

## HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES: NANOPARTÍCULAS INORGÂNICAS PARA ARMAZENAMENTO E LIBERAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE BIOLÓGICO E TERAPÊUTICO

Vanessa R. R. Cunha, Ana Maria da C. Ferreira e Vera R. L. Constantino\*

Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26077, 05513-970 São Paulo – SP, Brasil

Jairo Tronto

Universidade Federal de Viçosa, Campus de Rio Paranaíba, CP 22, 38810-000 Rio Paranaíba – MG, Brasil

João B. Valim

Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes, 3900, 14040-901 Ribeirão Preto – SP, Brasil

Recebido em 11/12/08; aceito em 1/7/09; publicado na web em 27/11/09

LAYERED DOUBLE HYDROXIDES: INORGANIC NANOPARTICLES FOR STORAGE AND RELEASE OF SPECIES OF BIOLOGICAL AND THERAPEUTIC INTEREST. Studies about the inorganic nanoparticles applying for non-viral release of biological and therapeutic species have been intensified nowadays. This work reviews the preparation strategies and application of layered double hydroxides (LDH) as carriers for storing, carrying and control delivery of intercalated species as drugs and DNA for gene therapy. LDH show low toxicity, biocompatibility, high anion exchange capacity, surface sites for functionalization, and a suitable equilibrium between chemical stability and biodegradability. LDH can increase the intercalated species stability and promote its sub-cellular uptake for biomedical purposes. Concerning the healthy field, LDH have been evaluated for clinical diagnosis as a biosensor component.

Keywords: layered double hydroxides; inorganic carriers; drug release.

### INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de materiais híbridos é um campo de pesquisa que vem apresentando um desenvolvimento considerável nos últimos anos, devido principalmente ao fato de combinar o conhecimento tradicional com as novas abordagens e as modernas tecnologias. Esse desenvolvimento tem como objetivo atender à crescente demanda por novos materiais multifuncionais, com variadas aplicações em Física, Química, Biologia, Agricultura e Medicina. Particularmente, merece destaque o número de trabalhos que tratam da utilização de nanopartículas como cápsulas de armazenamento ou carregadores de espécies de interesse biológico e terapêutico.<sup>1-3</sup>

Diversos sistemas para liberação controlada de drogas têm sido engendrados e descritos, com suas vantagens e desvantagens comparadas, podendo ser classificados em quatro grupos principais: carregadores virais, compostos catiônicos orgânicos, proteínas recombinantes e nanopartículas inorgânicas. Exemplos recentes incluem: pontos quânticos (*quantum dots*) ou nanocompósitos magnético-fluorescentes;<sup>4,5</sup> géis poliméricos;<sup>6,7</sup> nanotubos de carbono ou sílica funcionalizados;<sup>8</sup> cápsulas multilamelares de polieletrólitos;<sup>9</sup> nanopartículas de ouro<sup>10,11</sup> e hidróxidos duplos lamelares (HDL).<sup>12</sup> A Figura 1 mostra alguns exemplos de espécies nanoparticuladas de interesse na área médica.

Particularmente, a busca por terapias antitumorais novas e racionais, aliadas às técnicas de diagnóstico mais seguras, envolve o planejamento e a obtenção de drogas ou fármacos alvo-específicos, isto é, que tenham alta especificidade para determinada biomolécula ou componente celular, podendo então serem transportados e liberados apenas em sítios escolhidos ou apropriados, aumentando sua eficácia terapêutica e diminuindo seus efeitos colaterais. Uma estratégia criativa é utilizar nanopartículas multifuncionais, capazes de carregar o

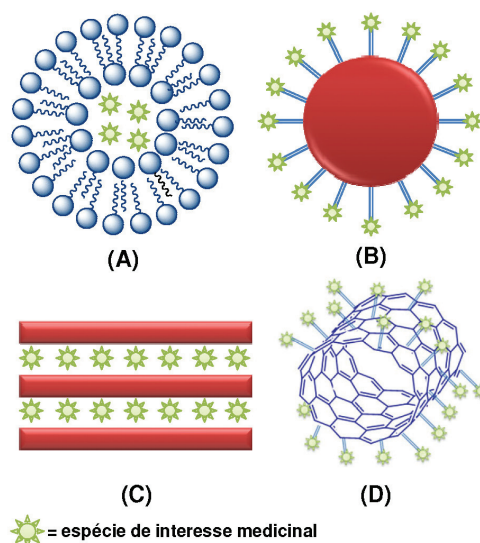


Figura 1. Alguns tipos de nanopartículas empregadas em estudos de transporte de espécies de interesse na área médica: (A) lipossomas; (B) nanopartículas de ouro ou sílica funcionalizadas; (C) partículas lamelares passíveis de sofrer intercalação e (D) nanotubos de carbono funcionalizados

fármaco e que, adicionalmente, contenham um composto (proteína, anticorpo ou ligante) reconhecido apenas por proteínas ou receptores associados a células tumorais (biomarcadores). Dessa forma, com engenhosidade e combinando conhecimento de diferentes áreas, consegue-se aprimorar a estratégia de drogas alvo-específicas.<sup>13-16</sup>

Os carregadores virais têm sido reportados como os mais eficientes, mas apresentam muitos efeitos colaterais, tais como respostas imunes e mutação dos genes. Os carregadores catiônicos (lipídios e polímeros) podem evitar tais problemas, porém usualmente são muito

\*e-mail: vrlconst@iq.usp.br

**Tabela 1.** Comparação das propriedades de várias nanopartículas inorgânicas<sup>1</sup>

Tipo	Tamanho (nm)	Forma	Citotoxicidade (mg/mL)	Biodegradação	Eliminação <sup>(a)</sup>
Au	1-100	esférica/bastão	> 0,05	Não	A, C ou M
C <sub>n</sub> (nanotubos)	1-10	tubular	> 0,05	Não	A, C ou M
C <sub>60,70,80</sub>	~1	esférica	~500 <sup>(b)</sup>	Não	A, C ou M
HDL	30-200	lamelar	~1	Sim	Dissolução
SiO <sub>2</sub>	5-100	esférica	~1	Não	A, C ou M
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	1-50	esférica	0,5-2,0	Não	A, C ou M

(a) A = acumulação; C = circulação; M = metabolização; (b) em unidades de mg/kg de camundongos.

tóxicos para a célula. Em contraste, os materiais inorgânicos geralmente apresentam propriedades promissoras para serem utilizados como carregadores, tais como boa biodisponibilidade,<sup>17</sup> baixa toxicidade, alta biocompatibilidade, alta capacidade de inserção de espécies iônicas, possibilidade de funcionalização da superfície, aumento da estabilidade das espécies inseridas e promoção de sua liberação sustentada. Mais recentemente, também foi descrita a possibilidade de controle do alvo celular através da morfologia e tamanho das partículas inorgânicas. Isso explica o crescente interesse na pesquisa e desenvolvimento desses materiais para serem utilizados como novos carregadores não-virais de drogas. Alguns sistemas nanoestruturados orgânicos já se encontram aprovados para uso terapêutico (por exemplo, sistemas à base de lipossomas, albumina e proteínas ligadas ao PEG, (polietilenoglicol) ou em estágio de testes clínicos (micelas poliméricas e compósitos de polímeros biodegradáveis). Entretanto, a utilização de nanopartículas inorgânicas se encontra em fase de testes clínicos (nanoestruturas à base de ouro) e de testes pré-clínicos (por exemplo, nanotubos de carbono e partículas de sílica).<sup>18</sup>

## NANOPARTÍCULAS INORGÂNICAS

A Tabela 1 mostra algumas propriedades de partículas inorgânicas de interesse na área médica.<sup>1</sup> Convém ressaltar que os dados reportados sobre toxicidade de um material em particular nem sempre concordam entre si, uma vez que esse parâmetro pode variar com a morfologia da partícula, com as substâncias que recobrem a nanopartícula etc.<sup>2,3</sup>

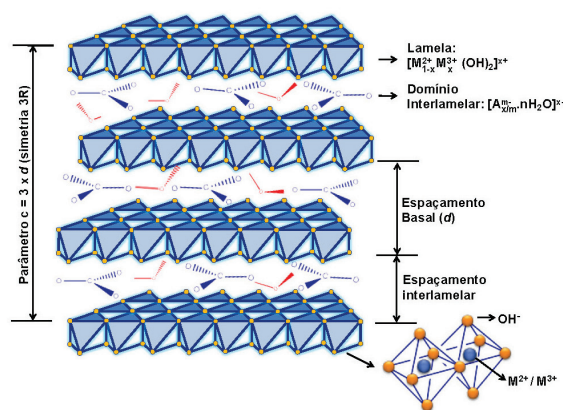
Apesar das vantagens apresentadas pelos carregadores inorgânicos, a estabilidade química das nanopartículas inorgânicas (exceto HDL), inicialmente uma propriedade excelente para manter a integridade do material durante o processo de liberação do fármaco, faz com que sua biodegradação no plasma e citoplasma do corpo humano seja comprometida.<sup>1,3</sup> Como resultado, essas partículas ou serão acumuladas nas células, ou circularão pelo plasma, ou serão metabolizadas. Isso ocorre devido à dificuldade que essas partículas encontram para sofrer exocitose. O HDL é a única exceção devido à sua alcalinidade e capacidade de lenta degradação em meio ácido, como o do citoplasma (pH = 4-6), resultando em íons como Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, Cl<sup>-</sup>, que podem deixar a célula através dos canais iônicos competentes ou disponíveis. Assim, o HDL parece apresentar um equilíbrio favorável entre estabilidade química e biodegradabilidade e, por isso, ser altamente promissor para promover a liberação sustentada de ânions orgânicos na célula.

## HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES

Os hidróxidos duplos lamelares, também conhecidos como *compostos do tipo hidrotalcita* ou como *argilas aniônicas*, apresentam estruturas bidimensionalmente organizadas e poros flexíveis como os argilominerais. Esses materiais são capazes de incorporar espécies

negativas na região interlamelar de modo a neutralizar as cargas positivas das lamelas.<sup>19-24</sup> Deste modo, espécies inseridas nos espaços interlamelares podem adquirir estabilidade extra através de interações eletrostáticas. Os HDL possuem ocorrência natural e também podem ser sintetizados em laboratório por rotas simples e de baixo custo, que permitem o isolamento de sólidos de alta pureza.

Os HDL apresentam fórmula geral  $[M^{2+}_{(1-x)}M^{3+}_x(OH)_2](A^{n-})_{x/n} \cdot zH_2O$  (M = íon metálico e A<sup>n-</sup> = ânion interlamelar) e uma estrutura derivada da brucita, um mineral de fórmula mínima Mg(OH)<sub>2</sub>, no qual os cátions magnésio estão localizados no centro de octaedros, que possuem ânions hidroxila em seus vértices. Esses octaedros compartilham suas arestas formando camadas planas e neutras, que são mantidas juntas por ligações de hidrogênio. Quando, na estrutura do tipo da brucita, cátions bivalentes são isomorficamente substituídos por cátions trivalentes, a lamela passa a apresentar uma carga residual positiva. Para que o sistema adquira a eletroneutralidade, é necessária a presença de ânions entre as lamelas, que juntamente com moléculas de água promovem o empilhamento das camadas do hidróxido duplo com um domínio interlamelar pouco ordenado. Nesse caso, as lamelas são mantidas juntas não apenas por ligações de hidrogênio, como no caso da brucita, mas pela atração eletrostática entre as lamelas positivamente carregadas e os ânions interlamelares. A representação esquemática da estrutura dos HDL é apresentada na Figura 2.



