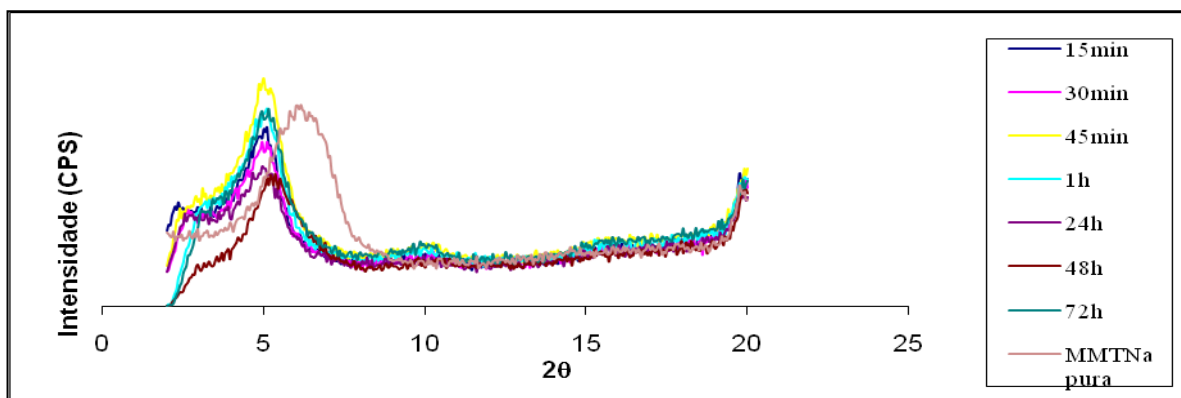


Figura 25. Difratogramas das reações de intercalação de PQH com MMTNa pi na proporção 2:1 (p/p) nos 7 tempos reacionais diferentes, comparados com o difratograma da MMTNa pura.

Nos experimentos de intercalação com PQH e MMTNa pi analisadas, observou-se evidência de formação de nanocompósitos em todas as três proporções e nos sete tempos para cada uma das proporções. Para eleição do melhor ponto para a formação de nanocompósitos levou-se em consideração o menor tempo reacional, menor quantidade de PQH e MMTNa gastas e menor rendimento reacional para a formação de nanocompósitos.

Os rendimentos das reações de intercalação foram mensurados por espectrofotometria, utilizando-se o sobrenadante das mesmas e a curva de calibração do PQH. Os resultados obtidos das análises de DRX e rendimento das reações de intercalação, visualizadas na tabela 5, indicam que o melhor ponto reacional para a formação de nanocompósitos foi o de 1:1 polímero/silicato em 30 minutos, o que é suportado por estudos anteriores de inserção de poli-vinilpirrolidona (PVP K-30) em MMTNa, a qual era inserida no espaço interlamelar do silicato no mesmo tempo de experimento, a temperatura ambiente e em rendimentos de cerca de 20-25% (DORNELAS *et al*, 2008).

Evidenciou um espaçamento basal satisfatório de 17,673 Å, num curto período reacional (30 minutos), com um rendimento muito superior ao descrito anteriormente para a PVP-K30 (DORNELAS *et al*, 2008), cerca de 60-70%, mostra claramente a maior afinidade deste polímero pelo silicato, muito provavelmente, devido a sua maior flexibilidade molecular. Ainda pode se considerar o custo reduzido do processo visto o reduzido volume de substâncias envolvidas na reação, o que é destacado na tabela 5.

Tabela 5. Análise de DRX das intercalações de PQH:MMTNa pi e seus rendimentos (%).

Propor- ção	Espaçamento Basal (Å) de acordo com o tempo reacional e o rendimento (R%)													
	15m	R %	30m	R %	45m	R %	1h	R %	24h	R %	48h	R %	72h	R %
1:1	16,994	61,32	17,673	77,75	17,159	76,33	17,673	73,26	17,673	72,68	16,832	69,87	17,159	70,81
1:2	16,518	63,32	16,832	76,31	17,327	79,95	16,365	73,48	16,823	74,25	16,518	68,53	16,215	68,73
2:1	17,327	61,88	17,327	69,33	17,673	73,84	17,327	74,24	17,852	73,84	16,518	69,72	17,159	72,93

Do melhor ponto foram feitas triplicatas e levadas para análise de DRX e seus rendimentos medidos (tabela 6 e figura 26) objetivando verificar reprodutibilidade do

método. O método mostrou-se reprodutível, mantendo-se o espaçamento médio em 17,97 Å e o rendimento de 76%, sendo o processo desta forma reprodutível.

Tabela 6. Análise de DRX das triplicatas de PQH:MMTNa pi, no melhor ponto obtido (1:1), e seus rendimentos (%) em 30 minutos de intercalação com desvia padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR).

	Triplicata 1	Triplicata 2	Triplicata 3	DP	DPR (%)
Espaçamento basal (Å)	17,673	18,409	17,852	0,38	1,24
Rendimento (%)	77,75	76,31	75,25	1,24	2,14

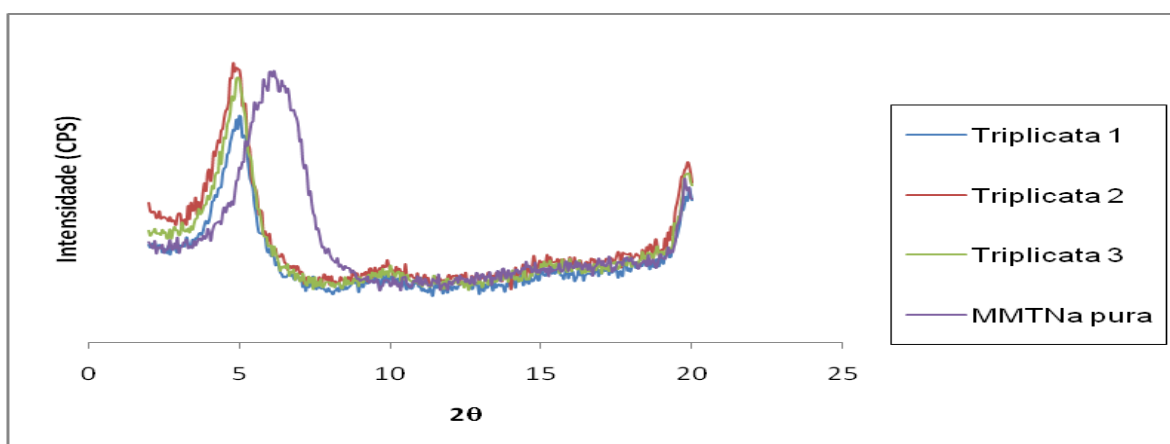


Figura 26. Difratogramas das reações de intercalação de PQH com MMTNa pi na proporção 1:1 (p/p) das triplicatas, comparadas com o difratograma da MMTNa pura.

Como não se encontra descrito em literatura trabalhos relacionados a preparação de nanocompósitos de PQH com MMTNa, apenas com outros tipos de polímeros, torna-se difícil obter dados conclusivos somente com a DRX, sendo necessário outras análises para a caracterização de nanocompósito intercalado. Entretanto, este fato ressalta o ineditismo deste novo material.

Assim, utilizou-se também o método de espectroscopia de IV na caracterização do nanocompósito (figura 27), analisando-se os espectros de IV da MMTNa, PQH, mistura física (MF) PQH com MMTNa e do nanocompósito de PQH com MMTNa. O espectro da MMTNa mostra como característica uma das principais bandas de absorção à 3.400 cm^{-1} devido ao estiramento -OH da água adsorvida, observando-se, ainda, as bandas em torno de 3620 e 3698 cm^{-1} devido ao estiramento da ligação -OH para o Al-OH e Si-OH . Os ombros e amplitudes estruturais da banda -OH são devidos

principalmente às contribuições de diversos grupos –OH que ocorrem na estrutura da MMTNa. A banda de absorção em torno de 1.640 cm^{-1} é atribuída ao modo de flexão –OH da água adsorvida. O pico característico em 1115 e 1.035 cm^{-1} se deve a vibração de silicatos em camadas do estiramento Si-O (fora do plano) e alongamento Si-O (no plano), respectivamente. Picos em torno de 915 , 875 e 836 cm^{-1} são atribuídas as vibrações de flexão das ligações Al-Al-OH, Al-Fe-OH e Al-Mg-OH, respectivamente (JOSH, 2009a; 2009b).

Tabela 7. Atribuições prováveis dos grupamentos funcionais do PQH dos modos vibracionais IV correspondentes (CANELLA & GARCIA, 2000; TONHI & PLEPIS, 2000; MATTOS, DINIZ & IHA, 2004).

Número de onda (cm^{-1})	Modo Vibracional / Grupo Funcional
3070	Estiramento CH_2
2960	Estiramento CH_3
1750	Estiramento assimétrico CO
1650	Estiramento amina primária
1560	Estiramento amina secundária
1195 1110	Estiramento simétrico COC

Tendo em vista os picos característicos da MMTNa pura e do PQH descritos em literatura (tabela 7) (CANELLA & GARCIA, 2000; TONHI & PLEPIS, 2000; MATTOS, DINIZ & IHA, 2004), e comparando-os com os espectros da MF de PQH com MMTNa e do nanocompósito de PQH:MMTNa (figura 27), foi possível identificar as bandas características da MMTNa pura e do 5-FU na MF de PQH, porém, no espectro do nanocompósito de PQH:MMTNa, as bandas características do PQH são pouco visíveis, pode-se concluir que a intercalação do polímero nas lamelas da MMTNa leva a uma redução da intensidade de absorção de infravermelho do material intercalado (DORNELAS 2008). Também, pode-se sugerir que o PQH em MMTNa não está ligado apenas na superfície livre de adsorção, mas também faz ligações químicas dentro MMTNa.

