



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

ALINE SILVA FERREIRA

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO DO SISTEMA
NANOPARTICULADO β -LAPACHONA:MOF (nZIF-8)**

Recife

2020

ALINE SILVA FERREIRA

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO DO SISTEMA
NANOPARTICULADO β -LAPACHONA:MOF (nZIF-8)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Produção e Controle de Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Recife
2020

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

F383o Ferreira, Aline Silva

Obtenção, caracterização e avaliação da liberação do sistema nanoparticulado β -Lapachona:MOF (nZIF-8) / Aline Silva Ferreira. – 2020.
133 f.: il.; tab.; quad.; 30 cm.

Orientador: Pedro José Rolim Neto.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2020.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Neoplasias. 2. Dissolução. 3. Solubilidade. 4. β -Lapachona. 5. nZIF-8. I. Rolim Neto, Pedro José (Orientador). II. Título.

615.3

CDD (20.ed.)

UFPE (CCS2020-066)

ALINE SILVA FERREIRA

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO DO SISTEMA
NANOPARTICULADO β -LAPACHONA:MOF (nZIF-8)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 17/02/2020.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr^a. Rosali Maria Ferreira da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Rodolfo Hideki Vicente Nishimura (Examinador Externo)
Universidade Federal Vale do São Francisco

Dedico esse trabalho a minha Inha, por todo esforço que fez para garantir minha formação, sendo sempre a fonte da minha força. Te amo, mãe!

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda coragem e força que me dá para enfrentar todos os meus objetivos, e pela imensa proteção que derrama sobre mim. Por todas as bênçãos que derramou na minha vida, pois por meio dEle tudo foi possível.

Minha Inha por ser a melhor mãe do mundo, um presente de Deus pra mim, motivo do meu orgulho e meu exemplo de pessoa forte e guerreira. Dona dos melhores conselhos, cuidados e amor. Além da grande responsável por tudo que me tornei, por me incentivar a buscar meus sonhos e por mais essa conquista. Te amo demais, inha! Eu tenho muita sorte de você ser luz na minha vida. E obrigada por toda a paciência com minhas agonias kk.

Ao meu noivo, que vem me acompanhando nos últimos 7 anos, apoiando-me de uma forma inigualável, vibrando por cada conquista minha, sendo um dos principais responsáveis por mais essa. Aquele que me dá muita força, amor e é dono da maior paciência do mundo. Levava e buscava na UFPE, ficava no laboratório até tarde me esperando acabar experimento e ainda me ajudou na dissertação. Muito obrigada meu amor, tenho muito orgulho de você. Ainda bem que você existe na minha vida, és muito importante pra mim, eu te amo!

Minha vó linda, que segue acompanhando toda minha trajetória, cuidando de mim. Minha vó zefinha e meu vô Júlio *in memoria*, queria muito que pudessem estar presentes nesse momento, sinto muita falta, mas sei que estão olhando por mim lá de cima. À minha Família e meus sogros, que sempre torceram e ficaram felizes por cada degrauzinho que eu subi. E ao meu padrasto, por sempre fazer tudo que pode para me ajudar por torcer e ficar feliz por cada prova que passo e cada coisinha que conquisto. Amo muito vocês.

Ao melhor orientador, que me acolheu como um pai, Prof. Pedro Rolim, eu morro de orgulho do senhor e de ser sua aluna. Graças ao senhor a menina que vinha de instituição privada e tinha o sonho de fazer pesquisa, o realizou, e de lá, até hoje, seus ensinamentos me fizeram crescer muito profissionalmente e pessoalmente. Um exemplo de profissional e de ser humano, para mim. Admiro sua responsabilidade e dedicação frente ao laboratório, além de seu cuidado comigo, conversando, dando conselhos e até puxões de orelha quando mereci, um amigo. Amo o senhor, és muito especial para mim, amostrado kkk (brincadeira).

Profa. Rosa, sempre uma amiga, disposta a ajudar e conversar. A senhora deu início a esse sonho quando aceitou ser minha orientadora de iniciação científica e, a partir disso, criei um laço e uma admiração profunda por você. Sempre que estou no laboratório vou lá na sua sala para conversar sobre algo. Agradeço-lhe por tudo e pelas oportunidades dos artigos e

capítulos de livro, por tirar minhas dúvidas quando chego na sua sala; isso tudo me fez crescer bastante na pesquisa. A senhora é maravilhosa!

Profa. Larissa Rolim, que durante o ano em suas vindas ao LTM com todo seu carisma me ajudou bastante, com a frase dela de “em cinco minutos eu resolvo a tua vida” e resolveu mesmo haha. Obrigada, eu lhe tenho como um exemplo de profissional.

Ao meu grupo de pesquisa, o melhor desse mundo, minhas meninas! Nat, te agradeço pelos longos dias trabalhando até tarde no laboratório para conseguir bons resultados, pela parceria que deu super certo, pelas conversas e risadas, tu és brilhante. Linne, muito obrigada por repassar para mim tudo que você aprendeu, por toda a paciência, por atender minhas ligações desesperadas kkk, admiro-te muito por sua dedicação. Obrigada pela amizade, pelas nossas reuniões, eu amo vocês e nosso Bielzinho!

A Leslie, meu professor e orientador de TCC, um dos meus maiores incentivadores! Graças a você eu cheguei ao LTM e estou colhendo os frutos de muito trabalho. Você é incrível, um ser humano iluminado, te admiro sem limites. Amo você.