**Figura 2.** Representação esquemática da estrutura dos HDL (se A<sup>n-</sup> é o íon carbonato e M<sup>2+</sup>/M<sup>3+</sup> é Mg e Al (3:1), o HDL é a hidrotalcita)

As camadas inorgânicas dos HDL podem ser empilhadas de acordo com duas simetrias diferentes, resultando em celas unitárias romboédrica ou hexagonal. A maioria dos HDL sintéticos apresenta cela unitária romboédrica e, com muito menor frequência, cela hexagonal; apenas os HDL com proporção M(II)/M(III) igual a 1 apresentam cela unitária ortorrômbica. Maiores detalhes sobre a estrutura dos HDL e, também, sobre os métodos de preparação

desses materiais são encontrados em artigos de revisão<sup>20,21,23,25</sup> e em capítulos de livros.<sup>26-28</sup>

A intercalação de espécies orgânicas em HDL tem recebido atenção expressiva devido às diversas aplicações possíveis para esses materiais híbridos orgânico-inorgânicos. As propriedades dos HDL permitem empregá-los como trocadores de ânions, catalisadores, precursores ou suporte para catalisadores, adsorventes, na síntese de materiais cerâmicos avançados, na preparação de eletrodos modificados e também em aplicações medicinais, como antiácidos.<sup>20,22,23,26-40</sup>

A biocompatibilidade do HDL com a composição da hidrotalcita o torna um interessante aliado nas áreas medicinal e farmacológica, nas quais suas propriedades como antiácido são estudadas já há algum tempo.<sup>41-44</sup> O HDL de magnésio-alumínio e carbonato é encontrado comercialmente com o nome Talcid®, um antiácido patenteado pela empresa Bayer AG.<sup>45,46</sup> Os antiácidos são administrados quando identificados problemas de azia, refluxo gastroesofágico e dispepsia funcional. Um bom antiácido deve ser caracterizado pelas seguintes propriedades: rápido efeito de neutralização e ação de longa duração; alta capacidade tamponante na faixa de pH 3-5, evitando assim que o pH do suco gástrico se torne muito alcalino; atividade estável mesmo na presença de outros componentes do suco gástrico.<sup>20,47</sup> A Figura 3 mostra o desempenho *in vitro* da hidrotalcita (abreviada como Mg<sub>3</sub>AlCO<sub>3</sub>-HDL) e de outros compostos utilizados como antiácidos. Pelo gráfico, pode-se notar que a hidrotalcita é o composto que melhor se adapta às características de um bom antiácido. Outros testes mostram também que, entre vários antiácidos comerciais, a hidrotalcita é a que apresenta a maior capacidade de ligação com o ácido taurodesoxicólico, um ácido biliar tóxico para a célula e a mucosa gástrica.<sup>47</sup>

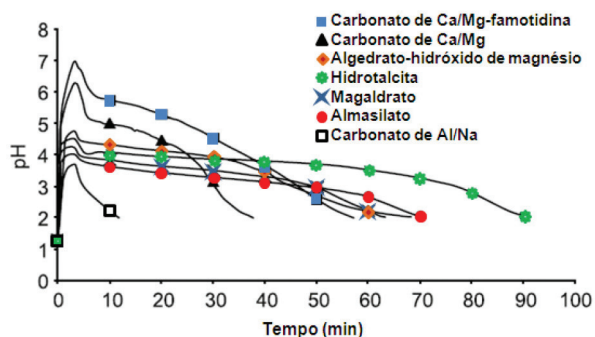


Figura 3. Curvas de medida de pH em função do tempo para vários antiácidos. Adaptado da ref. 47. Copyright 2003, com permissão da Blackwell Publishing Ltd.

Além do uso como antiácido, no qual o HDL é o princípio ativo, esses compostos também vêm sendo empregados há algum tempo como excipientes farmacêuticos. Nos últimos anos, observa-se um número crescente de artigos científicos e de patentes que focam a intercalação de produtos biologicamente ativos em HDL, como uma estratégia para aumentar a estabilidade das substâncias, para aplicação em terapias modernas e, ainda, para uso em diagnóstico clínico (Figura 4). Conforme será visto adiante, o confinamento de substâncias em estruturas lamelares pode aumentar o seu “tempo de prateleira”, de modo a manter as especificações físicas, químicas, terapêuticas e toxicológicas do princípio ativo durante o período de armazenamento. Além de promover a estabilidade da substância, os sistemas híbridos podem direcioná-la para alvos específicos (tecidos) e/ou regular a sua liberação no organismo.

Neste artigo, além de fármacos ou drogas, também serão tratados como produtos medicinais aquelas substâncias capazes de tratar ou prevenir uma doença (como os antioxidantes) ou modificar uma função fisiológica. Em 2007, dois artigos de revisão foram publicados

#### Por que intercalar espécies de interesse medicinal em HDL ?

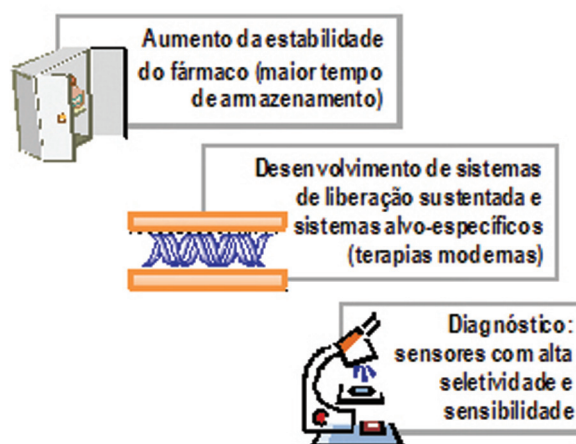


Figura 4. Principais motivações dos trabalhos realizados sobre intercalação em HDL de espécies orgânicas de interesse medicinal

sobre materiais híbridos constituídos por HDL e moléculas orgânicas de interesse para as indústrias farmacêuticas e de cosméticos.<sup>48,49</sup> Na Tabela 2 estão relacionados os artigos reportados até 2008 sobre a intercalação de fármacos e espécies de interesse biológico em hidróxidos duplos lamelares.

Na Tabela 2, não foram considerados trabalhos envolvendo biomoléculas como aminoácidos, peptídeos, nucleotídeos, mono- ou dissacarídeos que não apresentam dados relacionados com o tema deste trabalho de revisão como, por exemplo, ensaios de liberação ou desintercalação em soluções de pH de relevância no meio biológico; estudos de viabilidade celular etc.

Por outro lado, na Tabela 3 foi dado destaque aos artigos que tratam de sistemas híbridos de HDL com potencial aplicação na área de terapia gênica. Os estudos mostram, além de resultados de caracterização estrutural e textural dos sistemas híbridos, os ensaios de viabilidade celular. O encapsulamento de biomoléculas funcionais, pela interação de lamelas catiônicas do HDL e cargas aniônicas na biomolécula, tem permitido sua proteção à degradação, tendo até mesmo aumentado significativamente a eficiência de sua transferência para dentro de células ou órgãos em mamíferos.<sup>104</sup> Essa neutralização de cargas pela intercalação, por exemplo, entre HDL e DNA parece facilitar a penetração da biomolécula na célula através da endocitose, já que as interações repulsivas entre a membrana celular carregada negativamente e o DNA aniônico seriam minimizadas. Outras moléculas de interesse farmacêutico como os biopolímeros aniônicos alginato, pectina, goma xantana, carragenana, poli(a,b-aspartato) foram intercalados com sucesso em HDL,<sup>95,96</sup> mas não serão tratadas neste artigo de revisão, embora a associação entre um carregador inorgânico e um polímero orgânico possa gerar produtos muito interessantes para a área médica.

Desde as primeiras publicações sobre a intercalação de espécies de interesse farmacológico em HDL, observa-se não apenas o aumento no número de trabalhos, como também o depósito de patentes pelos grupos de O'Hare,<sup>97,98</sup> Choy<sup>99</sup> e Costantino,<sup>100</sup> que trabalham na síntese e caracterização de HDL há muitos anos. Outras patentes recentes foram encontradas relatando o uso de HDL para liberação sustentada de bisfosfonatos (tratamento de osteoporose)<sup>101</sup> e HDL contendo íons Fe(III) nas lamelas para tratamento de deficiência de ferro no organismo.<sup>102</sup>

As propriedades dos HDL (como o caráter antiácido) podem ser combinadas com as propriedades do composto intercalado, resultando em um híbrido no qual as estabilidades química, térmica

**Tabela 2.** Trabalhos publicados sobre espécies de interesse medicinal intercaladas em hidróxidos duplos lamelares

Substância Intercalada	Composição do HDL $M^{2+}/M^{3+}$	Métodos de caracterização	Ref.
Diclofenaco, Gemfibrozil, Ibuprofeno, Naproxeno, Ácido 2-propilpentanóico, Ácido 4-bifenilacético, Ácido tolfenâmico	Li/Al <sub>2</sub>	DRX; CHN; IV; TG	50
Ibuprofeno	Mg <sub>2</sub> /Al	IV; TG; CHN	51
Ácido salicílico, Ácido cítrico, Ácido glutâmico, Ácido aspártico	Mg <sub>3</sub> /Al	DRX; TG-DTA; IV; CHN	52
Indometacina, Cetoprofeno, Ácido tioprofênico	Mg <sub>3</sub> /Al	DRX; CHN; UV/Vis	53
Ácido 1-hidroxi-etilideno-1,1-difosfônico	Mg <sub>2</sub> /Al e Mg <sub>3</sub> /Al	DRX; CLAE; RMN	54
Ácido cítrico	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; MEV	55
2-Carboxilato-Indol	Zn <sub>2</sub> /Al e Zn <sub>3</sub> /Al	DRX; IV	56
Ácido salicílico, Naproxeno	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; RMN; TG-DTA	57
Indometacina	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; RMN; TG-DTA	58
Ácido folínico	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; TG-DTA; ICP-AES; CHN;	59
Diclofenaco	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; XPS	60
Fenbufeno	Mg <sub>2</sub> /Al e Li/Al <sub>2</sub>	DRX; IV; TG; ICP-AES	61
Fenbufeno	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; MET; XPS	62
Captotecina	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; UV/Vis; MET	63
Naproxeno	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; TG; ICP-AES; CHN; UV/Vis	64
Ibuprofeno	Mg <sub>3</sub> /Al	IV; FT-Raman; DRX; TG; EPR	65
Ibuprofeno, Diclofenaco, Indometacina	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; Raman; RMN	66
Ácido férúlico	Mg/Al	DRX; TG; MEV	67
5-Fluorouracil	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; TG	68
Fenoximetilpenicilina	Mg <sub>3</sub> /Al	DRX; IV; CHN; MEV	69
Cordicepina (ou 3-Desoxiadenosina)	Mg/Al	DRX; IV; MET; Eletroforese Capilar	70
Metotrexato	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; MEV	71
Tirosina	Zn <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; ICP-AES; Área Superficial; TG-DSC; MET	72
Ácido mefenâmico e Ácido meclofenâmico	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; TG-DTA; Área Superficial	73
Protoporfirina IX e Ácido perfluoroheptanóico	Mg <sub>2</sub> /Al e Mg <sub>3</sub> /Al	DRX; IV; UV/Vis; TG	74
Gramicidina, Anfotericina	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; UV/Vis	75
Ampicilina, Ácido nalidixico			
Succinato de cloramfenicol	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; TG; UV/Vis	76
Ácido indol-3-acético	Zn/Al, Zn(OH) <sub>3</sub>	DRX; IV; TG-DTA; MEV	77
Podofilotoxina	Mg <sub>3</sub> /Al	DRX; UV/Vis; MET	78
Naproxeno	Zn/Al	DRX; CHN; MET; Área Superficial	79
Norfloxacina	Mg/Al	DRX; IV; UV/Vis; TG-DTA; ICP-AES	80
Celecoxib	Mg/Al	DRX; IV; DSC; área superficial	81
Ácido mefenâmico	Mg <sub>2</sub> /Al, Mg <sub>3</sub> /Al, Mg <sub>4</sub> /Al	DRX; CHN; IV; Raman; TG-MS; MEV	82
Curcumina	Mg <sub>3</sub> /Al	DRX; IV; ICP-AES; TG-DTA	83
Diclofenaco	Mg <sub>3</sub> /Al	DRX; UV/Vis; CLAE; Absorção tópica	84
Colágeno	Zn <sub>2</sub> /Al	CHNS; ICP-AES; DRX; IV; MET	85
5-Fluorouracil (5-Fu)	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; MEV; CHN	86
Heparina	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; CHN; IV; MEV; MET	87
Ácido mefenâmico e Ácido meclofenâmico	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; CHN; IV; MET; UV/Vis	88
Colágeno	Zn <sub>2</sub> /Al	DRX; Raman; TG; MET	89
Ácido mefenâmico, Ácido meclofenâmico e Naproxeno	Mg/Al Fe	CHN; DRX; IV; TG-DTA	90
Ibuprofeno	Mg <sub>2</sub> /Al	CHN; DRX; IV; UV/Vis; TG; TEM	91
5-Fluorocitosina (5-FC)	Zn <sub>2</sub> /Al	CHN; DRX; IV; MET	92
L-DOPA	Mg <sub>2</sub> /Al	CHN; ICP-AES; DRX; IV; UV/Vis; TG-DTA; TG-MS; RMN	93
Enalapril, Lisinopril, Captopril e Ramipril	Zn <sub>2</sub> /Al	CHN; ICP-AES; DRX; IV; DTA; TG-MS	94