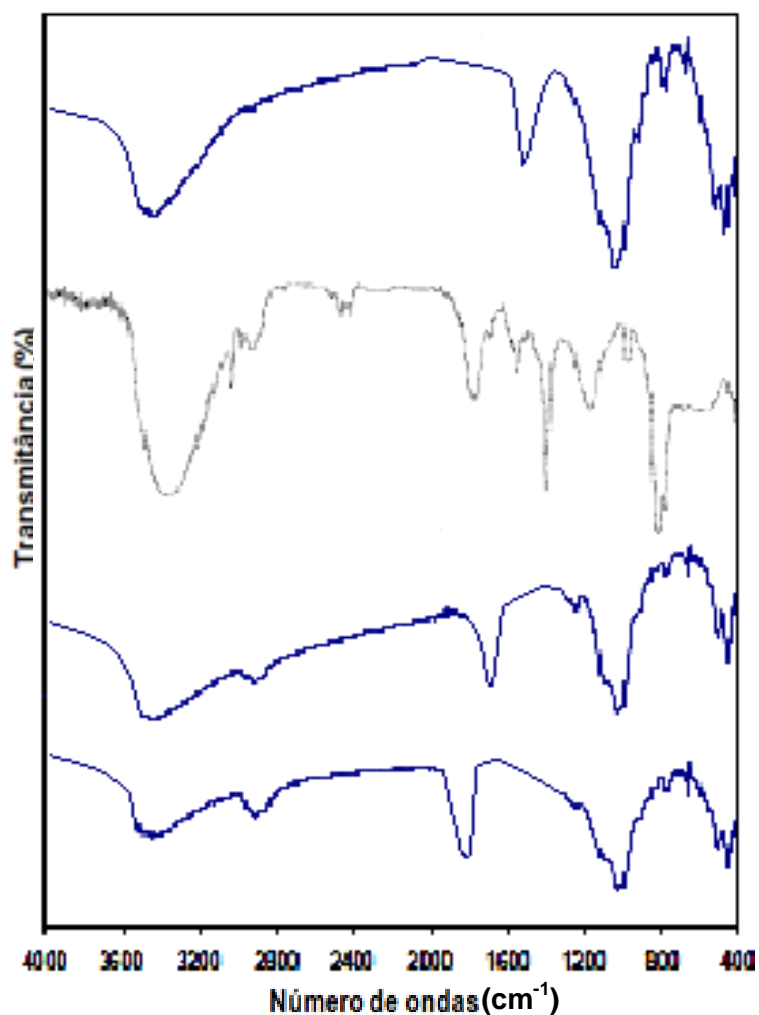


Figura 27. Espectro de IV da MMTNa, PQH, MF PQH com MMTNa e do nanocompósito PQH:MMTNa.

Ao se avaliar os resultados de ATG da mistura física, correspondente ao 100% teórico e do nanocompósito, se verifica uma perda de massa em torno de 300°C de 31,287% para a mistura física e 24,801% para o nanocompósito, o que leva a um rendimento de intercalação de 79,26%, condizentes com os valores observados por espectroscopia de UV (figura 28).

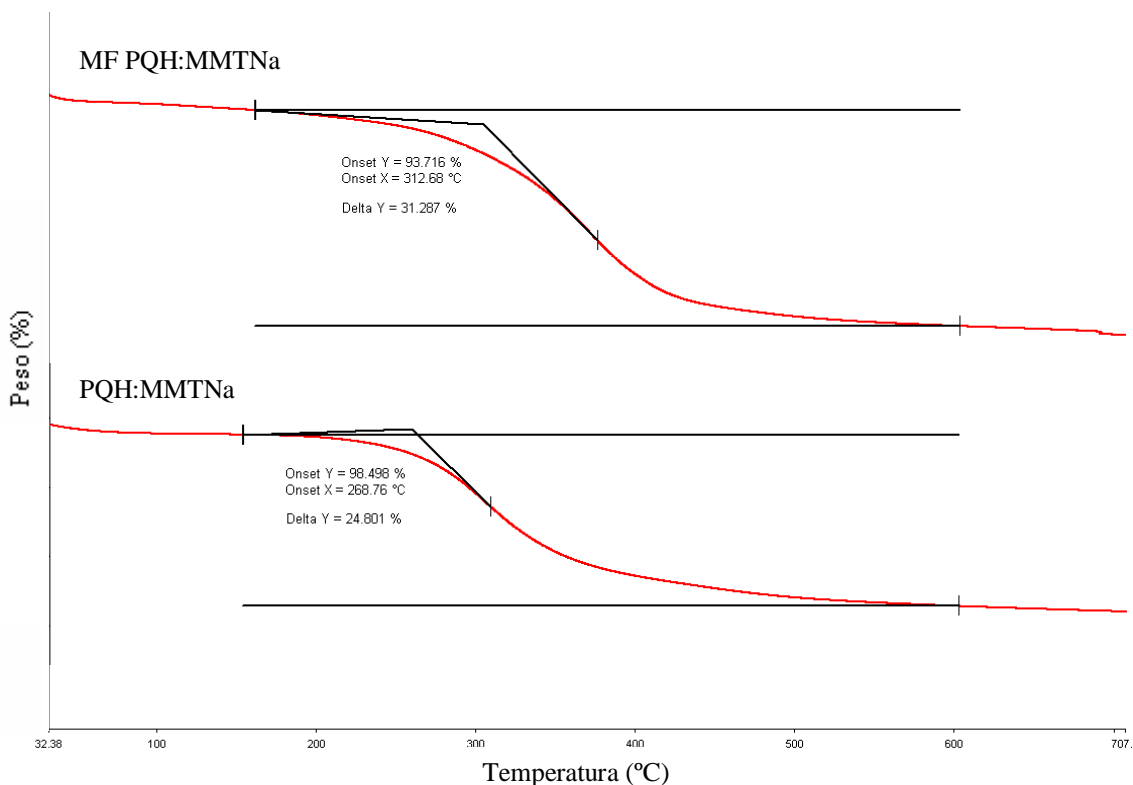


Figura 28. Termograma de ATG da MF de PQH:MMTNa e do nanocompósito de PQH:MMTNa.

4.2.3 Nanocompósitos de 5-FU com MMTNa pi

Foram feitas reações de intercalação à temperatura ambiente do 5-FU com MMTNa pi, no tempo de 24 h. E para cada tempo trabalhou-se em três diferentes proporção de 5-FU e MMTNa pi, considerando-se que a CTC é de 80 mEq/100 g de argila (100%, 80% e 60% [p/p]) em solução de 50 mL de água destilada, e o sistema foi mantido sob agitação magnética contínua de acordo com o tempo reacional a temperatura ambiente.

Ao final da agitação magnética as amostras são levadas para a centrifugação a 4000 rpm por 1 h, resultando em dois produtos, o sobrenadante e o material intercalado (decantado). O sobrenadante é utilizado para estimar o rendimento da intercalação. O material intercalado foi seco em dessecador à vácuo por 24 h, após secagem o material é pulverizado, com auxílio de gral e pistilo, tamisado em malha 40 ASTM. O material tamisado foi levado para análise de DRX.

Os resultados obtidos das análises de DRX e rendimento das reações de intercalação, visualizadas na tabela 8, indicam que nas três proporções houve elevação dos espaçamentos basais com excelentes rendimentos de intercalação. Nos difratogramas, ilustrados na figura 29, pode-se evidenciar o aumento do espaçamento basal com o deslocamento do pico para a esquerda no eixo 2θ das três reações de intercalação comparadas com o pico formado da MMTNa pura, sendo um bom indício da intercalação do 5-FU entre as lamelas da MMTNa.

Tabela 8. Análise de DRX das intercalações de 5-FU:MMTNa pi e seus rendimentos (%) em 24 h.

CTC	Espaçamento basal (Å)	Rendimento
100 %	15,237	94,18%
80%	15,504	94,23%
60%	15,237	93,40%

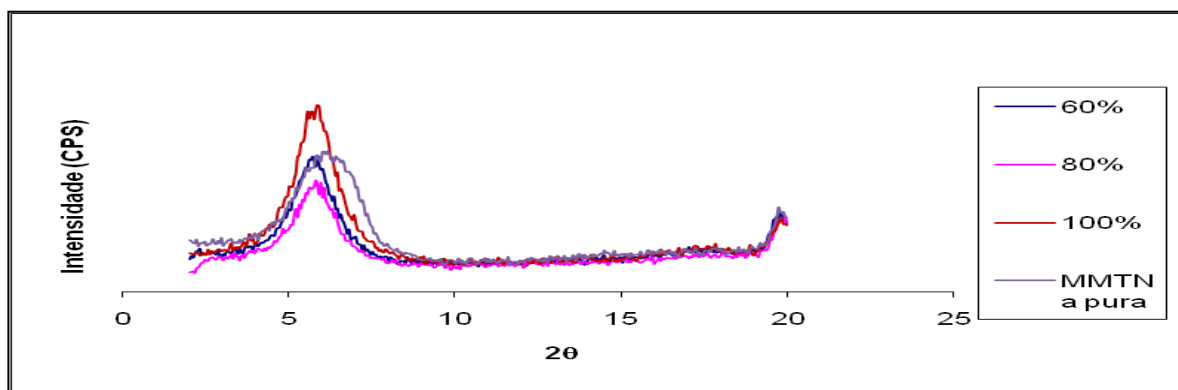


Figura 29. Difratogramas das reações de intercalação de 5-FU com MMTNa pi nas proporções de 100, 80 e 60% da CTC comparados com o difratograma da MMTNa pura.

No trabalho de Lin e colaboradores (2002), verificaram o aumento de espaço interlamelar de menos de 1,0 Å, utilizando-se 5-FU e MMTNa em condições experimentais similares as aqui utilizadas. Na figura 30 observa-se o difratograma da intercalação da montmorilonita e do compósito 5-FU com montmorilonita obtidos por Lin, e segundo o autor, confirma-se com isso a intercalação do 5-FU nas lamelas da montmorilonitada. Akalin, Akyuz & Akyuz (2007) também observaram um espaçamento basal de 12,0 Å da montmorilonita pura para 14,8 Å do compósito de montmorilonita

com 5-FU, indicando com esse aumento no espaçamento basal a intercalação do 5-FU nas lamelas da montmorilonita.

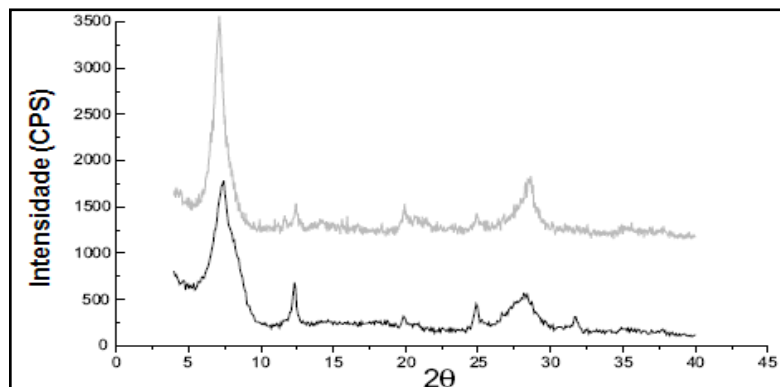


Figura 30. Difratograma da montmorilonita (preto) e do composto 5-FU com montmorilonita (cinza) (adaptado de LIN e colaboradores, 2001).