À minha família LTM, em especial a Lari (minha professora de graduação, pelas ajudas com as ideias mais geniais quando eu precisava usar alguns equipamentos), Anja (minha irmã, está comigo desde o ensino médio e sempre que precisei ela esteve presente para me estender a mão, espero poder retribuir, amo você), Thâmara (minha duplinha, olha só onde chegamos e o quanto evoluímos juntas, você é sensacional), Camilete (quando eu precisei de um empurrãozinho tu foi lá e deu, tu nem sabe a gratidão que ficou por isso, tu és fantástica e morro de orgulho de tu), Marquinhos (pelas conversas e pela alegria que tu transmite), Mersinho (pelas minhas análises de TG e DSC), Victor (meu basculi, pelas traduções), Myla e Lucas (por serem arengueiros e maravilhosos), Arisa (pelas caronas e pelas trocas de informações para dissertação), Paulo (pela consultoria de análise térmica), Taysita (pelas conversas e divisão de aperreio), Laysa (pelos socorros quando eu ficava sozinha), Adri (pelas centrifugações), Deb (por todo apoio), Marcelo (pelo *docking* molecular) e aos demais que, de alguma forma, fizeram parte dessa trajetória, todos vocês tornaram a caminhada bem mais leve.

Prof. Severino, Yuri e Yago, pela ajuda e fornecimento da nZIF-8.

Profa. Jaqueline, Thays e Eduarda, pela disponibilidade no estudo de citotoxicidade.

Por fim, agradeço ao CNPq, pelo financiamento ofertado para que esse projeto pudesse ser executado. E ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, principalmente ao corpo docente, Neri e Rilvan, pela competência e responsabilidade.

RESUMO

A β -Lapachona (β -LAP) vem sendo exaustivamente estudada devido ao seu excelente potencial antineoplásico *in vitro*, principalmente frente às linhagens de câncer refratárias aos tratamentos convencionais. Entretanto, é classificada como classe II pelo sistema de classificação biofarmacêutica, apresentando absorção limitada, devido à baixa taxa de dissolução. Visando resolver esse entrave esse trabalho objetivou obter, caracterizar e avaliar a liberação de sistemas de β -LAP com uma estrutura organometálica em escala nanométrica, chamada *Nano Zeolitic Imidazolate Framework* (nZIF-8). Um método de quantificação da β -LAP por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (Uv-vis) foi validado para doseamento dos sistemas. Os sistemas foram obtidos por um método *ex situ*, mediante agitação do fármaco junto a nZIF-8 e selecionados os de maior percentual de incorporação para prosseguir. As caracterizações foram realizadas por Uv-vis, espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difratometria de raios-X (DRX), termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), para avaliar a formação dos sistemas. Foram realizados estudo de *docking* molecular e ensaios de dissolução *in vitro* nas condições *sink* em diferentes pHs e *non-sink*, que evidenciaram o perfil de liberação da β -LAP da nZIF-8. Os perfis de dissolução foram analisados por área sob a curva e eficiência de dissolução. Os sistemas obtidos em etanol apresetaram 22,5%, e em metanol, 15,8% de incorporação do fármaco à nZIF. O DRX mostrou significativa redução na cristalinidade do fármaco confirmada pelo MEV e pelo DSC, junto com as demais análises corroboraram com a formação dos sistemas β -LAP:nZIF-8. Nos estudos de dissolução, nas condições *sink* o sistema obtido em metanol conseguiu um maior incremento de solubilidade e modulação na liberação do fármaco de acordo com o pH utilizado, em pH 6,8, liberou em torno de 65% de β -LAP em 6 h, enquanto que nos outros pHs, foram obtidos percentuais de liberação menores mas, ainda assim superiores ao fármaco isolado. E sob condição *non-sink* em pH 6,8, o perfil de dissolução dos sistemas revelou a capacidade que o carreador apresenta de manter o fármaco em solução supersaturada, sugerindo possivelmente maior biodisponibilidade. Dessa forma, obtiveram-se sistemas capazes de superar as limitações de solubilidade da β -LAP, sendo esse estudo um dos pioneiros na demonstração da nZIF-8 como agente para incremento de solubilidade de fármacos pouco solúveis com melhores taxas de dissolução e modulação de liberação.

Palavras-chave: Neoplasias. Dissolução. Solubilidade. β -Lapachona. nZIF-8.

