



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

TAMIRES ANDRADE DA SILVA

**Avaliação de Mg, Al HDL como carreador de Sb(V), a partir de antimoniato de meglumina, visando uma alternativa para a quimioterapia da Leishmaniose**

Maceió

2016

TAMIRES ANDRADE DA SILVA

**Avaliação de Mg, Al HDL como carreador de Sb(V), a partir de antimoniato de meglumina, visando uma alternativa para a quimioterapia da Leishmaniose**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Profa. Dra. Camila Braga Dornelas

Coorientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

Maceió

2016

**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecário responsável: Valter dos Santos Andrade**

S586a Silva, Tamires Andrade da.  
Avaliação de Mg, AI HDL como carreador de Sb(V), a partir de antimoniato de meglumina, visando uma alternativa para a quimioterapia da Leishmaniose / Tamires Andrade da Silva. – Maceió, 2016.  
65 f. : il.

Orientadora: Camila Braga Dornelas.

Coorientador: Mario Roberto Meneghetti.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2016.

Bibliografia: f. 57-65.

1. Hidróxido duplo lamelar. 2. Antimonial. 3. Leishmaniose. 4. Antimoniato de meglumina. I. Título.

CDU: 615.283

**Folha de Aprovação**

TAMIRES ANDRADE DA SILVA

**Avaliação de Mg, Al HDL como carreador de Sb(V), a partir de  
antimoniato de meglumina, visando uma alternativa para a  
quimioterapia da Leishmaniose**

Dissertação de Mestrado submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 02 de fevereiro de 2016.



---

Prof. Dra. Camila Braga Dornelas (Orientador)



---

Prof. Dr. Mário Roberto Meneghetti (Co-orientador)

**Banca examinadora:**



---

Prof. Dr. Phabyanno Rodrigues Lima (IFAL)



---

Prof. Dr. Ifinaldo Diniz Basilio Júnior (UFAL)

*Dedico ao meu amor, meu pai, minha  
madrasta, meus irmãos, razões da minha  
existência, minhas fontes inspiradoras e  
responsáveis por esta conquista.*

## AGRADECIMENTOS

*Seria impossível não começar agradecendo a Deus, pela força, misericórdia e pela coragem de não desistir dos desafios.*

*Ao meu pai e minha madrasta quem em todos os momentos estavam comigo, pelas orações que desde a minha entrada na universidade são de suma importância.*

*Ao meu marido e meus irmãos, que sempre acreditaram que tudo era possível, que nunca mediram esforços para me ajudar, á ele os créditos do meu trabalho.*

*Agradecer a minha orientadora, Profa Dra. Camila Braga Dornelas, que sempre acreditou em mim, e nunca deixou que eu desistisse de lutar por aquilo que fazia meu coração vibrar, a vida acadêmica.*

*Ao meu coorientador, por toda ajuda e dedicação que foram essências para o andamento do trabalho.*

*A um professor que foi essencial para esta vitória, Prof. Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo, que sempre esteve presente em momentos difíceis, e também pelo carinho.*

*Aos amigos dos laboratórios, principalmente a minha ic, Laleska Barros, pela atenção, carinho e companheirismo.*

*Aos laboratórios parceiros e professores responsáveis que cederam espaço e me acolheram durante a conclusão de ideias e experimentos: Prof. Dr. Irinaldo Diniz do Laboratório de Tecnologia e Nanotecnologia Farmacêutica (ESENFAR/UFAL); Prof. Dr. Eduardo Fonseca do Laboratório de Óptica e Materiais (FÍSICA/UFAL), Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior do Laboratório de Química Medicinal (ESENFAR/UFAL); Prof. Dr. Ticiano Gomes do Laboratório de Análises Farmacêuticas e de Alimentos (ESENFAR/UFAL), Prof. Dr. Josué Carinhanha do Laboratório de Desenvolvimento e Instrumentação em Química Analítica (IQB/UFAL), Profa. Dra. Rusiene Monteiro do Grupo de Catálise e Reatividade Química (IQB/UFAL) e ao Prof. Dr. Jonas dos Santos (IFAL).*

*Ao CNPq, FAPEAL, FINEP e CAPES pelo apoio financeiro.*

*À Universidade Federal de Alagoas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de aprendizado.*

## RESUMO

Como principal medida de controle da leishmaniose em todas as suas formas, a Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza o uso de quimioterápicos e, apesar das significativas limitações que acompanham os antimoniais, como alta incidência de efeitos tóxicos, necessidade de um longo período de tratamento e a via de administração empregada (parenteral), estes continuam sendo os medicamentos de primeira escolha. Objetivou-se, por conseguinte, investigar a preparação de sistemas binários nanoestruturados como alternativa no tratamento da leishmaniose, através do uso de argilas aniônicas, ou hidróxidos duplos lamelares (HDLs), como carreadores lamelares de fármacos antimoniais pentavalentes. A escolha por estes carreadores foi feita em função da estrutura química dos fármacos, que poderia, através de interações eletrostáticas, resultar em um promissor sistema de controle de liberação na forma de pó. Para tal, foi sintetizado Mg, Al HDL precursor e antimoniato de meglumina (AM), ambos tiveram sua formação confirmada por técnicas de caracterizações. Como argila e fármaco são solúveis/dispersíveis em água, investigou-se a preparação dos sistemas via solução por troca iônica (produtos S-T1, S-T2 e S-T3) ou co-precipitação (produto S-CP); no primeiro caso foram estudados como variáveis a proporção m/m e temperatura. Ainda, para fins comparativos, foi preparada a mistura física (MF) dos precursores. A técnica de TGA mostrou que os produtos via troca iônica (S-T1 e S-T2) não foram formados, em contrapartida, através das técnicas de caracterizações, como TGA, EDX, DRX, FTIR, MEV, foi possível confirmar a obtenção do produto S-T3 do tipo adsorvato. O ICP OES permitiu a quantificação do antimônio no produto de 15,38%. As mesmas técnicas também ratificaram a formação do produto S-CP, como do tipo intercalado, sendo quantificado 9,17% de antimônio. Assim, foram obtidos dois sistemas binários diferentes contendo antimônio associado ao HDL, e o semi-metal, por ensaios de especiação, apresenta-se majoritariamente no estado pentavalente em ambos. Diante do exposto, conclui-se que a formação do sistema HDL-Sb(V), a partir de AM, pode ser viável e que a nanotecnologia tem se mostrado como uma aliada na busca de alternativas para a limitada quimioterapia da leishmaniose.

Palavras-chave: Hidróxido duplo lamelar. Antimonial. Leishmaniose. Antimoniato de meglumina.

## ABSTRACT

As the main leishmaniasis control measure in all its forms, the World Health Organization (WHO) recommends the use of chemotherapy and, despite significant limitations accompanying antimony, as high incidence of toxic effects, the need for a long period of treatment and the route of administration used (parenteral), these remain the drugs of choice. The objective is therefore to investigate the preparation of nanostructured binary systems as an alternative in the treatment of leishmaniasis, through the use of anionic clays and layered double hydroxides (LDHs) as lamellar carriers pentavalent antimonial drugs. The choice of these carrier was made according to the chemical structure of the drugs, which could, through electrostatic interactions, a promising result in release control system in the form of powder. To this end, it was synthesized Mg, Al LDH precursor and meglumine antimoniate (MA), both had their training confirmed by characterization techniques. As clay and drug are soluble/ dispersible in water, we investigated the preparation of the solution via system (S-E1, S-E2 and S-E3) or co-precipitation (S-CP); in the first case as variables studied were the ratio m/m and temperature. Also, for comparative purposes, it was prepared physical mixture (PM) precursors. The TGA technique showed that the products via solution (S-E1 and S-E2) are not formed, however, through characterization techniques such as TGA, EDX, XRD, FTIR, SEM, it was confirmed to obtain the product S-E3 of the adsorbate type. ICP OES allowed the quantification of antimony in the product is 15.38%. The same techniques also support the formation of product II as the interleaved type, and quantified 9.17% antimony. Thus were obtained two different binary systems containing antimony associated to HDL and semi-metal, for speciation assays is presented largely in both the pentavalent state. Given the above, it is concluded that the formation of system LDH-Sb(V) from MA, can be viable and that nanotechnology has proven to be an ally in the search for alternatives to the limited chemotherapy of leishmaniasis.

Keywords: Layered Double Hydroxide. Antimonial. Leishmaniasis. Meglumine Antimoniate.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – <i>Leishmania</i> - A) Forma promastigota; B) Forma amastigota.....	17
<b>Figura 2</b> – Ciclo biológico da <i>Leishmania spp</i> .....	18
<b>Figura 3</b> – Paciente com LV na fase aguda.....	20
<b>Figura 4</b> - Distribuição geográfica da LT no mundo.....	22
<b>Figura 5</b> –Distribuição geográfica da LV no mundo.....	23
<b>Figura 6</b> – Casos de LTA distribuídos por regiões de 1990 a 2013.....	24
<b>Figura 7</b> –Casos de LV distribuídos por regiões de 1990 a 2013.....	25
<b>Figura 8</b> - Estrutura proposta para o antimoniato de meglumina (espécie m/z 507).....	27
<b>Figura 9</b> – Estruturas propostas para espécies identificadas no composto.....	28
<b>Figura 10</b> – Estrutura esquemática dos três tipos de interações entre argila e molécula.....	32
<b>Figura 11</b> – Estrutura dos HDLs (A); visão lateral (B); e visão superior de uma lamela (C).....	33
<b>Figura 12</b> – Curva de análise térmica dos precursores e da MF, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF.....	41
<b>Figura 13</b> – Difratogramas, em vermelho: HDL; em cinza: MF.....	42
<b>Figura 14</b> – Representação esquemática do Mg-Al-Cl HDL.....	43
<b>Figura 15</b> – Espectros de infravermelho dos precursores, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF.....	44
<b>Figura 16</b> – Estrutura e morfologia do HDL, AM e da MF obtido do MEV em um aumento de 2000x. Onde, (A) HDL precursor; (B) AM, (C) MF. ....	44
<b>Figura 17</b> – Curvas de análise térmica dos precursores, MF e dos produtos (S-T1, S-T2 e S-T3), em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF; em preto: produtos S-T1, S-T2 e S-T3. Em (A) produto S-T1; em (B), produto S-T2; em (C) produto S-T3.....	45
<b>Figura 18</b> – Tamanho molecular em três dimensões do ânion antimoniato.....	46

<b>Figura 19</b> – - Difratoograma do produto S-T3 (•) corresponde aos planos cristalinos referentes ao HDL.....	47
<b>Figura 20</b> – Espectros de infravermelho dos precursores, MF e do produto S-T3, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF; em preto: produto S-T3.....	51
<b>Figura 21</b> – Curvas de análise térmica, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF; em verde: produto S-CP.....	52
<b>Figura 22</b> – Difratoograma do HDL, MF e do produto S-CP, em vermelho: HDL; em cinza: MF; em verde: produto S-CP.....	53
<b>Figura 23</b> - Espectros de infravermelho dos produtos, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF; em verde: produto S-CP.....	55
<b>Figura 24</b> - Estrutura e morfologia do produto S-CP obtido do MEV em um aumento de 2000x.....	56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Combinações de cátions di e trivalentes que podem compor as lamelas dos HDLs.....	33
<b>Tabela 2-</b> Compostos de Sb com seus respectivos difratogramas.....	48
<b>Tabela 3-</b> Resultados de especiação de antimônio.....	50
<b>Tabela 4-</b> Valores do ângulo $2\theta$ , distância basal do planos e intensidade do HDL, MF e produto S-CP.....	53
<b>Tabela 5-</b> Percentagem dos elementos presente no produto S-CP.....	54
<b>Tabela 6-</b> Resultados de especiação de antimônio.....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS

AM	Antimoniato de Meglumina
CDC	Centro de Controle de Doenças
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DNDi	do inglês, <i>Drugs for Neglected Diseases initiative</i>
DRX	Difração de Raios X
EDX	Espectrometria de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva
ELISA	Ensaio Imunoenzimático Indireto
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
FDA	do inglês, <i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
HDL	Hidróxido Duplo Lamelar
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma
IDRM	Intradermorreação de Montenegro
IFI	Imunoensaio de Imunofluorescência
LC	Leishmaniose Cutânea
LCDf	Leishmaniose Cutânea Difusa
LCDs	Leishmaniose Cutânea Disseminada
LCL	Leishmaniose Cutânea Localizada
LM	Leishmaniose Mucosa
LMC	Leishmaniose Mucocutânea

LTA	Leishmaniose Tegumentar
LV	Leishmaniose Visceral
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MS	Ministério da Saúde
MSF	Médicos sem fronteiras
OMS	Organização Mundial da Saúde
Sb(III)	Antimônio trivalente
Sb(V)	Antimônio pentavalente
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificações
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TGA	Termogravimetria

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
2.	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
2.1	<b>Leishmaniose- Panorama Geral</b> .....	16
2.2	<b>Agente Etiológico</b> .....	17
2.3	<b>Ciclo Biológico</b> .....	18
2.4	<b>Classificação</b> .....	19
2.4.1	Leishmaniose Visceral Americana – LVA (ou Calazar).....	19
2.4.2	Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA).....	20
2.5	<b>Distribuição</b> .....	22
2.6	<b>Quimioterapia das leishmanioses</b> .....	26
2.6.1	Antimoniais Pentavalentes.....	26
2.6.2	Antimoniato de Meglumina (AM)- Síntese e estrutura.....	26
2.6.2.1	Mecanismo de ação.....	28
2.6.2.2	Esquema terapêutico e efeitos adversos.....	29
2.7	<b>Materiais Nanoestruturados na Quimioterapia da Leishmaniose</b> .....	31
2.7.1	Argilas lamelares.....	31
2.7.2	Hidróxidos Duplos Lamelares.....	32
2.7.3	Métodos de síntese de HDLs.....	34
2.7.4	Métodos de síntese de sistemas binários nanoestruturados.....	34
2.7.5	Sistemas binários nanoestruturados contendo HDL.....	35
2.8	<b>Justificativa do projeto</b> .....	36
3.	<b>OBJETIVOS</b> .....	37
3.1	<b>Objetivo geral</b> .....	37
3.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	37
4	<b>METODOLOGIA</b> .....	38
4.1	<b>Material</b> .....	38
4.2	<b>Síntese do HDL precursor</b> .....	38
4.3	<b>Síntese do antimoniato de meglumina (AM)</b> .....	38
4.4	<b>Preparação dos sistemas binários nanoestruturados HDL-Sb(V)</b> .....	39
4.5	<b>Caracterização</b> .....	39
4.5.1	Difração de raios X (DRX).....	39
4.5.2	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	39

4.5.3	Termogravimetria (TGA).....	39
4.5.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	40
4.5.5	Espectrometria de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva (EDX).....	40
4.5.6	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma (ICP OES).....	40
4.5.7	Especiação do antimônio.....	40
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41
5.1	<b>Caracterização dos precursores- HDL, AM e MF</b> .....	41
5.2	<b>Caracterização dos sistemas binários- Produtos (S-T1, S-T2 e S-T3)</b> .....	45
5.3	<b>Caracterização dos sistemas binários- Produto (S-CP)</b> .....	51
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	56
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58

## 1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecciosa zoonótica causada por protozoários parasitas intracelulares obrigatórios, do gênero *Leishmania*. Tais protozoários pertencem à família *Trypanosomatidae* e se alojam no compartimento fagossomal do macrófago, célula sanguínea com função de defesa de hospedeiros vertebrados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007; NGURE et al., 2009; HERNÁNDEZ et al., 2012).

A principal forma de transmissão ocorre através de flebotomíneos hematófagos do gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo e do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo (PAVLI et al., 2010). O ciclo evolutivo da *Leishmania spp.* envolve duas fases, uma no hospedeiro invertebrado (flebotomíneo), onde ocorre a transformação da forma amastigota em promastigota, e a outra no hospedeiro vertebrado (REY, 2001; QUINNELL & COURTENAY, 2009).

Devido ao baixo financiamento para pesquisas relacionadas às doenças negligenciadas, o conhecimento produzido não se reverte em avanços terapêuticos, como, por exemplo, novos fármacos e métodos de diagnósticos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). As leishmanioses possuem um arsenal terapêutico extremamente limitado, um exemplo prático disso é o uso de fármacos antimoniais há mais de 100 anos, os quais, apesar de seus severos efeitos adversos, continuam sendo as drogas de primeira escolha (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

O antimônio é um semi-metal cujos estados de oxidação mais comuns são tri, Sb(III), e pentavalente, Sb(V) (YAN et al., 2005). O primeiro antimonial usado foi o tártaro emético, a base de Sb(III). Na busca por antimoniais com maiores índices terapêuticos, um grande número de agentes antimoniais foram desenvolvidos e avaliados até se chegar aos antimoniais pentavalentes, menos tóxicos, na década de 20 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Mas continua sendo creditada ao Sb(III) a ação leishmanicida dos fármacos antimoniais. Goodwin and Page (1943) foram os primeiros a proporem que o Sb(V) atuaria como uma espécie de pró-droga, sendo este o mecanismo mais aceito até hoje.

No Brasil, o fármaco de primeira escolha é o antimoniato de meglumina (AM) (Glucantime<sup>®</sup>, Aventis). Embora seja o mais seguro para o tratamento convencional das leishmanioses, ainda apresenta uma gama de efeitos colaterais graves e indesejados,

necessidade de um longo período de tratamento e a inconveniência da via de administração empregada (parenteral) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Alternativas estão sendo investigadas com o objetivo de melhorar a quimioterapia com antimoniais. No contexto da nanotecnologia, os lipossomas e as ciclodextrinas vem se destacando (FRÉZARD et al., 2008; DEMICHELI et al., 2004; FERREIRA et al., 2014), embora sejam nanocarreadores reconhecidamente caros (BERGMANN, 2008).

Assim, seja por fármacos que não demonstram eficácia superior aos antimoniais, embora seus efeitos colaterais, seja por alternativas farmacotécnicas não muito adequadas ao público-alvo acometido pela leishmaniose enquanto doença negligenciada, propõe-se a preparação e caracterização de sistemas binários nanoestruturados a base de argilas aniônicas, ou hidróxidos duplos lamelares (HDLs), como carreadores de Sb(V), a partir do antimoniato de meglumina.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Leishmaniose- panorama geral**

A leishmaniose é uma doença infecciosa, porém, não contagiosa, considerada um problema grave de saúde pública no mundo, sendo endêmica em 98 países, com mais de 350 milhões de pessoas atualmente em situação de risco (MENEZES et al., 2014; JAIN & JAIN, 2015).

Entre os principais hospedeiros incluem-se os humanos e animais, como cães, gatos domésticos e gambás (QUINNELL & COURTENAY, 2009). A transmissão ocorre através de flebotomíneos hematófagos do gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo e do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo, ou após transplante de órgão, congenitamente ou pelo sangue (PAVLI et al., 2010).