Com base nestes resultados, pode se concluir que o procedimento aqui adotado, se mostra superior em termos de aumento de espaço interlamelar e rendimento de intercalação, indicando sua maior viabilidade técnica para a preparação de nanocompósitos de fármacos antineoplásicos estruturalmente relacionados ao 5-FU.

Com as claras indicações do sucesso da intercalação, o nanocompósito de 5-FU:MMTNa foi levado para análise de IV assim como a MMTNa pura, o 5-FU e a MF de 5-FU com MMTNa para fins comparativos. O espectro resultante está ilustrado na figura 31. Além das absorções características da MMTNa, já descritas anteriormente, observou-se para 5-FU, a absorção das bandas em 1.725, 1.672 e 1.247 cm^{-1} características da imida cíclica, a absorção referente a ligações CO-NH-CO, imida, a banda de amida primária e banda de amina terciária, respectivamente (LIN e colaboradores, 2002).

Tendo em vista as bandas característicos da MMTNa pura e do 5-FU, e comparando-os com os espectros da MF de 5-FU com MMTNa e do nanocompósito de 5-FU:MMTNa (figura 31), é possível observar que na MF de 5-FU com MMTNa as bandas características da MMTNa pura e do 5-FU podem ser identificadas porém no espectro do nanocompósito de 5-FU:MMTNa as bandas características do 5-FU são novamente pouco visíveis, e ligeiramente deslocadas para menores números de onda e

em relação ao espectro do fármaco isolado e da mistura física, o que pode levar a conclusão que ocorreu a intercalação do fármaco nas lamelas da MMTNa.

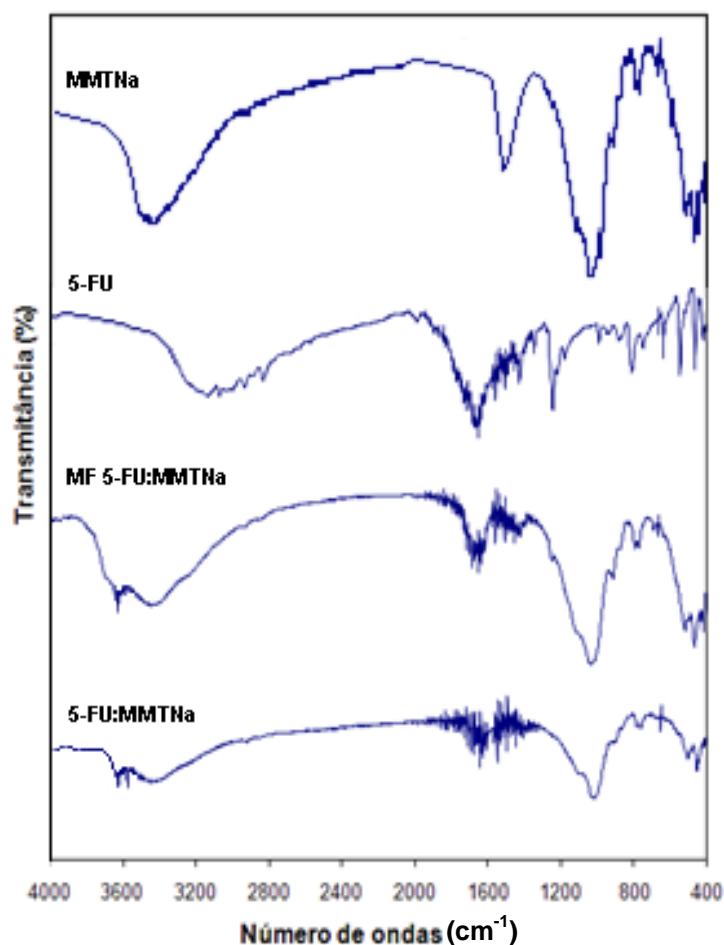


Figura 31. Espectro de IV da MMTNa, 5-FU, MF 5-FU com MMTNa e do nanocompósito 5-FU:MMTNa

LIN e colaboradores (2002) e AKALIN, AKYUZ & AKYUZ (2007) também demonstram, por meio de análise de IV, essa intercalação do 5-FU entre as lamelas da montmorilonita (figuras 32 e 33), observando-se espectros praticamente idênticos aos obtidos experimentalmente.

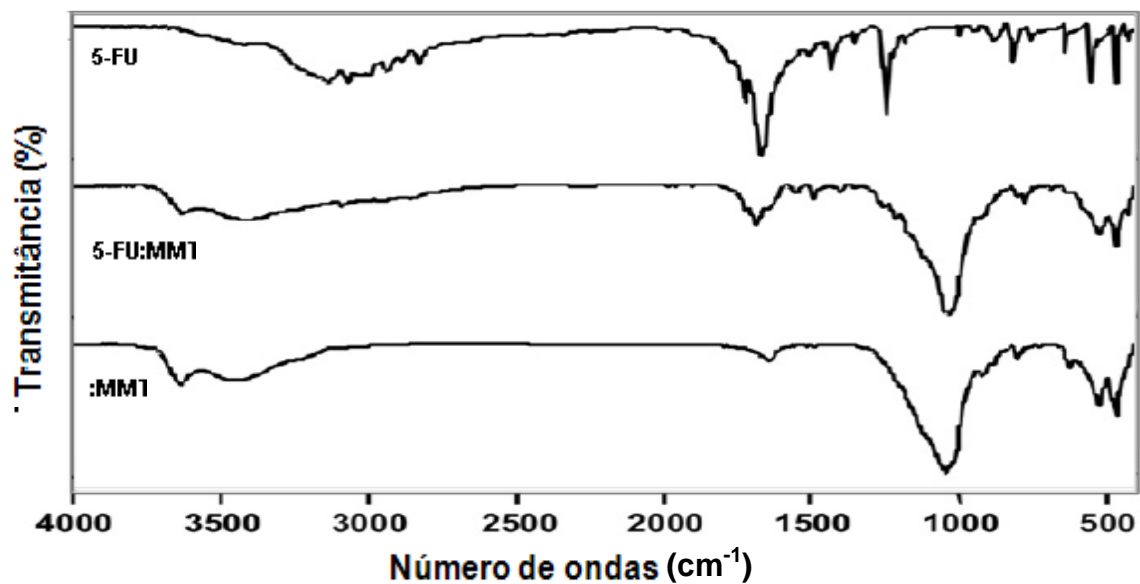


Figura 32. Espectro de IV da montmorilonita (MMT) do 5-FU e do composto de 5-FU com MMT (5-FU:MMT) (AKALIN, AKYUZ & AKYUZ, 2007).

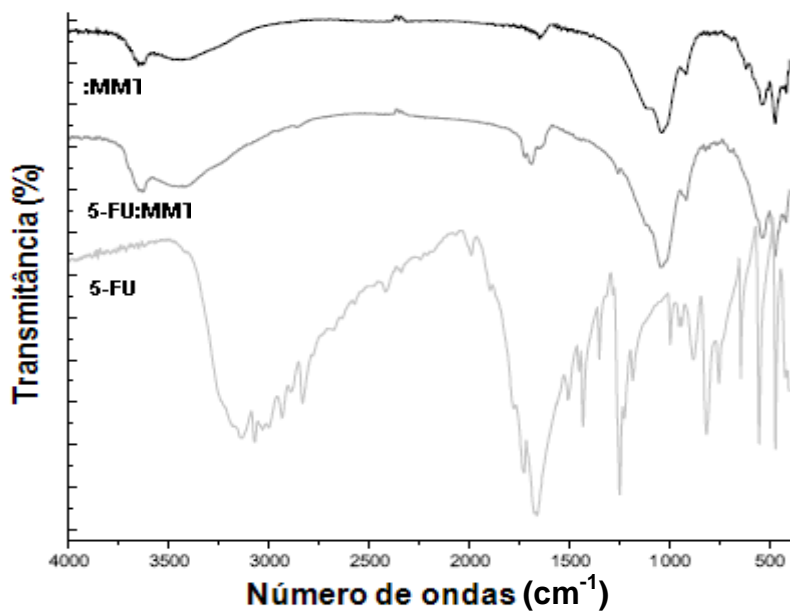


Figura 33. Espectro de IV da MMT do 5-FU e do composto de 5-FU:MMT (LIN *et al*; 2001).

4.2.4 Nanocompósitos de DXZ com MMTNa pi

Confirmando-se a eficiência do processo de intercalação proposto para inserir o 5-FU no interior das lamelas da MMTNa, foi investigada a substituição do 5-FU pela DXZ. Foram feitos experimentos de intercalação à temperatura ambiente da DXZ com MMTNa pi, variando-se em três tempos diferentes (18 horas, 24 horas e 48 horas). Para cada tempo trabalhou-se em três diferentes proporções de DXZ e MMTNa pi, considerando-se que a CTC é de 80 mEq/100 g de argila (100%, 80% e 60% [p/p]) em solução de 50mL de água destilada, e o sistema foi mantido sob agitação magnética contínua, de acordo com o tempo reacional a temperatura ambiente.

Ao final da agitação magnética as amostras são levadas para a centrifugação a 4000 rpm por 1 h, resultando em dois produtos, o sobrenadante e o material intercalado (decantado). O sobrenadante é utilizado para estimar o rendimento da intercalação. O material intercalado foi seco em dessecador à vácuo por 24h e, após secagem, o material é pulverizado com auxílio de gral e pistilo, tamisado em malha 40 ASTM. O material tamisado é levado para análise de DRX.

Os resultados obtidos das análises de DRX e rendimento das reações de intercalação, visualizadas na tabela 9, indicam que nas três proporções e nos três diferentes tempos reacionais, observou-se aumentos expressivos nos espaçamentos interlamelares (em média 18.0 Å, como visto na tabela 9) com excelentes rendimentos para a formação de nanocompósitos intercalados (cerca de 98 %, tabela 9), podendo-se observar que o melhor ponto reacional para a formação de nanocompósitos intercalados obteve-se com o uso de 100% da CTC em 18 horas. Cabe ainda ressaltar que num curto tempo de experimento (18 h), foi possível obter bom rendimento e espaçamento basal satisfatório (tabela 9), o que mostra a maior afinidade da DXZ pela MMTNa, quando estes resultados são comparados com os obtidos experimentalmente com o 5-FU, assim como os descritos por Lin e Akalin (LIN e colaboradores, 2002; AKALIN, AKYUZ & AKYUZ, 2007). Nos difratogramas, ilustrados nas figuras 34, 35 e 36, pode-se evidenciar o aumento do espaçamento basal com o deslocamento do pico para a esquerda no eixo 2θ das três reações de intercalação nos três diferentes tempos

reacionais comparados com o pico formado da MMTNa pura, sendo um bom indício da intercalação da DXZ entre as lamelas da MMTNa.