ABSTRACT

β -Lapachona (β -LAP) has been extensively studied due to its excellent antineoplastic potential *in vitro*, especially in view of cancer lines resistant to conventional therapies. However, it is classified as class II by the biopharmaceutical classification system, leading to limited absorption due to the low dissolution rate. Thus, to overcome this obstacle, this work aimed to obtain, characterize and evaluate the release of β -LAP systems with an organometallic structure on a nanometric scale, called Nano Zeolitic Imidazolate Framework (nZIF-8). A method of quantifying β -LAP by absorption spectroscopy in the ultraviolet-visible region (UV-vis) has been revalidated for the determination of systems. The systems were obtained by an *ex situ* method, by stirring the drug with nZIF-8 and the highest percentages of incorporation were selected to proceed. The characterizations were carried out through UV-vis, absorption spectroscopy in the infrared region with Fourier transform (FTIR), X-ray diffraction (XRD), thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC), scanning electron microscopy (SEM) to assess the formation of the systems. Molecular docking studies and *in vitro* dissolution tests were carried out under sink conditions at different pHs and non-sink, which showed the release profile of nZIF-8: β -LAP. The dissolution profiles were analyzed through the area under the curve and dissolution efficiency. The systems obtained in ethanol presented 22.5% of drug incorporation to nZIF and 15.8% in methanol. The XRD showed a significant reduction in the crystallinity of the drug confirmed by the SEM and the DSC, which along with the other analyzes corroborated with the formation of the β -LAP:nZIF-8 systems. In the dissolution study, under *sink* conditions the β -LAP:nZIF-8 system obtained in methanol achieved a greater increase in solubility and modulation in the release of the drug according to the pH tested, where at pH 6.8 released around 65% of β -LAP in 6 h while in the other pHs values, slightly lower percentages of release were obtained, but still higher than the drug alone. And under a *non-sink* condition at pH 6.8, the dissolution profile of the systems revealed the carrier's ability to maintain the drug in supersaturated solution, suggesting a greater bioavailability. Thus, systems capable of overcoming the solubility limitations of β -LAP were obtained, this study being one of the pioneers in demonstrating nZIF-8 as an agent for increasing solubility of poorly soluble drugs with better dissolution rates and release modulation.

Keywords: Neoplasms. Dissolution. Solubility. β -Lapachona. nZIF-8.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Dados epidemiológicos de câncer a nível mundial, A) Países com maiores incidências de câncer e B) Cânceres mais prevalentes no mundo	24
Figura 2 –	Ciclo de replicação celular esquemático para célula em mitose .	29
Figura 3 –	Árvore ipê-roxo (A) e estruturas químicas do Lapachol, α -Lapachona e β -Lapachona (B)	32
Figura 4 –	Métodos de síntese e aplicações das MOFs	41
Figura 5 –	Estrutura das ZIFs	43
Figura 6 –	Fluxograma geral para obtenção dos sistemas β -Lapachona:nZIF-8	54
Figura 7 –	Varredura do espectro de absorção na região do UV-Vis da β -LAP e da nZIF-8 em etanol (A) e metanol (B)	68
Figura 8 –	Aspecto macroscópico: A) β -LAP; B) nZIF-8; C) Mistura física do sistema etanol 3:1; D) Mistura física do sistema metanol 3:1; E) Sistema obtido em etanol 3:1; F) Sistema obtido em metanol 3:1	69
Figura 9 –	Curvas de eficiência de incorporação (EI%) dos Sistemas β -LAP:nZIF-8 obtidos em etanol nas proporções molares 1:1, 1:3 e 3:1 (mol/mol)	70
Figura 10 –	Curvas de eficiência de incorporação (EI%) dos Sistemas β -LAP:nZIF-8 obtidos em metanol nas proporções molares 1:1, 1:3 e 3:1 (mol/mol)	71
Figura 11 –	Espectro de absorção na região do UV-Vis do parâmetro seletividade referente ao método com etanol: A) Presmich e colaboradores (2010A) e B) Método Ajustado	74
Figura 12 –	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com etanol	75
Figura 13 –	Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com etanol	76
Figura 14 –	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente	

	ao método ajustado (com HCl 1M) com etanol	76
Figura 15 –	Gráfico dos resíduos da linearidade por meio do cálculo de regressão linear referente método ajustado (com HCl 1M) com etanol	77
Figura 16 –	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com etanol	78
Figura 17 –	Espectro de absorção na região do UV-Vis do parâmetro seletividade referente ao método com metanol: A) Presmich e colaboradores (2010A) e B) Método Ajustado	82
Figura 18 –	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com metanol	83
Figura 19 –	Gráfico dos resíduos da linearidade por meio do cálculo de regressão linear referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com metanol	84
Figura 20 –	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método ajustado (com HCl 1M) com metanol	84
Figura 21 –	Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente método ajustado (com HCl 1M) com metanol	85
Figura 22 –	Paralelismo entre retas das curvas com metanol no efeito matriz	86
Figura 23 –	Espectros de infravermelho da β -LAP, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em metanol e etanol	92
Figura 24 –	Difratogramas de raios-X da β -LAP, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em metanol e etanol	94
Figura 25 –	Curvas TG da β -LAP, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em metanol e etanol	98
Figura 26 –	Curvas DSC da β -LAP, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em metanol e etanol	102
Figura 27 -	Cromatograma da β -LAP obtido em 257 nm (A) conforme a absorção máxima de UV demonstrada no espectro obtido pelo DAD (B)	103
Figura 28 –	Microscopia Eletrônica de Varredura A) β -LAP; B) nZIF-8; C) MF β -LAP:nZIF-8 ET; D) MF β -LAP:nZIF-8 MET; E) SIS β -	

	LAP:nZIF-8 3:1 ET F) SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET	105
Figura 29 –	Solução de <i>docking</i> molecular mais favorável entre a ZIF-8 e a β -Lapachona. Destaque para a interação entre o cátion Zn^{2+} da ZIF-8 e o anel benzênico da β -Lapachona, ambos em laranja	106
Figura 30 –	Perfis de dissolução <i>sink</i> da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP: nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em pH 1,2	109
Figura 31 –	Perfis de dissolução <i>sink</i> da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em pH 4,5	110
Figura 32 –	Perfis de dissolução <i>sink</i> da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em água (pH 6,1)	111
Figura 33 –	Perfis de dissolução <i>sink</i> da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em pH 6,8	113
Figura 34 –	Perfis de dissolução <i>non-sink</i> da β -Lapachona e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em pH 6,8 de 0-6 h (A) e uma ampliação dos perfis de 0-1 h (B). A linha tracejada indica a concentração de saturação (C_s)	116