A doença pode ser manifestada de duas formas clínicas principais: Leishmaniose Visceral (LV) e Leishmaniose Tegumentar (LT). A LV é também conhecida como Calazar, considerada a forma mais grave, e caracterizada por febre alta, perda substancial de peso, hepatoesplenomegalia e anemia, podendo ocasionar a morte do indivíduo se não tratada (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). A LTA (encontrada no continente americano) é também conhecida como leishmaniose mucocutânea, úlcera de Bauru, ferida brava etc., considerada a forma mais disseminada da doença,

frequentemente desenvolve lesões cutâneas expansivas e persistentes, causando deformidades no paciente acometido; no entanto, o tipo da lesão, a eficiência do tratamento, o tempo de cicatrização, entre outros fatores, variam de acordo com a etiologia (GOTO & LINDOSO, 2012).

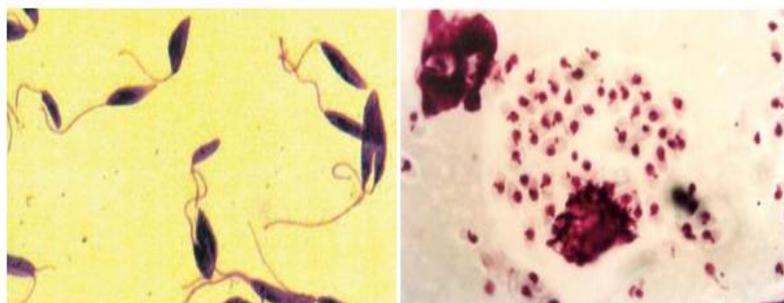
A Organização Mundial de Saúde (OMS) e os Médicos sem Fronteiras (MSF) classificaram as doenças em três tipos: globais, negligenciadas e extremamente negligenciadas (CHUNG et al., 2008). A doença do sono, leishmaniose visceral e doença de Chagas (DNDi, 2013) são exemplos de doenças extremamente negligenciadas, incidentes quase exclusivamente em países pobres, ou seja, afetam pessoas que mal tem acesso às necessidades básicas para a sobrevivência e, por essa razão, não conseguem atrair o interesse da indústria farmacêutica. Assim, as opções de tratamento se tornam limitadas e o esforço do governo em lutar contra este tipo de doença é insuficiente (CHUNG et al., 2008; DNDi, 2013).

## 2.2 Agente etiológico

A leishmaniose é uma doença infecciosa zoonótica, causada por cerca de 20 espécies de um protozoário flagelado do gênero *Leishmania*, subdividido em dois subgêneros distintos, *L. (Leishmania) spp.* e *L. (Viannia) spp.*, da ordem *Kinetoplastida* e da família *Trypanosomatidae* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007; NGURE et al., 2009; HERNÁNDEZ et al., 2012).

Possuem duas formas, uma flagelada, alongada e móvel, denominada promastigota (Figura 1A), encontrada no tubo digestivo do inseto vetor; e outra forma aflagelada e esférica, denominada amastigota (Figura 1B), encontrada no interior de macrófagos do sistema retículo-endotelial do hospedeiro vertebrado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

**Figura 1-** *Leishmania* - A) Forma promastigota; B) Forma amastigota.



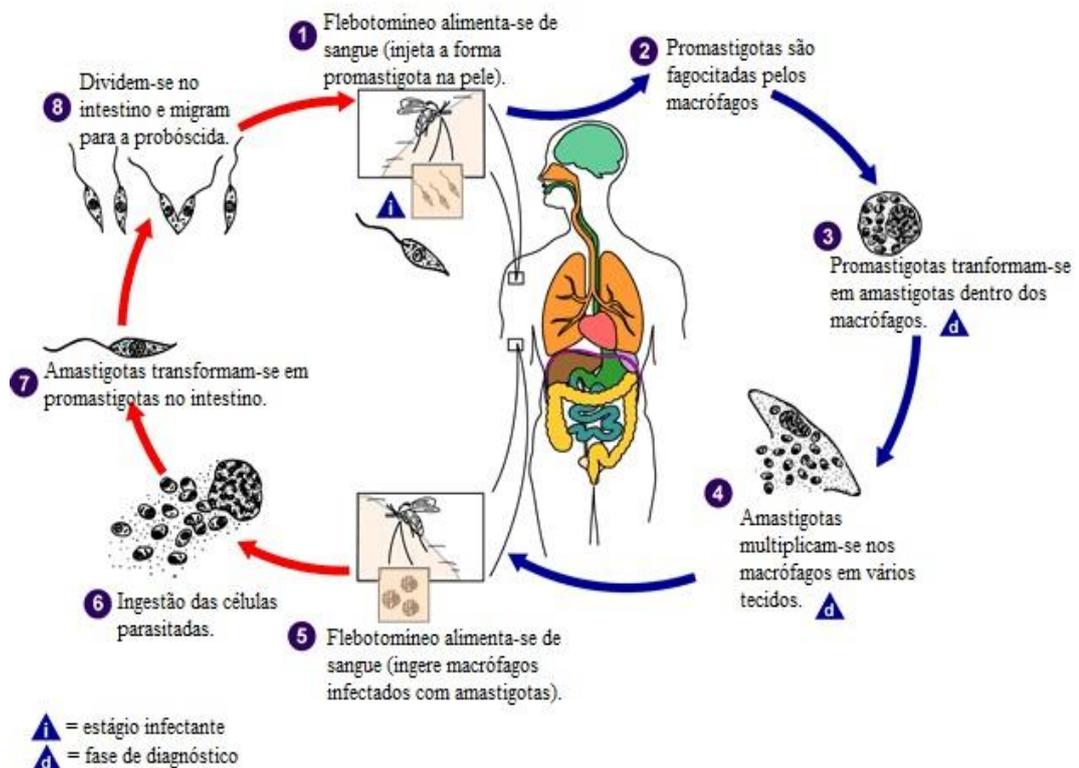
**Fonte:** Ministério da Saúde, 2014.

### 2.3 Ciclo biológico

O ciclo evolutivo da *Leishmania spp.* (Figura 2) é digenético, envolvendo uma parte em hospedeiro invertebrado, pela picada do flebotomo ou flebotomíneo, de hábito crepuscular, realizando hematofagia quando as temperaturas se encontram acima dos 18°C e na ausência de chuva ou vento (ALVAR et al., 1995), e outra parte em hospedeiro vertebrado, que podem ser animais domésticos, silvestres e o homem (REY, 2001; QUINNELL & COURTENAY, 2009).

O hospedeiro invertebrado infecta-se com as formas amastigotas ao picar um indivíduo ou animal parasitado. No tubo digestivo do inseto ocorre uma série de mudanças nos aspectos morfológicos, bioquímicos e moleculares no protozoário parasita *Leishmania spp.*, sendo a mais relevante sua transformação em promastigota, forma infectante (ALVAR et al., 1995; REY, 2001, MORAIS, 2015).

**Figura 2-** Ciclo biológico da *Leishmania spp.*



**Fonte:** Centers for Disease Control & Prevention, 2013 (adaptado).

As promastigotas chegam ao proventrículo do inseto e no momento da alimentação são introduzidas juntamente com a saliva contendo peptídeos inflamatórios na derme do hospedeiro vertebrado, promovendo, assim, uma resposta inflamatória imediata que atrai células fagocíticas para o local (NETO et al., 2008). As formas promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos ocorrendo, então, a transformação em amastigota intracelular. Multiplicam-se por divisão binária de tal modo a romper a célula hospedeira. Com o rompimento dos macrófagos, há liberação de grande número de parasitas, que invadem outras células e podem, dessa maneira, atingir outros locais do organismo (REY, 2001; MORAES, 2015). A transmissão através da picada de flebotomíneos hematófagos é a via de maior importância epidemiológica, no entanto existem outras, como transfusão sanguínea, pós-transplante de órgão ou congenitamente (PAGLIANO et al., 2005; PAVLI et al., 2010).

A maioria dos indivíduos acometidos consegue conter a infecção e estabelecer uma imunidade duradoura; outros podem desenvolver uma forma denominada oligossintomática da infecção, que também pode ser resolvida espontaneamente; mas há ainda aqueles em que evoluir para a doença clássica (NETO et al., 2008). As características do parasita determinam o local de disseminação, como sensibilidade à temperatura (REITHINGER & DAVIES, 2002), capacidade de imunoevasão (MCDOWELL et al., 2002) e tropismo pelo tecido (ZHANG et al., 2003).

## **2.4 Classificação**

### **2.4.1 Leishmaniose Visceral– LV (ou Calazar)**

É causada por três espécies de protozoários *L. donovani* (encontrado principalmente na Índia e na África Oriental) *L. infantum* (encontrado na região do Mediterrâneo, Oriente Médio e Ásia) e *L. chagasi* (encontrado nas Américas). No Brasil, o agente etiológico é essencialmente a *L. chagasi* (GONTIJO & MELO, 2004; SILVA, 2007). Considerada a forma mais grave da doença, podendo se tornar fatal em 85-90% dos pacientes não tratados (STOCKDALE & NEWTON, 2013).

De forma geral, as manifestações clínicas incluem febre, hepatoesplenomegalia e palidez cutâneo-mucosa, e até tosse e diarreia. A maioria dos indivíduos infectados permanece assintomática por toda a vida, mas se não tratado pode evoluir para um quadro clínico caracterizado por hepatoesplenomegalia volumosa (Figura 3),

linfadenomegalia, persistência da febre, piora da palidez cutâneo-mucosa, taquicardia e emagrecimento progressivo (PASTORINO et al., 2002). Podem ocorrer infecções bacterianas, desnutrição proteico-energética grave, epistaxe, sangramentos cutâneos ou digestivos, no período final da doença, sendo as infecções bacterianas responsáveis pela maioria dos óbitos (PAVLI et al., 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

**Figura 3-** Paciente com LV na fase aguda.



**Fonte:** Ministério da Saúde, 2014.

Após a recuperação, alguns pacientes passam a desenvolver uma fase não fatal de infecção com sintomas dermatológicos. Por isso, alguns fatores como a idade, o estado nutricional e as características imunogenéticas do indivíduo acometido determinam a intensidade das manifestações clínicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Diante da suspeita de LV, o diagnóstico sorológico é amplamente usado para o diagnóstico (FONSECA et al., 2014). No caso da LV em humanos é recomendado o Imunoensaio de Imunofluorescência (IFI) e Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA) para diagnosticar a doença (FONSECA et al., 2014).

#### **2.4.2 Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)**

Como anuncia a terminologia, a LTA é a forma da doença em que os parasitas apresentam acentuado tropismo pela pele e mucosas; causando deformidades nos pacientes acometidos, sendo a forma mucosa a evolução da forma cutânea (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

No continente americano são conhecidas onze espécies dermatrópicas de *Leishmania*, causadoras de doença humana e oito espécies descritas somente em animais. No Brasil já foram identificadas sete espécies, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*: *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L.(L.) amazonensis*. As três últimas são consideradas como as principais espécies (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; BRASIL, 2010; HERNÁNDEZ et al., 2012).

Primariamente, a lesão ocorre após a picada do inseto contaminado pelas formas infectantes, promastigotas, do parasito. Logo após, ocorre o desenvolvimento de uma mácula, que depois de duas semanas pode apresentar um nódulo e/ou pápula eritematosa pequena e pruriginosa (GOTO & LINDOSO, 2012). O tipo da lesão varia de acordo com o agente etiológico envolvido (DAVID & CRAFT, 2009; GOTO & LINDOSO, 2012) ou da imunidade do hospedeiro, podendo permanecer localizada e então evoluir para cura espontânea, ou através dos vasos linfáticos se disseminar e produzir lesões secundárias em outras regiões da pele e mucosas (GOTO & LINDOSO, 2012). Alguns fatores podem agravar as lesões, como as infecções bacterianas secundárias, comprometimento de mucosas, envolvimento linfático e recorrência local (DAVID & CRAFT, 2009).

De acordo com suas diferentes manifestações clínicas, a LTA é classificada como Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL); Leishmaniose Cutânea Difusa (LCDf); Leishmaniose Cutânea Disseminada (LCDs); Leishmaniose Mucocutânea (LMC) (AKILOV et al., 2007).

A LCL é a forma mais prevalente e menos severa da doença, caracteriza-se por apresentar lesões localizadas indolores, ulcerativas ou nodulares de formato ovalado ou arredondado com bordas bem delimitadas, presentes na região da picada do inseto transmissor, geralmente em áreas expostas como pernas, braços e face, produzindo lesões múltiplas ou não. Tais lesões costumam curar espontaneamente após alguns meses, resultando em cicatrizes, contudo, recidivas são frequentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; MCGWIRE & SATOSKAR, 2013).

A LCDf se apresenta com múltiplos nódulos não-ulcerativos semelhantes às lesões da hanseníase virchowiana e são bastante difíceis de tratar (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). Apesar de rara, esta forma é grave e pode ocorrer em consequência da

resistência ao tratamento, geralmente associado à inativação funcional e deficiência na resposta imune celular do hospedeiro frente a antígenos de *Leishmania*, produzindo lesões nodulares por larga extensão cutânea (BRASIL, 2010).

A LCDs, geralmente confundida com a forma LCDf, acomete uma grande extensão corporal, devido a quantidade de lesões (papulares e de aparência acneiforme) que podem chegar a centenas. É considerada rara (até 2% dos casos) (BRASIL, 2010).

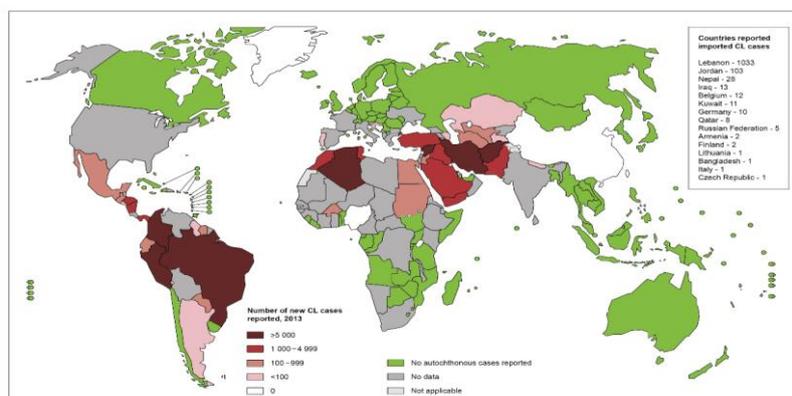
A LMC caracteriza-se por uma inflamação destrutiva na mucosa, acometendo parcial ou totalmente mucosas do nariz, da boca e da garganta cavidades e tecidos circundantes. Esta forma da doença ocorre em aproximadamente 5% dos casos de LTA, embora, no Brasil, a incidência tenha aumentado nos últimos anos (BRASIL, 2010).

Vários são os métodos de diagnóstico (clínicos, epidemiológicos e laboratoriais) que podem ser utilizados para a confirmação da leishmaniose, dentre eles as técnicas sorológicas, exame parasitológico e a Intradermorreação de Montenegro (IDRM) (GONTIJO & MELO, 2004).

## 2.5 Distribuição

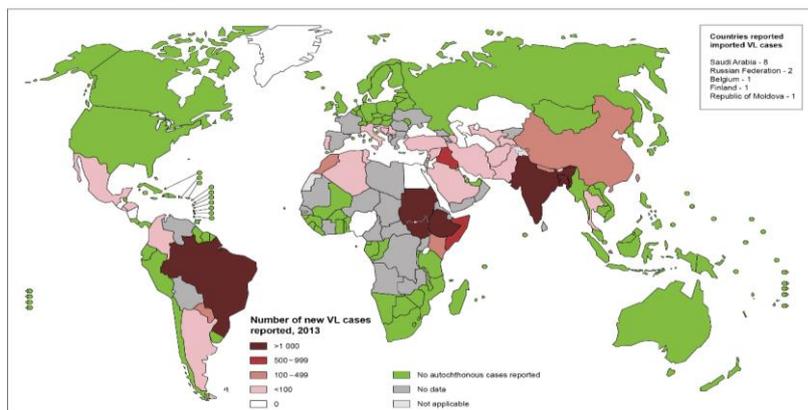
As leishmanioses são incidentes em 98 países distribuídos em quatro continentes (Ásia, Europa, África e América), além disso, vale salientar que o impacto da leishmaniose na saúde pública mundial está subestimado, pois a declaração da doença é compulsória em apenas 30 deles (RATH et al., 2003; ALVAR et al., 2012). Em média cerca de 350 milhões de pessoas estão em situação de risco com registro aproximado de 2 milhões de novos casos por ano (STOCKDALE & NEWTON, 2013). As figuras 4 e 5 mostram a distribuição geográfica mundial da LT e LV.

**Figura 4-** Distribuição geográfica da LT no mundo.



Fonte: OMS, 2013.

**Figura 5-** Distribuição geográfica da LV no mundo.



**Fonte:** OMS, 2013.

No Brasil, no período de 1990 a 2013, foram registrados 653.399 casos de LT e 75.030 casos de LV (DATASUS, 2014). As figuras 6 e 7 elucidam a prevalência da região nordeste como uma das principais acometidas com LTA (atrás somente da região norte) e a principal, com números bem significativos em relação às demais regiões, com LV, respectivamente.

Figura 6- Casos de LTA distribuídos por regiões de 1990 a 2013.