**Tabela 3.** Trabalhos publicados sobre híbridos de HDL com oligonucleotídeos e ácidos nucleicos de interesse em terapia gênica

Substância Intercalada	Composição do HDL M <sup>2+</sup> /M <sup>3+</sup>	Métodos de caracterização	Ref.
Adenosina-5-monofosfato (AMP), Guanosina-5-monofosfato (GMP), Citidina-5-monofosfato (CMP) e Ácido desoxirribonucléico (DNA)	Mg <sub>2</sub> /Al	CHN; TG; ICP-AES; DRX; IV; DC; UV/Vis	103
DNA, ATP, Fluoresceína 5-isotiocianato (FITC)	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; LSCM	104
CMP, AMP, GMP, Adenosina-5-trifosfato (ATP)	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV	105
DNA	Mg <sub>2</sub> /Al	CHN; ICP-AES; DRX	106
DNA	Mg <sub>2</sub> /Al	TG-DTA; MEV; MET; Eletroforese	107
DNA	Mg <sub>2</sub> /Al, Mg <sub>2</sub> /Fe e Mg <sub>2</sub> /Ga	DRX; TG; Eletroforese	108
DNA	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; IV; MEV; DC; eletroforese	109
DNA	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; LAMMPS	110
DNA	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; LAMMPS	111
DNA	Mg <sub>2</sub> /Al	DRX; MET; CellTiter-Glo	112

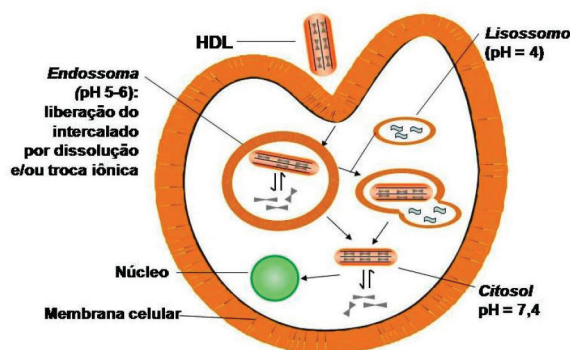
e/ou fotoquímica, entre outras, são sensivelmente aumentadas em relação à do fármaco livre. Além disso, o material intercalado poderá sofrer um processo de liberação sustentada, decorrente da dissolução da matriz lamelar em função do ataque ácido ou de uma reação de troca aniônica.<sup>48,49</sup> Essas propriedades permitem que o HDL seja um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para uso como suporte para o armazenamento e a liberação sustentada da substância intercalada, que pode ser um fármaco como os anti-inflamatórios não-esteroidais,<sup>50,51,53,65</sup> drogas anti-cancerígenas,<sup>59,63</sup> um regulador de crescimento vegetal,<sup>113</sup> porfirinas para uso em terapia fotodinâmica,<sup>74</sup> aminoácidos,<sup>114</sup> herbicidas,<sup>115</sup> ou mesmo a molécula de DNA em procedimentos de terapia gênica.<sup>106,107</sup> A aplicação do HDL como, por exemplo, excipiente no tratamento de úlcera e em terapia de distúrbios digestivos já é descrita há mais tempo.

#### MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO E ABSORÇÃO DE HDL

A assimilação dos materiais híbridos contendo produtos medicinais intercalados em HDL tem sido investigada *via* administração enteral (pelo trato digestivo), tópica (efeito local) ou parenteral. A liberação da substância intercalada pode ocorrer através de dois mecanismos: solubilização das lamelas do HDL estimulada pelo abaixamento do pH e/ou pela reação de troca aniônica com espécies presentes no organismo. Quando administrado oralmente, o material híbrido pode se dissolver no suco gástrico do estômago ou participar de reação de troca iônica (liberação sustentada) no intestino delgado, se recoberto com um revestimento protetor (entérico) adequado (por exemplo, com polímeros que não se dissolvem em meio ácido). No estômago, o HDL pode proteger a mucosa gástrica e a desintercalação controlada de um fármaco pode evitar a sua alta concentração local, diminuindo possíveis efeitos colaterais. Para uso tópico (absorção cutânea), área de interesse também das indústrias de cosméticos, a substância intercalada, aplicada na forma de cremes, adesivos etc., pode ser liberada por troca iônica com espécies do fluido da transpiração (NaCl, por exemplo). Outra possibilidade consiste na associação do material híbrido aos sistemas endodérmicos ou transdérmicos, ou seja, a substância de interesse (um anti-inflamatório ou um hormônio, por exemplo), atravessaria a epiderme, atingindo a derme ou mesmo a corrente sanguínea.

Quando a administração é intravenosa, a partícula do híbrido é levada para o interior da célula por endocitose, um processo celular que ocorre na resposta imunológica do organismo, executado por macrófagos para degradar agentes patogênicos (moléculas, bactérias, vírus) ou partículas pequenas, e que consiste em engolfar e eliminar o intruso.<sup>116</sup> Dentro da célula, nos endossomas que confinam o híbrido

de HDL, pode ocorrer a dissolução parcial ou a troca aniônica no HDL em razão da presença de íons H<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>.<sup>71,117</sup> O HDL ainda intacto pode escapar do endossoma, alojando-se no citoplasma, conforme ilustra a Figura 5. Outra possibilidade é a fusão dos endossomas com os lisossomos, promovendo a lenta dissolução em função da acidez do meio (pH aproximadamente 4-5).<sup>3</sup> Parte do material híbrido não dissolvido pode sofrer reações de troca iônica entre a espécie intercalada e aquelas espécies aniônicas presentes no citosol (pH aproximadamente 7,4). Esse método é importante para o transporte de drogas anticancerígenas, ácidos nucleicos e oligonucleotídeos para as células.

**Figura 5.** Possíveis etapas da incorporação e absorção de HDL pela célula

Se o DNA é incorporado ao núcleo da célula, ele pode induzir a produção de uma determinada proteína ou, ainda, se compostos (RNA ou oligonucleotídeos) anti-sentido alcançam o núcleo, pode-se regular artificialmente a expressão de genes para inibir a produção de proteínas causadoras de doenças. Porém, os ácidos nucleicos não conseguem penetrar na membrana celular em virtude da elevada carga proveniente dos grupos fosfato, sendo necessária a intermediação de carregadores; uma vez no citosol, quando não protegidos, os ácidos nucleicos são degradados pelas enzimas nucleases. Posteriormente, o DNA ou RNA associados aos carregadores são transportados para o núcleo da célula, por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos. Observa-se que a eficiência dos carregadores inorgânicos na *transfecção* (transporte de ácido nucleico externo para células eucarióticas) não é eficiente, se comparados aos nanocarregadores orgânicos, mas os primeiros possuem as vantagens de não sofrerem ataques de micro-organismos, de apresentarem menor toxicidade e de estabilizarem a macrobiomolécula.<sup>1,3</sup>

A administração de partículas na forma parenteral requer o controle de seus diâmetros para evitar problemas de obstrução de

capilares, cujos diâmetros médios são da ordem de 10  $\mu\text{m}$ .<sup>118</sup> Para injeção intravenosa, Choy *et al.*<sup>118</sup> realizaram um estudo em que, através de métodos convencionais, obtiveram partículas de HDL de tamanho nanométrico e realizaram testes em cobaias. A injeção intravenosa de suspensão salina de  $\text{Mg}_2\text{AlCl-HDL}$  (diâmetro de ca. 100 nm) em camundongos adultos, seguida de exames de sangue e de tecidos, mostraram que doses iguais ou menores que 200 mg/kg não causam efeitos sistêmicos (generalizados). Porém, observou-se irritação no local da aplicação e na injeção intraperitoneal, de modo que a administração não intravenosa deve ser evitada. Choy *et al.*<sup>119</sup> entenderam os estudos e reportaram em uma patente que partículas com diâmetro entre 100 e 300 nm não são tóxicas mesmo na concentração de 400 mg/kg quando aplicadas no peritônio de ratos. Partículas contendo metotrexato (MTX), uma droga anticancerígena, também foram testadas *in vivo* através de injeção intraperitoneal.

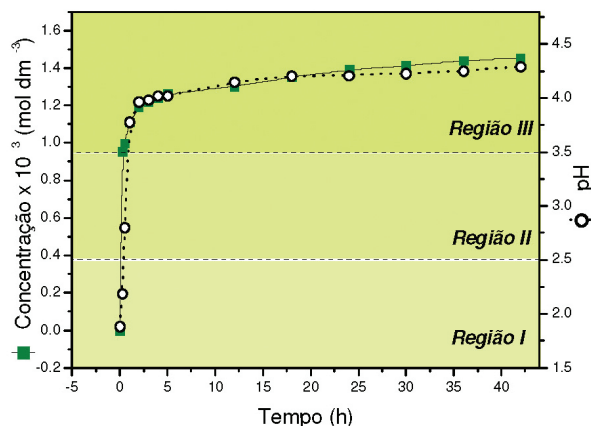
Em outro trabalho do mesmo grupo,<sup>86</sup> o agente anticancerígeno 5-fluorouracil intercalado em HDL foi testado *in vitro* frente a três linhagens diferentes de células humanas doentes: adenocarcinoma (A549), osteosarcoma (HOS) e hepatoma (Hep 1). Os resultados mostraram que o HDL sem o fármaco não inibe o crescimento das células quando presente em uma concentração inferior a 500 mg/mL, indicando que o carregador inorgânico não pode ser considerado tóxico. Já outro estudo, empregando outro tipo de célula cancerosa (MNNG/HOS, osteosarcoma humano), revelou que o HDL contendo carbonato não afeta o ciclo celular, quando em concentrações entre 1,5 e 384  $\mu\text{g/mL}$ .<sup>71</sup> Choy *et al.*<sup>120</sup> avaliaram a toxicidade celular de  $\text{Mg}_2\text{AlCO}_3\text{-HDL}$  e  $\text{Zn}_2\text{AlCO}_3\text{-HDL}$ , as composições mais utilizadas em estudos de transporte de drogas ou biomoléculas através de HDL. Para tanto, foram empregadas células normais de pulmão humano (L-132), células de hepatoblastoma (HepG2) e células de adenocarcinoma de mama (MCF-7). O meio celular continha nanopartículas de HDL (de formato hexagonal e tamanho médio de 200 nm) nas concentrações entre 3,9 e 500  $\mu\text{g/mL}$  (até essa concentração, não foram observadas alterações na proliferação celular). Os testes de danos à membrana plasmática também confirmaram a baixa toxicidade dos HDL; a composição com magnésio mostrou ser menos danosa que aquela com zinco e os autores inferiram essa diferença à menor toxicidade do  $\text{Mg}^{2+}$  em relação ao  $\text{Zn}^{2+}$ . Considerando uma possível administração parenteral dos materiais híbridos, também foram realizados testes de hemólise através da incubação das nanopartículas de HDL com células vermelhas do sangue. Nas concentrações empregadas no estudo, tanto as partículas de  $\text{Mg}_2\text{AlCO}_3\text{-HDL}$  quanto de  $\text{Zn}_2\text{AlCO}_3\text{-HDL}$  não causaram a ruptura das células vermelhas em intervalo de tempo adequado.

### HDL como carregadores de produtos medicinais

A intercalação de moléculas biologicamente ativas na estrutura de HDL é de interesse não apenas pelo fato da matriz ser biocompatível, mas também por outros efeitos reportados.