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Linhagens celulares sensíveis à atividade antitumoral da β -LAP	33
------------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Reagentes utilizados para a obtenção dos sistemas, revalidação do método de doseamento e preparo dos meios para os ensaios de solubilidade e dissolução	51
Tabela 2 –	Método com etanol através da variação intencional de pH HCl 1M	78
Tabela 3 –	Repetibilidade do método com etanol	79
Tabela 4 –	Exatidão do método com etanol	80
Tabela 5 –	Método com metanol através da variação intencional de pH HCl 1M	86
Tabela 6 –	Repetibilidade do método com metanol	87
Tabela 7 –	Exatidão do método com metanol	88
Tabela 8 –	Doseamento do β -LAP por espectrofotometria	89
Tabela 9 –	Cálculo do espaçamento basal dos picos de reflexão 011, 002 e 112 da nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas obtidos em etanol e em metanol	95
Tabela 10 –	Solubilidade da β -LAP (mg/mL) em diferentes meios	107
Tabela 11 –	Valores de AUC [β -LAP (%) x h] e ED (%) obtidos a partir dos perfis de dissolução da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol	114

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AUC	Área sob a Curva
ATP	Adenosina trifosfato
ATR	Reflectância total atenuada
β -LAP	β -Lapachona
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMC	Concentrações críticas de micelas
CD	Ciclodextrina
CMD	Concentração Média Determinada
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DDS	<i>Drug Delivery System</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DRX	Difração de Raios-X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria Diferencial
DP	Desvio-Padrão
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
DPR	Desvio-Padrão Relativo
DOX	Doxorrubicina
DS	Dispersão Sólida
DSA	Dispersão Sólida Amorfa
EPR	Permeabilidade e Retenção
ED	Eficiência de Dissolução
EDS	Dispersão de Energia
EI	Eficiência de Incorporação
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier
GLOBOCAN	<i>Global Cancer Observatory</i>
HP- β -CD	2-Hidropropil- β -ciclodextrina

IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
I	Interfase
LAFPE	Laboratório Farmacêutico do Pernambuco
MTT	Metiltetrazólio
MF	Mistura Física
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MIL	Materiais do Instituto Lavoisier
MOF	<i>Metal Organic Framework</i>
M	Mitose
nZIF-8	Do inglês <i>Nano Zeolitic Imidazolate Framework</i>
nMOF	Do inglês <i>Metal Organic Framework</i>
NLCs	Transportadores Lipídicos Nanoestruturados
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NQO1	NAD(P)H: Quinona Oxidorredutase 1
OMS	Organização Mundial de Saúde
PTX	Paclitaxel
PLA	Poli (D, ácido L-láctico)
P-gp	P-glicoproteína
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial Hidrogeniônico
rpm	Rotações por Minuto
RM- β -CD	Randômica Metilada- β -Ciclodextrina
ROS	Espécies Reativas de oxigênio
SBE- β -CD	Éter Sulfobutil- β com Ciclodextrina
SI	<i>Sink Index</i>
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
TG	Termogravimetria
USP	Farmacopeia Americana (do inglês <i>United States Pharmacopeia</i>)
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
ZIF-8	Do inglês <i>Zeolitic Imidazolate Framework</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

[]	Concentração
Å	Ângstrom
%	Porcentagem
Δ	Delta ou Variação
ΔH	Variação da energia entálpica
J/g	Joule por grama
kJ	Kilo Joules
M	Molaridade
mol	Quantidade de matéria
min	Minuto
h	Hora
mg	Miligrama
®	Marca Registrada
Cr	Cromo
g	Grama
O	Oxigênio
°C	Graus Celsius
nm	Nanômetro
μm	Micrômetro
μg	Micrograma
Zn	Zinco
μg/mL	Micrograma por mililitro
mm	Milímetro
±	Mais ou menos
θ	Theta
S	Enxofre
C	Carbono
O	Oxigênio
H	Hidrogênio
N	Nitrogênio
SiO ₂	Dióxido de silício

λ	Lâmbda
mL	Mililitro
R^2	Coeficiente de determinação
K	Constante
d	Espaçamento basal
sen θ	Seno do ângulo Theta
°	Graus
V	Volume
Co	Cobalto
Cu	Cobre
R	Coeficiente de Correlação
cm^{-1}	Centímetro
HCl	Ácido Clorídrico
μL	Microlitro
Zn	Zinco
mL/min	Mililitro por Minuto
mg/mL	Miligramas por Mililitro
Im^-	Ânions imidazolatos
°C	Graus Celsius
°C/min	Graus Celsius por minutos
Cs	Concentração de saturação/ solubilidade do farmaco no meio
$C_{\text{máx}}$	Concentração máxima