Tabela 9. Análise de DRX das reações de intercalação entre DXZ:MMTNa pi e seus rendimentos (%).

CTC	Espaçamento Basal (Å) de acordo com o tempo de intercalação e o rendimento (R %)					
	18h	R %	24h	R %	48h	R %
100 %	23,549	95,31%	17,673	99,64%	22,949	95,50%
80%	18,603	88,25%	16,674	99,55%	18,220	88,93%
60%	16,994	60,59%	15,789	97,78%	16,832	89,31%

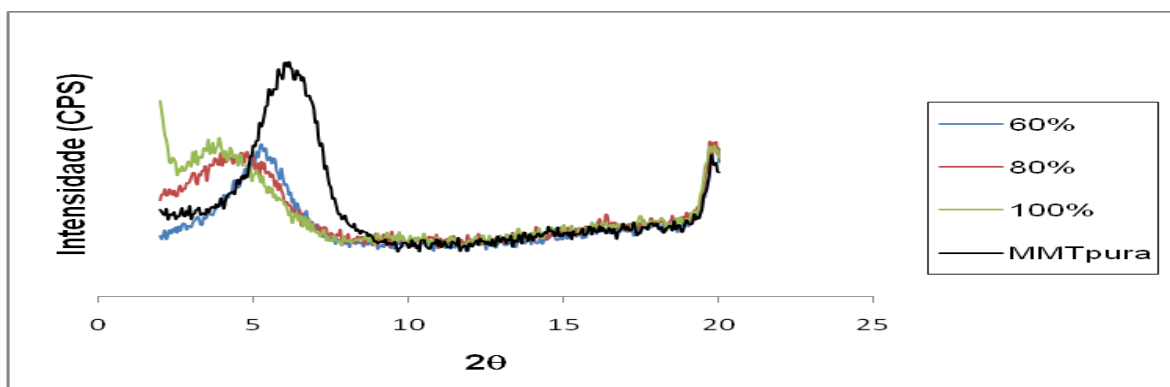


Figura 34. Difratogramas das reações de intercalação de DXZ com MMTNa pi nas proporções 100, 80 e 60% da CTC da MMTNa no tempo reacional de 18 h comparados com o difratograma da MMTNa pura.

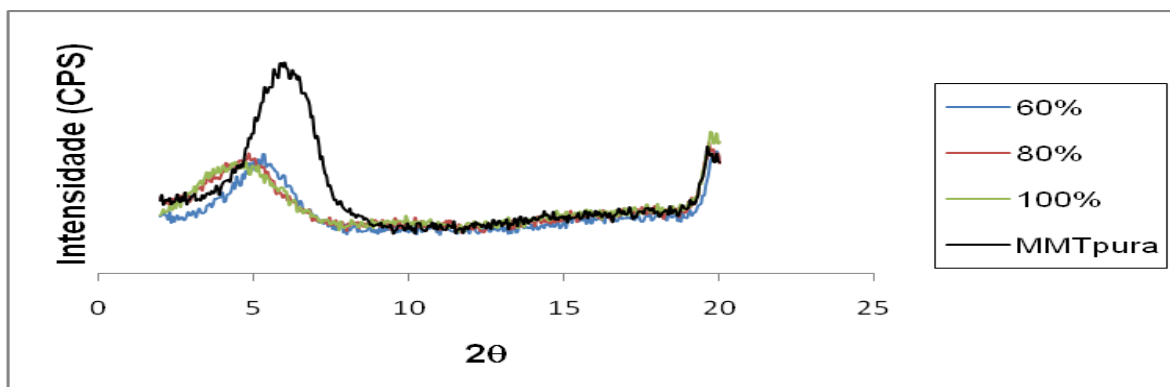


Figura 35. Difratogramas das reações de intercalação de DXZ com MMTNa pi nas proporções 100, 80 e 60% da CTC da MMTNa no tempo reacional de 24 h comparados com o difratograma da MMTNa pura.

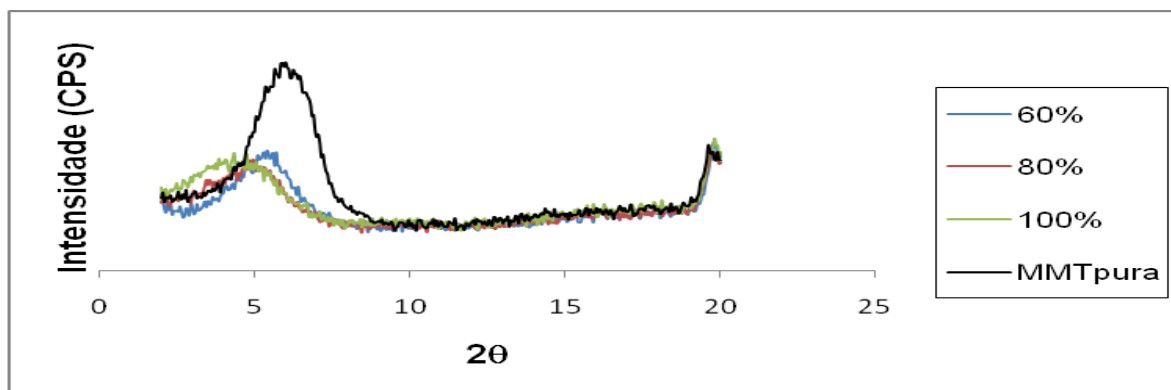


Figura 36. Difratogramas das reações de intercalação de DXZ com MMTNa pi nas proporções 100, 80 e 60% da CTC da MMTNa no tempo reacional de 48 h comparados com o difratograma da MMTNa pura.

Seguindo-se as melhores condições experimentais em termos do maior rendimento e maior espaçamento interlamelar obtidos (uso de 100% da CTC), foi realizado um experimento em triplicatas e os materiais obtidos levados para análise de DRX e seus rendimentos calculados, objetivando verificar reprodutibilidade do método. Analisando os dados da tabela 10 e da figura 37, pode-se concluir que o método é reprodutível, apesar do valor ligeiramente maior de espaçamento interlamelar quando comparado com o melhor ponto escolhido na tabela 9.

Tabela 10. Análise de DRX das triplicatas de DXZ:MMTNa pi, no melhor ponto obtido, seus rendimentos (%) em 18 h de intercalação com desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR).

	Triplicata 1	Triplicata 2	Triplicata 3	DP	DPR (%)
Espaçamento basal (Å)	24,543	25,986	26,373	0,38	1,24
Rendimento (%)	99,87	99,86	99,87	0,006	0,19

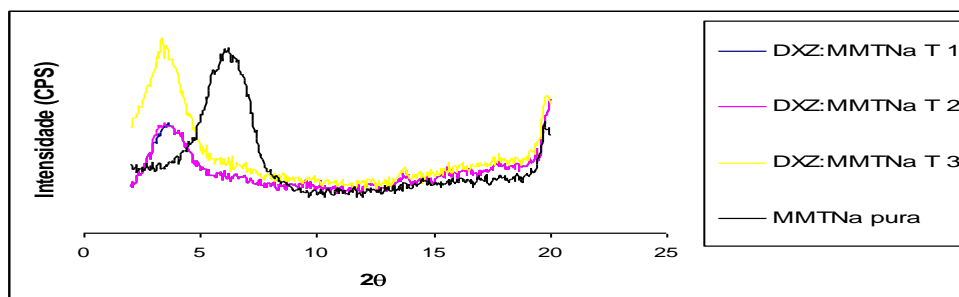


Figura 37. Difratogramas das reações de intercalação de DXZ com MMTNa pi na proporção de 80% da CTC das triplicatas comparadas com o difratograma da MMTNa pura.

Como não se descreve em literatura trabalhos referentes à preparação de nanocompósitos de DXZ com MMTNa, abre-se uma nova possibilidade de formulação de fármacos destinados a terapia da hiperplasia prostática, em especial quando se ressalta a inexistência de outros sistemas nanométricos similares deste fármaco até o momento.

Os materiais obtidos em triplicata foram adicionalmente caracterizados por IV. Na figura 38 se observa o espectro de MMTNa, DXZ, e da mistura física DXZ com MMTNa e do nanocompósito de DXZ com MMTNa.

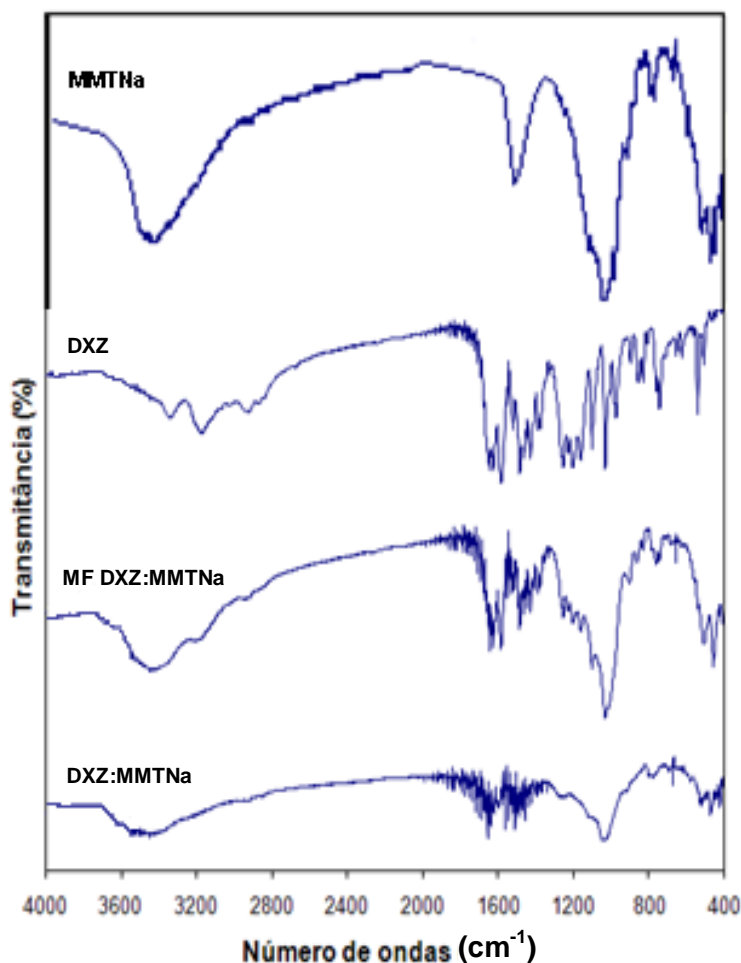


Figura 38. Espectro de IV da MMTNa, DXZ, MF DXZ com MMTNa e do nanocompósito DXZ:MMTNa.