Região e UF	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
<b>Região Norte</b>	7.318	9.369	9.720	9.739	11.306	13.117	9.987	11.058	6.078	9.129	11.140	8.107	10.207	13.508	13.125	10.679	8.833	9.890	8.680	8.272	7.108	8.615	10.196	8.407
Rorônia	1346	2118	2220	2822	2249	2499	1738	1.465	1.317	1.737	1.421	1.563	1.812	1.980	2.181	1.688	1.204	971	941	1.035	922	697	1.136	1.203
Acre	59	252	403	563	372	365	490	413	280	490	903	717	1.078	1.385	1.532	1.356	1.124	913	972	906	1.028	878	1.134	923
Amazonas	1733	2590	3424	1982	741	1557	988	2.290	715		1.744	2.153	2.130	3.816	2.212	1.957	1.554	2.219	1.778	1.439	1.130	2.282	2.246	1.429
Roraima	170	507	492	605	470	251	303	308	244	146	352	454	451	303	160	280	285	340	350	441	641	222	444	524
Pará	3269	3196	2236	2543	5748	7064	5042	5.038	2.177	5.051	5.565	2.521	3.741	4.862	5.324	4.345	3.554	4.305	3.623	3.347	2.331	3.595	4.076	3.058
Amapá	185	394	475	643	895	645	563	902	892	884	592	52	377	555	1162	580	595	667	629	513	462	534	693	761
Tocantins	556	302	470	581	831	736	863	642	453	821	563	647	620	607	554	493	517	475	387	591	596	407	467	509
<b>Região Nordeste</b>	12.428	12.020	7.140	8.218	14.426	13.887	11.303	11.888	8.455	9.112	13.076	11.149	9.373	7.985	7.863	8.112	6.169	5.925	6.003	6.910	8.911	7.952	8.279	5.355
Maranhão	3109	3926	2027	2868	6262	4725	3794	4.634	2.355	3.005	4.488	5.658	4.364	3.777	3.072	3.395	2.174	2.335	1.661	1.624	2.455	2.748	2.517	1.732
Piauí	249	324	161	72	56	40	96	102	96	106	95	164	151	126	117	257	152	108	73	104	146	173	120	69
Ceará	3848	2862	1358	1463	1928	4262	2793	2787	1490	1372	3043	2543	2123	1329	2064	1977	1006	935	700	993	1014	806	940	514
Rio Grande do Norte	20	6	...	13	4	15	42	49	26	13	11	8	5	8	13	10	7	6	6	56	82	7	6	6
Paraíba	85	165	342	273	264	196	173	233	113	128	177	50	68	56	74	68	46	53	109	83	26	67	35	35
Pernambuco	680	474	378	436	806	891	714	667	643	979	1.149	518	556	558	719	337	413	446	388	501	419	431	314	228
Alagoas	28	54	53	71	224	114	81	144	72	156	258	88	80	97	65	57	33	111	89	77	32	35	62	51
Sergipe	54	50	24	46	46	52	19	47	34	30	58	93	61	16	7	11	6	4	10	11	7	7	9	3
Bahia	4355	4159	2797	2976	4836	3592	3591	3.205	3.626	3.323	3.799	2.027	1.965	2.018	1.732	2.000	2.332	1.920	3.023	3.435	4.673	3.721	4.244	2.717
<b>Região Sudeste</b>	2.347	3.386	3.854	4.771	3.763	2.605	2.369	2.294	2.945	3.983	2.936	2.112	2.894	3.252	2.540	2.809	2.868	1.898	1.592	1.605	2.428	2.179	1.388	1.150
Minas Gerais	1338	2134	2504	2547	2040	1574	1504	1.445	1.973	2.701	1.874	1.116	1.610	1.767	1.507	1.802	1.855	1.322	1.123	1.021	1.887	1.745	978	781
Espírito Santo	670	728	722	893	490	307	244	404	646	884	548	351	209	234	146	193	241	109	76	100	124	122	107	73
Rio de Janeiro	227	319	269	496	396	241	282	302	186	269	250	169	289	228	209	317	283	119	55	92	86	65	41	25
São Paulo	112	205	359	835	837	483	339	143	140	129	266	476	786	1.025	678	497	489	348	338	392	331	247	262	271
<b>Região Sul</b>	192	139	690	819	1.361	796	617	430	455	460	853	568	943	932	607	541	573	514	630	464	253	317	439	296
Paraná	192	139	690	819	1361	794	616	428	453	457	850	553	909	886	579	444	409	438	533	409	228	309	419	273
Santa Catarina	0	0	0	0	0	0	1	2	2	3	1	10	14	28	17	84	158	67	87	45	21	7	13	14
Rio Grande do Sul	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	5	20	18	11	13	6	9	10	10	4	1	7	9
<b>Região Centro-Oeste</b>	2.468	3.546	3.264	3.907	4.247	5.343	4.721	4.640	2.981	6.384	4.605	4.629	4.839	4.980	4.460	4.388	3.852	3.095	3.005	4.492	3.163	2.274	3.118	2.922
Mato Grosso do Sul	221	165	304	215	243	668	178	433	256	338	158	372	301	235	192	139	116	99	118	105	89	93	135	128
Mato Grosso	2021	3200	2882	3346	3734	4492	4195	3.779	2.283	5.504	3.921	3.816	4.067	4.189	3.752	3.639	3.181	2.715	2.521	3.900	2.466	1.832	2.639	2.419
Goiás	226	181	277	345	270	281	348	414	440	532	525	411	441	500	458	578	505	246	351	460	553	314	310	355
Distrito Federal	0	0	1	1	0	2	0	14	2	10	1	30	30	56	58	32	50	35	15	27	55	35	34	20
<b>UF ignorada</b>	...	...	...	...	...	...	1.033	1.013	887	1.299	1.106	71	105	157	142	156	102	85	82	81	118	58	127	96
Brasil	24.753	28.450	24.668	27.454	35.103	35.748	30.030	31.303	21.801	30.367	33.720	26.636	28.361	30.814	28.737	26.685	22.397	21.407	19.992	21.824	21.981	21.395	23.547	18.226

Fonte: DATASUS, 2014.

Figura 7- Casos de LV distribuídos por regiões de 1990 a 2013.

Região e UF	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	
<b>Região Norte</b>	<b>35</b>	<b>53</b>	<b>99</b>	<b>84</b>	<b>118</b>	<b>117</b>	<b>133</b>	<b>152</b>	<b>112</b>	<b>375</b>	<b>366</b>	<b>299</b>	<b>333</b>	<b>437</b>	<b>543</b>	<b>660</b>	<b>684</b>	<b>735</b>	<b>815</b>	<b>709</b>	<b>638</b>	<b>834</b>	<b>596</b>	<b>536</b>	
Rondônia <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Acre <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amazonas <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	...	0	0	0	3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Roraima	6	41	62	39	21	49	19	12	8	2	13	4	8	9	15	12	4	1	2	6	15	10	10	20	20
Pará	22	12	31	33	64	20	45	43	46	188	171	140	134	191	372	471	452	333	379	275	278	337	252	249	249
Amapá <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	...	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Tocantins	7	0	6	12	33	48	89	97	58	185	182	154	188	237	154	176	225	401	434	428	343	487	334	267	267
<b>Região Nordeste</b>	<b>1.650</b>	<b>1.380</b>	<b>1.857</b>	<b>2.407</b>	<b>3.183</b>	<b>3.519</b>	<b>2.932</b>	<b>2.257</b>	<b>1.688</b>	<b>2.965</b>	<b>4.029</b>	<b>1.873</b>	<b>1.487</b>	<b>1.766</b>	<b>1.954</b>	<b>2.011</b>	<b>1.982</b>	<b>1.570</b>	<b>1.739</b>	<b>1.754</b>	<b>1.662</b>	<b>1.832</b>	<b>1.309</b>	<b>1.745</b>	
Maranhão	91	61	114	575	534	263	144	116	483	724	842	490	555	747	615	555	477	385	560	417	417	454	317	679	679
Piauí	201	86	196	701	778	407	239	205	185	348	404	120	127	252	348	306	242	239	252	157	151	202	177	191	191
Ceará	140	150	159	248	486	490	220	130	158	421	496	231	221	212	296	391	599	499	508	629	485	539	327	395	395
Rio Grande do Norte	74	147	236	132	135	93	71	115	126	276	332	148	68	62	55	48	70	57	72	83	67	97	83	64	64
Paraíba	60	92	81	46	91	127	89	72	22	81	108	94	20	31	28	31	36	23	27	16	23	30	18	25	25
Pernambuco	97	80	60	82	188	273	208	161	110	168	539	228	86	79	85	91	96	56	73	62	50	57	41	46	46
Alagoas	56	32	40	58	71	111	103	87	35	171	285	234	116	49	57	57	49	29	26	30	34	36	29	25	25
Sergipe	82	78	119	98	203	266	210	117	1	102	142	41	30	19	32	42	47	62	32	39	75	59	50	44	44
Bahia	849	654	652	467	697	1.489	1.648	1.254	568	694	881	287	264	315	438	490	366	220	189	321	360	358	267	276	276
<b>Região Sudeste</b>	<b>243</b>	<b>76</b>	<b>96</b>	<b>59</b>	<b>90</b>	<b>171</b>	<b>186</b>	<b>140</b>	<b>89</b>	<b>189</b>	<b>314</b>	<b>240</b>	<b>425</b>	<b>534</b>	<b>782</b>	<b>656</b>	<b>704</b>	<b>617</b>	<b>723</b>	<b>641</b>	<b>629</b>	<b>592</b>	<b>509</b>	<b>450</b>	<b>450</b>
Minas Gerais	226	62	96	58	88	164	166	138	88	180	218	145	298	349	620	484	430	384	471	464	469	412	311	282	282
Espírito Santo	15	13	0	0	0	0	0	1	1	29	4	7	1	4	4	4	1	0	2	5	3	6	0	2	2
Rio de Janeiro	2	1	0	1	2	7	0	1	0	0	4	4	1	2	3	3	9	2	0	3	0	1	4	6	6
São Paulo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88	84	125	179	155	165	264	231	250	169	157	173	194	160	160	160
<b>Região Sul</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>										
Paraná <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Santa Catarina <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rio Grande do Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	8	2	2	1	2	2
<b>Região Centro-Oeste</b>	<b>16</b>	<b>1</b>	<b>18</b>	<b>20</b>	<b>35</b>	<b>78</b>	<b>15</b>	<b>21</b>	<b>88</b>	<b>95</b>	<b>149</b>	<b>123</b>	<b>201</b>	<b>231</b>	<b>289</b>	<b>261</b>	<b>277</b>	<b>273</b>	<b>322</b>	<b>275</b>	<b>303</b>	<b>330</b>	<b>353</b>	<b>278</b>	<b>278</b>
Mato Grosso do Sul	5	1	3	3	27	59	12	18	53	47	82	87	176	190	232	204	209	220	231	173	212	248	287	215	215
Mato Grosso	0	0	0	0	0	0	0	0	13	26	23	18	8	13	20	22	21	30	61	67	54	50	37	33	33
Goiás	11	0	15	17	8	19	3	3	22	22	44	18	17	28	28	26	32	20	25	30	34	24	22	27	27
Distrito Federal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	15	3	5	5	3	8	7	3	3
UF ignorada	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	11	2	1	7	6	1	251	253	306	294	304	270	242	242
<b>Brasil</b>	<b>1.944</b>	<b>1.510</b>	<b>1.870</b>	<b>2.570</b>	<b>3.426</b>	<b>3.885</b>	<b>3.246</b>	<b>2.570</b>	<b>1.977</b>	<b>3.624</b>	<b>4.858</b>	<b>2.549</b>	<b>2.450</b>	<b>2.971</b>	<b>3.580</b>	<b>3.597</b>	<b>3.651</b>	<b>3.446</b>	<b>3.852</b>	<b>3.693</b>	<b>3.526</b>	<b>3.894</b>	<b>3.038</b>	<b>3.253</b>	<b>3.253</b>

Fonte: DATASUS, 2014.

## 2.6 Quimioterapia das leishmanioses

A OMS preconiza como principal medida de controle para todas as formas da doença, especialmente para a forma mais letal, a LV, o uso de quimioterápicos. Embora exista uma série de fármacos indicados para o tratamento da leishmaniose, a exemplo da anfotericina B e sua formulação lipídica (AmBisome<sup>®</sup>), pentamidinas (sulfato de pentamidina e mesilato de pentamidina); além da paromomicina e o miltefosine, os antimoniais continuam sendo os medicamentos de primeira escolha para tal.

Os compostos antimoniais, sob as formas de sais trivalentes, como o tártaro emético ou tartarato de antimônio e potássio foram os primeiros fármacos utilizados no Brasil na quimioterapia da leishmaniose pelo médico brasileiro Gaspar Viana no ano de 1913. Contudo, ao longo do tempo, em face de sua toxicidade, outros derivados de antimônio foram sendo testados. Na década de 40 os antimoniais pentavalentes Sb(V) foram introduzidos no mercado e, desde então, são usados extensivamente na quimioterapia da leishmaniose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

### 2.6.1 Antimoniais pentavalentes

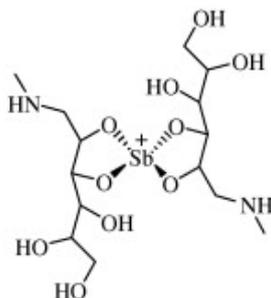
Existem no mercado atualmente duas formulações de Sb(V) disponíveis, o antimoniato de meglumina (AM) (Glucantime<sup>®</sup>, Aventis, França) utilizado no Brasil, por exemplo, e o estibogluconato de sódio (Pentostan<sup>®</sup>, Glaxo Wellcome, Reino Unido) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). A diferença na escolha da utilização de fármacos (estibogluconato de sódio ou antimoniato de meglumina) se deve não só as várias espécies de *Leishmania spp.* causadoras da doença, mas também à diferença intrínseca na sensibilidade das espécies às drogas disponíveis e ao local de infecção, assim impondo diferentes necessidades farmacocinéticas às drogas (CROFT & COOMBS, 2003).

### 2.6.2 Antimoniato de Meglumina (AM)- Síntese e estrutura

O AM pode ser obtido a partir da reação entre pentacloro de antimônio (SbCl<sub>5</sub>) ou hexahidroxiantimoniato de potássio (KSb(OH)<sub>6</sub>) e do ligante N-metil-glucamina (NMG), em água deionizada, pH 7 (neutro) e temperatura a 60 °C. Logo após a mistura, o composto formado precipita na presença de acetona (DEMICHELI et al., 2003). O AM é solúvel em água e pouco solúvel em solventes orgânicos (RATH et al., 2003) e se apresenta como um sólido amorfo (FRÉZARD et al., 2009).

Em relação a sua estrutura, apesar do tempo de uso desse fármaco, ainda existem divergências (FREZÁRD et al., 2008; CARVALHO et al., 2015). Roberts et al. (1998), através de espectrometria de massa (bombardeamento atômico) (FAB) e ionização por eletrodispersão (ESI), no modo positivo, conseguiram indicar a existência de uma mistura de estruturas oligoméricas, de fórmulas gerais (NMG-Sb) $_n$ -NMG e (NMG-Sb) $_n$ . Esse resultado sugere a existência de complexos Sb-NMG de diferentes estequiometrias (1:1, 1:2, 2:2, 2:3 e 3:4), correspondentes aos íons de  $m/z$  314, 507, 627, 820 e 1132, respectivamente. O pico principal possuía peso molecular de  $507 \text{ g mol}^{-1}$ , tendo sido possível sugerir uma estrutura onde duas moléculas de NMG desprotonadas são coordenadas com um único átomo de Sb carregado positivamente (Figura 8).

**Figura 8-** Estrutura proposta para o antimoniato de meglumina (espécie  $m/z$  507).



**Fonte:** ROBERTS et al., 1998.

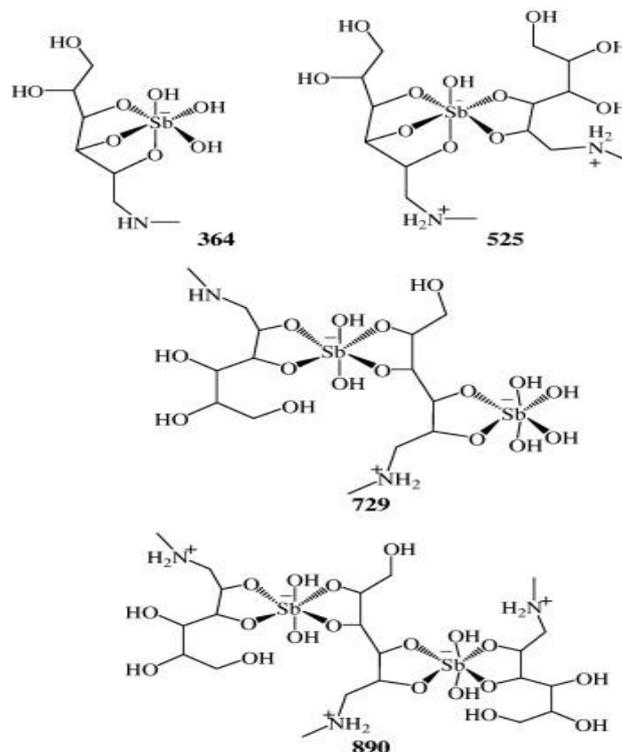
Mas Demicheli et al. (1999), através da titulação potenciométrica, indicaram a existência de dois prótons dissociáveis, atribuídos ao grupo amino ( $pK_a$  10,3) e ao grupo antimoniato ( $pK_a$  2,1), sugerindo a existência de espécies eletricamente neutras ou zwitteriônicas na faixa de pH entre 4,5 e 7,5. Esses resultados, somados às medidas de condutividade do composto em água, indicam que ele se comporta como um eletrólito fraco, confirmando a hipótese sugerida.

Ainda na tentativa de esclarecer a estrutura, Frézard et al. (2008) utilizaram técnicas como a espectrometria de massa por ionização por eletropulverização (ESI-MS) e medições de osmolaridade. Os dados de ESI(-)-MS mostraram complexos com grupo antimoniato carregado negativamente, na proporção Sb:NMG 1:1 ( $m/z$  364), 1:2 ( $m/z$  541), 2:2 ( $m/z$  765) e 3:2 ( $m/z$  881) (Figura 9).

Estas estruturas estão em desacordo com o proposto por Roberts et al. (1998), que sugeriram a existência de duas moléculas de NMG com grupo amino desprotonado

coordenado com um átomo de Sb tendo uma carga positiva (ROBERTS et al., 1998; FRÉZARD et al., 2008).

**Figura 9-** Estruturas propostas para espécies identificadas no composto.



Fonte: FRÉZARD et al., 2008.

As medidas de osmolaridade em amostras diluídas sugerem a predominância do complexo Sb:NMG 1:1 (m/z 364) (Figura 9) que apresenta um grupo amino de carga positiva (protonado) e um grupo antimoniato de carga negativa (desprotonado) (FRÉZARD et al., 2008).

### 2.6.2.1 Mecanismo de ação

Apesar do uso clínico do AM por mais de meio século, seu mecanismo de ação (FRÉZARD et al., 2009) e resistência não estão totalmente elucidados (WALKER et al., 2012).

Ainda não se sabe se a forma final ativa desses antimoniais é Sb(V) ou Sb(III) (FRÉZARD et al., 2009). Algumas hipóteses afirmam que existe uma conversão metabólica intramacrofágica do Sb(V) em Sb(III) (GIL et al., 2007; SERENO et al., 1998), ou seja, o Sb(V) poderia atuar como um pró-fármaco que teria que ser convertido em seu ativo, o

Sb(III), sendo este elemento tóxico à *Leishmania* no estado intracelular (GOODWIN & PAGE, 1943).

Devido à forma pentavalente não se ligar ao eritrócito, os níveis de concentração plasmática são mais elevados em comparação aos compostos trivalentes. Ao longo do tempo, com administrações consecutivas do antimonial pentavalente, é observada uma transformação para a forma trivalente, ocorrendo um acúmulo de antimônio em tecidos como baço e fígado, sendo este o responsável pelos efeitos tóxicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Além disso, os compostos trivalentes ligam-se em maior quantidade aos tecidos e às células vermelhas do sangue e, portanto, sua toxicidade é superior quando comparado à forma pentavalente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Com base nesses dados, sugere-se que a forma trivalente seja a responsável tanto pela atividade leishmanicida, quanto pela toxicidade dos compostos antimoniais.

Alguns estudos têm tentado explicar essa redução *in vivo* do Sb(V) em Sb(III). Frézard et al. (2001) sugeriram que a glutathiona reduzida (GSH) (o tiol principal no citosol de células de mamíferos) pode atuar como um agente de redução. Outros estudos sugerem que essa conversão também pode ocorrer através do principal tiol presente no parasita, tripanotona ( $T(SH)_2$ ), e que o Sb(III) formaria um complexo, Sb(III)-tripanotona (YAN et al., 2003).

Demicheli et al. (2002), no entanto, demonstraram a participação direta do composto pentavalente no mecanismo de ação, através da complexação com ribonucleosídeos, sugerindo que essa formação pudesse ocorrer *in vivo* dentro de compartimentos celulares ácidos, incluindo fagolisossomos do macrófago.