#### Possível liberação sustentada da droga mediada por alterações no pH

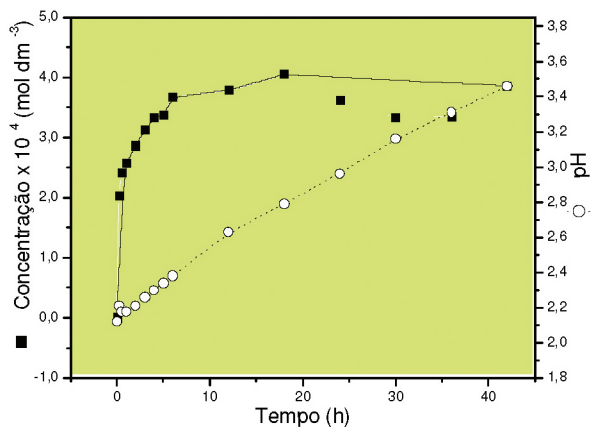
Tronto *et al.*<sup>121</sup> realizaram estudos sobre a liberação *in vitro* de aminoácidos intercalados em HDL de magnésio e alumínio. A partir dos valores de concentração dos aminoácidos e dos valores de pH determinados para cada tempo, foi possível construir gráficos de concentração do aminoácido e pH da solução em função do tempo. Analisando a Figura 6, nota-se que inicialmente o valor de pH da solução é de 1,88. Essa solução, que tem como objetivo simular o pH estomacal, apresenta  $[\text{HCl}] = 0,0132 \text{ mol L}^{-1}$ . Nesse valor de pH da solução (Região I do gráfico), o aminoácido está na forma protonada, o que leva a uma repulsão entre as cargas da lamela e do aminoácido, o qual se desloca para a solução.



**Figura 6.** Valores de pH e quantidades de aminoácido em solução em função do tempo nos estudos de liberação *in vitro* para o HDL intercalado com aspartato

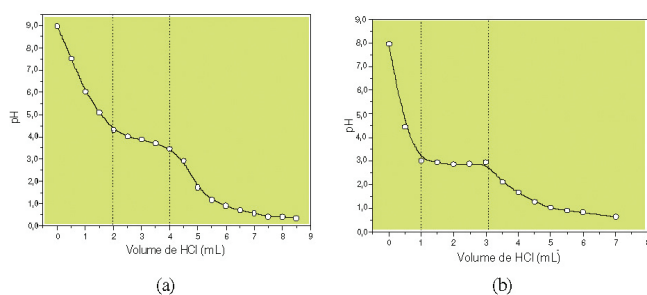
Com o aumento do pH da solução em função da dissolução do HDL, o material estará em contato com uma solução na faixa de pH entre 2-3, próximo do ponto isoeletrico do aminoácido (Região II). A velocidade máxima de liberação do aspartato intercalado para a solução ocorre em um período de 3 h, quando o pH da solução atinge o valor de aproximadamente 4,0 (Região III), próximo do valor de  $pK_x$  do aminoácido (referente ao segundo grupo carboxílico) que é de 3,65. Após esse tempo, a concentração de íons aspartato na solução permanece praticamente constante e em torno de  $1,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . A partir de 3 h, quando o valor de pH é superior a 4,0, observa-se uma velocidade de liberação menor. Isso ocorre porque a partir desse valor de pH praticamente não ocorre dissolução do hidróxido duplo lamelar. Concomitante ao processo de liberação dos ânions orgânicos intercalados por dissolução do HDL, ocorre a troca dos íons aspartato intercalados no HDL por íons cloreto da solução que simula o pH estomacal. A presença de íons cloreto intercalados no HDL resultante após a liberação foi confirmada através da difratometria de raios X no pó e análise qualitativa. A troca de íons aspartato intercalados por íons cloreto pode ser explicada pela maior estabilização da estrutura lamelar pelos ânions cloreto do que pelos ânions aspartato.

Tronto *et al.*<sup>55</sup> realizaram também testes de liberação *in vitro* para HDL de magnésio e alumínio intercalado com ânions citrato. A partir dos valores de concentração de ânions citrato em solução e dos valores de pH determinados para cada tempo, foi construído um gráfico de concentração e pH em função do tempo (Figura 7).



**Figura 7.** Valores de pH e quantidades de ânions citrato em solução em função do tempo nos estudos de liberação *in vitro* para o HDL de Mg e Al intercalado com ânions citrato

A curva de liberação do ânion orgânico tem o perfil característico de uma liberação sustentada. O pH durante os testes de liberação foi sempre crescente em função do tempo. Tal resultado pode estar relacionado ao alto efeito tamponante do sistema, que impede que o pH se eleve bruscamente. Padrões de difração de raios X no pó, para as amostras sólidas após 42 h de testes de liberação, apresentam picos basais referentes à intercalação de íons citrato ( $d_{003} = 1,2$  nm). Diferentemente dos resultados obtidos para HDL intercalados com aminoácidos, para o HDL de Mg e Al intercalado com ânions citrato, o valor de espaçamento basal encontrado após os testes de liberação *in vitro* não variou em relação ao do composto intercalado, indicando que não ocorreu a reação de troca dos ânions citrato intercalados por ânions cloreto da solução. Assim, é possível afirmar que após 42 h de contato com a solução ácida, os ânions citrato intercalados não foram totalmente liberados para a solução. A amostra MgAl-citrato-HDL apresentou uma alta organização estrutural, o que poderia dificultar a troca com os ânions cloreto da solução durante os testes de liberação *in vitro*. Além disso, os ânions citrato proporcionaram um efeito tamponante na solução, o que não favorece nem o processo de dissolução do HDL e nem a troca aniônica. O efeito tamponante dos HDL foi demonstrado por meio de curvas de titulação com um ácido forte. A Figura 8 apresenta as curvas de pH em função do volume de HCl adicionado, para os HDL de magnésio e alumínio intercalados com ânions aspartato e citrato.



**Figura 8.** Curvas de pH em função do volume de HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup> adicionado para HDL de Mg e Al intercalados com (a) ânions aspartato; (b) ânions citrato

O efeito tampão para o HDL intercalado com ânions aspartato, Figura 8a, ocorreu com a adição de 2,0 e 4,0 mL de solução de ácido clorídrico, com uma variação no valor de pH entre 4,3 a 3,5. Para esse material, a capacidade tamponante foi de 7,0 meq g<sup>-1</sup>. Para o HDL intercalado com ânions citrato, Figura 8b, o efeito tamponante ocorreu com a adição de um volume de ácido clorídrico entre 1,0 e 3,0 mL, em que o valor de pH variou entre 2,8 a 3,1. Esse HDL apresentou capacidade tamponante de 7,60 meq g<sup>-1</sup>. Esses materiais híbridos apresentaram curvas de titulação com um perfil típico de uma base fraca sendo titulada por um ácido forte.

Ambrogi *et al.*<sup>51</sup> realizaram um estudo de liberação *in vitro* do anti-inflamatório ibuprofeno em HDL de magnésio e alumínio, simulando as condições de pH do intestino delgado (pH=7,5). A liberação foi realizada comparando os comportamentos do HDL-IBUt.i. (ibuprofeno intercalado no HDL através do método da troca iônica), HDL-IBU (mistura física do sal de sódio do ibuprofeno com o HDL-Cl) e do Neo-Mindol® (forma comercial do ibuprofeno na forma de sal de sódio) em pH 7,5. O perfil de liberação do HDL-IBUt.i. foi diferente do observado para o Neo-Mindol®. A forma comercial e a mistura física HDL-IBU apresentaram uma liberação imediata do fármaco. O ensaio com a amostra HDL-IBUt.i. mostrou que 60% da droga foi liberada após 20 min, e que os 40% restantes foram liberados após 100 min. Essas diferenças provavelmente estão relacionadas com o mecanismo de liberação do fármaco intercalado,

pois a liberação ocorre através da troca iônica entre os íons derivados do ibuprofeno e os íons fosfato presentes na solução tampão. O difratograma de raios X do sólido, remanescente após a liberação, confirma esse mecanismo devido ao desaparecimento do pico basal em  $d_{003} = 2,17$  nm referente ao HDL-IBUt.i., e o aparecimento do pico em 1,09 nm referente aos íons fosfato intercalados. A liberação *in vitro* do HDL-IBUt.i. utilizando aproximadamente as condições do meio gástrico não foi estudada. Essas condições não favoreceram uma liberação sustentada devido à rápida dissolução do HDL em baixos valores de pH, sendo necessário o recobrimento entérico do material.

#### *Aumento da solubilidade de substâncias pouco solúveis em água*

Ambrogi *et al.*<sup>53</sup> também desenvolveram um trabalho sobre o aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis como a indometacina, cetoprofeno e o ácido tiopropênico em HDL de magnésio e alumínio. A solubilidade é uma propriedade muito importante dos fármacos, pois tem um papel crucial na liberação e absorção dessas moléculas no plasma sanguíneo, ou seja, na sua biodisponibilidade. As medidas de solubilidade do fármaco livre, do mesmo intercalado e do material formado pela mistura física do fármaco-HDL foram determinadas em um ensaio a 37 °C, no qual o material em pó foi colocado em um meio contendo suco gástrico (pH = 1,2) sem pepsina. Os três fármacos, quando intercalados em HDL, apresentaram um aumento na solubilidade enquanto a molécula livre e a mistura física não mostraram modificações. Para a indometacina, por exemplo, a concentração obtida no ensaio após 3 h, com o fármaco livre e com a mistura física, foi aproximadamente seis vezes menor do que a concentração do fármaco previamente intercalado. Segundo os autores, o aumento na solubilidade pode estar relacionado à ausência de cristalinidade do material intercalado, ocorrendo a liberação direta da forma iônica pela rápida dissolução do HDL em meio ácido.

#### *Aumento da estabilidade química de substâncias frente à luz, calor, umidade, oxigênio molecular etc*

Estudo sobre a decomposição térmica do anti-inflamatório naproxeno em HDL de magnésio e alumínio utilizando as técnicas de difratometria de raios X e absorção no infravermelho *in situ* foi realizado por Wei *et al.*<sup>64</sup> As mudanças observadas durante o processo de decomposição usando tais técnicas estão de acordo com os dados de análise térmica. A espectroscopia no infravermelho e a difratometria de raios X mostram que a decomposição do naproxeno intercalado ocorre em aproximadamente 250 °C, temperatura na qual se observa o desaparecimento de bandas características da molécula e a desidroxilação do HDL. Esse estudo possibilita concluir o notável aumento da estabilidade do naproxeno quando intercalado em HDL, visto que para a molécula livre a temperatura de decomposição é de 170 °C.

Em um estudo recente, a intercalação de heparina, droga frequentemente usada como anticoagulante, em hidróxido duplo lamelar do tipo MgAl-Cl-HDL removeu algumas de suas limitações para uso farmacológico, aumentando sua meia-vida e prolongando sua ação.<sup>87</sup>

#### *Liberação sustentada pode manter a concentração plasmática do fármaco em níveis desejados por um período maior de tempo*

Li *et al.*<sup>61</sup> realizaram um estudo sobre o potencial de liberação do anti-inflamatório fenbufeno intercalado na matriz de HDL de magnésio/alumínio e lítio/alumínio. O teste de desintercalação foi realizado a temperatura constante de 37 °C em uma solução de tampão fosfato pH=7,8. A curva de liberação do fenbufeno na matriz LiAl<sub>2</sub>-HDL mostra que nos primeiros 10 min ocorre uma alta liberação e atinge um nível constante em 20 min. A liberação máxima, utilizando essa matriz, foi de 40%. O perfil encontrado para a matriz Mg<sub>2</sub>Al-HDL mostra uma rápida liberação nos primeiros 15 min, porém menor do que a visualizada para a matriz LiAl<sub>2</sub>-HDL. A quantidade de



fenbufeno liberada aumenta linearmente ao longo do ensaio de 120 min e atinge o valor de 59%. Segundo os autores, a explicação para o diferente comportamento da liberação do fenbufeno nas matrizes  $Mg_2Al$ -HDL e  $LiAl_2$ -HDL pode ser devida a maior interação do ânion orgânico com o  $LiAl_2$ -HDL, uma vez que essa matriz possui maior densidade de carga que a  $Mg_2Al$ -HDL.