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
1.1	OBJETIVOS	22
1.1.1	Objetivo Geral.....	22
1.1.2	Objetivos Específicos	22
2	REFERENCIAL TEÓRICO	23
2.1	CÂNCER: ASPECTOS GERAIS.....	23
2.2	CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA.....	29
2.3	β -LAPACHONA	30
2.3.1	Propriedades gerais	30
2.3.2	Atividade biológica	32
2.3.3	Tecnologia farmacêutica: inovação aplicada à β-Lapachona..	35
2.4	INCREMENTO DE SOLUBILIDADE.....	37
2.5	NANOTECNOLOGIA	38
2.6	<i>METAL ORGANIC FRAMEWORKS (MOFs)</i>	39
2.6.1	<i>Nano Metal Organic Frameworks (nMOF)</i>	42
2.6.2	<i>Zeolitic Imidazolate Framework (ZIF-8)</i>	42
2.6.3	<i>Nano Zeolitic Imidazolate Framework (nZIF-8)</i>	44
2.7	CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS FARMACÊUTICOS ...	45
2.7.1	Espectroscopia de absorção na região do UV-Visível (UV-Vis)	45
2.7.2	Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	46
2.7.3	Difração de Raios-X (DRX)	46
2.7.4	Termogravimetria (TG)	47
2.7.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	47
2.7.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	48
2.7.7	Estudos <i>in silico</i>	48
2.7.8	Estudo de dissolução	49
3	MATERIAL E MÉTODOS	51
3.1	MATERIAL.....	51
3.2	MÉTODOS	52
3.2.1	Espectrofotometria de absorção na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis).....	52

3.2.2	Obtenção dos sistemas β-Lapachona:nZIF-8.....	52
3.2.3	Revalidação do método analítico para quantificação da β-Lapachona presente nas Misturas Físicas e Sistemas por espectrofotometria no UV-Vis	54
3.2.3.1	Equipamentos	55
3.2.3.2	Revalidação do método analítico	55
3.2.3.3	Seletividade	55
3.2.3.4	Linearidade	55
3.2.3.5	Efeito Matriz	56
3.2.3.6	Robustez	57
3.2.3.7	Precisão (Repetibilidade)	58
3.2.3.8	Exatidão	59
3.2.4	Doseamento da β-Lapachona nos Sistemas e Misturas Físicas	60
3.2.5	Caracterização da β-Lapachona, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas.....	61
3.2.5.1	Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho com Transformada de Forrier (FTIR)	61
3.2.5.2	Difração de Raios-X (DRX)	61
3.2.5.3	Termogravimetria (TG)	62
3.2.5.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	62
3.2.5.5	Determinação de Pureza por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	62
3.2.5.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	63
3.2.6	Estudos de Modelagem Molecular	63
3.2.7	Estudos de liberação <i>in vitro</i> das Misturas Físicas e Sistemas β-Lapachona:nZIF-8	64
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
4.1	ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-Vis).....	67
4.2	OBTENÇÃO DOS SISTEMAS β -LAP:nZIF-8	69
4.2.1	Aspecto macroscópico.....	69
4.2.2	Avaliação da incorporação do fármaco nos sistemas β-LAP:nZIF-8	70
4.3	REVALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DA β -LAP PRESENTE NAS	

	MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS POR MEIO DE ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-Vis	72
4.3.1	Revalidação do Método Analítico com Etanol	72
4.3.2	Revalidação do Método Analítico com Metanol	80
4.4	DOSEAMENTO DA β -LAP NAS MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS	89
4.5	CARACTERIZAÇÃO DA β -LAPACHONA, nZIF-8, MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS.....	89
4.5.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	89
4.5.2	Difratometria de Raios-X (DRX).....	93
4.5.3	Termogravimetria (TG)	95
4.5.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	99
4.5.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	103
4.6	ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR	106
4.7	ESTUDOS DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DAS MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS β -LAPACHONA:nZIF-8	107
4.7.1	Ensaio de Solubilidade de Equilíbrio da β-LAP	107
4.7.2	Estudo dos perfis de dissolução <i>in vitro</i>	107
5	CONCLUSÃO	117
5.1	PERSPECTIVAS	118
	REFERÊNCIAS	119
	APÊNDICE A – CURVAS TG E DTA DA NZIF-8.	132
	ANEXO A – RESUMO DE TRABALHO APRESENTADO NO I COLOQUIO REGIONAL EM MORTEC (RECIFE, PE – 2018) INTITULADO: “NMOFS COMO POTENCIAL ALTERNATIVA PARA DESENVOLVIMENTO DE <i>DRUG DELIVERY SYSTEMS</i> ANTICÂNCER”	133

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o câncer ganhou uma grande magnitude, tornando-se um grave problema de saúde pública mundial. A incidência de novos casos da doença vem aumentando ao longo dos anos e está relacionada diretamente ao desenvolvimento socioeconômico. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a cada ano, 8,8 milhões de pessoas morrem de câncer, a maioria em países de baixa e média renda. A estimativa para o Brasil, no biênio 2018-2019, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil casos novos de câncer. Diante desse cenário, nota-se a necessidade de investimentos para desenvolvimento de ações abrangentes para o controle do câncer. Nesse sentido, pesquisas estão sendo desenvolvidas, visando estabelecer mecanismos de incentivo ao desenvolvimento de fitofármacos para combate ao câncer. Novas drogas provenientes de extratos vegetais estão sendo isoladas e descobertas a cada dia e, muitas vezes, servem de modelos para alterações moleculares que resultam em compostos mais eficazes (FÁVARO et al., 1990; BRASIL, 2015; INCA, 2017).