#### **2.6.2.2 Esquema terapêutico e efeitos adversos**

O Ministério da Saúde distribui o Glucantime<sup>®</sup> para os pacientes em ampolas de 5 mL, contendo 405mg de Sb(V), ou 81mg/mL de Sb(V). Podendo ser administrado pela via intramuscular, região glútea, ou pela via intravenosa, em pacientes desnutridos ou com trombocitopenia. No caso da última, a quantidade é diluída em solução glicosada a 5% para facilitar a infusão, que deve ser feita de forma lenta durante 5 a 7 minutos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A OMS preconiza que a dose de Sb(V) não deve ultrapassar 20 mg/kg/dia. No entanto, algumas dificuldades são previstas, como o aparecimento de resistência, principalmente em

países como Sudão, Quênia e Índia, levando a OMS juntamente com o Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos da América, recomendarem doses maiores progressivas dos antimoniais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014), além da impossibilidade de tratamento de pacientes co-infectados com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (DAVIES et al., 2003).

Em alguns casos de recidiva, antes de considerar o paciente como resistente ao fármaco, um segundo tratamento é recomendado com a mesma dose, porém por mais tempo (no máximo 40 dias); a depender do resultado, esquemas alternativos com fármacos de segunda escolha deverão ser utilizados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

O Ministério da Saúde (2014) relata como principal efeito adverso do fármaco sua ação sobre o aparelho cardiovascular, por isso, após o 20º dia de tratamento, deve-se realizar eletrocardiograma semanal e uma ausculta cardíaca diariamente, com o objetivo de detectar possíveis alterações como, por exemplo, arritmias. Caso ocorra, o fármaco é suspenso imediatamente e o paciente é tratado com os fármacos de segunda escolha (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Ainda podem aparecer artralgia, mialgia, anorexia, náuseas, vômitos, plenitude gástrica, epigastralgia, pirose, dor abdominal, pancreatite, prurido, febre, fraqueza, cefaleia, tontura, palpitação, insônia, nervosismo, choque pirogênico, edema e insuficiência renal aguda (SANTOS et al., 2008). São também contraindicados em pacientes gestantes pelo fato de atravessarem a barreira transplacentária. Neste caso, podem afetar o tecido nervoso do feto, ocasionando síndromes severas de retardamento mental. Há também contraindicação para pacientes portadores de cardiopatias, nefropatias, hepatopatias e doença de Chagas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Finalmente, tendo em vistas as limitações apresentadas e, visando à redução do abandono ao tratamento de pacientes infectados com leishmaniose que fazem a utilização de antimoniais, sendo estes fármacos impossibilitados de serem administrados por via oral, devido à sua fraca absorção e/ou inativação no estômago (MARSDEN, 1985) é, por conseguinte, desejável desenvolver métodos para melhorar a biodisponibilidade de antimoniais por via oral (FREZARD et al., 2009).

Considerada a mais conveniente via de administração, uma vez que elimina a necessidade de internação do paciente, com diminuição do risco de infecção, frequente na administração parenteral, a indústria farmacêutica vem intensificando suas pesquisas pela

obtenção de formulações com atividade leishmanicida comprovada administrados oralmente (PERIOLI et al., 2013).

Neste caso, a combinação de fármacos antimoniais com sistemas carreadores é uma estratégia que pode melhorar sua absorção e viabilizar, então, o desenvolvimento de uma formulação oral.

## **2.7 Materiais nanoestruturados na quimioterapia da leishmaniose**

A nanotecnologia vem sendo um dos recursos utilizados relacionados aos fármacos antimoniais, visto que novas formulações com lipossomas, ciclodextrinas e argilas lamelares estão sendo investigados (FRÉZARD et al., 2008; DEMICHELI et al., 2004; MENEZES et al., 2014; FERREIRA et al., 2014).

Embora os esforços científicos, eles não se mostram em convergência com os desafios tecnológicos, pois estas formulações precisam chegar ao público-alvo de uma doença negligenciada e os nanocarreadores citados têm alto custo (BERGMANN, 2008).

Diante deste contexto, a utilização de argilas lamelares, uma fonte de nanomateriais de origem natural, vêm se destacando em virtude de suas inúmeras aplicações e diversidade de uso, com destaque para o baixo custo.

### **2.7.1 Argilas lamelares**

Argila se refere a um material natural composto de mineiras de granulação fina que quando umedecido com água apresenta plasticidade (NEUMANN et al., 2000). Estes materiais possuem átomos firmemente ligados entre si formando as lamelas, que são ligadas através de ligações fracas, mantendo a estrutura conformacional. Estas lamelas possuem pelo menos uma de suas dimensões em escala nanométrica (pouco menos que 1 nm de espessura e poucas centenas de nanômetros de diâmetro médio) (TEIXEIRA-NETO & TEIXEIRA-NETO, 2009).

Podem ainda ocorrer substituições de íons de carga diferentes na rede, denominadas substituições isomórficas, pelo fato de causarem distorção na estrutura das lamelas, estas terminam por possuir carga elétrica, é neste contexto que se incluem as argilas catiônicas e as aniônicas (COELHO & SANTOS, 2007).

As primeiras possuem estruturas cristalinas, apresentam partículas muito finas, uma elevada carga superficial e área superficial, inchamento quando em presença de água, e ainda

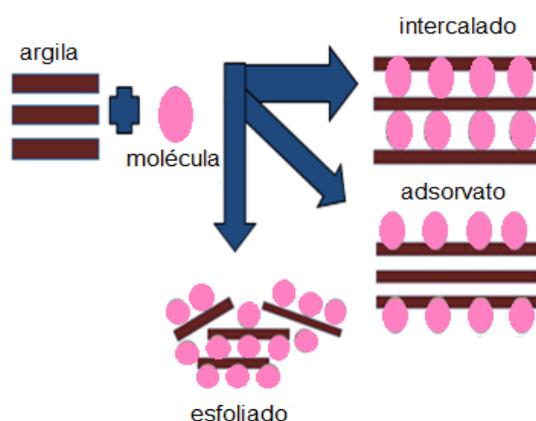
a possibilidade de ocupação de cátions na região interlamelar, ao contrário do outro grupo (DORNELAS et al., 2010).

Todas têm capacidade de troca iônica, maior ou menor, dependendo das propriedades de cada argila. É com base nesta propriedade que podem ser gerados os compostos de intercalação (COELHO & SANTOS, 2007).

Para tal, podem ser utilizadas matrizes hospedeiras bidimensionais, nas quais os sítios vazios se encontram entre as lamelas. Dessa forma, levando-se em consideração a estrutura do fármaco, este pode ser intercalado em uma destas argilas (COELHO & SANTOS, 2007).

Ainda, podem ser gerados compostos do tipo adsorvato, quando a molécula interage superficialmente com a argila, ou do tipo esfoliado, quando apesar de ocorrer interação, as lamelas perdem o contato umas com as outras, de forma a perder a cristalinidade (Figura 10) (PAIVA, 2006; ANADÃO et al., 2011).

Figura 10: Estrutura esquemática dos três tipos de interações entre argila e molécula.



Fonte: Adaptado de Paiva et al., 2006.

### 2.7.2 Hidróxidos Duplos Lamelares

Diferentes termos são utilizados na literatura com o objetivo de designar os Hidróxidos Duplos Lamelares (HDLs), dentre eles, argilas aniônicas, compostos do tipo hidrotalcita ou do tipo brucita (por apresentarem semelhança), esta última, é um hidróxido de magnésio,  $Mg(OH)_2$ , em que os átomos de magnésio estão octaedricamente coordenados por grupos hidróxidos (BENÍCIO et al., 2015).

Esses compostos são representados pela fórmula geral  $[M^{+2}_{1-x}M^{+3}_x(OH)_2]^{+x} A^{-n}_{x/n} \cdot mH_2O$ , onde  $M^{2+}$  e  $M^{3+}$  são os cátions di e trivalentes, respectivamente, que

se encontram na posição octaédrica nas lamelas do HDL (KHAN et al., 2009). Diferentes íons podem compor as lamelas (Tabela 1).

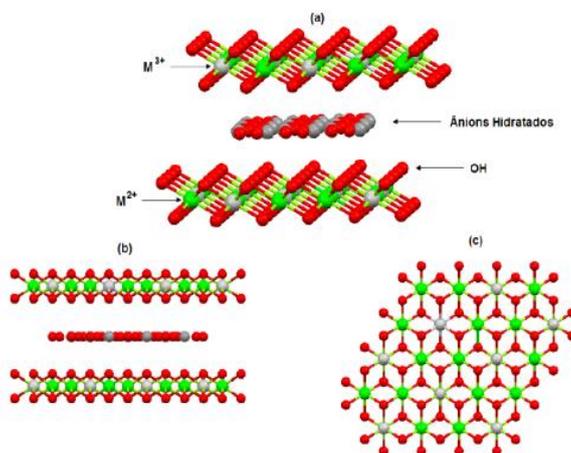
**Tabela 1 – Combinações de cátions di e trivalentes que podem compor as lamelas dos HDLs**

	AL	Fe	Cr	Co	Mn	Ni	Sc	Ga	Ti
Mg	X	X	X				X		
Ni	X	X	X	X		X			
Zn	X		X						
Cu	X		X						
Co	X		X						
Mn	X			X					X
Fe	X	X							
Ca	X								
Li	X								

**Fonte:** Adaptado de Crepaldi e Valim, 1998.

Os cátions divalentes são isomorficamente substituídos por cátions trivalentes, de forma que as lamelas apresentam uma carga residual positiva, para compensar essa carga, é necessária a presença de ânions que, junto com a água, promovem o empilhamento das camadas (Figura 11). Praticamente não há limitação para a natureza dos ânions que podem compensar a carga positiva nas lamelas dos HDLs (BENÍCIO et al., 2015).

**Figura 11-** Estrutura dos HDLs (A); visão lateral (B); e visão superior de uma lamela (C).



**FONTE:** MARANGONI, 2005.

### **2.7.3 Métodos de síntese de HDLs**

Estes materiais podem ser sintetizados em laboratório por rotas simples (CUNHA, 2010), mas alguns fatores devem ser considerados e controlados como grau de agitação, velocidade de adição de uma solução sobre o outro, pH final da suspensão resultante (para métodos de pH variável), temperatura da solução final (geralmente temperatura ambiente), e em alguns casos controle da atmosfera (BENÍCIO et al., 2015).

O preparo pode ser realizado através da utilização de métodos diretos, no qual os HDLs são obtidos diretamente a partir de sais ou óxidos, a exemplo do método de co-precipitação, também conhecido por sal-base, método sal-óxido, síntese hidrotérmica e sol-gel (CREPALDI & VALIM, 1998; BENÍCIO et al., 2015).

O método de síntese por co-precipitação pode ser realizado a pH variável ou a pH constante, onde o primeiro consiste na adição de uma solução contendo os íons di e trivalentes sobre uma solução de hidróxido e o ânion a ser intercalado; já o segundo adiciona-se a solução dos sais de cátions e a solução alcalina, geralmente NaOH, simultaneamente (MARANGONI, 2005).

O método sal-óxido consiste em uma reação lenta mantida a pH constante, entre uma suspensão do óxido do metal divalente com uma solução do sal formado pelo cátion trivalente (CREPALDI & VALIM, 1998).

O método de síntese hidrotérmica, como anuncia a terminologia, ocorre em altas temperaturas e pressões. A reação consiste na mistura entre dois cátions na forma de óxido. No caso do método sol-gel ocorre através de uma mistura sob refluxo entre uma solução alcoólica de etóxido de magnésio, dissolvido em ácido clorídrico, com uma de tri-butóxido de alumínio (MARANGONI, 2005).

### **2.7.4 Métodos de síntese de sistemas binários nanoestruturados**

Os métodos de preparo de um sistema argila-fármaco juntamente com as diferentes propriedades físico-químicas (tamanho de partícula, de cristalinidade etc.), têm definido o sucesso na obtenção de um produto, onde alguns métodos de preparação são descritos (RIVES et al., 2014). Dentre eles, podem ser citados o de troca iônica (WANG & ZHANG, 2012) e co-precipitação (BENÍCIO et al., 2015).

O método de troca iônica via solução, consiste em adicionar a argila, que contém o ânion no seu espaço interlamelar, em uma solução aquosa de fármaco que contém o ânion de

interesse, por um determinado tempo de agitação, de forma que esses ânions podem ser trocados a depender da maior capacidade de se estabilizar a lamela (DE ROY et al., 1992; WANG & ZHANG, 2012).

Outro método muito utilizado é o de co-precipitação, que consiste em adicionar sob agitação a uma solução que contém o ânion que se quer intercalar os íons metálicos precursores da argila e manter este sistema a pH constante e elevado para promover a co-precipitação (DE ROY et al., 1992; BENÍCIO et al., 2015).

### **2.7.5 Sistemas binários nanoestruturados contendo HDL**

Em tecnologia farmacêutica, devido a sua biocompatibilidade, o emprego desses compostos de intercalação se tornou atraente e tem sido amplamente investigado, de forma que eles estão envolvidos na modificação da farmacocinética de fármacos, na vetorização do fármaco em seu alvo terapêutico, possibilitando uma liberação controlada, como consequência uma diminuição de efeitos adversos, e ainda podem atuar no aumento da taxa de solubilização e biodisponibilidade dos fármacos (PERIOLI et al., 2011; WANG & ZHANG, 2012).

Muitos fármacos foram intercalados com sucesso nos HDLs através dos métodos de síntese já descritos anteriormente (CARJA et al., 2007; PERIOLI et al., 2011; SAN ROMÁN et al., 2012).

Perioli et al. (2011) avaliaram o efeito do HDL sobre a solubilidade do flurbiprofeno, um fármaco anti-inflamatório não esteroide. O fármaco foi intercalado nas lamelas da argila por 60 °C durante sete dias em uma solução de água-álcool. Os autores relataram que o sistema apresentou uma melhora na solubilidade no fluido gástrico, de forma que a concentração do anti-inflamatório foi de 4,46 mg/L para 38,51 mg/L quando intercalado, após 15 min. Ainda, os testes de dissolução indicaram uma liberação controlada do sistema.

Wang e Zhang (2012) intercalaram quatro antibióticos no HDL (benzoato, cloranfenicol, benzilpenicilina e ticarcilina). A reação ocorreu a temperatura ambiente em agitação por 24 horas, logo após foi centrifugado e lavado várias vezes, e finalmente seco a 70 °C durante 24 horas. O tamanho de partícula dos produtos foi de 50-100 nm, quanto aos estudos de atividade antibacteriana e liberação controlada, o produto se mostrou eficiente.

O fármaco anticancerígeno metotrexato foi intercalado com sucesso no HDL. Os autores obtiveram tamanhos de partículas de 100-300 nm, e o perfil de liberação indicou que todo o fármaco foi liberado durante um período de 48 horas (CHAKRABORTY et al., 2011).

San Román et al. (2012) avaliaram a intercalação de diclofenaco, cetoprofeno e cloranfenicol. O diferencial dos autores em relação aos outros estudos que já relataram a intercalação desses medicamentos (TAMMARO et al., 2007; AMBROGI et al., 2008), foi utilizar para compor as lamelas do HDL, dois cátions bivalentes, Mg e Zn, e um cátion trivalente, Al, tendo como objetivo alcançar um sistema mais puro e cristalino. Através das técnicas utilizadas foi possível confirmar a obtenção de sólidos bem cristalinos e se comprovar a presença dos ânions entre as lamelas da argila, sendo esse sistema formado, importante para aumentar a solubilidade desses fármacos e diminuir seus efeitos adversos (AMBROGI et al., 2003).

Zhang et al. (2014) prepararam intercalados de metotrexato com diferentes tamanhos de partícula 70-300 nm, a fim de avaliar a influência sobre a liberação e eficácia do fármaco. Foi possível concluir que partículas maiores possuíam uma melhor cristalinidade, liberação prolongada, e os testes de bioensaio indicaram que essas partículas foram mais eficazes na supressão das células tumorais.

Nosso grupo recentemente conseguiu produzir sistemas binários com este mesmo carreador e trióxido de antimônio, a partir do tartarato e potássio, sendo também demonstrada a capacidade do HDL de ser internalizado por macrófagos (MENEZES et al., 2014).

## **2.8 Justificativa do projeto**

A utilização de nanopartículas inorgânicas apresenta propriedades promissoras para serem utilizados como carreadores, tais como: boa biodisponibilidade, 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. O diferencial dos HDLs frente a outras partículas inorgânicas está na sua capacidade de lenta degradação em meio ácido, como o do citoplasma (4-6), resultando em íons como  $Mg^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $Cl^-$ , os quais podem deixar a célula através dos canais iônicos competentes ou disponíveis. Por conseguinte, os HDLs parecem apresentar um equilíbrio favorável entre estabilidade química e biodegradabilidade (CUNHA et al., 2010).

Diante do que foi apresentado, este trabalho tomou como justificativa (i) a estrutura do fármaco, devido a existência de dois prótons dissociados, um atribuído ao grupo amino ( $pK_a=10,3$ ) e o outro ao antimoniato ( $pK_a=2,1$ ), ou seja, na possibilidade de interação eletrostática entre os cátions que compõem as lamelas dos HDLs e o ânion antimoniato; (ii) tendo sido descrita a captação de HDL pelos macrófagos (local alvo da leishmaniose) (MENEZES et al., 2014) e sabendo-se que o HDL degrada em meio ácido (CUNHA et al., 2010), condição encontrada no interior dos macrófagos, espera-se que, uma vez dentro destas células, haja liberação do Sb e seja observada sua ação leishmanicida.

Assim, almeja-se a vetorização do antimônio, contribuindo para a potencialização de sua ação e redução dos efeitos adversos, além de uma maior adesão dos pacientes ao tratamento, consequência da alternativa de tratamento por via oral da leishmaniose.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Preparar sistemas binários nanoestruturados Mg, Al hidróxidos duplos lamelares (HDL) e Sb(V) na forma de pó, visando ao desenvolvimento subsequente de forma farmacêutica de uso oral.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Produzir Mg, Al HDL precursor;
  - Caracterizar o produto sintetizado por difração de raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), termogravimetria (TGA) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Avaliar o sistema binário HDL-Sb(V);
  - Caracterizar os produtos obtidos por TGA, espectrometria de emissão óptica com Plasma (ICP OES), espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX), DRX, FTIR e MEV.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Material

Para síntese do Mg, Al HDL precursor foram usados cloreto de magnésio e cloreto de alumínio hexahidratado adquiridos da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, EUA) e água deionizada. O fármaco utilizado para realização deste trabalho, antimoniato de meglumina, foi sintetizado a partir dos precursores, N-metil-D-glucamina (NMG) e hexahidroxiantimoniato de potássio  $[KSb(OH)_6]$ , obtidos da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, EUA).