*Superfície da matriz de HDL pode ser modificada para evitar liberação de espécies no estômago e promover liberação sustentada no intestino*

Li *et al.*<sup>62</sup> estudaram a liberação, em condições semelhantes às encontradas no trato gastrointestinal, do anti-inflamatório fenbufeno intercalado na matriz de HDL de magnésio e alumínio recoberto pelo polímero Eudragit S 100. Esse estudo foi desenvolvido devido ao comportamento básico da matriz de HDL, impossibilitando sua passagem sem decomposição de suas lamelas no meio ácido do estômago, expondo assim precocemente o fármaco. Os resultados obtidos mostraram o comportamento desejado do híbrido recoberto, ocorrendo a passagem do fármaco-HDL pelo estômago e possibilitando a liberação sustentada do fármaco nas condições do intestino delgado.

*Aumento da estabilidade de fármaco frente à decomposição no transporte até a célula*

Choy *et al.*<sup>59</sup> reportaram um estudo sobre o aumento da permeabilidade de fármacos nas células, quando intercalados em HDL de Mg e Al. Os autores escolheram para estudo o ácido fólico e o metotrexato (MTX), utilizados no tratamento de câncer. O MTX apresenta uma baixa meia-vida no plasma, por isso são necessárias altas dosagens desse fármaco aumentando, assim, a probabilidade de interação com células não cancerígenas. Os resultados obtidos indicam que o MTX intercalado teve sua eficácia aumentada na supressão do desenvolvimento das células cancerígenas, mesmo quando administrado em doses menores e menor tempo de incubação. A intercalação do MTX em HDL provavelmente diminuiu a decomposição dessa molécula durante o transporte.

*Diminuição de efeitos colaterais de anti-inflamatórios (lesões gastrointestinais)*

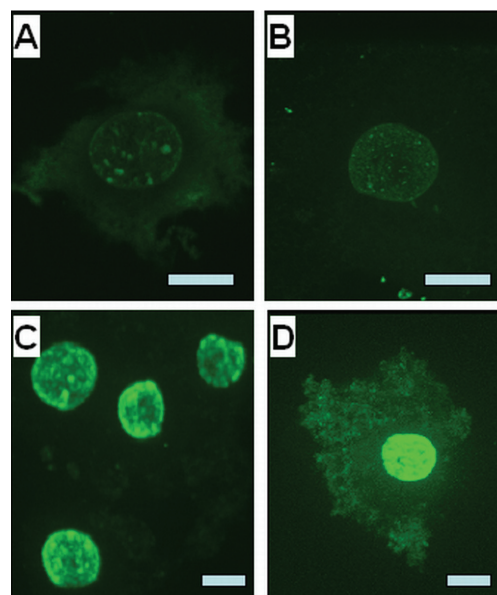
Del Arco *et al.*<sup>58</sup> realizaram um estudo *in vivo* do material obtido pela intercalação do anti-inflamatório indometacina em HDL de magnésio e alumínio (indometacina-HDL) comparando-o com a indometacina livre e a mistura física do HDL-carbonato com a indometacina. O fármaco indometacina, assim como todos os anti-inflamatórios não esteroidais não seletivos a COX-2 (enzima responsável pela resposta inflamatória no organismo), causam muitos problemas gastrointestinais. A intercalação desses compostos em HDL pode ser de grande ajuda para contornar os seus efeitos colaterais. Os autores realizaram um experimento *in vivo* utilizando camundongos Swiss dos dois sexos.

Após a administração oral das três amostras contendo indometacina, o estômago dos ratos foi retirado e analisado através da utilização de microscópio óptico para visualizar o grau e a área de ulceração. Os resultados mostraram danos hemorrágicos ao estômago em 88% dos ratos causados pela administração da indometacina livre enquanto que apenas 70% sofreram esses danos quando tratados com a droga intercalada em HDL. Os pontos de ulceração encontrados na superfície do estômago foram cerca de  $0,401 \pm 0,100\%$  para a indometacina livre, enquanto apenas  $\frac{1}{4}$  dos ratos tratados com indometacina-HDL apresentaram cerca de  $0,106 \pm 0,033\%$ , indicando o desempenho superior dos materiais intercalados. Para checar se esses resultados foram favoráveis devido à habilidade de proteção dada pelo HDL, foi comparado o material intercalado com a mistura física (HDL-carbonato + indometacina). Os resultados mostraram o decaimento

nos pontos de ulceração para  $0,22 \pm 0,037\%$ , um valor intermediário entre os encontrados para a indometacina livre e a intercalada. Esses resultados podem estar relacionados com a presença do HDL-carbonato na mistura física, que tem propriedades antiácidas.

*Controle da distribuição intracelular (ou do compartimento sub-celular alvo) através da morfologia*

Estudo recente desenvolvido por Xu *et al.*<sup>117</sup> sobre o comportamento de captação de nanopartículas de HDL por diferentes células de mamíferos, através do uso de indicador isocianato de fluoresceína e de microscopia confocal, demonstrou que as nanopartículas aderem rapidamente à superfície celular, devido a interações entre as partículas com potencial Zeta positivo e a membrana negativamente carregada, sendo então imediatamente inseridas na célula. Além disso, esse trabalho mostrou que dependendo do tamanho e da morfologia de partículas de HDL de mesma composição, alvos sub-celulares distintos são atingidos: enquanto nanopartículas na forma de placas hexagonais (*hexagonal sheets*) ficam retidas no citoplasma, aquelas que apresentam formas de barra (*rods*) são transferidas para o núcleo (Figura 9). O mesmo resultado foi obtido empregando-se diferentes células de mamíferos.



**Figura 9.** Imagens de microscopia confocal do núcleo de células embrionárias de camundongos (NIH 3T3) após a adição de nanopartículas em forma de barras de HDL com corante fluorescente: A - 15 min; B - 45 min; C - 90 min e D - 180 min. Reproduzido da ref.117 Copyright 2008, com permissão da Elsevier

A viabilidade celular não foi afetada pela presença dessas nanopartículas de HDL. Embora ainda pouco elucidado, o mecanismo desse processo de internalização celular deve envolver transporte ativo das nanopartículas através de endossomas e, subsequentemente, para o complexo Golgi ou para lisossomos.<sup>71</sup> Além disso, através do uso de mutantes e inibidores apropriados, como clorpromazina, que bloqueiam etapas específicas no processo de endocitose celular, os estudos de Xu *et al.* confirmaram resultados anteriores de que a internalização das nanopartículas de HDL ocorre prioritariamente por esse processo, mediado por clatrina.

O fato da viabilidade celular para diferentes células não ter sido alterada em presença das nanopartículas de HDL e a inserção bem sucedida de compostos fluorescentes também indicam um novo emprego de materiais baseados em HDL, para obtenção de imagens como auxiliares de diagnósticos clínicos.

Alguns trabalhos recentes merecem breves comentários por apresentarem inovações em relação aos anteriores. Trikeriotis e



Ghanotakis<sup>75</sup> relataram a síntese e a caracterização de antibióticos intercalados em HDL. A inovação mostrada nesse artigo está na intercalação de uma espécie orgânica neutra (artigos anteriores tratavam da intercalação de fármacos aniônicos). O antibiótico gramicidina não possui carga. Logo, para realizar a intercalação desse material em HDL foi realizada primeiramente a incorporação dessa espécie hidrofóbica em micelas de colato de sódio para, em seguida, efetuar a intercalação por troca iônica usando o HDL-nitrato. A caracterização através da espectroscopia eletrônica UV-vis provou a presença da gramicidina no HDL. Outro artigo aponta a possibilidade de usar partículas de HDL-carbonato encapsuladas em vesículas (de diâmetro aproximado de 80 a 150 nm) para carregar drogas associadas ao HDL, uma vez que esse material inorgânico induz a formação de vesículas.<sup>122</sup> Recentemente, Nakayama *et al.*<sup>123</sup> intercalaram uma ciclodextrina aniônica em HDL também com o objetivo de promover a liberação sustentada de droga não aniônica. Nesse sentido, o medicamento prazosin, utilizado para o controle da hipertensão, foi confinado no interior das cavidades da ciclodextrina aniônica.

Choy *et al.*<sup>77</sup> mostraram os resultados obtidos na comparação entre duas matrizes inorgânicas, ZnAl-HDL e sal básico lamelar de zinco,<sup>124</sup> na intercalação e desintercalação do ácido indol-3-acético (IAA) utilizado em cosméticos e ingredientes dermatológicos. De acordo com os dados de difratometria de raios X e espectroscopia vibracional no IV, o ânion IAA apresenta maior interação com o sal básico lamelar de zinco do que com o ZnAl-HDL devido à coordenação do ânion ao metal divalente nas lamelas da matriz. Essa interação resultou em uma quantidade maior de fármaco imobilizado e na liberação lenta do ânion orgânico. Esses resultados possibilitam o desenvolvimento de uma nova matriz para o suporte e liberação de fármacos. O *Nanohybrid Research Center* (Coréia do Sul), fundado em 2001 pelo Dr. Jin-Ho Choy, trabalha no desenvolvimento de sistemas híbridos constituídos de HDL (ou sal básico lamelar) e espécies orgânicas de interesse para uso como drogas ou em cosméticos.<sup>125</sup> Dois produtos patenteados estão disponibilizados para comercialização: Vitabrid-C para liberação de vitamina C e IAA-Brid para liberação de IAA.

Recentemente, Ambrogi *et al.*<sup>81</sup> propuseram a imobilização do anti-inflamatório celecoxib (uma molécula neutra) em HDL-carbonato calcinado como um meio de evitar a cristalização do fármaco amorfo quando armazenado para uso posterior. Quando não cristalino, a solubilidade da substância é maior, logo, uma das estratégias para aumentar a solubilidade de fármacos muito pouco solúveis é promover a amorfização do sólido. No estudo em questão, o HDL calcinado foi suspenso em solução etanólica contendo o fármaco solubilizado e posteriormente a mistura foi seca a vácuo. Os testes de solubilização das moléculas orgânicas foram realizados em meio de fluido gástrico. Os resultados mostraram que em determinadas concentrações do fármaco no HDL, a cristalização é suprimida e a solubilidade é aumentada nas condições avaliadas.

Tammaro *et al.*<sup>76</sup> publicaram um trabalho sobre possíveis aplicações do antibiótico succinato de cloranfenicol intercalado em HDL na liberação sustentada transdérmica, quando incorporado em um polímero (policaprolactona) biocompatível e biodegradável. Segundo os autores, o efeito local da droga evita a administração de altas doses ao paciente, diminuindo efeitos colaterais do fármaco. O híbrido incorporado ao polímero pode ser empregado em artigos cirúrgicos como suturas, membranas, placas para reconstituição óssea, auxiliando na reparação e regeneração do tecido. A síntese do nano-híbrido foi realizada através da troca iônica de ânions nitrato intercalado em Mg<sub>2</sub>Al-NO<sub>3</sub>-HDL pelos ânions succinato de cloranfenicol. Após a incorporação do nano-híbrido ao polímero, foram obtidos filmes de 0,15 mm de espessura. O processo de liberação em solução salina fisiológica mostrou resultados interessantes, pois foi visualizada a presença de dois estágios. No estágio inicial, acontece uma rápida

liberação, na qual uma pequena fração da droga é liberada; o segundo estágio, mais lento, estende-se por um longo período. Esse comportamento é muito diferente e mais lento se comparado com as amostras nas quais o antibiótico está incorporado diretamente na matriz polimérica. Para as aplicações sugeridas pelos autores, é desejável que a liberação se prolongue por 24 h ou mesmo por dias.

A absorção percutânea *in vitro* do anti-inflamatório diclofenaco adsorvido (não intercalado) em hidrotalcita comercial foi investigada por Bonina *et al.*,<sup>84</sup> empregando membranas de epiderme humana. A amostra que mostrou o melhor resultado de permeabilidade foi utilizada em testes *in vivo* na inibição de eritemas induzidos por radiação UV. Os resultados mostraram que a formulação com hidrotalcita apresenta melhor desempenho que aquela empregada para comparação (gel hidroalcoólico contendo diclofenaco).

### HDL como suporte para aplicação em diagnóstico clínico

Ainda na área relacionada à medicina, outra possibilidade de aplicação dos hidróxidos duplos lamelares consiste na utilização dos mesmos como suportes para reagentes utilizados em diagnósticos clínicos, e como biosensores.