A β -Lapachona, conhecida quimicamente como 3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-naftol[1,2-b]pirano-5,6-diano, é uma ortonaftoquina com significado potencial terapêutico de ocorrência natural, isolada do ipê roxo, ou pau d'arco roxo (*Tabebuia avellanedae* Lor), da família Bignoneaceae. Trata-se de um fitofármaco que vem sendo exaustivamente estudado, devido ao seu excelente potencial antineoplásico *in vitro*, principalmente frente às linhagens de câncer refratárias aos tratamentos convencionais, como o câncer de próstata, mama, ovário, leucemias, melanoma, pâncreas e cólon. Porém, a partir do sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), a β -Lapachona é classificada como classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade). Dessa forma, apresenta-se como um fármaco fracamente solúvel em água e fluidos aquosos, levando a uma absorção limitada devido à baixa velocidade de dissolução (CUNHA-FILHO et al., 2007; BEY, 2007; FREITAS-NETO, 2012; JANG et al., 2013).

É neste contexto do incremento da solubilidade e da modulação da liberação de fármacos, através de excipientes inteligentes, que diversos sistemas carreadores de fármacos vêm sendo desenvolvidos. As redes organometálicas de coordenação, *Metal Organic Framework* (MOF), são materiais híbridos, orgânico-inorgânicos, que apresentam propriedades promissoras para serem utilizados como carreadores de fármacos. A *Zeolitic Imidazolate Framework* (ZIF) é uma subclasse de MOF utilizada para diversos fins, tais como: constituintes de membranas, troca e armazenagem de gases, biossensores, agentes de catálise e carreadores de fármacos (KARAGIARIDI et al., 2012; LIÉDANA et al., 2012).

Entre as ZIF's, destaca-se a ZIF-8 disponíveis em microescala, mais recentemente produzidas e utilizada em nanoescala (nZIF-8) que apresentam vantagens indiscutíveis, tais como: seu tamanho com mais ampla superfície externa, porosidade, alta estabilidade térmica, maior permeabilidade, biocompatibilidade, grande aporte de substâncias químicas, redução de citotoxicidade e em alguns casos entrega direcionada, características interessantes para terapia antineoplásica. Dessa forma despertando o interesse em obter sistemas nanoparticulados de nZIF-8 com a β -Lapachona para o tratamento do câncer (CAI et al., 2015; WU; YANG, 2017; ZHUANG et al., 2014).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Obter, caracterizar e avaliar a liberação do sistema nanoparticulado β -Lapachona:MOF (nZIF-8).

1.1.2 Objetivos Específicos

- ✓ Realizar a caracterização físico-química da β -Lapachona e da MOF (nZIF-8);
- ✓ Obter o sistemas nanopaticulados da β -Lapachona:nZIF-8;
- ✓ Caracterizar as amostras obtidas para a avaliação do processo de obtenção β -Lapachona:nZIF-8;
- ✓ Realizar ensaios de dissolução dos sistemas obtidos β -Lapachona:nZIF-8, para avaliação do perfil de liberação do fitofármaco.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CÂNCER: ASPECTOS GERAIS

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) se referem a quatro grupos de doenças: doenças cardiovasculares, câncer, diabetes mellitus e doenças respiratórias crônicas, que juntas são a principal causa de morbimortalidade em países de baixa e média renda com 80% de óbitos, enquanto que nos países de alta renda corresponde a cerca de 13%, superando as doenças infectocontagiosas. Dessa forma as DCNT atuam de maneira limitante para o crescimento econômico das nações, visto que, ameaçam o desempenho das metas de desenvolvimento do milênio, comportando-se como um desafio para saúde e para economia global (ALWAN et al., 2010).

Segundo Malta e Colaboradores (2016) o aumento das DCNT reflete os efeitos negativos da globalização, das desigualdades no acesso aos serviços de saúde e sociais, da falta de políticas públicas que garantam equidade, da urbanização rápida, da vida sedentária e da alimentação com alto teor calórico e do marketing que estimula o uso do tabaco e do álcool. Exigindo que essas doenças sejam vistas com prioridade para que seja possível trazer melhoras a qualidade de vida da sociedade.

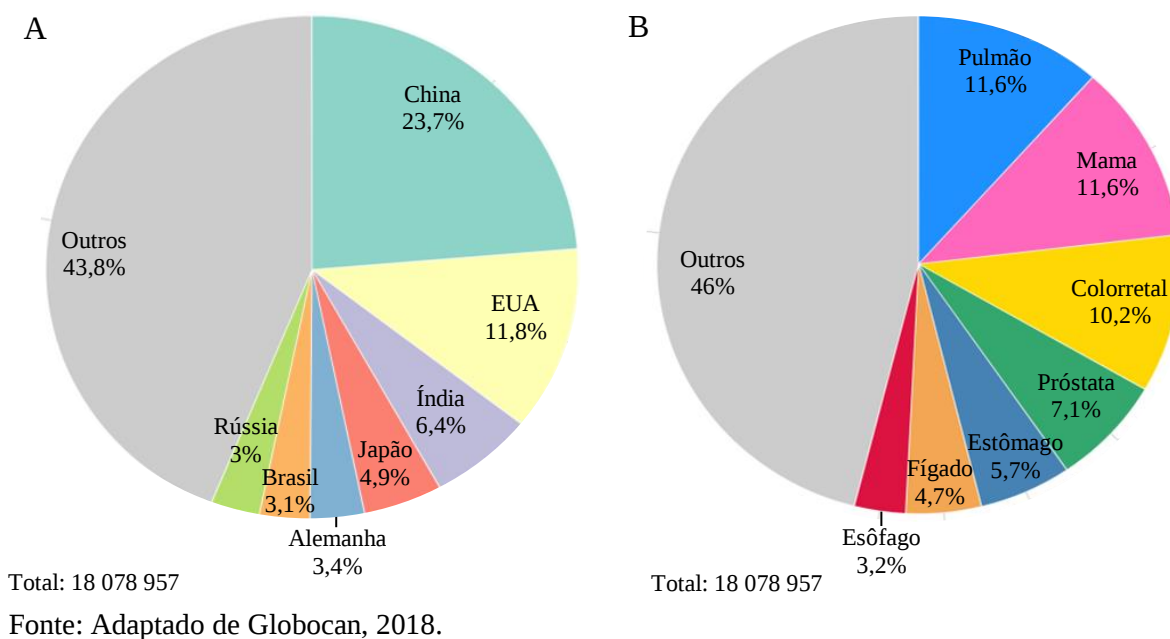
Apesar de as DCNT serem multifatoriais, possuírem causas externas e internas alguns fatores de risco foram eleitos pela organização mundial de saúde (OMS), dentre os quais os principais são: tabagismo, atividade física insuficiente, alimentação não saudável e uso nocivo de álcool, sendo necessário dessa forma criar medidas mais específicas e eficazes voltadas para esses fatores que acontecem de maneira mais predominante como é possível identificar no estudo de Tassitano e Colaboradores (2014).