### 4.2 Síntese do HDL precursor

O HDL foi sintetizado via direta pelo método de co-precipitação (BENÍCIO, 2015). Uma solução composta de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  e  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ , em proporção de Mg/Al 2:1, foi levada para agitação em água deareada a temperatura ambiente, sendo adicionado, aos poucos, NaOH 1M até pH 10, com a formação de um precipitado branco. O produto foi mantido em repouso a temperatura ambiente por um período de 24 horas e, a seguir, lavado 6 (seis) vezes com água deionizada através do processo de centrifugação (Sigma 6-15, Rio de Janeiro, Brasil), 3.000 rpm/5 minutos, cada lavagem, e levado para estufa por 24 horas em 60 °C. O produto foi triturado, tamisado e reservado. Somente após confirmação do sucesso da síntese pelas técnicas de caracterização, o HDL foi utilizado para preparação dos sistemas binários (MARANGONI, 2005).

### 4.3 Síntese do antimoniato de meglumina (AM)

O AM foi sintetizado pelo laboratório Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR/UFAL), conforme Demicheli et al. (2003), a partir de uma mistura equimolar de NMG e hexahidroxiantimoniato de potássio em água deionizada. Após reação por 2 (duas) horas, a 55° C, em pH mantido em 7 pela adição de KOH 1M, o composto foi obtido por precipitação em acetona.

Para o desenho do ânion  $(Sb(OH)_6)^-$ , foi utilizado o programa Spartan<sup>®</sup> v.10 Wavefunction realizado no laboratório de Química Medicinal/UFAL.

#### 4.4 Preparação dos sistemas binários nanoestruturados HDL-Sb(V)

Os sistemas binários foram preparados via solução por troca iônica (S-T1, S-T2 e S-T3) e co-precipitação (S-CP), além da mistura física (MF) para fins comparativos. Dentro das técnicas foram investigadas como variável: proporção m/m HDL-fármaco, de 3:1 (produtos MF, S-T1, S-T2) ou 1:1 (produto S-T3) (modificado de MENEZES et al., 2014), de forma que, S-T1 solução- troca iônica, 24 horas em temperatura ambiente– centrifugação, lavados 4 (quatro) vezes com água deionizada (4.000 rpm/ 30 minutos, cada ciclo), secos em dessecador e reservados para posterior caracterização; S-T2 e S-T3 solução- troca iônica, 4 horas sob refluxo– centrifugação; (S-CP) via co-precipitação- seguida a mesma metodologia do item 4.2, com a adição de fármaco antes do ajuste de pH. Em todos os processos citados (S-T1, S-T2, S-T3 e S-CP) foi utilizada água deionizada e o pH ajustado para 11 com auxílio de NaOH 1M.

#### 4.5 Caracterização

Os compostos precursores (HDL e AM) e os resultantes de cada processo avaliado foram caracterizados por:

**4.5.1 Difração de raios X (DRX):** realizado em difratômetro Shimadzu DRX 7000 (Kyoto, Japão), no Laboratório de Tecnologia de Nanosistemas Carreadores de Substâncias Ativas (TecNano/UFAL), onde 0,1g de amostra na forma de pó foi colocada no porta-amostras e analisada com as seguintes condições: 30 kV, 30 mA CuK $\alpha$  ( $\lambda= 0,15406$  nm), em intervalos de  $0,02^\circ$  ( $2\theta$ ) na faixa de 3 a  $40^\circ$ , podendo ser estendido até  $90^\circ$  a depender do objetivo. Através da equação de Bragg ( $n.\lambda=2.d.\text{sen}\theta$ ), o espaçamento basal d(003) foi calculado.

**4.5.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR):** Os espectros de infravermelho foram obtidos na faixa de  $4.000-500\text{ cm}^{-1}$ , em pastilhas de KBr (2 mg de amostra- 200 mg de KBr seco), realizado em espectrômetro Thermo Scientific, modelo Nicolet iS10, em modo Smart Omni Sampler Infrared Fourier Transform Spectroscopy (SOSIFT). As análises foram realizadas no laboratório TecNano/UFAL.

**4.5.3 Termogravimetria (TGA):** realizados em aparelho de termoanálise da marca Shimadzu (Kyoto, Japão), modelo DTG-60, com uma taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  onde cada amostra correu em um fluxo de gás nitrogênio de  $50\text{ mL}/\text{min}$  de 25 a  $800^\circ\text{C}$ . As análises foram realizadas no Laboratório de Análise Instrumental pertencente a Coordenadoria de Química, Instituto Federal de Alagoas (IFAL).

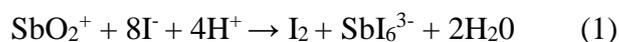
**4.5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV):** realizado em microscópio Shimadzu (Kyoto, Japão), modelo SSX-550 Superscan. Os produtos foram previamente revestidos com ouro em metalizadora, Sanyu Electron, modelo Quick Coater SC-701, a uma corrente de 10 mA durante 8 (oito) minutos. As análises foram realizadas pelo Grupo de Óptica e Nanoscopia (Optma/UFAL).

**4.5.5 Espectrometria de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva (EDX):** realizado no espectrômetro Shimadzu (Kyoto, Japão), EDX-7000, no laboratório TecNano/UFAL. A análise ocorreu sob vácuo.

**4.5.6 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma (ICP OES):** A quantificação do antimônio (FARMACOPEIA BRITÂNICA, 2007) foi realizada através da utilização de espectrômetro Spectro (Kleve, Alemanha), modelo Arcos – SOP com leitura realizada no comprimento de onda 206 nm. Esta análise foi realizada no Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo com o pó (aproximadamente 1mg). A significância estatística foi avaliada por ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Bonferroni (GraphPad PRISM, GraphPad Software, Inc., San Diego).

**4.5.7 Especificação do antimônio:** nos sistemas binários obtidos, foram utilizados protocolos qualitativos (MARTÍ et al., 1992). Dois ensaios foram realizados utilizando como padrões para Sb(III) e Sb(V), cloreto de antimônio trivalente e cloreto de antimônio pentavalente (além do fármaco), respectivamente. O iodeto de potássio e tiosulfato de sódio foram usados como agentes redutores.

Utilizando como agente redutor o iodeto de potássio, o composto trivalente produz uma coloração amarela, já o composto pentavalente é reduzido a trivalente com liberação de iodo, de cor amarronzada (Equação 1).



Utilizando como agente redutor o tiosulfato de sódio, o composto Sb(III) precipita em oxissulfuro de antimônio, na cor vermelha (Equação 2). O composto Sb(V) é reduzido a Sb(III) gerando um precipitado de enxofre de cor branco amarelado (Equação 3).



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

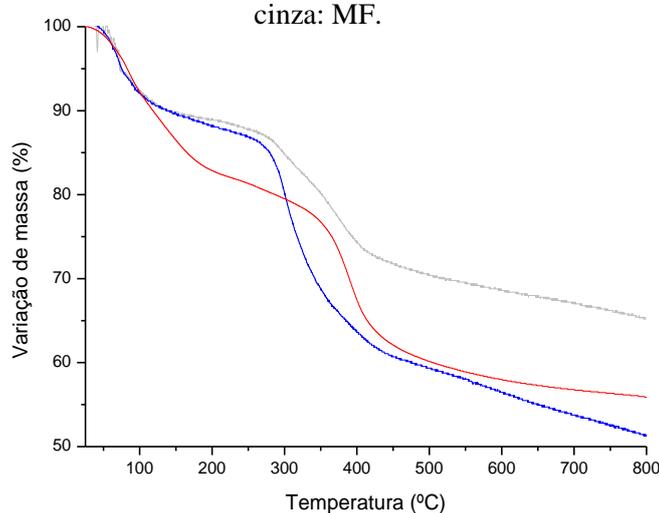
### 5.1 Caracterização dos precursores – HDL, AM e MF

Os comportamentos térmicos do HDL, AM e da MF podem ser conferidos pela figura 12.

Na curva de análise térmica do HDL há duas perdas de massa (CHOUDARY et al., 2002; BENÍCIO et al., 2015). A primeira, com uma perda de massa de 17,9%, ocorre até 222,9°C e corresponde à água superficial adsorvida e à água interlamelar; a segunda, entre 270,9 e 464,1°C, com uma perda de massa de 19,1%. Nesta última ocorre a desidroxilação estrutural e a consequente perda da estrutura lamelar, acompanhada pela formação de HCl (KLOPROGGE et al., 2001; CHOUDARY et al., 2002; ISLAM e PATEL, 2009; SILION et al., 2010).

O AM apresenta três perdas de massa, a primeira entre 25 e 145,7°C, com cerca de 10%, atribuída à eliminação da água de solvatação; a segunda entre 145,7 e 481,1°C, com cerca de 31%, atribuída à decomposição do ligante (NMG); e a terceira entre 481,1 e 800°C, com 9% (MARTINS, 2007).

**Figura 12-** Curva de análise térmica dos precursores e da MF, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF.



**Fonte:** Autor, 2016.

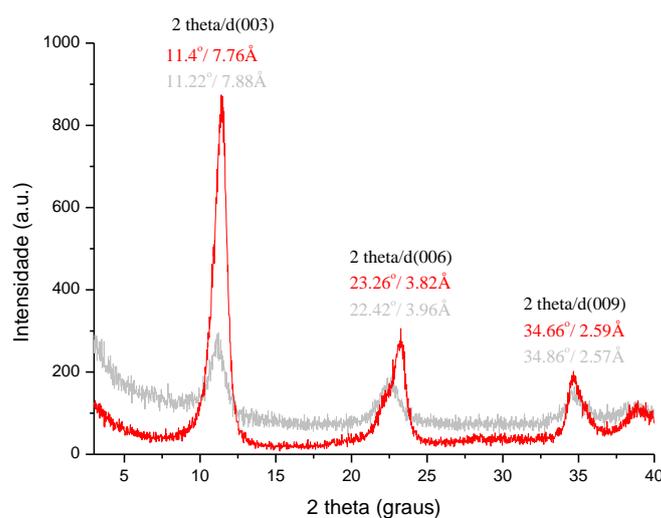
O perfil térmico da MF resultou do processo de degradação térmica do AM e HDL. É possível visualizar três perdas de massa, a primeira semelhante ao fármaco, ocorre entre 25 e 145,7°C, com perda aproximada de 10% de massa, a segunda ocorre entre 145,7 e 426 °C,

com uma perda de massa de 18%, esta etapa é observada no fármaco e no HDL, e a terceira, com uma perda de massa de 7%, ocorre entre 426 e 800°C, correspondente ao AM.

Os difratogramas do HDL precursor e da MF são apresentados na figura 13. O AM se mostrou um sólido amorfo, em conformidade com a literatura (FRÉZARD et al., 2009).

O HDL precursor apresentou um difratograma semelhante aos padrões observados dos HDLs, onde foi possível confirmar a presença dos principais planos de difração característicos em d(003), d(006) e d(009) (ALLMANN & JEPSEN, 1969), demonstrando que a síntese foi bem sucedida. O valor de espaçamento basal obtido d(003) foi de 7,76Å, o que corrobora os valores calculados a partir dos planos encontrados nos manuais mineralógicos, quando o cloreto é o ânion interlamelar (7,6–7,8Å) (ALLMANN & JEPSEN, 1969; CAVANI, 1991; BOTAN et al., 2011), podendo variar de acordo com o grau de hidratação (DEL ARCO, 2007).

**Figura 13-** Difratogramas, em vermelho: HDL; em cinza: MF.

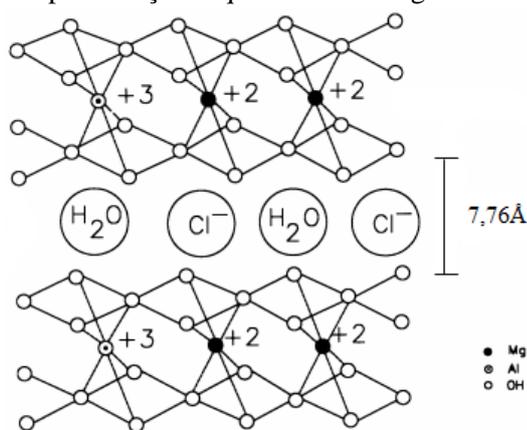


**Fonte:** Autor, 2016.

Este valor (7,76Å) encontrado para o HDL precursor corresponde à soma do diâmetro do íon cloreto e da lamela da brucita (4,8Å). Além disso, os planos de difração em d(003), d(006) e d(009) sugerem que tais estruturas possuem simetria romboédrica, característica de hidrotalcitas sintetizadas (Figura 14).

O perfil do difratograma da MF foi semelhante ao HDL precursor, embora com ligeira redução da cristalinidade os planos de difração originais foram mantidos (ALLMANN & JEPSEN, 1969), com o valor de espaçamento basal d(003) de 7,88 Å.

**Figura 14-** Representação esquemática do Mg-Al-Cl HDL.



**Fonte:** Adaptado de CHOUDARY et al., 2002.

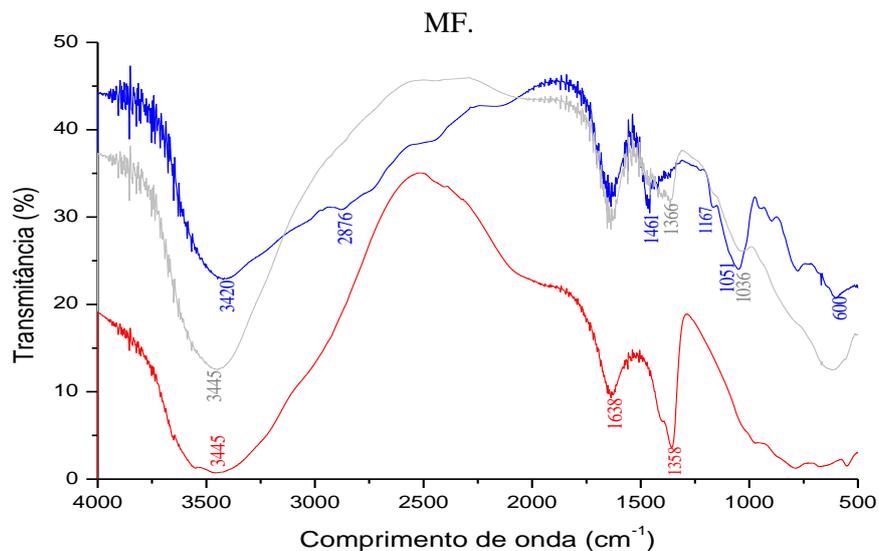
A figura 15 apresenta os espectros de infravermelho do HDL, AM e da MF.

O espectro do HDL revelou bandas intensas e bem definidas devido a diferentes grupos funcionais que estão presentes, sendo verificados os seguintes sinais: banda larga em  $3445\text{ cm}^{-1}$ , característica de estiramento ( $\nu\text{OH}$ ) e um sinal de deformação correspondente ao grupo OH da água adsorvida ou da água interlamelar (flexão de  $\delta\text{H}_2\text{O}$ ) em  $1638\text{ cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN et al., 1962; CHOUDARY et al., 2002; ISLAM e PATEL, 2009; BENÍCIO et al., 2015); banda em  $1358\text{ cm}^{-1}$  que ocorre provavelmente devido ao ânion carbonato [ $\nu(\text{CO}_3^{2-})$ ] que pode ter se formado devido à absorção de gás  $\text{CO}_2$  atmosférico durante a lavagem na síntese. Na região abaixo de  $800\text{ cm}^{-1}$  são observadas bandas relativas à presença de metal, neste caso, Mg e Al, ligados a grupos hidroxila (CHOUDARY et al., 2002; ISLAM e PATEL, 2009; KLOPROGGE e FROST, 1999).

Analisando o espectro de infravermelho do fármaco, é possível perceber a presença de bandas características em:  $3420\text{ cm}^{-1}$ , correspondente às vibrações de estiramento axial dos grupos O-H, em  $2876\text{ cm}^{-1}$ , atribuída às vibrações do estiramento C-H dos alcanos, em  $1461$ ,  $1167$  e  $1051\text{ cm}^{-1}$ , relativas à deformação angular do grupamento C-O. Na região de  $602\text{ cm}^{-1}$  são observadas vibrações correspondentes ao estiramento Sb-O (DEMICHELI et al., 1999).

Em relação a MF, podem ser visualizadas bandas do AM e do HDL: em  $3445\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento ( $\nu$ ) OH que pode ser observado nos dois precursores, em  $1366\text{ cm}^{-1}$  que é atribuída ao estiramento [ $\nu(\text{CO}_3^{2-})$ ] de  $\text{CO}_2$  está presente apenas no HDL, e em  $1036\text{ cm}^{-1}$  relacionada ao grupamento C-O, é característica do fármaco.

**Figura 15-** Espectros de infravermelho dos precursores, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza:



**Fonte:** Autor, 2016.

As micrografias adquiridas por elétrons secundários são apresentadas na figura 16.

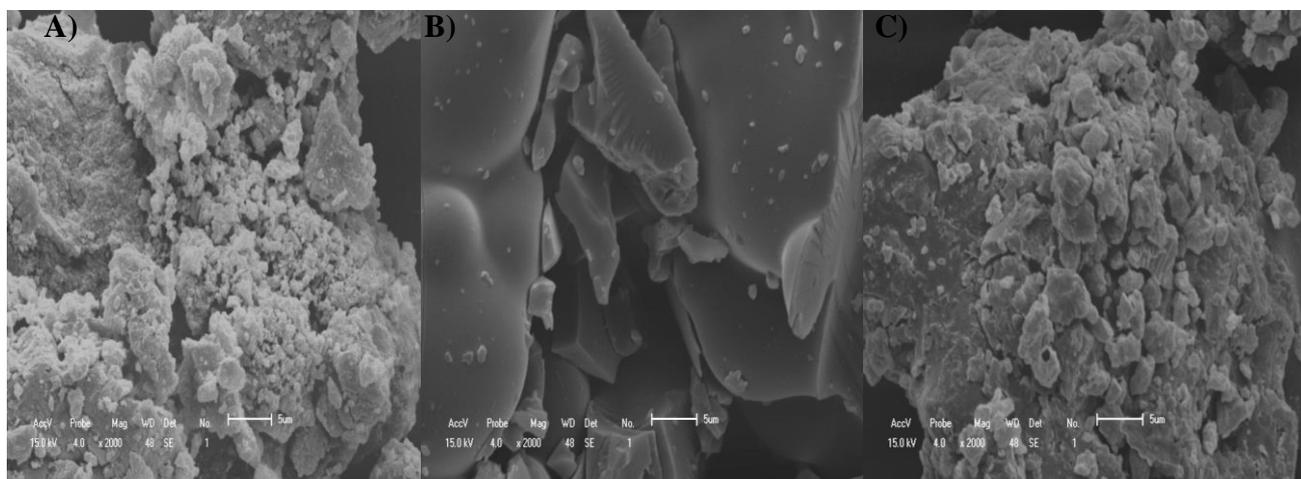
A micrografia do HDL precursor (Figura 16A) revelou agregados de partículas finas, semelhante ao descrito por Islam e Patel (2009) e por Donato et al. (2012).

Na micrografia da figura 16B, referente ao AM, é possível visualizar uma estrutura não porosa, com superfície lisa, aparentemente quebradiça.

Na micrografia da MF (Figura 16C), é possível visualizar diversos aglomerados que são semelhantes ao observado na morfologia do HDL (ISLAM & PATEL, 2009).