As bandas características de alguns polimórfos da DXZ foram determinadas por CRČMAM, VREČER & MEDEN (2002) juntamente com seus espectros de IV, sendo estes ilustrados na figura 39 (a) e (b).

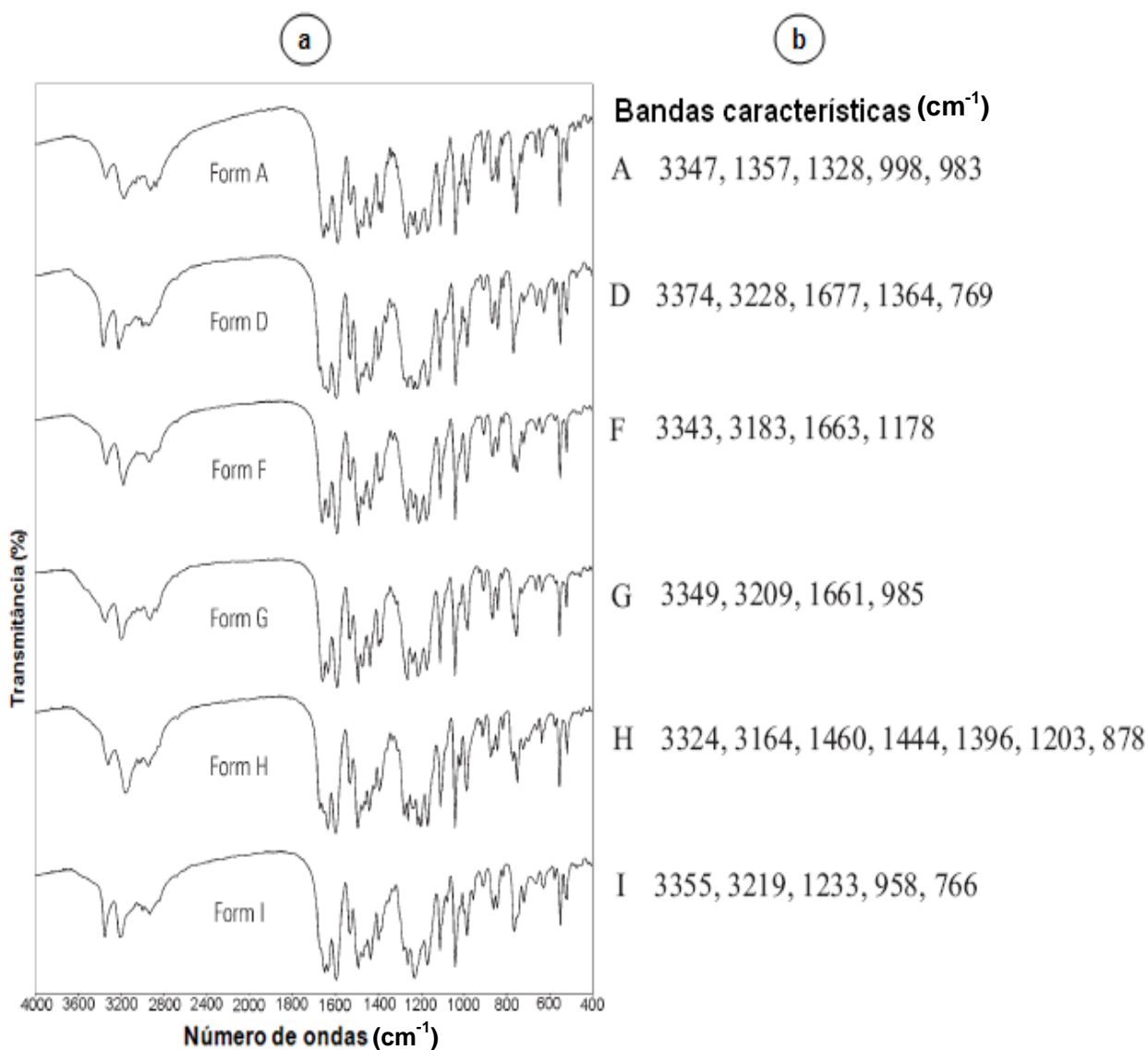


Figura 39 a e b. (a) diferenças entre as formas polimórficas em toda a região espectral da DXZ; (b) bandas características no espectro IV das formas polimórficas (adaptado de CRČMAM, VREČER & MEDEN, 2002).

Tendo em vista as bandas características da MMTNa pura e da DXZ, e comparando-as com os espectros da MF de DXZ com MMTNa e do nanocompósito de DXZ:MMTNa (figura 38), é possível observar que tanto na mistura física de DXZ com MMTNa, quanto no nanocompósito obtido, as bandas características da MMTNa pura e da DXZ podem ser identificados, porém sem uma resolução muito boa, o que dificulta qualquer conclusão adicional, além da determinação da presença da molécula no

interior da lamela. Tal fato não se mostra inesperado, uma vez que a técnica de IV, não é considerada como a mais adequada para esta caracterização (JOSH, 2009^a; 2009^b).

4.2.5 Nanosistema combinado PQH:MMTNa:DXZ

O foco principal do trabalho consistiu na preparação do nanosistema contendo DXZ, fármaco antineoplásico, combinado ao suporte nanométrico, a MMTNa a qual continha ainda, o polímero catiônico, PQH, que atuaria como agente de vetorização (PUISIEUX 1998). Para tal, o nanocompósito obtido da intercalação de PQH e MMTNa, foi utilizado para estudos de intercalação com a doxazosina, a qual apresentou maior afinidade pelo espaço interlamelar e maiores rendimentos de intercalação. Os experimentos foram conduzidos em triplicata utilizando uma massa de DXZ que correspondia à 100% da CTC da MMTNa, substituindo-se todavia, este silicato pelo nanocompósito PQH-MMTNa, deixadas em agitação magnética por 18h em solução de 50 mL de água destilada.

Ao final da agitação magnética as amostras foram levadas para a centrifugação a 4000 rpm por 1 h, resultando em dois produtos, o sobrenadante e o material intercalado (decantado). O sobrenadante foi utilizado para estimar o rendimento da intercalação. O material intercalado é transferido para placa de Petri e colocado no dessecador à vácuo para secagem, após secagem o material é pulverizado, com auxílio de gral e pistilo, tamisado em malha 40 ASTM. O material tamisado é levado para análise de DRX.

Os resultados obtidos das análises de DRX mostraram um aumento de cerca de 2,0 Å em relação ao nanocompósito original PQH-MMTNa (tabela 6), o que indica a inserção da DXZ no interior do espaço interlamelar do nanocompósito. O rendimento das reações de intercalação, visualizadas na tabela 11, indica que houve a inserção quase total da DXZ no interior da lamela da argila, o que pelo volume molecular da DXZ, obtido da análise conformacional conduzida pelo softwear Spartan Pro[®] (figura 40), condiz com o aumento de 2,0 Å do espaçamento da lamela.

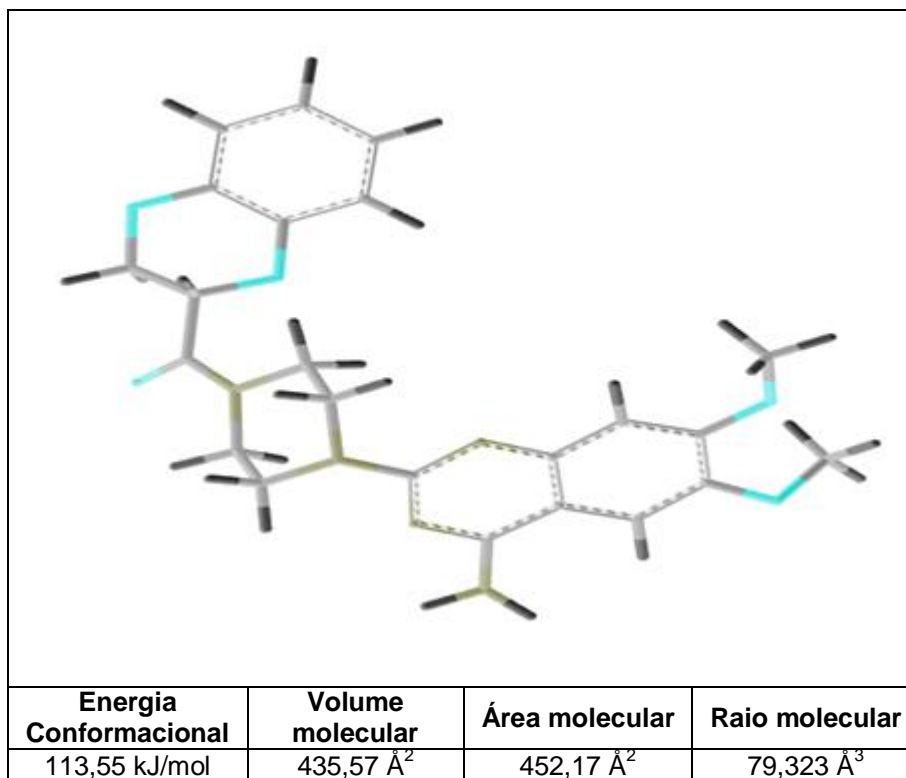


Figura 40. Confômero mais estável do fármaco DXZ obtido por análise conformacional em vácuo.

Tabela 11. Resultados da análise de DRX das triplicatas do nanosistema PQH:MMTNa + DXZ, seus rendimentos (%) em 18 h de intercalação com desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR).

	Triplicata 1	Triplicata 2	Triplicata 3	DP	DPR (%)
Espaçamento basal (Å)	19,673	20,409	19,852	0,52	2,02
Rendimento (%)	99,43	99,51	99,45	0,04	1,39

A análise de infravermelho deste material permitiu apenas visualizar as bandas da MMTNa, o que exclui esta técnica para caracterização da amostra.

Um outro indicativo da formação do nanosistema PQH:MMTNa + DXZ foi observado na ACVD das misturas físicas de DXZ:MMTNa e PQH:MMTNa + DXZ (figura 41). Pode-se constatar que ocorreu interações da DXZ (ponto de fusão 273,97°C) no novo material, levando a diminuição do ponto de fusão, como observado nas misturas físicas de DXZ:MMTNa e PQH:MMTNa + DXZ (265,19°C e 264,71°C, respectivamente).