A partir disso, estratégias foram criadas no Brasil para vigilância epidemiológica de DCNT, que possui como componentes o monitoramento dos fatores de risco, monitoramento da morbidade e mortalidade e monitoramento e avaliação das ações de assistência e promoção da saúde. Que é norteadas pelo Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) no Brasil, 2011-2022, com o objetivo de promover o desenvolvimento e a implementação de políticas públicas efetivas, integradas, sustentáveis e baseadas em evidências para a prevenção e o controle das DCNT e de seus fatores de risco, e fortalecer os serviços de saúde voltados para a atenção aos portadores de doenças crônicas (MALTA et al., 2011).

Nos últimos anos o câncer tomou grande magnitude tornando-se um grave problema de saúde pública a nível mundial, ocupando o segundo lugar dentre as DCNT que mais levam a óbito. A OMS informou que, no ano de 2018, houve em torno de 18,1 milhões de novos casos de câncer no mundo prevendo um aumento desse número para cerca de 29,5 milhões em 2040. Além disso, relatou que nesse mesmo ano foram contabilizados cerca de 9,6 milhões de mortes por causa doença, responsável por cerca de 1 em cada 6 mortes no mundo. 70% das mortes por câncer ocorrem em países de baixa e média renda (WHO A, 2018; WHO B, 2018).

Entre todos os países do mundo os que possuem maior incidência de câncer em geral são China ocupando o primeiro lugar, seguido dos Estados Unidos da América, Índia, Japão, Alemanha, Brasil e Rússia de acordo com os dados do Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) da International Agency for Research on Cancer (IARC) (Figura 1A). Já dentre os cânceres mais prevalentes no mundo estão pulmão, mama, colorretal, próstata, estômago, fígado e esôfago dados obtidos também da base de dados do GLOBOCAN (Figura 1B) (GLOBOCAN, 2018).

Figura 1 - Dados epidemiológicos de câncer a nível mundial, A) Países com maiores incidências de câncer e B) Cânceres mais prevalentes no mundo.



Esses estudos epidemiológicos são de extrema importância, por exhibir o impacto que determinadas doenças causam na sociedade. A partir dos dados obtidos sobre incidência,

prevalência, morbidade e mortalidade das doenças no Brasil e no mundo é possível avaliar essas taxas e planejar estratégias de intervenção. Dessa forma, o câncer foi colocado como uma das doenças que precisam de ações sanitárias prioritárias no Brasil através da portaria nº 399 de 2006, publicada pelo ministério da saúde que divulgou pacto pela saúde 2006 (BRASIL, 2006; BARATA, 2013). Reduzir a mortalidade por câncer é um dos principais desafios que a sociedade, os governos, a comunidade médica e científica enfrentam (GONZALEZ-FIERRO; DUEÑAS-GONZÁLEZ, 2019).

Segundo a estimativa do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), no biênio 2018-2019, iriam ocorrer cerca de 600 mil novos casos de câncer no Brasil. A distribuição da incidência varia entre as regiões brasileiras, o sul e sudeste concentram 70% dos casos novos, enquanto que as regiões centro oeste, norte e nordeste ficam com os outros 30%. Existe grande variação da magnitude e dos tipos de câncer entre as diferentes regiões do Brasil (INCA, 2017; SANTOS, 2018).

De acordo com os dados epidemiológicos do INCA, nas Regiões Sul e Sudeste predominam os cânceres de próstata e de mama feminina, bem como os cânceres de pulmão e de intestino. Na Região Centro-Oeste, apesar de bastante semelhante, incorpora em seu perfil o câncer do colo do útero entre os mais incidentes. E nas Regiões Norte e Nordeste, embora também apresentarem os cânceres de próstata e mama feminina entre os principais, a incidência dos cânceres do colo do útero e estômago tem forte impacto nessa população (INCA, 2017).