Barhoumi *et al.*<sup>126</sup> publicaram um trabalho que relata o uso do material híbrido contendo urease associada à matriz de HDL de zinco e alumínio como biossensor. A imobilização da enzima foi realizada através do método da troca iônica, partindo-se da matriz Zn<sub>3</sub>Al-dodecilsulfato. Os dados de difração de raios X e espectroscopia no infravermelho indicam a obtenção da enzima imobilizada no Zn<sub>3</sub>Al-HDL. O material resultante foi depositado pelo método *spin coating* sobre o detector Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. A resposta do biossensor foi obtida através de medidas de impedância e capacitância, sendo observado um aumento no valor do limite máximo de intervalo dinâmico da impedância (110 mM) em relação à capacitância (5,6 mM). O valor da constante de Michaelis-Menten, calculada pelas medidas de capacitância de acordo com Lineweaver-Burk para a enzima intercalada no HDL, é da mesma ordem de grandeza da constante da urease livre.

Estudos para avaliar a possível aplicação do sistema HDL-urease como biossensor também foram realizados por Vial *et al.*<sup>127,128</sup> Na etapa de síntese, os autores exploraram a utilização de diferentes quantidades da biomolécula intercalada na matriz Zn<sub>3</sub>Al pelo método da coprecipitação. Os difratogramas de raios X das amostras mostraram que o aumento da razão ZnAl-urease diminui a intensidade do pico basal (001) devido à perda da organização no empilhamento das lamelas. Além disso, segundo os autores, esse aumento intensifica as bandas, por exemplo, νC=O 1652 cm<sup>-1</sup> (amida I) e νN-H 1543 cm<sup>-1</sup> (amida II), referentes à enzima, confirmando maior quantidade da enzima imobilizada na região interlamelar. Através das imagens de MEV foi possível visualizar que os cristais de Zn<sub>3</sub>Al-Cl são formados por placas hexagonais, organizadas na forma de uma rosa, onde as placas são identificadas individualmente. Já para o material híbrido, notou-se uma grande tendência para a formação de filmes espessos com uma orientação preferencial. Observou-se que o aumento da razão Zn<sub>3</sub>Al-urease aumenta a densidade do filme, o que demonstra uma maior associação entre a enzima e as lamelas de [Zn<sub>3</sub>Al]. Por último, a permeabilidade dos híbridos foi investigada utilizando um método voltamétrico. Os resultados obtidos demonstram uma maior permeabilidade do híbrido (1,6 - 0,7 x 10<sup>-2</sup> cm s<sup>-1</sup>) se comparada à matriz Zn<sub>3</sub>Al/Cl (2,2 - 2,5 x 10<sup>-2</sup> cm s<sup>-1</sup>) e a eletrodos modificados com a argila catiônica laponita sem (2 x 10<sup>-3</sup> cm s<sup>-1</sup>) ou na presença da urease (3 x 10<sup>-3</sup> cm s<sup>-1</sup>).

Recentemente, Forano *et al.*<sup>129</sup> reportaram a imobilização da enzima fosfatase alcalina em HDL de magnésio e alumínio por coprecipitação. O material híbrido isolado apresenta uma estrutura esponjosa interessante, constituída de macroporos que favorecem

a difusão de moléculas em direção ao centro ativo da enzima. Os testes de permeabilidade dos filmes híbridos e da atividade enzimática foram avaliados positivamente em ensaios eletroquímicos com hidroquinona difosfato.

A enzima glicose oxidase também foi imobilizada em HDL para avaliação como biossensor para detecção e quantificação de glicose.<sup>130</sup> O material híbrido foi preparado a partir de uma dispersão de MgAl-lactato-HDL esfoliado em água. Uma mistura contendo o HDL esfoliado e a enzima foi depositada sobre eletrodo de carbono por *casting*. Os autores comparam os dados de voltametria cíclica da enzima imobilizada em HDL a partir do material esfoliado com aquele obtido sem a prévia esfoliação e destacam o melhor desempenho do primeiro. Apenas a enzima depositada no eletrodo de carbono vítreo não mostra resposta nas condições empregadas no estudo.

Nanocompósitos constituídos de biopolímeros intercalados em HDL de zinco e alumínio foram avaliados como sensores de íons cálcio.<sup>95</sup> Os dispositivos potenciométricos constituídos dos nanocompósitos de alginato e carragenana incorporados em pasta de carbono ou PVC mostraram as melhores respostas. Os íons cálcio interagem com as cadeias dos biopolímeros mesmo quando intercalados na matriz inorgânica.

Os trabalhos reportados até o momento sugerem que não há a intercalação da enzima no HDL, mas a sua adsorção, uma vez que o tamanho e a conformação desses biopolímeros não permitem a intercalação da maneira usual (troca dos contra íons do sal de partida). O processo de adsorção está principalmente baseado na interação entre partículas de diferentes cargas elétricas.<sup>127,130</sup> Nos artigos acima reportados, os autores comparam o desempenho das enzimas associadas a HDL com biossensores construídos com outros materiais inorgânicos (nanotubos de carbono e nanopartículas de Au ou Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, por exemplo) e orgânicos (polipirrol). Os estudos mostram que o papel da matriz inorgânica não se restringe à preservação ou proteção da enzima, mas adiciona novas funcionalidades à contraparte bio-orgânica.

### HDL como carregadores de substâncias de interesse na agricultura e na área de alimentos

Recentemente, Cornejo *et al.*<sup>131</sup> publicaram um trabalho de revisão que trata da interação de pesticidas com argilas catiônicas e hidróxidos duplos lamelares. A grande maioria dos trabalhos sobre esse assunto enfoca a alta afinidade dos HDL com os pesticidas iônicos com vistas à remoção dessas espécies da água e do solo contaminados, bem como a modificação da superfície dessa matriz com o íon orgânico apropriado pode aumentar o seu desempenho na remoção de pesticidas neutros. Alguns trabalhos começam a tratar da possibilidade de uso dos HDL como reservatórios para a liberação controlada de pesticidas com o objetivo de diminuir o impacto ambiental, diminuindo a ocorrência de processos indesejáveis como volatilização, transporte e lixiviação.

Lakraimi *et al.*<sup>132</sup> reportam trabalho sobre a intercalação do pesticida 2,4-diclorofenóxiacetato (2,4-D) em Zn<sub>2</sub>Al-Cl-HDL através do método da troca iônica. Os autores investigaram parâmetros de síntese como a concentração molar do ânion em solução (2,4-D/Zn<sub>2</sub>Al-Cl), tempo de agitação e temperatura para avaliarem a eficácia da troca iônica dos íons cloreto pelo 2,4-D. A intercalação do 2,4-D foi evidenciada pelo aumento no espaçamento basal do material que passou de 0,78 nm (íons cloreto) para 1,91 nm (íons 2,4-D). A estabilidade térmica do orgânico imobilizado na matriz inorgânica (temperatura de decomposição ocorre acima de 300 °C) foi favorecida em relação à espécie livre.

Valim *et al.*<sup>115</sup> reportaram um estudo em que três diferentes herbicidas, 2,4-D, ácido 4-cloro-2-metil fenóxi acético (MCPA) e ácido 4-amino-3,5,6-tricloropiridina-2-carboxílico (picloran),

foram intercalados em hidróxidos duplos lamelares de magnésio e alumínio por três diferentes métodos: coprecipitação, troca iônica e por regeneração de Mg<sub>2</sub>Al-CO<sub>3</sub>-HDL calcinado. Os produtos obtidos foram caracterizados e ensaios de liberação foram realizados pelos métodos de batelada e por lixiviação em colunas de solos. Todos os herbicidas intercalados apresentaram liberação em água mais lenta do que a dos mesmos livres e foram quase que totalmente liberados pelo método de batelada. Comparados com os herbicidas livres, os materiais intercalados aplicados em colunas de solos resultaram em redução da concentração máxima de herbicida nos lixiviados e levaram à retardação da lixiviação do herbicida. Também foram realizados ensaios da atividade dos herbicidas em plantas, que indicaram que os materiais intercalados apresentaram a mesma eficácia que os herbicidas livres e, portanto, uma potencial aplicabilidade desses materiais como suporte em formulações para liberação sustentada de herbicidas.

Com respeito à utilização de HDL na agricultura, outros híbridos, além daqueles com pesticidas, foram reportados. Bin Hussein *et al.*<sup>113</sup> publicaram um trabalho sobre a imobilização de ácido  $\alpha$ -naftalenoacético (NAA), um agente regulador de crescimento vegetal, em HDL de Zn e Al através do método da troca iônica. A intercalação do regulador foi confirmada através dos dados da distância interlamelar do material que foi aumentada de 0,88 nm (íons nitrato) para 2,05 nm (ânion  $\alpha$ -naftalenoacetato). O estudo da liberação em água do agente regulador intercalado na matriz inorgânica foi realizado em soluções de vários pHs e mostrou que a taxa de liberação do ânion é dependente do pH. A maior porcentagem de NAA liberado foi encontrada em meios que são altamente ácido ou altamente básico. Em uma solução com pH=1, a liberação do ânion da lamela foi seguida pela formação de uma nova fase, do ZnO. Porém, em pH neutro ou altamente alcalino, a liberação não destruiu a estrutura lamelar pelo menos até 7 dias. Além disso, foi observado que a liberação do NAA apresenta cinética de primeira ordem do início da reação até 8 h, com uma liberação em solução aquosa de 23, 16 e 22% de NAA para pH inicial igual a 1, 7 e 14, respectivamente.

HDL contendo íons nitrato são comumente preparados como intermediários de síntese, uma vez que sofrem reação de troca iônica com certa facilidade quando comparados com outros ânions simples intercalados. Olanrewaju *et al.*<sup>133</sup> propõem o uso desses materiais contendo nitrato como fertilizantes de liberação lenta. O estudo praticamente simples compreendeu a síntese de MgAl-NO<sub>3</sub>-HDL de diferentes densidades de cargas lamelares (Mg:Al = 2:1; 2,5:1 e 3:1), sob diferentes temperaturas e na presença da solução de amônia. Também foi realizada a síntese, mantendo-se todos os parâmetros constantes, trocando-se a base amônia por hidróxido de sódio.

Com o objetivo de aumentar a estabilidade de espécies de consumo humano em matrizes biocompatíveis, Choy *et al.*<sup>134</sup> publicaram um trabalho sobre a síntese e caracterização de corantes comestíveis, tais como *Allura*<sup>®</sup> *Red AC (AR)* C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub><sup>2-</sup>, *Sunset Yellow FCF (SY)* C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub><sup>2-</sup> e *Brilliant Blue FCF (BB)* C<sub>37</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>S<sub>3</sub><sup>2-</sup> imobilizados em Zn<sub>3</sub>Al-HDL. Os valores dos espaçamentos basais do AR, SY e BB (2,40; 2,03 e 2,43 nm, respectivamente) confirmam a intercalação dos íons orgânicos. Os dados de análise térmica mostram que a temperatura de decomposição das espécies orgânicas nos novos materiais ocorre a partir de 400 °C, indicando o aumento da estabilidade térmica se comparados aos sais dos corantes. Esses novos sistemas obtidos baseados na inserção de orgânicos em hidróxidos duplos lamelares podem ser úteis para várias aplicações na indústria alimentícia.

### Estudos de modelagem molecular

A aplicação de técnicas de simulação computacional ao estudo de argilas catiônicas e aniônicas tornou-se um aliado importante para as técnicas instrumentais comumente usadas na caracterização

desses materiais.<sup>135</sup> A quantidade de informação que pode ser obtida por simulação contínua crescendo e os estudos de mecânica quântica prometem revelar novos e inesperados fenômenos. Na área de HDL intercalados com espécies de interesse medicinal, apenas um trabalho foi reportado até o momento empregando a modelagem computacional para auxiliar no entendimento da interação entre as contrapartes orgânica e inorgânica e seus arranjos espaciais.

Mohanambe e Vasudevan<sup>66</sup> reportaram a intercalação de três anti-inflamatórios não-esteroidais, ibuprofeno, diclofenaco e indometacina, em MgAl-HDL. As técnicas de DRX, IV, Raman e RMN foram utilizadas para caracterizar esses materiais, enquanto que a simulação computacional foi utilizada para obter informações sobre o arranjo espacial das espécies confinadas entre as camadas positivas do HDL. Segundo dados de DRX, todas as amostras intercaladas com os fármacos apresentam um arranjo de bicamada na região interlamelar. Os resultados computacionais indicam que a estrutura do ibuprofeno intercalado se manteve a mesma da molécula livre, mas a imobilização do diclofenaco e indometacina provoca modificações em suas estruturas quando na região interlamelar. Segundo os autores, essas diferenças se devem à interação eletrostática entre o átomo de cloro presente nas espécies orgânicas e as cargas positivas das lamelas.