**Figura 16-** Estrutura e morfologia do HDL, AM e da MF obtido do MEV em um aumento de 2000x.

Onde, (A) HDL precursor; (B) AM, (C) MF.

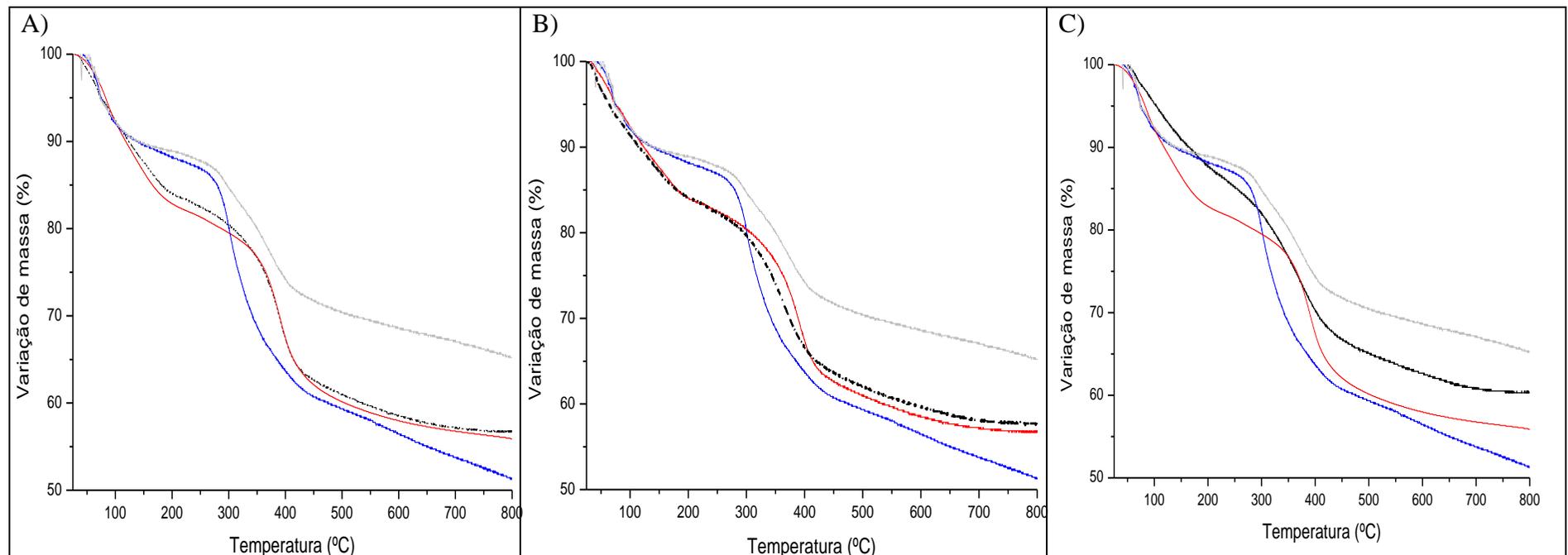


**Fonte:** Autor, 2016.

## 5.2 Caracterização dos sistemas binários- Produtos (S-T1, S-T2 e S-T3)

A figura 17 apresenta os comportamentos térmicos do HDL, AM, MF e dos produtos S-T1, S-T2 e S-T3.

**Figura 17-** Curvas de análise térmica dos precursores, MF e dos produtos (S-T1, S-T2 e S-T3), em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF; em preto: produtos S-T1, S-T2 e S-T3. Em (A) produto (S-T1); em (B), produto (S-T2); em (C) produto (S-T3).



Fonte: Autor, 2016.

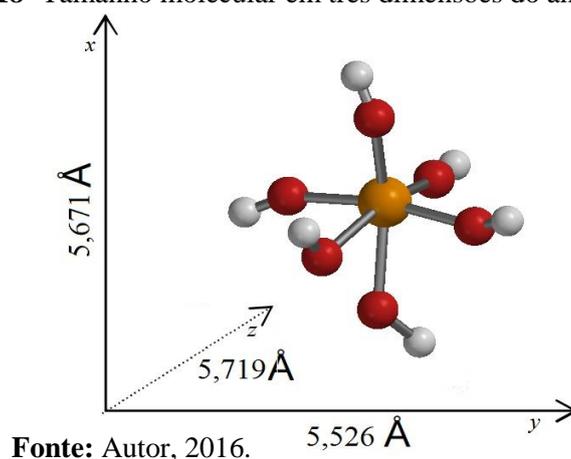
Analisando as figuras 17A e 17B, é possível observar que as curvas de análise térmica dos produtos S-T1 e S-T2, preparados via troca iônica, sob temperatura ambiente ou refluxo, respectivamente, não mostraram alteração em relação ao perfil térmico do HDL precursor, indicando que os sistemas binários não foram obtidos, mesmo com o aumento da temperatura e apesar das condições teóricas que levariam a essa formação (pH superior ao pKa do grupo antimoniato, garantindo sua ionização). Já o produto S-T3, apresentou um novo perfil térmico, elucidando a formação de um novo produto. Ele apresentou três perdas de massa, a primeira de 13% entre 25 e 211,2°C, a segunda de 19% entre 211,2 e 416,4°C, e a terceira de 7% entre 416,4 e 685,5°C.

Pela técnica de ICP OES foi possível confirmar a presença de antimônio neste sistema binário. Há 29,49% de antimônio no fármaco e 15,38% no produto S-T3. Tendo por base um cálculo teórico da quantidade de antimônio esperado caso o fármaco (AM) estivesse completamente associado ao HDL, em torno de 14,7%, o valor encontrado ficou bem próximo.

Através de uma pesquisa indireta por EDX, sugere-se que o produto obtido é inorgânico.

Com base nesta informação e tomando como base o ânion antimoniato  $[\text{Sb}(\text{OH})_6]^-$ , a figura 18 apresenta seu provável tamanho em três dimensões e que poderá ser levado em consideração em relação ao cálculo do espaçamento basal  $d(003)$  pelo DRX a seguir.

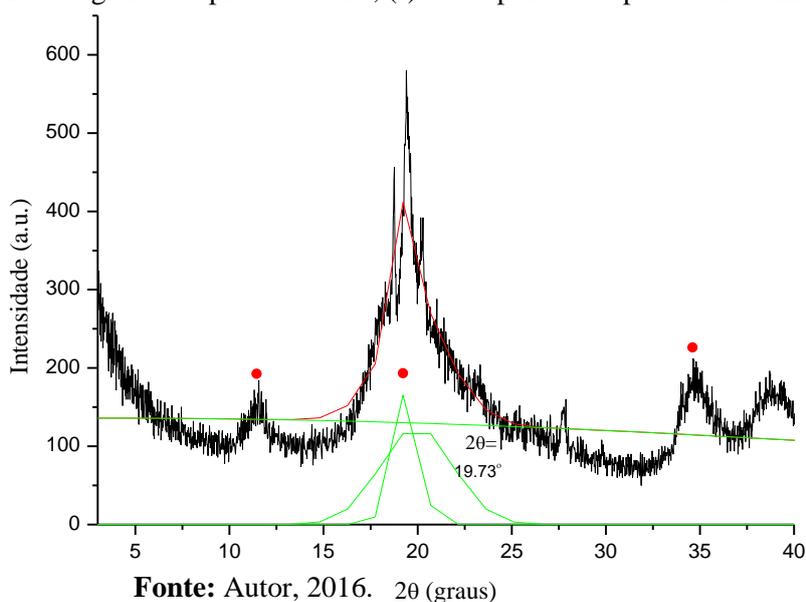
**Figura 18-** Tamanho molecular em três dimensões do ânion antimoniato.



O difratograma do produto S-T3 é apresentado na figura 19.

Os principais planos de difração do HDL estão presentes no produto e o valor do espaçamento basal,  $7,77\text{\AA}$ , não aumentou em relação ao precursor, ou seja, não houve intercalação. No entanto, o  $d(006)$  é deslocado para menores valores de  $2\theta$  ( $19,19^\circ$ ) e mais um plano cristalino, após a deconvolução, é claramente notado, em  $19,73^\circ$ . Assim, aliado aos resultados de TG e ICP OES, sugere-se que um novo produto, possivelmente do tipo adsorvato, foi obtido.

**Figura 19-** Difratoograma do produto S-T3, (•) corresponde aos planos cristalinos referentes ao HDL

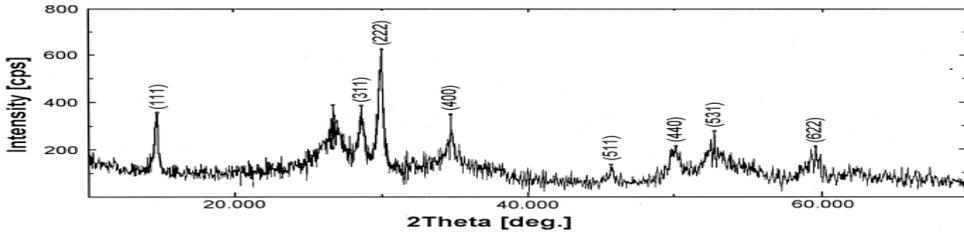
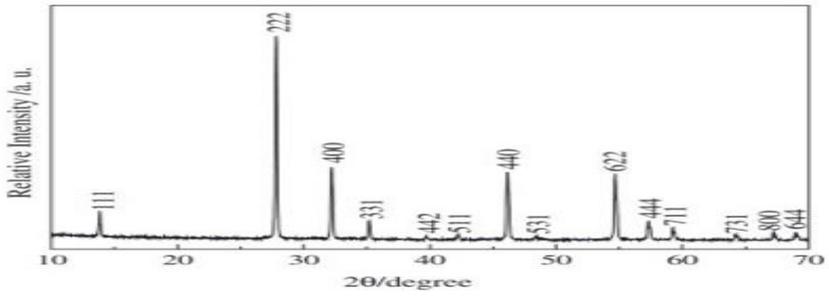
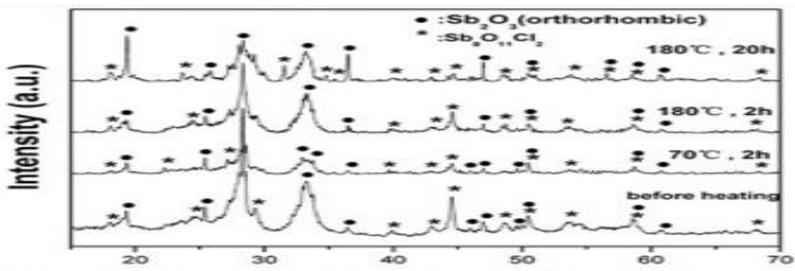


Devido ao surgimento do novo plano cristalino, os valores de  $2\theta$  do difratograma foram estendidos até  $90^\circ$ , a fim de se verificar a existência de planos adicionais, mas nenhuma nova diferença foi percebida.

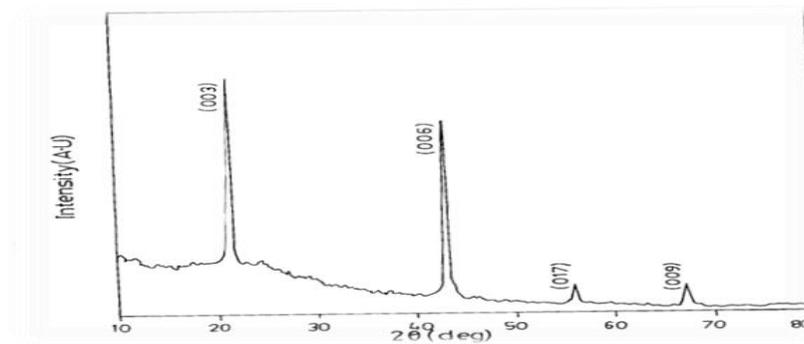
Como o fármaco não tem fórmula estrutural conhecida, sendo caracterizado como uma mistura de complexos e instável em solução (FRÉZARD et al., 2008; CARVALHO et al., 2015), na tentativa de elucidar o produto obtido, foram reunidos na tabela 2 os compostos contendo antimônio descritos na literatura e seus respectivos planos de difração.

Baseado nessa pesquisa, dois compostos,  $\text{Sb(III)Sb(V)O}_4$  (JI et al., 2005) e  $\text{Sb}_2\text{O}_3$  ortorrômbico (TANG et al., 2004), apresentam plano em  $2\theta$  próximo ao novo plano obtido, que poderiam supor que o produto adsorvido nas lamelas do HDL seria uma dessas espécies.

Tabela 2- Compostos de Sb com seus respectivos difratogramas

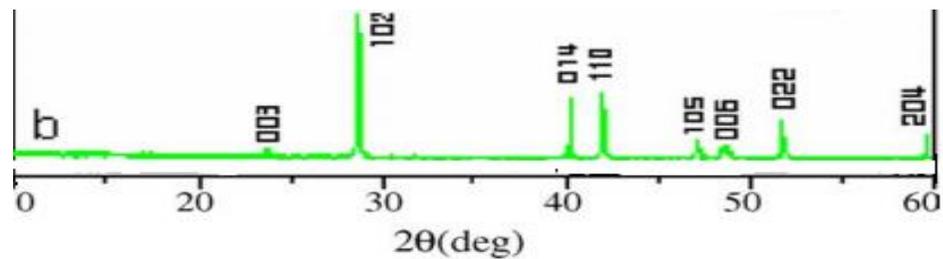
Composto de Sb/estado de oxidação	Difratogramas	Referência
Sb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> pentavalente		Guo et al., 2000
Sb <sub>2</sub> O <sub>3</sub> trivalente		Ma et al., 2004
Sb <sub>2</sub> O <sub>3</sub> trivalente ortorrômbico		Tang et al., 2009
Sb <sub>8</sub> O <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> não informado		

Filmes finos  
de Sb cristalino



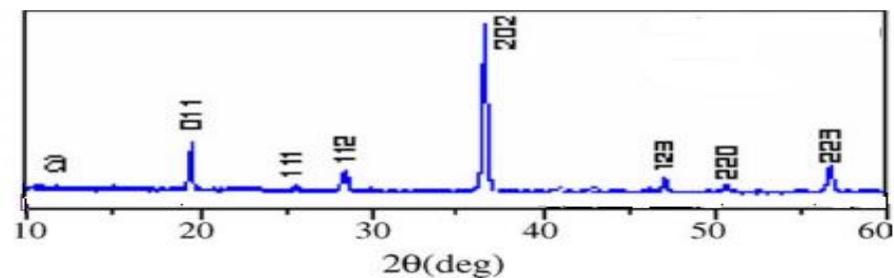
Jayachandran,  
1997

Partículas  
hexagonal do  
metal Sb cristalino



Ji et al., 2005

Sb(III)Sb(V)O<sub>4</sub> trivalente e  
pentavalente



Ji et al., 2005

Para confirmação do estado de oxidação do antimônio no produto S-T3 é apresentado os resultados do ensaio de especiação na tabela 3.

**Tabela 3-** Resultados de especiação de antimônio.

Amostras	Condição	Aspecto inicial	Com agente redutor	
			Iodeto de potássio	Tiossulfato de sódio
<b>Cloreto de antimônio trivalente</b>		Solução límpida e incolor	Altera: coloração amarelada	Altera: precipitado de cor avermelhado
<b>Cloreto de antimônio pentavalente</b>		Solução límpida e incolor	Altera: coloração amarronzada	Altera: precipitado de enxofre de cor branco amarelado
<b>AM</b>		Solução límpida e incolor	Altera: coloração amarronzada	Altera: precipitado de enxofre de cor branco amarelado
<b>Produto S-T3</b>		Solução límpida e incolor	Altera: coloração amarronzada	Altera: precipitado de enxofre de cor branco amarelado

**Fonte:** Autor, 2016.

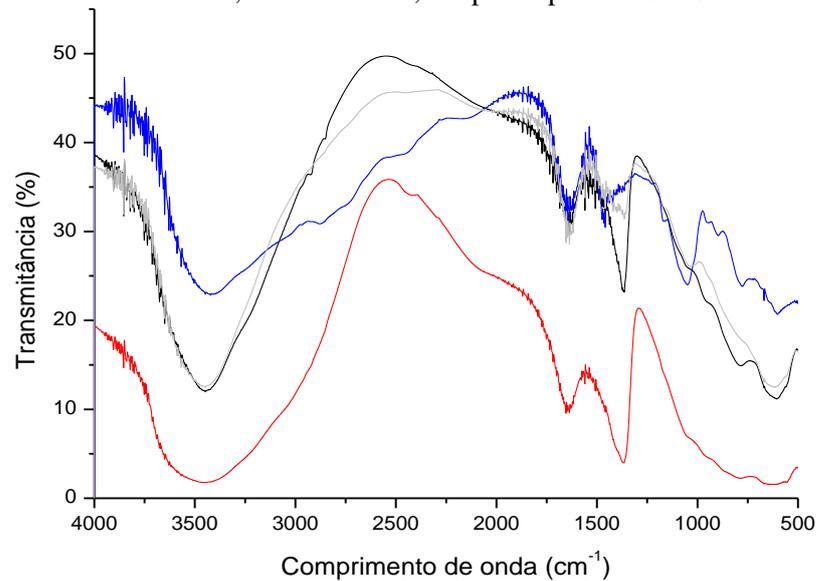
Na presença de iodeto de potássio é possível observar que apenas a solução padrão para Sb(III) ficou na coloração amarelada, já as outras amostras ficaram com coloração amarronzada, devido à liberação de iodo, ocasionado pela redução de antimônio (V) em antimônio (III), indicando que o estado de oxidação do produto é majoritariamente pentavalente (MARTÍ et al., 1992).

Este resultado também é confirmado para o ensaio com o tiossulfato de sódio (reduzidor de antimônio), as soluções, com exceção do padrão Sb(III), em contato com o mesmo gera um precipitado de enxofre de cor amarelo (MARTÍ et al., 1992). Dessa forma, pode-se excluir a hipótese que a espécie adsorvida no nanocarreador seria o  $Sb_2O_3$ .

Finalmente, analisando os espectros de infravermelho dos precursores, MF e produto S-T3 apresentados na figura 20, nenhuma banda característica do fármaco no produto é visualizada.

A micrografia do produto S-T3 foi semelhante a MF, já discutida no item anterior.

**Figura 20-** Espectros de infravermelho dos precursores, MF e do produto S-T3, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF; em preto: produto S-T3.