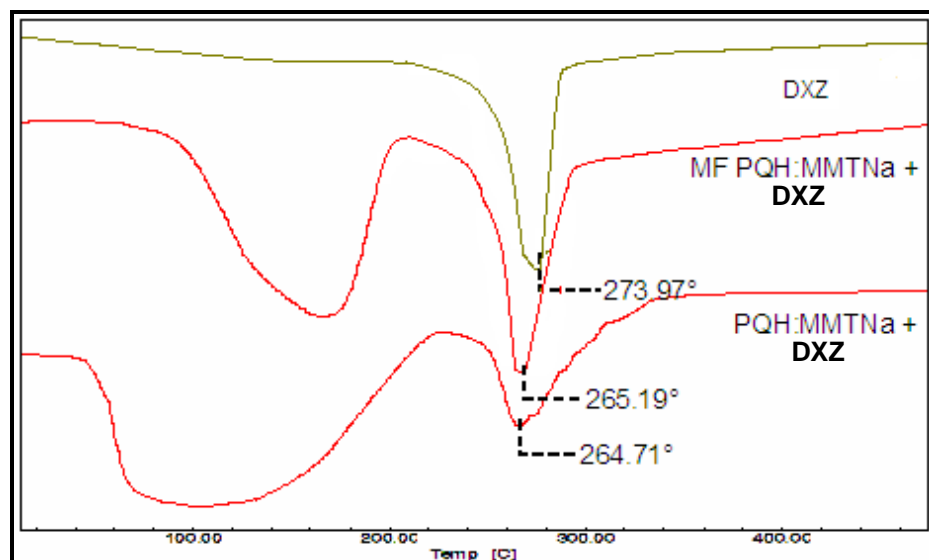


Figura 41. Curva de ACVD da MF DXZ:MMTNa, da MF PQH:MMTNa + DXZ e do nanosistema PQH:MMTNa + DXZ.

Adicionalmente, os estudos de microscopia eletrônica evidenciaram, também, a manutenção da estrutura lamelar neste novo material, confirmando a obtenção do nanomaterial combinado. Este resultado tem relevância especial, quando não se evidencia a presença de cristais de DXZ, decorrentes da sua dessorção e re-cristalização da mesma durante o preparo da amostra para as análises de MET (figura 42).

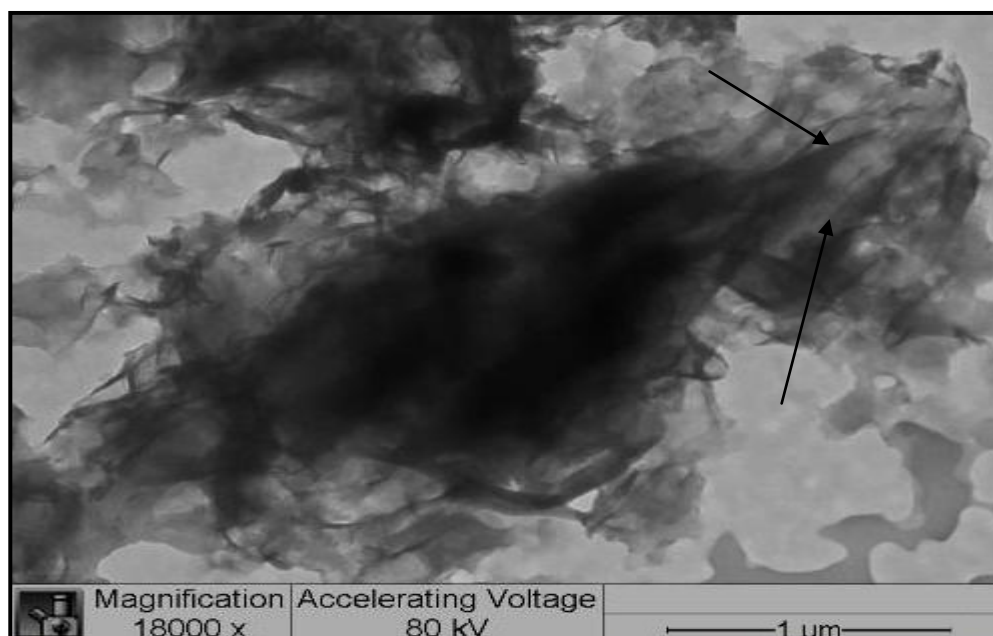


Figura 42. Evidência da estrutura lamelar do novo nanomaterial combinado DXZ:PQH:MMTNa (setas).

4.2.6 Avaliação de uso do nanocompósito PQH:MMTNa como excipiente farmacêutico (caracterização adicional)

4.2.6.1 Estudos de intumescimento/inchamento dinâmico

Para este teste preparou-se 20 comprimidos contendo apenas MMTNa e outros 20 com apenas VB8, os quais seriam utilizados como parâmetros comparativos de intumescimento, sendo utilizado 5 comprimidos para teste de dureza. Preparou-se, também, comprimidos do nanocompósito intercalado de PQH:MMT no melhor ponto de intercalação (1:1 em 30 minutos) utilizando-se três comprimidos para teste de dureza, dados relacionados a estes comprimidos estão relatados na tabela 12.

Tabela 12. Dados utilizados para os estudos de intumescimento.

Formulações	Peso Médio (mg)	DP	DPR (%)	Média da Dureza	DP	DPR (%)
MMTNa	304	0,01	4,21	5,2	0,31	5,97
VB8	301	0,006	1,83	5,3	0,19	3,63
1PQH:1MMTNa	283	0,003	2,12	5,5	0,06	1,06

Pesaram-se três comprimidos de cada formulação, e em seguida foram imersos em becheres individuais, para cada formulação tinha-se três becheres um contendo SGS, outro SES e o último com água destilada ambos com 50 mL de líquido.

Assim que os comprimidos de MMTNa e de 1PQH:1MMTNa foram imersos nos líquidos e em menos de 30 segundos desintegraram-se por completo, impossibilitando a repesagem dos mesmos, o que pode ser observado na figura 40. Já com a formulação de VB8, com os resultados obtidos (tabela 13), pode-se observar uma grande redução na quantidade de água absorvida nos três meios analisados pelo comprimido de VB8, indicando grande influência de sua lipofilicidade no processo de intumescimento. Suas pesagens foram realizadas até o tempo de 180 minutos quando não ocorreram mais ganhos de peso significativos. Pode-se concluir com este experimento, que, ao contrário do se poderia especular, o derivado PQH:MMTNa apresenta elevado potencial de intumescimento, apesar da inserção de vários

grupamentos lipofílicos no interior da lamela, sendo comparável ao observado para a MMTNa, indicando seu uso potencial como desintegrante e promotor de dissolução em formulações farmacêuticas sólidas orais (LIRA, 2008).

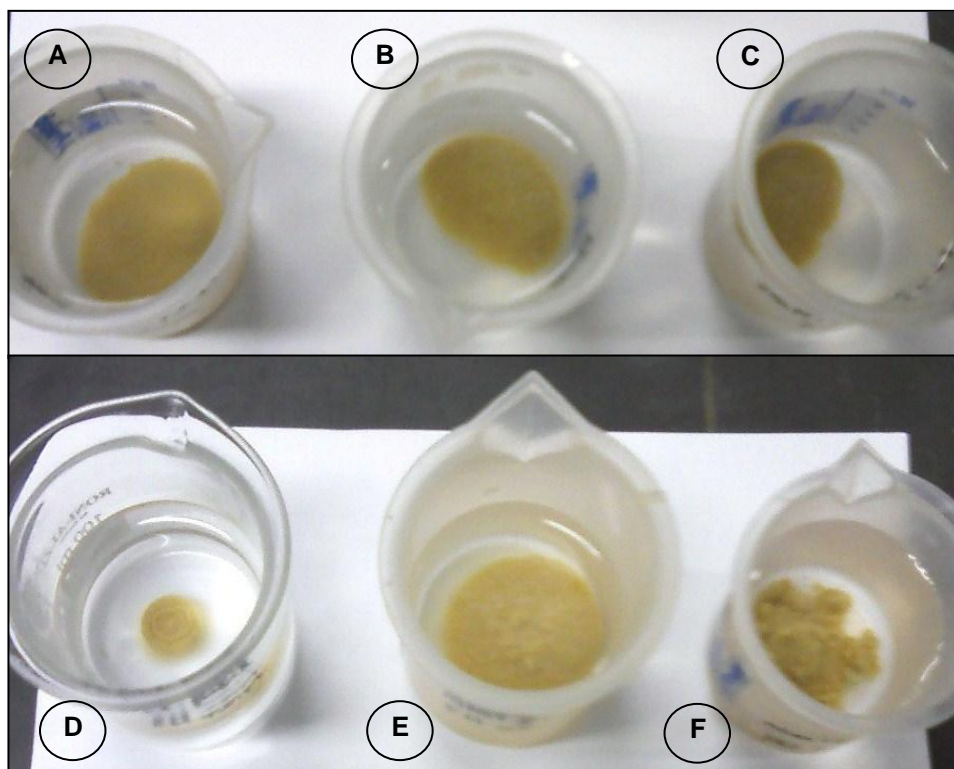


Figura 43. Condição dos comprimidos após 30 segundos do teste de inchamento dinâmico, onde: (A), (B) e (C) são comprimidos de 1PQH:1MMTNa em meio aquoso, SGS e SES, respectivamente e (D), (E) e (F) são comprimidos de MMTNa em meio aquoso normal, SGS e SES, respectivamente.

Tabela 13. Dados da absorção dinâmica de água do VB8.

T (min.)	VB8 - H ₂ O	VB8 - SGS	VB8 - SES
20	3,72	15,44	3,73
40	5,74	24,16	6,78
60	6,76	26,51	8,14
80	8,11	28,52	9,15
100	8,78	29,19	9,83
120	9,46	30,20	10,17
140	9,80	28,19	10,85
160	10,47	31,88	11,53
180	10,47	32,21	11,53

4.2.6.2 Estudo das características de compactação

Dando seqüência aos estudos anteriores, buscou-se então comparar a compactabilidade da MMTNa com aquela observada com o novo nanocompósito PQH:MMTNa. Caso o novo material apresentasse melhor comportamento de compactação, este se mostraria como um excipiente muito mais efetivo do que a MMTNa ou a bentonita sódica para a tecnologia de fabricação de sólidos orais (WADE,; WELLER, 2000) Com os resultados obtidos pode-se concluir que os comprimidos de PQH:MMTNa apresentam um potencial de compactação maior quando comparados com os comprimidos contendo apenas MMTNa, levando a comprimidos com dureza de valores até duas vezes maiores em kgF dos que os apresentados pela MMTNa, podendo se chegar a conclusão da maior eficiência deste material como um novo e seguro excipiente (tabela 14).

Tabela 14. Dados e condições do estudo das características de compactação dos comprimidos de MMT e do nanocompósito intercalado de PQH:MMTNa.