## PERSPECTIVAS E DESAFIOS

A possibilidade de se controlar a morfologia das nanopartículas de HDL por meio de modificações nos procedimentos de síntese, vislumbrada recentemente, representa mais uma vantagem para seu uso como carregador de fármacos e de outros compostos de interesse medicinal, uma vez que dessa forma se pode controlar sua distribuição dentro da célula priorizando sua entrada no núcleo ou sua permanência no citoplasma e, portanto, como veículo para atingir alvos específicos. Com isto, têm-se estratégias farmacológicas mais eficientes, com menor efeito colateral, abrindo-se novas perspectivas para o uso desses nanomateriais em biomedicina celular. Sabe-se que a principal desvantagem das partículas inorgânicas em relação aos carregadores virais é o fato das primeiras sofrerem degradação no endossoma, não permitindo alta eficiência na transfecção. Adicionalmente, evidências obtidas sobre o mecanismo de veiculação intracelular dessas nanopartículas, que parece ocorrer prioritariamente por um processo de endocitose mediada por clatrina, devem permitir um melhor planejamento para obtenção de HDL com propriedades apropriadas e ajustadas a cada uso.

Alguns estudos sobre a utilização de nanopartículas inorgânicas para o transporte de DNA para o interior das células empregam sistemas contendo mais de um tipo de material inorgânico como, por exemplo, partículas de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> recobertas com sílica funcionalizada ou mesmo sistemas ternários com Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, sílica e uma camada externa de ouro. Exemplos desse tipo com HDL ainda são raros, mas poderiam ser mais explorados, de modo a aumentar o desempenho das partículas inorgânicas tanto para a área de liberação sustentada quanto à de diagnóstico clínico.

O emprego de HDL por via oral é praticamente bem documentado, mas para uso intravenoso, são ainda necessários estudos *in vitro* e *in vivo* mais aprofundados para conhecer sua citotoxicidade e rotas de movimentação, sua biodistribuição e seus mecanismos de eliminação no organismo. Com relação a outras partículas inorgânicas que vêm sendo avaliadas para uso clínico, os HDL mostram vantagens que devem ser consideradas com atenção em trabalhos futuros.

## AGRADECIMENTOS

À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro e pelas bolsas concedidas.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD – Dicroísmo Circular  
 CellTiter-Glo – Ensaio de viabilidade celular que quantifica os níveis de ATP celular, como medida da viabilidade celular, usando a produção de luz catalisada por luciferina-luciferase  
 CHN - Análise química dos elementos C, H e N  
 CHNS - Análise química dos elementos C, H, N e S  
 CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência  
 DRX - Difratoimetria de raios X  
 DSC - Calorimetria exploratória diferencial  
 DTA – Análise térmica diferencial  
 DTG - Termogravimetria derivada (curva referente à primeira derivada da curva TG)  
 EDX – Energia dispersiva de raios X  
 FT-Raman - Espectroscopia Raman com transformada de Fourier  
 ICP-AES - Espectroscopia de Emissão Atômica  
 IV - Espectroscopia vibracional no infravermelho  
 LAMMPS (*Large-Scale Atomistic/Molecular Massively Parallel Simulator*) - programa de simulação de dinâmica molecular  
 LSCM (*Laser Scanning Confocal Microscopy*) - Microscopia confocal de varredura a laser  
 MET – Microscopia eletrônica de transmissão  
 MS - Espectrometria de Massa  
 RMN – Ressonância Magnética Nuclear  
 TG - Termogravimetria  
 TG-DSC-MS - Termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial acopladas à espectrometria de massas  
 UV/Vis - Espectroscopia eletrônica na região ultravioleta e visível  
 XPS – Espectroscopia de fotoemissão de raios X

## REFERÊNCIAS E NOTAS

- Xu, Z. P.; Zeng, Q. H.; Lu, G. Q.; Yu, A. B.; *Chem. Eng. Sci.* **2006**, *61*, 1027.
- Sanvicens, N.; Marco, M. P.; *Trends. Biotechnol.* **2008**, *26*, 425.
- Sokolova, V.; Epple, M.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 1382.
- Corr, S. A.; Rakovich, Y. P.; Gun'ko, Y. K.; *Nanoscale. Res. Lett.* **2008**, *3*, 87.
- Hild, W. A.; Breunig, M.; Goepferich, A.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2008**, *68*, 153.
- Malmsten, M.; *Soft Matter* **2006**, *2*, 760.
- Drotleff, S.; Lungwitz, U.; Breunig, M.; Dennis, A.; Blunk, T.; Tessmar J.; Göpferich, A.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *58*, 385.
- Son, S. J.; Bai, X.; Lee, S. B.; *Drug Discov. Today* **2007**, *12*, 650.
- Tong, W.; Gao, C.; Möhwal, H.; *Macromolecules* **2006**, *39*, 335.
- Skrabalak, S. E.; Chen, J.; Au, L.; Lu, X.; Li, X.; Xia, Y.; *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 3177.
- Daniel, M. C.; Astruc, D.; *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 293.
- Gu, Z.; Thomas, A. C.; Xu, Z. P.; Campbell, J. H.; Lu, G. Q.; *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 3715.
- Sun, B.; Ranganathan, B.; Feng, S. S.; *Biomaterials* **2008**, *29*, 475.
- Chatterjee, D. K.; Zhang, Y.; *Sci. Technol. Adv. Mater.* **2007**, *8*, 131.
- Jain, K. K.; *Trends. Biotechnol.* **2006**, *24*, 143.
- Fukumori, Y.; Ichikawa, H.; *Adv. Powder Technol.* **2006**, *17*, 1.
- Biodisponibilidade é uma medida da porcentagem da dose administrada da substância com atividade terapêutica que alcança o sistema de circulação e está disponível no local de ação.
- Davis, M. E.; Chen, Z.; Shin, D. M.; *Nature Rev.* **2008**, *7*, 771.
- De Roy, A.; Forano, C.; Besse, J. P.; *Abstracts of Papers of the Am. Chem. Soc.* **1991**, *202*, 127.
- Cavani, F.; Trifiro, F.; Vaccari, A.; *Catal. Today* **1991**, *11*, 173.
- Vaccari, A.; *Catal. Today* **1998**, *41*, 53.



22. Vaccari, A.; *Appl. Clay Sci.* **1995**, *10*, 1.
23. Crepaldi, E. L.; Valim, J. B.; *Quim. Nova* **1998**, *21*, 300.
24. Pinnavaia, T. J.; *Mater. Chem.* **1995**, *245*, 283.
25. Evans, D. G.; Duan, X.; *Chem. Commun.* **2006**, *5*, 485.
26. De Roy, A.; Forano C.; El Maki K.; Besse J. P. *Em Anionic Clays: Trends in Pillaring Chemistry*; Ocelli, M.; Robson, H. E., eds.; Van Nostrand Reinhold: New York, 1992, vol. 2, cap. 7.
27. Trifirò, F.; Vaccari, A. *Em Hydrotalcite-like Anionic Clays (Layered Double Hydroxides)*; Alberti, G.; Bein, T., eds.; Wiley: New York, 1996, cap. 8.
28. Braterman, P. S.; Xu, Z. P.; Yarberr, F. *Em Handbook of Layered Materials*; Auerbach, S. M.; Carrado, K. A.; Dutta, P. K., eds.; Wiley: New York, 2004, cap. 8.
29. Constantino, V. R. L.; Pinnavaia, T. J.; *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 883.
30. Valim, J. B.; Crepaldi, E. L.; Pavan, P. C.; *J. Mater. Chem.* **2000**, *10*, 1337.
31. Sels, B. F.; De Vos, D. E.; Jacobs, P. A.; *Catal. Rev.* **2001**, *43*, 443.
32. Rives, V.; Ulibarri, M. A.; *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *181*, 61.
33. Ballarin, B.; Gazzano, M.; Seeber, R.; Tonelli, D.; Vaccari, A.; *J. Electroanal. Chem.* **1998**, *445*, 27.
34. Therias, S.; Mousty, C.; *Appl. Clay Sci.* **1995**, *10*, 147.
35. Barbosa, C. A. S.; Ferreira, A. M. C.; Constantino, V. R. L.; *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, *8*, 1577.
36. Bonifácio, L. S.; Gordijo, C. R.; Constantino, V. R. L.; Silva, D. O.; Kiyohara, P. K.; Araki, K.; Toma, H. E.; *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2008**, *8*, 274.
37. Marangoni, R.; Taviot-Gueho, C.; Illaik, A.; Wypych, F.; Leroux, F.; *J. Colloid Interf. Sci.* **2008**, *326*, 366.
38. Wypych, F.; Bail, A.; Halma, M.; Nakagaki, S.; *J. Catal.* **2005**, *234*, 431.
39. Ferreira, O. P.; Moraes, S. G.; Duran, N.; Cornejo, L.; Alves, O. L.; *Chemosphere* **2006**, *62*, 80.
40. Iglesias, A. H.; Ferreira, O. P.; Gouveia, D. X.; Souza-Filho, A. G.; Paiva, J. A. C.; Mendes-Filho, J.; Alves, O. L.; *J. Solid State Chem.* **2005**, *178*, 142.
41. Cosnier, S.; Mousty, C.; Gondran, C.; Lepellec, A.; *Mater. Sci. Eng. C-Bio. S.* **2006**, *26*, 442.
42. Oh, J. M.; Park, M.; Kim, S. T.; Jung, J. Y.; Kang, Y. G.; Choy, J. H.; *J. Phys. Chem. Solids* **2006**, *67*, 1024.
43. Zhang, H.; Zou, K.; Guo, S. H.; Duan, X.; *J. Solid State Chem.* **2006**, *179*, 1792.
44. Choy, J. H.; *Sc. Tech. Hybrid Mat. Solid State Phenom.* **2006**, *111*, 1.
45. Serna, C. J.; White, J. L.; Hem, S. L.; *J. Pharm. Sci-US.* **1978**, *67*, 324.
46. Peterson, C. L.; Perry, D. L.; Masood, H.; Lin, H.; White, J. L.; Hem, S. L.; Fritsch, C.; Haeusler, F.; *Pharm. Res.* **1993**, *10*, 998.
47. Miederer, S. E.; Wirtz, M.; Fladung, B.; *Chin. J. Digestive Diseases* **2003**, *4*, 140.
48. Del Hoyo, C.; *Appl. Clay Sci.* **2007**, *36*, 103.
49. Choy, J. H.; Choi, S. J.; Oh, J. M.; Park, T.; *Appl. Clay Sci.* **2007**, *36*, 122.
50. Khan, A. I.; Lei, L. X.; Norquist, A. J.; O'Hare, D.; *Chem. Comm.* **2001**, *22*, 2342.
51. Ambrogi, V.; Fardella, G.; Grandolini, G.; Perioli, L.; *Int. J. Pharm.* **2001**, *220*, 23.
52. Tronto, J.; Crepaldi, E. L.; Pavan, P. C.; Paula, C. C.; Valim, J. B.; *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **2001**, *356*, 227.
53. Ambrogi, V.; Fardella, G.; Grandolini, G.; Nocchetti, M.; Perioli, L.; *J. Pharm. Sci.* **2003**, *92*, 1407.
54. Nakayama, H.; Takeshita, K.; Tshako M.; *J. Pharm. Sci.* **2003**, *92*, 2419.
55. Tronto, J.; Reis, M. J.; Silvério, F.; Balbo, V. R.; Marchetti, J. M.; Valim, J. B.; *J. Phys. Chem. Solids* **2004**, *65*, 475.
56. Bin Hussein, M. Z.; Long, C. W.; *Mater. Chem. Phys.* **2004**, *85*, 427.
57. Del Arco, M.; Gutiérrez, S.; Martín, C.; Rives, V.; Rocha, J.; *J. Solid State Chem.* **2004**, *177*, 3954.
58. Del Arco, M.; Cebadera, E.; Gutierrez, S.; Martín, C.; Montero, M. J.; Rives, V.; Rocha, J.; Sevilla, M. A.; *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93*, 1649.
59. Choy, J. H.; Jung, J. S.; Oh, J. M.; Park, M.; Jeong, J.; Kang, Y. K.; Han, O. J.; *Biomaterials* **2004**, *25*, 3059.
60. Dupin, G. C.; Martinez, H.; Guimon, C.; Dumitriu, E.; Fechete, I.; *Appl. Clay Sci.* **2004**, *27*, 95.
61. Li, B. X.; He, J.; Evans, D. G.; Duan, X.; *Appl. Clay Sci.* **2004**, *27*, 199.
62. Li, B.; He, J.; Evans, D. V.; Duan, X.; *Int. J. Pharm.* **2004**, *287*, 89.
63. Tyner, K. M.; Schiffman, S. R.; Giannelis, E. P.; *J. Controlled Release* **2004**, *95*, 501.
64. Wei, M.; Shi, S. X.; Wang, J.; Li, Y.; Duan, X.; *J. Solid State Chem.* **2004**, *177*, 253.
65. Gordijo, C. R.; Barbosa, C. A. S.; Ferreira, A. M. C.; Constantino, V. R. L.; Silva, D. O.; *J. Pharm. Sci.* **2005**, *94*, 1135.
66. Mohanambe, L.; Vasudevan, S.; *J. Phys. Chem. B.* **2005**, *109*, 15651.
67. Schoubben, A.; Blasi, P.; Giovagnoli, S.; Nocchetti, M.; Ricci, M.; Perioli, L.; Rossi, C.; *Pharm. Res.* **2005**, *23*, 604.
68. Wang, Z.; Wang, B.; Gao, L.; Xu, L.; *J. Solid State Chem.* **2005**, *178*, 736.
69. Li, W. Z.; Lu, J.; Chen, J. S.; Li, G. D.; Jiang, Y. S.; Li, L. S.; Huang, B. Q.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2006**, *81*, 89.
70. Yang, Q. Z.; Yang, J.; Zhang, C. K.; *Int. J. Pharm.* **2006**, *326*, 148.
71. Oh, J. M.; Choi, S. J.; Kim, S. T.; Choy, J. H.; *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 1411.
72. Li, S. P.; *Colloids Surf. A.* **2006**, *290*, 56.
73. Del Arco, M.; Fernandez, A.; Martin, C.; Rives, V.; *Appl. Clay Sci.* **2007**, *36*, 133.
74. Kantonis, G.; Trikeriotis M.; Ghanotakis, D. F.; *J. Photochem. Photobiol. A* **2007**, *185*, 62.
75. Trikeriotis, M.; Ghanotakis, D. F.; *Int. J. Pharm.* **2007**, *332*, 176.
76. Tammaro, L.; Costantino, U.; Bolognese, A.; Sammartino, G.; Marenzi, G.; Calignano, A.; Tete, S.; Mastrangelo, F.; Califano, L.; Vittoria, V.; *Int. J. Antimicrob. Ag.* **2007**, *29*, 417.
77. Yang, J. H.; Han, Y. S.; Park, M.; Park, T.; Hwang, S. J.; Choy, J. H.; *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 2679.
78. Xue, Y. H.; Zhang, R.; Sun, X. Y.; Wang, S. L.; *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2007**, *19*, 1197.
79. Hou, W. G.; Jin, Z. L.; *Colloid Polym. Sci.* **2007**, *285*, 1449.
80. Ni, Z. M.; Xia, S. J.; Wang, L. G.; Xing, F. F.; Pan, G. X.; Hu, J.; *Chem. J. Chinese U.* **2007**, *28*, 1214.
81. Ambrogi, V.; Perioli, L.; Marmottini, F.; Rossi, C.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2007**, *66*, 253.
82. Cunha, V. R. R.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2007.
83. Ni, Z.; Xing, F.; Wang, P.; Cao, G.; *Appl. Clay Sci.* **2008**, *40*, 72.
84. Bonina, F. P.; Giannossi, M. L.; Medici, L.; Puglia, C.; Summa, V.; Tateo, F.; *Appl. Clay Sci.* **2008**, *41*, 165.
85. Sun, Y.; Zhou, Y.; Ye, X.; Chen, J.; Wang, Z.; *Mater. Lett.* **2008**, *62*, 2943.
86. Choi, S. J.; Oh, J. M.; Choy, J. H.; *J. Phys. Chem. Solids* **2008**, *69*, 1528.
87. Gu, Z.; Thomas, A. C.; Xu, Z. P.; Campbell, J. H.; Lu, G. Q.; *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 3715.
88. Del Arco, M.; Fernandez, A.; Martin, C.; Sayalero, M. L.; Rives, V.; *Clay Miner.* **2008**, *43*, 255.
89. Aisawa, S.; Yasutake, A.; Takahashi, S.; Hirahara, H.; Narita, E.; *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2008**, *8*, 428.
90. Del Arco, M.; Fernandez, A.; Martin, C.; Rives, V.; *Appl. Clay Sci.* **2009**, *42*, 3.
91. Gunawan, P.; Xu, R.; *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97*, 4367.
92. Liu, C.; Hou, W.; Li, L.; Li, Y.; Liu, S.; *J. Solid State Chem.* **2008**, *181*, 1792.