**Fonte:** Autor, 2016.

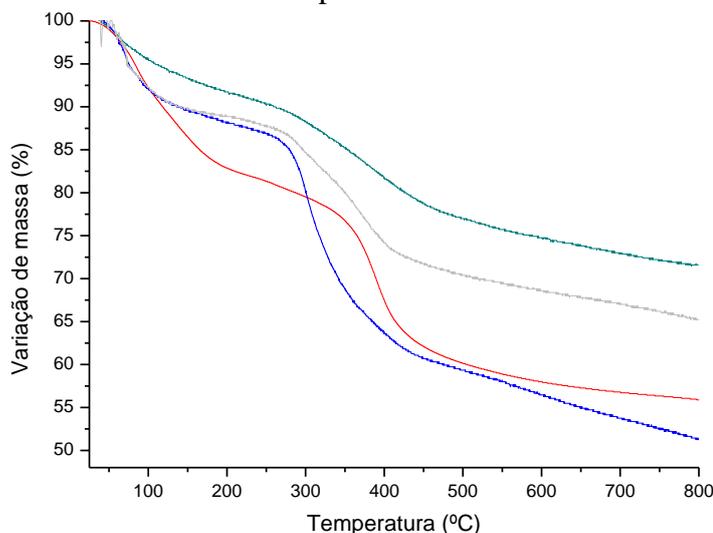
### 5.3 Caracterização dos sistemas binários- Produto (S-CP)

Os comportamentos térmicos dos precursores, MF e produto S-CP são apresentados na figura 21.

Comparando a curva de análise térmica do produto com a da MF, é possível perceber a semelhança entre elas, indicando que o produto resultou de um processo de degradação térmica dos precursores. Embora a % de perda total seja diferente (28 versus 35% respectivamente). O produto S-CP possui três perdas de massa, a primeira de 6% entre 25 e 145,70°C, a segunda de 12% entre 145,70 e 440, 24°C, e a terceira de 10% entre 440, 24 e 800 °C.

A quantificação de antimônio por ICP OES no produto foi igual a 9,17% e, pelo cálculo teórico, caso o ânion antimoniato estivesse completamente entre as lamelas, deveriam ser quantificados aproximadamente 4,92%. Como a quantidade de Sb encontrada foi superior, é possível afirmar que a substância associada à argila lamelar não pode ser o fármaco original.

**Figura 21-** Curvas de análise térmica, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF; em verde: produto S-CP.

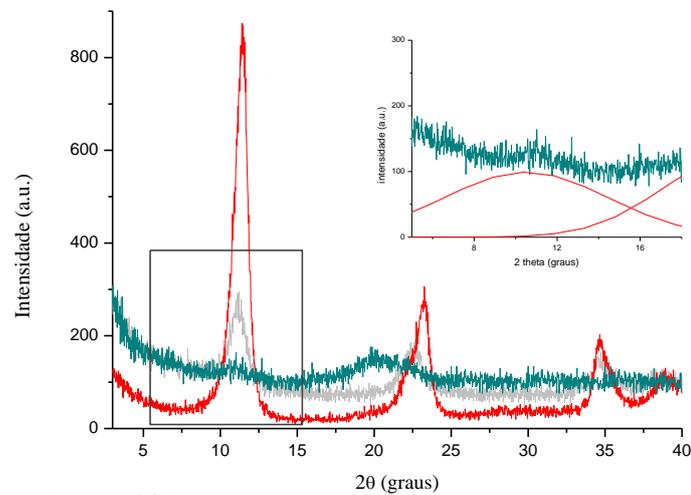


**Fonte:** Autor, 2016.

O difratograma do produto S-CP é mostrado na figura 22. É possível visualizar uma intensa redução da intensidade, em comparação ao HDL precursor, e também não é notado o plano de difração d(009) no produto S-CP. Vial et al. (2006) utilizaram a mesma metodologia, co-precipitação, para preparar sistemas HDL/urease, e observaram o mesmo, um grande alargamento nos picos, o qual está relacionado a uma maior desordem da estrutura, além de alguns planos que desapareceram. A preservação dos planos em d(003), observado pela ampliação da imagem, através da deconvolução, e d(006) evidencia a formação bem sucedida da estrutura do HDL (CAVANI et al., 1991; LI et al., 2005; VIAL et al., 2006). Também ocorre um deslocamento do d(006) em comparação ao HDL e MF.

Ainda, um deslocamento de d(003) para ângulos mais baixos no produto S-CP é observado, relacionado a um valor de espaçamento basal d(003) de 8,26Å, superior à faixa sugerida para hidratação de Mg, Al – Cl HDL (DEL ARCO, 2007) confirmando, portanto, a obtenção de produto do tipo intercalado (LI et al., 2005). Visto que o tamanho da lamela é de 4,8Å, a diferença resultante do aumento do espaçamento (3,45Å) refletiria o tamanho do ânion intercalado. O cloreto possui tamanho inferior, mas o ânion antimoniato, já descrito, possui um tamanho maior do que o obtido, devendo a espécie intercalada, então, ser investigada.

**Figura 22-** Difratoograma do HDL, MF e do produto S-CP, em vermelho: HDL; em cinza: MF; em verde: produto S-CP.



**Fonte:** Autor, 2016.

Na tabela 4 são correlacionados os parâmetros planos de difração, 2 theta, espaçamento basal e intensidade das amostras. Comparando a MF ao HDL já é observada uma diminuição da intensidade, e a relação entre os picos não é mantida. Ainda em relação ao precursor e MF, as maiores intensidades ocorrem no primeiro pico em d(003), diferente do produto S-CP

**Tabela 4-** Valores do ângulo 2θ, distância basal do planos e intensidade do HDL, MF e produto S-CP.

Parâmetros do DRX Amostra	2θ/d			I/Io *100
	d(003)	d(006)	d(009)	
<b>HDL</b>	11,04°/ 7,76	23,26°/ 3,82	34,66°/ 2,59	d(003): 860, 100% d(006): 300, 34,88% d(009): 200, 23,25%
<b>MF</b>	11,22°/ 7,88	22,42°/ 3,96	34,86°/ 2,57	d(003): 300, 100% d(006): 200, 66,66% d(009): 190, 63,33%
<b>Produto S-CP</b>	10,72°/ 8,26	20,63°/ 4,30	---	d(003): 147, 100% d(006): 160, 108,84% d(009): ---

**Fonte:** Autor, 2016.

O difratograma do produto foi estendido até 90° com o intuito de se investigar que tipo de composto de Sb foi intercalado, mas nenhum plano de difração novo foi notado.

A fim de se observar alguma alteração em virtude da proporção m/m HDL/fármaco, foi utilizada a técnica de EDX. Embora o ICP OES seja mais sensível para detectar antimônio, esta técnica tem vantagens, como: não requer procedimentos de preparo de amostra, economia de tempo e é uma análise não destrutiva, já sendo utilizada por alguns autores com esta mesma finalidade (SHIMAMOTO et al., 2011).

Na tabela 5 são apresentados os resultados da quantificação simultânea dos elementos antimônio e cloro, para as duas condições de massa do produto S-CP.

É possível perceber que com o aumento da massa do AM, a percentagem de antimônio (29,83%) aumenta simultaneamente com a diminuição de cloro (32,64%), ratificando o tipo de associação da espécie com o HDL (intercalação), pela substituição do cloreto por um novo ânion.

**Tabela 5:** Quantificação dos elementos presentes no produto S-CP.

<b>Elemento químico</b>	<b>Sb(%)</b>	<b>Cl(%)</b>
<b>Proporção HDL-AM no produto</b>		
<b>3:1</b>	29,83	32,64
<b>1:1</b>	55,61	0,00

**Fonte:** Autor, 2016.

A tabela 6 apresenta os resultados de especiação de antimônio neste produto.

Os resultados de especiação de antimônio foram similares aos realizados com o produto S-T3, indicando que o estado de oxidação do produto S-CP é, majoritariamente, pentavalente.

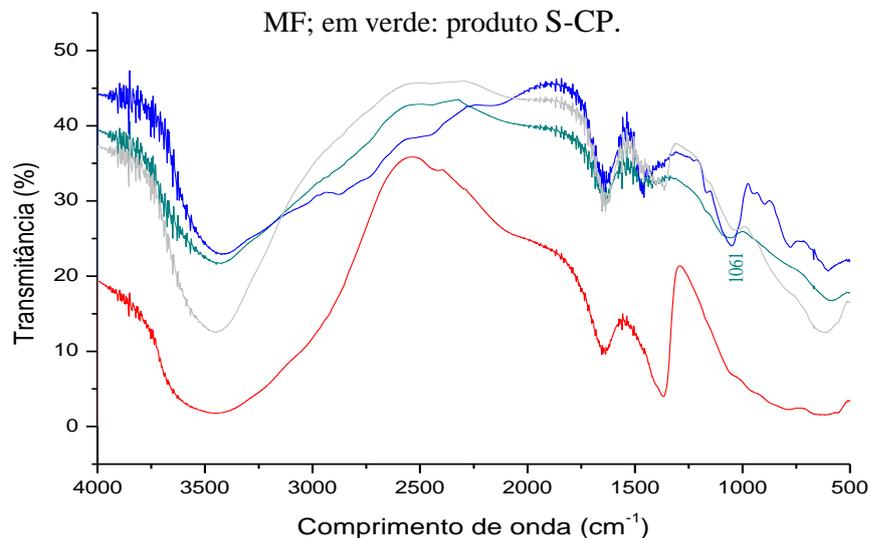
Tabela 6- Resultados de especificação de antimônio.

Condição Amostras	Aspecto inicial	Com agente redutor	
		Iodeto de potássio	Tiosulfato de sódio
<b>Cloreto de antimônio trivalente</b>	Solução límpida e incolor	Altera: coloração amarelada	Altera: precipitado de cor avermelhado
<b>Cloreto de antimônio pentavalente</b>	Solução límpida e incolor	Altera: coloração amarronzada	Altera: precipitado de enxofre de cor branco amarelado
<b>AM</b>	Solução límpida e incolor	Altera: coloração amarronzada	Altera: precipitado de enxofre de cor branco amarelado
<b>Produto S-CP</b>	Solução límpida e incolor	Altera: coloração amarronzada	Altera: precipitado de enxofre de cor branco amarelado

Fonte: Autor, 2016.

Os espectros de infravermelho do HDL, AM, MF e do produto S-CP são mostrados na figura 23. É observado um deslocamento de 1051 para 1061  $\text{cm}^{-1}$  em relação ao fármaco, sendo esta banda atribuída à deformação angular do grupamento C-O.

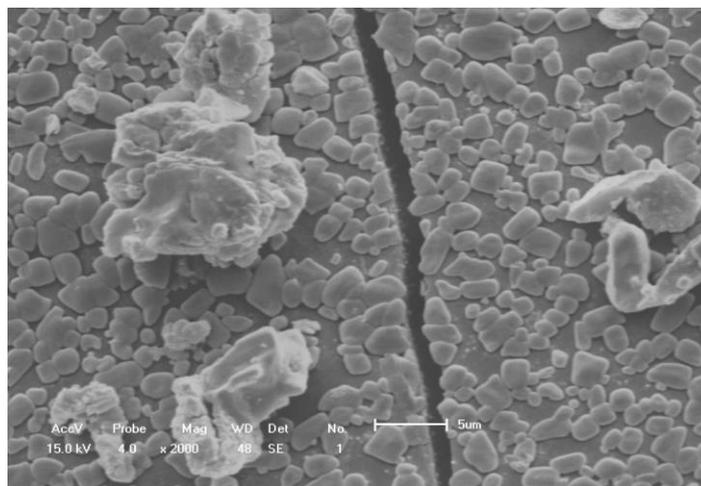
Figura 23- Espectros de infravermelho dos produtos, em vermelho: HDL; em azul: AM; em cinza: MF; em verde: produto S-CP.



Fonte: Autor, 2016.

A micrografia desse produto é apresentada na figura 24. Aparentemente é possível visualizar uma nova organização morfológica em relação aos precursores, com a presença de alguns grânulos de tamanhos variados, que parecem não ter se encaixado nessa formação.

**Figura 24-** Estrutura e morfologia do produto S-CP obtido do MEV em um aumento de 2000x.



**Fonte:** Autor, 2016.

## 6 CONCLUSÃO

Através deste estudo, foi possível o desenvolvimento de produtos intermediários a base de hidróxidos duplos lamelares contendo Sb majoritariamente no estado de oxidação pentavalente, na forma de pó, que foram confirmados por diferentes técnicas de caracterização (TG, ICP OES, EDX, DRX, FTIR E MEV).

Foram produzidos dois sistemas binários nanoestruturados, majoritariamente no estado de oxidação pentavalente, sendo um adsorvato e outro intercalado. É importante ressaltar que, embora como outra espécie, o Sb, responsável pela ação leishmanicida, está presente. Os produtos foram obtidos em um curto tempo de reação, com a utilização de água como solvente, e conseqüentemente com um baixo custo aderido ao produto final, contribuindo para um acesso mais fácil e democrático da população, em especial no caso de doenças negligenciadas.

Enfim, como perspectivas, técnicas mais sofisticadas e específicas serão utilizadas na caracterização molecular dos produtos, a exemplo de Espectrometria de Massa (MS) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Em paralelo, a modelagem molecular será uma importante ferramenta para predição mais assertiva no modo de interação dos compostos e na

formação dos sistemas binários HDL-Sb(V). Ainda, serão investigados: (i) a avaliação leishmanicida in vitro destes produtos; (ii) revestimento gástrico; (iv) avaliação da liberação in vitro dos produtos com atividade leishmanicida comprovada, revestidos ou não, frente a diferentes pHs; (iv) avaliação da atividade leishmanicida in vivo destes produtos.

## REFERÊNCIAS

- ALLMANN, R.; JEPSEN, H. P. Die struktur des hydrotalkits. Neues Jahrbuch fur Mineralogie, **Monatshefte**. 1969, p.544–551.
- ALVAR, J.; AMELA, C.; MOLINA, R.; In: El perro como reservatório de la leishmaniosis. **Medicina Veterinária**. v.12, n.7, 1995, p. 431-437.
- ALVAR, J.; Vélez, I.D.; Bern, C.; Herrero, M.; Desjeux, P.; Cano, J.; Jannin, J.; den Boer, M. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**. v. 7, n. 5, 2012, p. e35671.
- AMBROGI, V.; FARDELLA, G.; GRANDOLINI, G.; NOCHETTI, M. Effect of hydrotalcite-like compounds on the aqueous solubility of some poorly water-soluble drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 92, 2003, p. 1407–1418.
- AMBROGI, V.; PERIOLI, L.; RICCI, M.; PULCINI, L.; NOCCHETTI, M.; GIOVAGNOLI, S.; ROSSI, C. Eudragit® and hydrotalcite-like anionic clay composite system for diclofenac colonic delivery. **Microporous and Mesoporous Materials**. v. 115, 2008, p. 405–415.
- ANADÃO, P. Panorama da Pesquisa Acadêmica Brasileira em Nanocompósitos Polímero/Argila e Tendências para o Futuro. **Polímeros**. v. 21, n. 5, 2011, p. 443-452.
- AKILOV, O.E.; KHACHEMOUNE, A.; HASAN, T. Clinical manifestations and classification of Old World cutaneous leishmaniasis. **International Journal of Dermatology**. V. 46, 2007, p. 132–142.
- BENÍCIO, L.P.F.; SILVA, R.A.; LOPES J.A.; EULÁLIO, D.; SANTOS, R.M.M.; AQUINO, L.A.; VERGÜTZ, L.; NOVAIS, R.F.; COSTA, L.M.; PINTO, F.G.; TRONTO, J. Layered Double Hydroxides: nanomaterials for applications in agriculture. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. v. 39, n.1, 2015.
- BERGMANN, B.R. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e Cultura**. v.60, n.2, 2008, p. 54-57.
- BOTTAN, R.; NOGUEIRA, T. R.; WYPYCH, F.; LONA, L. M. F. Síntese e Caracterização de Nanocompósitos Esfoliados de Poliestireno – Hidróxido Duplo Lamelar Via Polimerização In Situ. **Polímeros**. São Carlos (Impresso), v. 1, 2011, p.1-10.
- BRASIL. Ministério da Saúde. 2007. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2 ed., Brasília. **Editora do Ministério da Saúde**, 2007. 180 p. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual\\_lta\\_2ed.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_lta_2ed.pdf)> Acesso em: 26 fev, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. 2009. Guia de vigilância epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília. **Editora do Ministério da Saúde**, 2009. Caderno 11, 816p. – ISBN 978-85-334-1632-1. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/gve\\_7ed\\_web\\_atual.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/gve_7ed_web_atual.pdf)>. Acesso em: 27 jul, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. 2011a. Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção Leishmania-HIV. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília. **Editora do Ministério da Saúde**, 2011. 106 p. – ISBN 978-85-334-1771-7. Disponível em:

<[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/leishmania\\_hiv\\_web\\_25\\_01\\_11.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/leishmania_hiv_web_25_01_11.pdf)> Acesso em: 26 ago, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. 2012. **Editora do Ministério da Saúde**, 2012. 444 p. Disponível em:

<[http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2013/Fev/21/saudebrasil2011\\_parte1\\_cap3.pdf](http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2013/Fev/21/saudebrasil2011_parte1_cap3.pdf)> Acesso em: 19 nov, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 1ed., Brasília: **Ministério da Saúde**, 2014. 120p. Disponível em:

>[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmaniose\\_viscer al.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscer al.pdf). Acesso em: 17 nov, 2015.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2ed. Brasília: Ed. **Ministério da Saúde**, 2010. Disponível em:

[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_leishmaniose\\_tegumentar\\_ame ricana.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar_ame ricana.pdf). Acesso em: 25 jul, 2015.

CARJA, G.; NAKAMURA, R.; AIDA, T.; NIIYAMA H. Towards new drugs formulations: gentamicin-anionic clay as nanohybrids. **Materials Science and Engineering C**. v. 27, 2007, p. 1129–1132.

CARVALHO, A. S.; DUARTE, S. L.; COSTA, J. C. S.; BOECHAT, N. Um Novo Processo para a Obtenção do Antimoniato de Meglumina, Visando a Produção do Medicamento Genérico. **Revista Virtual de Química**. v. 7, n. 2, 2015, p. 684-696.

CAVANI, F.; TRIFIRO, F.; VACCARI, A.; Hydrotalcite-type anionic clays: preparation, properties and applications. **Catalisys Today**. v.11, 1991, p.173, 1991.

Centers for Disease Control & Prevention. Leishmaniasis. 2009. 1 fotografia. 5,8cm x 4.3cm. Disponível em: <<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/>>. Acesso em: 26 nov, 2014.

CHAKRABORTY, M.; DASGUPTA, S.; SOUNDRAPANDIAN, C.; CHAKRABORTY, J.; GHOSH, S.; MITRA, M.J.; BASU, D. Methotrexate intercalated Zn, Al-layered double hydroxide. **Journal of Solid State Chemistry**. v. 184, 2011, p. 2439–2445.

CHOUDARY, B.M.; BHARATHY, B.; REDDY, Ch. V.; KANTAM, M. L. The first example of heterogeneous oxidation of secondary amines by tungstate-exchanged Mg-Al layered double hydroxides: a green protocol. **Green Chemistry**. v. 4, 2002, p.279–284.

CHUNG, C.M.; ELIZABETH, I. F.; SANTOS, J. L.; GIAROLLA, J.; RANDO, D. G.; ALMEIDA, A. E.; BOSQUESI, P. L.; MENEGON, R. F.; BLAU, L. Prodrugs for the treatment of neglected diseases. **Molecules**. v.13, 2008, p. 616-677.

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

CROFT, S.L.; COOMBS, G.H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in Parasitology**. v.19, 2003, p.502-508.