Tonelada (T)	Tempo (s)	Dureza (kgF) MMTNa	Dureza (kgF) PQH:MMTNa
0,5	15	5,3	5,9
1,0	15	10,9	11,5
2,0	15	11,4	13,9
3,0	15	12,0	17,2
4,0	15	12,1	24,7

4.2.6.3 Teste de viabilidade celular

Paparou-se diferentes soluções para o teste: DXZ, do nanocompósito DXZ:MMTNa, de PQH:MMTNa, do nanocompósito combinado de DXZ:PQH:MMTNa e do controle. As soluções foram preparadas como descritos em materiais e métodos (pág. 54), na concentração de 6 mg/mL, utilizando-se água destilada como veículo.

Verificou-se, em todos os casos, uma maior inibição da proliferação celular para os nanocompósitos em comparação a DXZ e ao controle, indicando o potencial antineoplásico destas formulações, como pode ser visualizado no gráfico da figura 44.

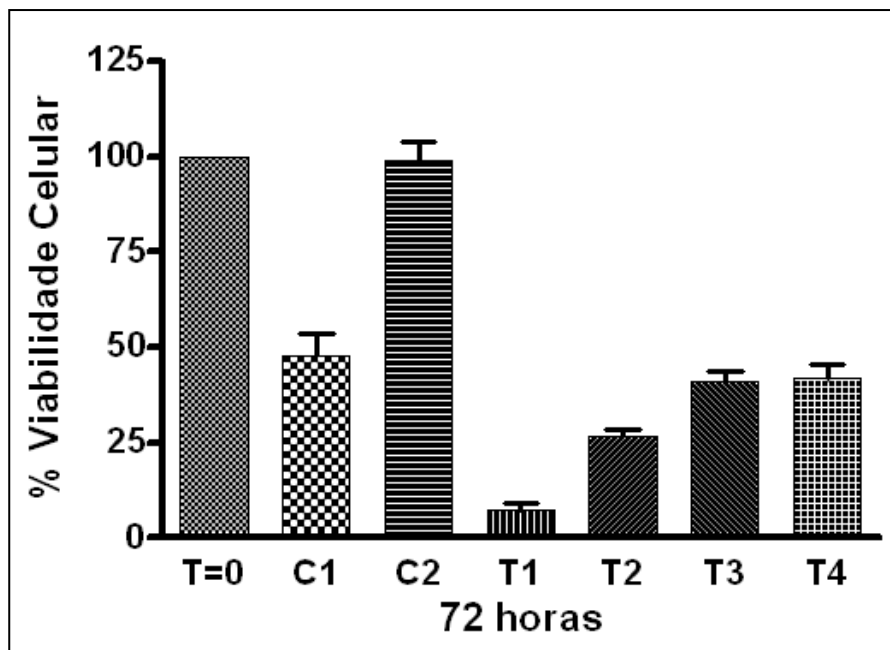


Figura 44. Gráfico de viabilidade celular onde (T = 0) solução controle, (C1) DMEN + 1% SFB, (C2) DMEN + 10% SFB, (T1) DXZ, (T2) PQH:MMTNa+DXZ, (T3) PQH:MMTNa e (T4) DXZ:MMTNa.

5 Conclusão

Com este trabalho, tornou-se possível preparar novos nanocompósitos de fármacos antineoplásicos a partir de um nanomaterial pré-formado, no caso a MMTNa, de forma eficiente e com custo de obtenção potencialmente reduzido. Ressalta-se ter sido a primeira vez descrita a preparação dos nanocompósitos de MMTNa:DXZ, MMTNa:PQH e o nanocompósito combinado de DXZ:MMTNa:PQH.

Na avaliação de uso do nanocompósito PQH:MMTNa como excipiente farmacêutico apresentou potencial de intumescimento elevado e melhor compactabilidade do que os apresentados pela MMTNa pura, qualificando-o como promissor excipiente farmacêutico para a tecnologia de fabricação de sólidos orais.

Ainda se conseguiu desenvolver uma nova metodologia para intercalação de 5-FU em MMTNa, obtendo-se resultados superiores aos descritos em literatura.

Por fim, os estudos de viabilidade celular realizados, indicaram o uso promissor destes novos nanocompósitos como um potencial antineoplásico.

6 Perspectivas

Utilizar os resultados obtidos da intercalação de DXZ:MMTNa para o entendimento do mecanismo de intercalação de substâncias aminadas em silicatos lamelares.

Complementar os estudos de atividades biológicas dos nanosistemas formados com DXZ, estudar as aplicações do novo nanocompósito de PQH:MMTNa como excipiente farmacêutico e realizar estudos de atividades farmacológicas dos nanocompósitos de PQH:MMTNa + DXZ.

Referências

ABRAHAM, A. M., WALUBO, A. The Effect of Surface Change on the Disposition of Liposome-encapsulated Gentamicin to the Rat Liver, Brain, Lungs and Kidneys After Intraperitoneal Administration. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, p. 392-397, 2005.

AGUIAR, M. R. M. P., NOVAES, A.C., GUARINO, A. W. S. Remoção de Metais Pesados de Efluentes Industriais por Aluminossilicatos. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1145-1154, 2002.

AKALIN, E., AKYUZ, S. & AKYUZ, T. Adsorption and interaction of 5-fluorouracil with montmorillonite and saponite by FT-IR spectroscopy. **Journal of Molecular Structure**, v. 834-836, p. 477-481, 2007.

ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science and Engineering**, v. 28, p. 1-63, 2000.

ALTIOKKA, G., ATKOSAR, Z. Flow Injection Analysis of Doxazosin Mesylate Using UV-detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 27, p. 841-844, 2001.

AMORIM, L. V. e colaboradores Estudo Comparativo entre Variedades de Argilas Bentoníticas de Boa Vista, Paraíba. **Revista Matéria**, v. 11, n. 1, p. 30-40, 2006.

ARAÚJO, E. M. e colaboradores Preparação de Argilas Organofílicas e Desenvolvimento de Nanocompósitos com Matrizes Poliméricas de Polietileno e Nylon6. Parte 1: comportamento mecânico. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 1, p. 38-45, 2006.

AZEVEDO, M. M. M. **Nanoesferas e a Liberação Controlada de Fármacos**. 20 f. Monografia (Curso Tópicos Especiais em Química Orgânica IV) - Instituto de Química - Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2002.

BENTEC – Laviosa Chimica Mineraria S.p.^a Scheda di Sicurezza: VISCOGEL[®] B8. Livorno, Itália, 2009a.

BENTEC – Laviosa Chimica Mineraria S.p.^a Scheda di Sicurezza: VISCOGEL[®] S4. Livorno, Itália, 2009b.

BENTEC – Laviosa Chimica Mineraria S.p.^a Scheda di Sicurezza: VISCOGEL[®] S7. Livorno, Itália, 2009c.

BERGAYA, F., LAGALY, G. Surface Modification of Clay Minerals. **Applied Clay Science**, v. 19, p. 1-3, 2001.

BRANNON-PEPPAS, L., BLANCHETTE, J. O. Nanoparticle and Targeted Systems for Cancer Therapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 1649-1659, 2004.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Estimativas 2008: Incidência de Câncer no Brasil**. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Rio de Janeiro, INCA, 2007.

CAMARGO, P. H. C., SATYANARAYANA, K. G., WYPYCH, F. Nanocomposites: synthesis, structure, properties and new application opportunities. **Materials Research**, v. 12, n. 1, p. 1-39, 2009.

CANELLA, K. N. de C. & GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel - influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 13-17, 2001.

CHAWLA, J. S., AMIJI, M. M. Biodegradable Poly(ϵ -caprolactone) Nanoparticles for Tumor - targeted delivery of tamoxifen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 249, p. 127-138, 2002.

CHON, J. K. e colaboradores α_1 -adrenoceptor Antagonists Terazosin and Doxazosin Induce Prostate Apoptosis Without Affecting Cell Proliferation in Patients with Benign Prostatic Hyperplasia. **The Journal of Urology**, v. 161, p. 2002-2008, 1999.

COELHO, A. C. V., SANTOS, P. S., SANTOS, H. S. Argilas especiais: o que são, caracterização e propriedades. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 146-152, 2007.

COSTA FILHO, A. P.; GOMES, A. S.; LUCAS, E. F. Preparação e Caracterização de Organobentonita Modificada com Ionenos Alifáticos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 3, p. 212-217, 2005 .

COUTINHO, S. S. **Estudo do desenvolvimento de comprimidos de liberação prolongada de blendas polissacarídicas de montmorilonita. Avaliação do uso de Monoestearato de glicerila, quitosano e HPMC**. 138 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

CRČMAM, M., VREČER, F. & MEDEN, A. Some physical-chemical properties of doxazosin mesylate polymorphic forms and its amorphous state. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 68, p. 373-387, 2002.

CUNHA JUNIOR, A. S. e colaboradores Microemulsões como Veículo de Drogas para Administração Ocular Tópica. **Arquivos Brasileiro de Oftalmologia**, v. 66, p. 358-391, 2003.

DORNELAS, C. B. e colaboradores Avaliação de Derivados Poliméricos em Montmorilonita Organofílica na Preparação de Novos Materiais de Uso Farmacêutico. . **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, p. 222-229, 2008.

DRUMMOND, D. C. e colaboradores Development of a Highly Active Nanoliposomal Irinotecan Using a Novel Intraliposomal Stabilization Strategy. **American Association for Cancer Research**, v. 66, n. 6, p. 3271-3277, 2006.

DRUMMOND, D. C. e colaboradores Enhanced Pharmacodynamic and Antitumor Properties of a Histone Deacetylase Inhibitor Encapsulated in Liposomes or ErbB2-targeted Immunoliposomes. **American Association for Cancer Research**, v. 11, n. 9, p. 3392-3401, 2005.

ESTEVES, A. C. C., BARROS-TIMMONS, A., TRINDADE, T. Nanocompósitos de Matriz Polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 798-806, 2004.

FORMARIZ, T. P. e colaboradores Microemulsões e Fases Líquidas Cristalinas como Sistemas de Liberação de Fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 3, p. 301-313, 2005.

GEHO, D. H. e colaboradores Nanoparticles: potential biomarker harvesters. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 10, p. 56-61, 2006.

GUO, X. Physical targeting approaches to drug delivery. **Design of controlled release drug delivery systems**. 1ª edição. Estados Unidos da América, Ed. McGraw-Hill, 2006, cap. 1, p. 339 - 374.

HALEY, B., FRENKEL, E. Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer Treatment. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 26, p. 57-64, 2008.

HATANO, A. e colaboradores. The α -adrenoceptor Antagonist properties of the Enantiomers of Doxazosin in the Human Prostate. **European Journal of Pharmacology**, v. 313, p. 135-143, 1996.