93. Wei, M.; Pu, M.; Guo, J.; Han, J.; Li, F.; He, J.; Evans, D. G.; Duan, X.; *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 5169.
94. Xia, S.-J.; Ni, Z.-M.; Xu, Q.; Hu, B.-X.; Hu, J.; *J. Solid State Chem.* **2008**, *181*, 2610.
95. Darder, M.; Blanco, M. L.; Aranda, P.; Leroux, F.; Hitzky, E. R.; *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 1969.
96. Whilton, N. Y.; Vickers, P. J.; Mann, S.; *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 1623.
97. O'Hare, D. M.; *WO 2002/ 47729* **2002**.
98. O'Hare, D. M.; *US pat. 0052849* **2004**.
99. Choy, J. H.; Park, T.; Kim, S. T.; Son, Y. H.; *WO 2006/ 091009* **2006**.
100. Marenzi, G.; Bolognese, A.; Califano, L.; Calignano, A.; Costantino, U.; Sammartino, G.; Vittoria, V.; *WO 2007/ 010584* **2007**.
101. Stockel; R. F.; *US pat. 0013893* **2006**.
102. Slaghek, T. M.; Batenburg, L. F.; Fischer, H. R.; *WO 2007/ 067043* **2007**.
103. Choy, J. H.; Kwak, S. Y.; Park, J. S.; Jeong, Y. J.; Portier, J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1399.
104. Choy, J. H.; Kwak, S. Y.; Jeong, Y. J.; Park, J. S.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 4042.
105. Choy, J. H.; Kwak, S. Y.; Park, J. S.; Jeong, Y. J.; *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 1671.
106. Kwak, S. Y.; Jeong, Y. J.; Park, J. S.; Choy, J. H.; *Solid State Ionics* **2002**, *151*, 229.
107. Choy, J. H.; Oh, J. M.; Park, M.; Sohn, K. M.; Kim, J. W.; *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 1181.
108. Desigaux, L.; Belkacem, M. B.; Richard, P.; Cellier, J.; Le'one, P.; Cario, L.; Leroux, F.; Taviot-Gueho, C.; Pitard, B.; *Nano Lett.* **2006**, *6*, 199.
109. Oh, J. M.; Kwak, S. Y.; Choy, J. H.; *J. Phys. Chem. Solids* **2006**, *67*, 1028.
110. Thyveetil, M. A.; Coveney, P. V.; Greenwell, H. C.; Suter, J. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12485.
111. Thyveetil, M. A.; Coveney, P. V.; Greenwell, H. C.; Suter, J. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4742.
112. Tyner, K. M.; Roberson, M. S.; Berghorn, K. A.; Li, L.; Gilmour, Jr, R. F.; Batt, C. A.; Giannelis, E. P.; *J. Controlled Release* **2008**, *100*, 399.
113. Bin Hussein, M. Z.; Zainal, Z.; Yahaya, A. H.; Foo, D. W. V.; *J. Controlled Release* **2002**, *82*, 417.
114. Nakayama, H.; Wada, N.; Tshako, M.; *Int. J. Pharm.* **2004**, *269*, 469.
115. Cardoso, L. P.; Celis, R.; Cornejo, J.; Valim, J. B.; *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 5968.
116. Voet, D.; Voet, J. G.; *Biochemistry*, J. Wiley: New York, 1990.
117. Xu, Z. P.; Niebert, M.; Porazik, K.; Walker, T. L.; Cooper, H. M.; Middelberg, A. P. J.; Gray, P. P.; Bartlett, P. F.; Lu, G. Q.; *J. Controlled Release* **2008**, *130*, 86.
118. Kwak, S. Y.; Kriven, W. M.; Wallig, M. A.; Choy, J. H.; *Biomaterials* **2004**, *25*, 5995.
119. Park, T.; Choy, J. H.; Oh, J. M.; Jung, J. S.; *WO 2006/ 129893* **2006**.
120. Choi, S. J.; Oh, J. M.; Park, T.; Choy, J. H.; *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2007**, *7*, 4017.
121. Tronto, J.; Cardoso, L. P.; Marchetti, J. M.; Bentley, M. V. B.; Valim, J. B.; *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **2003**, *390*, 79.
122. Du, Na; Hou, W.-G.; Song, S.-E.; *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 13909.
123. Nakayama, H.; Kuwano, K.; Tshako, M.; *J. Phys. Chem. Solids* **2008**, *69*, 1552.
124. Arizaga, G. G. C.; Satyanarayana, K. G.; Wypych, F.; *Solid State Ionics* **2007**, *178*, 1143. Os Sais Básicos Lamelares (SBL) são sólidos com estrutura lamelar, tendo em comum com os HDL o fato que ambos apresentam camadas do tipo da brucita,  $Mg(OH)_2$ , formadas por octaedros de  $M(OH)_6$  compartilhando arestas, com cargas residuais positivas. No caso do SBL de zinco, a estrutura das lamelas é formada apenas por cátions Zn, apresentando vacâncias em sítios octaédricos, e a compensação de cargas é realizada pela presença de grupamentos aniônicos completando a coordenação tetraédrica do metal divalente. Nesses últimos, os tetraedros são localizados fora da camada do tipo da brucita, acima e abaixo das lacunas octaédricas.
125. <http://www.nanohybrid.com>, acessada em Outubro 2008.
126. Barhoumi, H.; Maaref, A.; Rammah, M.; Martelet, C.; Jaffrezic, N.; Mousty, C.; Vial, S.; Forano, C.; *Mater. Sci. Eng. C-Bio. S.* **2006**, *26*, 328.
127. Vial, S.; Forano, C.; Shan, D.; Mousty, C.; Barhoumi, H.; Martelet, C.; Jaffrezic, N.; *Mater. Sci. Eng. C-Bio. S.* **2006**, *26*, 387.
128. Vial, S.; Prevot, V.; Leroux, F.; Forano, C.; *Microporous Mesoporous Mater.* **2008**, *107*, 190.
129. Geraud, E.; Prevot, V.; Forano, C.; Mousty, C.; *Chem. Commun.* **2008**, *13*, 1554.
130. Zhang, Y.; Chen, X.; Wang, J.; Yang, W.; *Electrochem. Solid State Lett.* **2008**, *11*, 19.
131. Cornejo, J.; Celis, R.; Pavlovic, I.; Ulibarri, M. A.; *Clay Miner.* **2008**, *43*, 155.
132. Lakraimi, M.; Legrouri, A.; Barroug, A.; De Roy, A.; Besse, J. P.; *J. Mater. Chem.* **2000**, *10*, 1007.
133. Olanrewaju, J.; Newalkar, B. L.; Mancino, C.; Komarneni, S.; *Mater. Lett.* **2000**, *45*, 307.
134. Choy, J. H.; Kimb, Y. K.; Sona, Y. H.; Choy, Y. B.; Oha, J. M.; Junga, H.; Hwang, S. J.; *J. Phys. Chem. Solids* **2008**, *69*, 1547.
135. Greenwell, H. C.; Jones, W.; Coveney, P. V.; Stackhouse, S.; *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 708.