CREPALDI, E. L.; VALIM, J. B. Hidróxidos duplos lamelares: síntese, estrutura, propriedades e aplicações. **Química Nova**. v.21, 1998, p.300-311.

CUNHA, V.R.R. Hidróxidos Duplos Lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico. **Química Nova**, v. 33, n.1, 2010, p. 159-171.

DATASUS. Sistema de Agravos de Notificação –SINAN. Situação epidemiológica da Leishmaniose Visceral (LV) no Brasil. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/726-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-visceral-lv/11334-situacao-epidemiologica-dados>. Acesso em: 29 de out. de 2013.

DATASUS. Sistema de Agravos de Notificação –SINAN. Situação epidemiológica da Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/723-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-tegumentar-americana-lta/11328-situacao-epidemiologica-dados>. Acesso em: 29 de out. de 2013.

DAVID, C. V.; CRAFT, N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Dermatologic Therapy**. v. 22, 2009, p. 491–502.

DAVIES, C. R.; KAYE, P.; CROFT, S. L.; SUNDAR, S. Leishmaniasis: new approaches to disease control. **BMJ**. v.326, 2003, p.377-382.

DEL ARCO, M.; FERNÁNDEZ, A.; MARTÍN, C. & RIVES, C. Intercalation of mefenamic and meclofenamic acid anions in hydrotalcite-like matrixes. **Applied Clay Science**. v.36, n.13, 2007, p.133-140.

DE ROY, A.; FORANO, C.; EL MALKI, K.; BESSE, J.P. Anionic clays: Trends in pillaring chemistry. In: Ocelli ML, Robson HE, editors. Synthesis of microporous materials. **New York: Van Nostrand Reinhold**. 1992. p.108-69.

DEMICHELI, C.; DE FIGUEIREDO, T. L.; CARVALHO, S.; SINESTERRA, R. D.; LOPES, J. C.; FRÉZARD, F. Physico-chemical characterization of meglumine antimoniate. **Biomaterials**, v. 12, n.1, 1999, p.63-66.

DEMICHELI, C.; FRÉZARD, F.; LECOUCVEY, M.; GARNIER-SUILLEROT, A. Antimony (V) complex formation with adenine nucleosides in aqueous solution. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**. v. 1570, n. 3, 2002, p. 192–198.

DEMICHELI, C.; OCHOA, R.; GOZZO, F. C.; EBERLIN, M. N.; FRÉZARD, F. Pentavalent organoantimonial derivatives: two simple and efficient methods for meglumine antimoniate. **Applied Organometallic Chemistry**. v. 17, 2003, p.226- 231.

DEMICHELI, C.; OCHOA, R.; SILVA, J.B.B.; DE MELO, A.L.; FALCÃO, C.A.M.; ROSSI-BERGMANN, B.; SINISTERRA, R.D.; FRÉZARD, F. Oral delivery of meglumine

antimoniate-beta-cyclodextrin complex for treatment of leishmaniasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2004, v.48, p.100-103.

DONATO, R. K.; LUZA, L.; DA SILVA, R. F.; MORO, C. C.; GUZATTO, R.; SAMIOS, D.; MATĚJKA, L.; DIMZOSKI, B.; AMICO, S. C.; SCHREKKER. The role of oleatefunctionalized layered double hydroxide in the melt compounding of polypropylene nanocomposites. **Materials Science and Engineering C**. v.32, 2012, p.2396–2403.

DORNELAS, C.B.; GRILLO, L.A. M.; BASÍLIO- JUNIOR, I.D.; NASCIMENTO, T.G.; RESENDE, D.K.; TAVARES, M.I.B.; GOMES, A.S.; JUNIOR, A.M.; CABRAL, L.M. Estudo do processo de intercalação via solução PVP-bentonita: a avaliação da influência do tempo reacional, da proporção de polímero-argila e da massa molar média. **Polímeros**, 2010, p. 1.

Drugs for Neglected Diseases *initiative* (DNDi). **Doenças Negligenciadas**. Disponível em: <<http://www.dndi.org.br/pt/doencas-negligenciadas.html>> Acesso em 26 ago, 2015.

FERREIRA, F.M.; CASTRO, R.A.O.; BATISTA, M.A.; ROSSI, F.M.O.; SILVEIRA-LEMONS, D.; FRÉZARD, F. Association of water extract of green propolis and liposomal meglumine antimoniate in the treatment of experimental visceral leishmaniasis. **Parasitology Research**. V. 113, 2014, p. 533-543.

FONSECA, A.M.; FARIA, A.R.; RODRIGUES, F.T.G.; NAGEM, R.A.P.; MAGALHÃES, R.D.M.; CUNHA, J.L.R.; BARTHOLOMEU, D.C.; ANDRADE, H.M. Evaluation of three recombinant *Leishmania infantum* antigens in human and canine visceral leishmaniasis diagnosis. **Acta Tropica**. v. 137, 2014, p. 25-30.

FRÉZARD F.; DEMICHELI, C.; FERREIRA, C.S.; COSTA M.A.P. Glutathione-Induced Conversion of Pentavalent Antimony to Trivalent Antimony in Meglumine Antimoniate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 45, n. 3, 2001, p. 913-916.

FRÉZARD, F.; MARTINS, P.S.; BARBOSA, M.C.M.; PIMENTA, A.M.C.; FERREIRA, W.A.; DE MELO, J.E.; MANGRUM, J.B.; DEMICHELI, C. New insights into the chemical structure and composition of the pentavalent antimonial drugs, meglumine antimonate and sodium stibogluconate. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 102, 2008, p. 656–665.

FRÉZARD, F.; DEMICHELI, C.; RIBIRO, R. R. Pentavalent Antimonials: New Perspectives for Old Drugs. **Molecules**. 2009, v.14, p.2317-2336.

GIL, E. S.; CUNHA, L. C.; PAULA, J. R.; BEZERRA, J. C. B.; AGUIAR, F. A. Leishmaníase: arsenal terapêutico e alvos moleculares. **Vita et sanitas**. v.1, n.1, 2007, p.90-115.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira Epidemiologia**. v. 7, n.3, 2004, p338-349.

GOODWIN, L.G., PAGE, J.E. A study of the excretion of organic antimonials using a polarographic procedure. **The Biochemical Journal**. v.37, 1943, p.198-209.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**. v. 26, 2012, p. 293-307.

GUO, L.; WU, Z.; LIU, T.; WANG, W.; ZHU, H. Synthesis of novel Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> nanorods. **Chemical Physics Letters**. v. 318, 2000, p. 49–52.

HERNÁNDEZ, I. P.; MONTANARI, J., VALDIVIESO, W.; MORILLA, M. J.; ROMERO, E. L.; ESCOBAR, P. In vitro phototoxicity of ultradeformable liposomes containing chloroaluminum phthalocyanine against New World Leishmania species. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v.117, 2012, p.157–163.

ISLAM, M.; PATEL, R. Nitrate sorption by thermally activated Mg/Al chloride hydrotalcitelike compound. **Journal of Hazardous Materials**. v.169, 2009, p.524–531.

JAIN, K.; JAIN, N.K. Vaccines for visceral leishmaniasis: A review. **Journal of Immunological Methods**. v. 422, 2015, p. 1-12.

JAYACHANDRAN, K. Electrical, Optical and Structural Studies in Bismuth, Antimony, Bismuth Oxide and Antimony Oxide Thin Films. **Ph.D. Thesis, Mahatma Gandhi University, Kerala, 1997.**

JI, T.; TANG, M.; GUO, L.; QI X.; YANG, W.; XU, H. Scalable synthesis of Sb(III)Sb(V)O<sub>4</sub> nanorods from Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> powder via solvothermal processing. **Solid State Communications**. v. 133, n.12, 2005, p. 765–769.

KHAN, A. I.; RAVAGAN, A.; FONG, B.; MARKLAND, C.; O'BRIEN, M.; DUNBAR, T. G.; WILLIAMS, G. R.; O'HARE, D. Recent Developments in the Use of Layered Double Hydroxides as Host Materials for the Storage and Triggered Release of Functional Anions. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. v.48, 2009, p.10196–10205.

KLOPROGGE, J.T., FROST, R.L. Fourier Transform Infrared and Raman spectroscopy study of the local structure of Mg, Ni and Co-hydrotalcites. **Journal Solid State Chemistry**. v.146, 1999, p.506-515.

KLOPROGGE, J. T.; KRISTÓFB, J.; FROST, R. L. Thermogravimetric analysis-mass spectrometry (TGA-MS) of hydrotalcites containing CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> or ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>. 12th, International clay conference; 2001 - **A Clay Odyssey**, p. 451-458

LI, F.; WANG, Y.; YANG, Q.; EVANSA, D.G.; FORANO, C.; DUANA, X. Study on adsorption of glyphosate (N-phosphonomethyl glycine) pesticide on MgAl-layered double hydroxides in aqueous solution. **Journal of Hazardous Materials**. v. 125, 2005, p.89-85.

MA, X.; ZHANG, Z.; LI, X.; DU, Y.; XU, F.; QIAN, Y. Micro-sized Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> octahedra fabricated via a PEG-1000 polymer-assisted hydrothermal route. **Journal of Solid State Chemistry**. v. 177, n.10, 2005, p. 3824–3829.

MARANGONI, R. **Imobilização de nanopartículas de ferro em óxidos isolantes e semicondutores**. Dissertação (Mestre em Química). Programa de Pós Graduação em Química do Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná. Paraná, 2005.

MARSDEN, P.D. Pentavalent antimonials: old drugs for new diseases. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.18, 1985, p.187-198.

MARTÍ, F.B.; CONDE, F.L.; JIMENO, S.A.; MÉNDEZ, J.H. **Química Analítica Cualitativa**. 15ª ed., Madrid: Paraninfo, 1992.

- MARTINS, P. S. **Mecanismos envolvidos no aumento da concentração plasmática de Sb a partir das composições de antimoniato de meglumina com ciclodextrina, visando o tratamento oral das leishmanioses.** 2007. 144p. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia. Instituto De Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – MG. 2007.
- MCDOWELL, M. A.; MAROVICH, M.; LIRA, R.; BRAUN, M.; SACKS, D. Leishmania priming of human dendritic cells for CD40 ligand-induced interleukin-12p70 secretion is strain and species dependent. **Infection and Immunity.** v.70, n.8, 2002, p. 3994–4001.
- MCGWIRE, B.S.; SATOSKAR, A.R. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. **The Quarterly Journal of Medicine.** v. 107, 2013, p. 7-14.
- MENEZES, J.B.; SILVA, T.A.; SANTOS, J.B.; RAMONES, E.L.C.; MENEGHETTI, M.R.; MATTA, C.B.B.; MOREIRA, M.S.A.; MAGALHAES, N.S.S.; GRILLO, L.A.M.; DORNELAS, C.B. Layered Double Hydroxides (LDHs) as carrier of antimony aimed for improving leishmaniasis chemotherapy. **Applied Clay Science.** v.127, 2014, p.91–92.
- MORAIS, R.C.S. **Aplicabilidade da técnica de pcr em tempo real para caracterização de espécies de leishmania.** Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia em Saúde). Centro De Pesquisas Aggeu Magalhães – CpqAM, Recife, 2015.
- NETO, V. A.; AMATO, V. S.; GRYSCHKEK, R. C. B. Parasitologia: uma abordagem clínica. 1. ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2008.
- NEUMANN, M. G.; GESSNER, F.; CIONE, A. P. P.; SARTORI, R. A.; CAVALHEIRO, C. C. S. Interações entre corantes e argilas em suspensão aquosa. **Química Nova.** v.23, n.6, 2000, p.818-824.
- NGURE, P. K.; KIMUTAI, A.; NG'ANG'A, Z. W.; RUKUNGA, G.; TONUI, W. K. A review of Leishmaniasis in Eastern Africa. **Journal of Nanjing Medical University.** v.23 n.2, 2009, p.79-86.
- OMS. Organização Mundial de Saúde **Leishmaniasis.** Disponível em: <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>. Acesso em: 9 jun. 2015.
- PAGLIANO, P.; CARANNANTE, N.; ROSSI, M.; GRAMICCIA, M.; GRADONI, L.; FAELLA, F. S.; GAETA, G. B. Visceral leishmaniasis in pregnancy: a case series and a systematic review of the literature. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.** v.55, n.2, 2005, p. 229-233.
- PAIVA, L.B.; MORALES, A.R.; GUIMARÃES, T.R. Propriedades mecânicas de nanocompósitos de polipropileno e montmorilonita organofílica. **Polímeros.** v. 16, n.2, 2006, p. 136-140.
- PASTORINO, A. C.; JACOB, C. M. A.; OSELKA, G. W.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. S. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **Jornal de Pediatria.** v.78, n.2, 2002.

- PAVLI, A.; MALTEZOU, H.C. Leishmaniasis, an emerging infection in travelers. **International Journal of Infectious Diseases**. v.14, 2010, p.1032–1039.
- PERIOLI, L.; AMBROGI, V.; DI NAUTA, L.; NOCCHETTI, M.; ROSSI, C. Effects of hydrotalcite-like nanostructured compounds on biopharmaceutical properties and release of BCS class II drugs: the case of flurbiprofen. **Applied Clay Science**. v. 51, 2011, p. 407–413.
- PERIOLI, L.; MUTASCIO, P.; PAGANO, C. **Influence of the Nanocomposite MgAl-HTlc on Gastric Absorption of Drugs: In Vitro and Ex Vivo Studies**. **Pharmaceutical Research**. v. 30, n. 1, 2013, p.156-166.
- QUINNELL, R.J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology**. v. 136, 2009, p.1915–1934.
- RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R.; TOMAZELA, D. M.; JESÚS, M. N.; MARZAL, P. C. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**. v. 26, n. 4, 2003, p.550-555.
- REITHINGER, R.; DAVIES, C. R. Canine leishmaniasis: novel strategies for control. The 2<sup>nd</sup> International Forum on Canine leishmaniasis was held in Seville, Spain. **Trends in Parasitology**, v.18, n.7, 2002, p. 289–290.
- REY, L. Parasitologia – Parasitos e doenças parasitárias do Homem nas Américas e na África. 3<sup>a</sup> edição. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2001.
- RIVES, V.; DEL ARCO, M.; MARTÍN, C. Intercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review. **Applied Clay Science**, v. 88, 2014, p. 239-269.
- ROBERTS, W. L.; MURRAY, W. J.; RAINEY, P. M. Characterization of the antimonial antileishmanial agent meglumine antimonate (glucantime). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 42, 1998, p. 1076-1082.
- SAN ROMÁN, M.S.; HOLGADO, M.J.; SALINAS, B.; RIVES, V. Characterisation of Diclofenac, Ketoprofen or Chloramphenicol Succinate encapsulated in layered double hydroxides with the hydrotalcite-type structure. **Applied Clay Science**. v. 55, 2012, p.158-163.
- SANTOS, M.R.; KRIGNL, C.J.; NAVA, A.; REIK, C.M.S.; SILVA, F.E.B.; ROMAN, S.S. Avaliação do efeito cumulativo do antimoniato de meglumina sobre a prole de camundongos swiss: ensaio biológico. **Revista da Associação de Medicina Brasileira**. v.54, n.1, 2008, p.13-16.
- SERENO, D.; CAVALEYRA, M.; ZEMZOUNI, K.; MAQUAIRE, S.; OUAISSI, A.; LEMESRE, J. L. Axenically Grown Amastigotes of *Leishmania infantum* Used as an In Vitro Model To Investigate the Pentavalent Antimony Mode of action. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. v.42, n. 12, 1998, p. 3097–3102.
- SHIMAMOTO, G. G.; KAZITORIS, B.; DE LIMA, L. F. R.; DE ABREU, N. D.; SALVADOR, V. T.; BUENO, M. I. M. S.; DE CASTRO, E. V. R.; FILHO, E. A. S.; ROMÃO, W. **Química Nova**. v.34, 2011, p. 1389.

- SILION, M.; HRITCU, D.; POPA, M. I. Preparation and characterization of ketoprofen layered double hydroxide compounds. **Journal of optoelectronics and advanced materials**. v.12, n. 10, 2010, p.2150-2156.
- SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**. v.1, n. 1, 2007, p. 20-31.
- SILVERSTEIN, R., M.; WEBSTER, F. X. KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7 ed. New York, USA, 1962, 502p.
- STOCKDALE, L.; NEWTON, R. A review of preventative methods against human leishmaniasis infection. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 7, n. 6, 2013, p. e2278.
- TAMMARO, L.; COSTANTINO, U.; BOLOGNESE, A.; SAMMARTINO, G.; MARENZI, G.; CALIGNANO, A.; TETÈ, S.; MASTRANGELO, F.; CALIFANO, L.; VITTORIA, V. Nanohybrids for controlled antibiotic release in topical applications. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 29, 2007, p. 417–423.
- TANG, J.; WANG, Y.; JIAO, Z.; WU, M. Self-assembly nanostructures of one-dimensional antimony oxide and oxychloride. **Materials Letters**. v. 63, n.17, 2009, p. 1481–1484.
- TEIXEIRA-NETO, E.; TEIXEIRA-NETO, A.A. Modificação química de argilas: desafios científicos e tecnológicos para obtenção de novos produtos com maior valor agregado. **Química Nova**. v.32, n.3, 2009, p. 809–817.
- VIAL, S.; FORANO, C.; SHAN, D.; MOUSTY, C.; BARHOUMI, H.; MARTELET, C.; JAFFREZIC, N. Nanohybrid-layered double hydroxides/urease materials: Synthesis and application to urea biosensors. **Materials Science and Engineering: C**. v. 26, 2006, p. 387–393.
- WALKER, J.; GONGORA, R.; VASQUEZ, J.J.; DRUMMELSMITH, J.; BURCHMORE, R.; ROY, G.; OUELLETTE, M.; GOMEZ, M.A.; SARAVIA, N.G. Discovery of factors linked to antimony resistance in *Leishmania panamensis* through differential proteome analysis. **Molecular and Biochemical Parasitology**. v. 183, 2012, p.166–176.
- WANG, Y.; ZHANG, D. Synthesis, characterization, and controlled release antibacterial behaviour of antibiotic intercalated Mg–Al layered double hydroxides. **Materials Research Bulletin**. v. 47, 2012, p. 3185–3194.
- YAN, S.; LI, F.; DING, K.; SUN, H. Reduction of pentavalent antimony by trypanothione and formation of a binary and ternary complex of antimony (III) and trypanothione. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**. v. 8, 2003, p. 689–697.
- YAN, S.; JIN, L.; SUN, H. Antimony in Medicine. *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine*. **John Wiley & Sons**. 2005, p.441-461.
- ZHANG, K.; SHOWALTER, M.; REVOLLO, J.; HSU, F. F.; TURK, J.; BEVERLEY, S. M. Sphingolipids are essential for differentiation but not growth in *Leishmania*. **The EMBO Journal**. v.22, n.22, 2003, p.6016–6026.

ZHANG, X.Q.; ZENG, M.G.; LI, S.P.; LI, X.D. Methotrexate intercalated layered double hydroxides with different particle sizes: structural study and controlled release properties. **Colloids Surf B Biointerfaces**. v. 117, 2014, p. 98–106.