JAIN, K. K. Drug Delivery Systems – An Overview. **Drug Delivery Systems**. Totowa (USA), Ed. Humana Press, 2008, cap. 1, p. 1-48.

JOSHI, G. V. e colaboradores Montmorillonite Intercalated with Vitamin B₁ as Drug Carrier. **Applied Clay Science**, v. 45, p. 248-253, 2009a.

JOSHI, G. V. e colaboradores Montmorillonite as a Drug Delivery System: intercalation and *in vitro* release of timolol maleate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 374, p. 53-57, 2009b.

KATZ, H. S., MILEWSKI, J. W. **Handbook of Fillers for plastics**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1987.

KIRBY, R. S. e colaboradores Efficacy and Tolerability of Doxazosin and Finasteride, Alone or in Combination, in Treatment of Symptomatic Benign Prostatic Hyperplasia: the prospective european doxazosin and combination therapy (predict) trial. **Urology**, v. 61, n. 1, p. 119-126, 2003.

KOO, O. M., RUBINSTEIN, I., ONYUKSEL, H. Role of Nanotechnology in Targeted Drug Delivery and Imaging: a concise review. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 1, p. 193-212, 2005.

KORNAMANN, X., LINDBERG, H., BERGLUND, L. A. Synthesis of Epoxy-clay Nanocomposites: influence of the nature of the clay on structure. **Polymer**, v. 42, p. 1303-1310, 2001.

KORNAMANN, X. e colaboradores Pre-clinical evaluation of the activity of gemcitabine as a basis for regional chemotherapy of pancreatic and colorectal cancer. **European Journal of Surgical Oncology**, n. 26, p. 583-587, 2000.

LABIÓS e colaboradores Flow Cytometric Analysis of Platelet Activation in Hypertensive Patients. Effect of doxazosin. **Thrombosis Research**, v. 110, p. 203-208, 2003.

LeBARON, P. C., WANG, Z., PINNAVAIA, T. J. Polymer-layered silicate nanocomposites: an overview. **Applied Clay Science**, v. 15, p. 11-29, 1999.

LEWIS, B. B.; CHESTNER, S. B. Formaldehyde in Dentistry: a review of mutagenic and carcinogenic potential. **Journal of the American Dental Association**, v. 103, n. 3, p. 429-434, 1981.

LIMA, F. A. de. **Emprego de Nanopartículas Sólidas na Liberação de Fármacos Pouco Solúveis**. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia) - Setor de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LIN, F.H. e colaboradores A study of purified montmorillonite intercalated with 5-fluorouracil as drug carrier. **Biomaterials**, v. 23, p. 1981-1987, 2002.

LIRA, L. M., DORNELAS, C. B., CABRAL, L. M. Avaliação de bentonita sódica purificada e bentonita sódica intercalada como promotores de dissolução de clorpropamida em comprimidos preparados por granulação úmida e compressão direta. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.29, p.151-160, 2008.

LONGLEY, D. B., HARKIN, D. P., JOHNSTON, P. G. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. **Nature Publishing Group**, v. 3, p. 330-338, 2003.

LOPES, A. A., OLIVEIRA, A. M., PRADO, C. B. C. Principais Gens que Participam da Formação de Tumores. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 2, n. 2, 2002.

LUCAS, E. F., SOARES, B. G., MONTEIRO, E. **Caracterização de Polímeros – Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais Ltda., 2001.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. **Caracterização de Polímeros – Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais Ltda., 2001.

MATTOS, E. C. e colaboradores Avaliação do uso de técnicas FT-IR para caracterização de cobertura polimérica de material energético. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 14, n. 2, p. 63-68, 2004.

MENDES, L. C., TAVARES, M. I. B., MANO, E. B. Compatibility of iPP/HOCP Binary Blends by OM, DSC, DMTA and ¹³C Nuclear Magnetic Resonance. **Polymer Testing**, v. 15, p. 53-68, 1996.

MENEZES, R. R. e colaboradores Comportamento de expansão de argilas bentoníticas organofílicas do estado da Paraíba. **Cerâmica**, v. 54, p. 152-159, 2008.

MESSERSCHMIDT, S. K. E. e colaboradores Targeted Lipid-coated Nanoparticles: delivery of tumor necrosis factor-functionalized particles to tumor cells. **Journal of Controlled Release**, v. 137, p. 69-77, 2009.

Ministério da Saúde. **Estimativas 2008: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer (INCA), 2007.

MONTANARI, M. L. C. e colaboradores Sistemas Transportadores de Drogas. **Química Nova**, v. 21, n. 4, p. 470-476, 1998.

NAFEE, N., BHARDWAJ, V., SCHNEIDER, M. Transport Across Biological Barriers. **Nanotherapeutics - Drugs Delivery Concepts in Nanoscience**. Singapura: PanStanford Publishing, 2009, cap. 2, p. 40-66.

NIKKHAH, S. J. e colaboradores Investigation of Properties of Polyethylene/Clay Nanocomposites Prepared by New *in situ* Ziegler–Natta Catalyst. **Materials and Design**, v. 30, p. 2309-2315, 2009.

NOGUEIRA, C. C. S. **Estudo da Utilização de Polissacarídeos no Desenvolvimento de Formulações de Liberação Prolongada**. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Departamento de Medicamentos – Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

OLIVEIRA, R. B., ÁLVES, R. J. Agentes Antineoplásicos Biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 976-984, 2002.

PAIVA, L. B., MORALES, A. R., DÍAZ, F. R. V. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **Cerâmica**, v. 54, p. 213-226, 2008.

PAIVA, L. B., MORALES, A. R., GUIMARÃES, T. R. Propriedades Mecânicas de Nanocompósitos de Polipropileno e Montmorilonita Organofílica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 2, p. 136-140, 2006.

PANDEY, J. K. e colaboradores An Overview on Degradability of Polymer Nanocomposites. **Polymer Degradation and Stability**, v. 88, p. 234-250, 2005.

PELLEQUER, Y., LAMPRECHT, A. Nanoscale Cancer Therapeutics. **Nanotherapeutics - Drugs Delivery Concepts in Nanoscience**. Singapura: PanStanford Publishing, 2009, cap. 4, p. 94-124.

PUISIEUX, F., ROBLOT-TREUPEL, L. Vetorização e Vetores de Fármacos. **Caderno de Farmácia - UFRGS**, v. 4, n. 1/2, p. 29-50, 1988.

PURSER, S. e colaboradores Fluorine in Medicinal Chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 37, n. 2, p. 237-432, 2008.

RANG, H.P. e colaboradores Quimioterapia do Câncer. **Farmacologia**. 5a Edição, Rio de Janeiro: Elsevier, 2004, cap. 50, p. 789 – 809.

RAO, R. N., NAGARAJU, D., RAJU, A. N. Enantiomeric Resolution of Doxazosin Mesylate and its Processes-related Substances on Polysaccharide Chiral Stationary Phases. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 766-773, 2006.

RAY, S. S., OKAMOTO, M. Polymer/Layered Silicate Nanocomposites: a review from preparation to processing. **Progress in Polymer Science**, v. 28, p. 1539-1641, 2003.

RESENDE, D. K. **Preparação e Avaliação do uso de Nanocompósitos de Montmorilonita Organofílica como Matrizes de Liberação Prolongada**. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) - Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

ROSSETTO, E. e colaboradores Caracterização de Argilas Bentonitas e Diatonitas e sua Aplicação como Adsorventes. **Química Nova**, v. XY, n. 00, p. 1-4, 2009.

SCHAFFAZICK, S. R. e colaboradores Caracterização e Estabilidade Físico-química de Sistemas Poliméricos Nanoparticulados para Administração de Fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHEU, M. e colaboradores Mapping Nanotechnology Patents: the EPO approach. **World Patent Information**, v. 28, p. 204-211, 2006.

SCHMIDT, C., LAMPRECHT, A. Nanocarriers in Drug Delivery – Design, Manufacture and Physicochemical Properties. **Nanotherapeutics - Drugs Delivery Concepts in Nanoscience**. Singapura: PanStanford Publishing, 2009, cap. 1, p. 3- 37.

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRILL, T. C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p. 85–119.

SITZIA, J. B. A., HUGHES, J. R. G. N., SOBRIDO, L. R. G. N. A Study of Patients' Experiences of Side-effects Associated with Chemotherapy: pilot stage report. **International Journal Nursing Studies**, v. 32, n. 6, p. 580-600, 1995.

SKOOG, D. A., HOLLER F. J., NIELMAN T. A. **Principles of Instrumental Ananalysis**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. cap. 12., p. 272-296.

SKOOG, D. A.; HOLLER F. J.; NIELMAN T. A. **Principles of Instrumental Ananalysis**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998a. cap. 12., p. 272-296.

SOUTO, R., FALHARI, J. P. B., CRUZ, A. D. O Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 21, n. 2, p. 155-160, 2005.

SUN, Y. e colaboradores Effect of Doxazosin on Stretch-activated Adenosine Triphosphate Release in Bladder Urothelial Cells From Patients with Benign Prostatic Hyperplasia. **Urology**, v. 60, n. 2, p. 351-356, 2002.

TATTERSALL, M., CLARKE, S. Developments in Drug Delivery: implication for cancer care. **Current Opinion in Oncology**, v. 15, p. 293-299, 2003.

THOMAS, D. e colaboradores. Doxazosin Induces Apoptosis of Cells Expressing hERG K⁺ Channels. **European Journal of Pharmacology**, v. 579, p. 98-103, 2008.

THOMAS, M. I. **Avaliação in vitro da Citotoxicidade do Formocresol, do Tricresol Formalina e do Formaldeído em Três Diferentes Linhagens Celulares**. 48 f. Dissertação (Mestrado em Biologia celular e Molecular) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, 2006.

TOHNI, E. & PLEPIS, A. M. G. Obtenção e caracterização de blendas colágeno-quitosana. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 943-948, 2002.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). 30^a ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2007.

WADE, A., WELLER, P. J. **Handbook of Pharmaceutical Excipients.** 3^a ed. Londers: The Pharmaceutical Press, 2000.

WANG, X., DU, Y., LUO, J. Biopolymer/Montmorillonite Nanocomposite: preparation, drug-controlled release property and cytotoxicity. **Nanotechnology**, v. 19, p. 1-7, 2008.

WENNINGER, J. A., McEWEN, G. N. **International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook - CTFA.** 7^a ed., vol. 2, Washington, Editora Cosmetic, Toiletry & Fragrance Association, 1997, p. 915.

WURZER, J. C., TALLARIDA, R. J., SIROVER, M. A. New Mechanism of Action of the Cancer Chemotherapeutic Agent 5-Fluorouracil in Human Cells. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 269, n. 1, p. 39-43, 1994.