As neoplasias caracterizam-se pelo crescimento descontrolado de células formando os tumores, elas podem ser benignas ou malignas dependendo do tipo de crescimento celular. Benignas, quando as células são semelhantes as dos tecidos normais, geralmente crescem em um ritmo lento, não possuem capacidade de se espalhar para outros tecidos e órgãos e quando removidos não são reincidentes. Enquanto que as malignas caracterizam o câncer propriamente dito, onde as células se multiplicam rapidamente, invadindo tecidos adjacentes podendo se espalhar para outras partes do corpo através do sistema sanguíneo e linfático, processo denominado de metástase e mesmo tratando ou removendo, as reincidências são comuns (BRASIL, 2011).

Ainda não se conhece o fator de causa exato do câncer. Mas, sabe-se que ele é proveniente de mutações genéticas que podem ser herdadas, pré-disposição hereditária, ou adquiridas, com ocorrência em crianças, jovens, adultos e idosos. Consiste em uma patologia multifatorial, ou seja, diversos fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida concorrem

podendo se sobrepor e favorecer o seu desenvolvimento com diferentes graus de potência. Dessa forma, o sequenciamento e o painel genético hoje se apresentam como novas alternativas para diagnóstico e até mesmo prevenção da doença em casos de indivíduos que apresentem pré-disposição (WALSH et al., 2020).

O processo de carcinogênese ou de formação do câncer, ocorre quando um agente carcinogênico entra em contato com os genes que codificam as proteínas reguladoras do ciclo celular, responsáveis por perceber e reparar danos ao DNA, ocasionando mutações e proliferação celular. Esses agentes carcinogênicos podem se dividir em genotóxicos (DNA reativo) e não-genotóxicos (epigenético) (KLAUNING; WANG, 2018).

Os protooncogenes são encontrados nos núcleos das células na forma inativa em células normais e são denominados de reguladores positivos para proliferação celular. Quando acontece o contato com o agente carcinogênico, o protooncogenes é ativado se transformando no oncogenes responsável pelo processo de malignidade, e a célula multada (pré-neoplásica) se torna em uma célula tumoral (neoplásica). O processo de tumorigênese possui estágios de iniciação, promoção e progressão (KLAUNING; WANG, 2018).

Os reguladores negativos são conhecidos como supressores de tumor, estes inibem a formação da massa tumoral cancerosa quando estão com funcionamento correto, porém quando sofrem mutação eles são inativados para de funcionar. Dentre os supressores tumorais, um dos mais importantes é a p53 que apresenta seu gene multado em pelo menos 50% dos cânceres humanos (SAKANASHI et al., 2019).

A proteína p53 age na fase de transição de G1 para S do ciclo celular bloqueando a sua progressão quando existe danos ao DNA ou outras condições desfavoráveis, essa pausa no ciclo celular permite o reparo do DNA também pela p53 que ativa enzimas para a reparação, quando o reparo é realizado ela libera a célula para continuar o ciclo celular e quando é impossível a reparação ela induz a morte celular programada, apoptose, para que o DNA danificado não seja repassado. Na célula tumoral geralmente a p53 encontra-se multada, ausente, inativa ou pouco funcional, de maneira que, essa célula irá conseguir se dividir e as células-filhas irão herdar a mutação, uma vez que o DNA da célula-mãe não conseguiu ser corrigido pela p53 (SAKANASHI et al., 2019; BLANDINO et al., 2020).

A célula tumoral é geralmente menos especializada nas suas funções que as células normais, dessa forma quando as células cancerosas vão substituindo as normais os tecidos invadidos vão perdendo suas funções, levando a disfunção orgânica do órgão que pode levar a falência do mesmo e evoluir para a morte do paciente. E como parte do status seu oncogênico,

as células cancerígenas produzem níveis aumentados de espécies reativas de oxigênio (EROs) geradas por mitocôndrias (ALMEIDA et al., 2005; MA et al., 2015).

As EROs são associadas ao processo de formação do câncer, pois podem ser produzidas por agentes endógenos (mitocôndrias, peroxissomos, citocromo P450, células inflamatórias) e exógenos (radiação, metais, patógenos, quimioterápicos e xenobióticos) que podem interagir entre si e alterar os estágios do processo de carcinogênese. Uma vez que, o estresse oxidativo pode levar a mutações genética e/ou alterações no crescimento celular. A exposição a esses agentes indutores de ERO resulta na regulação positiva dos genes de resposta ao estresse, incluindo aqueles envolvidos nas enzimas de defesa antioxidante. Altos níveis de ERO podem resultar em apoptose ou necrose, enquanto níveis mais baixos produzem expressão alterada de fatores de crescimento e protooncogenes, levando a aumentos na proliferação celular (KLAUNING; WANG, 2018).

Durante os estágios de desenvolvimento dos tumores humano eles adquirem algumas capacidades biológicas responsáveis pela complexidade da doença, como a sustentação da sinalização proliferativa, evasão dos supressores de crescimento, resistência à morte celular devido ao bloqueio do mecanismo de apoptose, promoção da imortalidade replicativa, indução da angiogênese para fornecer nutrientes e oxigênio ao tumor, ativação de invasões e metástases, instabilidade do genoma, favorecimento de inflamação, alteração do metabolismo energético e escape do sistema imunológico, criando um microambiente para a progressão tumoral (HANAHA; WEINBERG, 2011).

O campo de tratamento oncológico é bastante dinâmico e que necessita de crescente desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. As formas de tratamento das neoplasias malignas incluem cirurgias, transplante de medula óssea, terapia alvo, medicina personalizada, hormonioterapia, imunoterapia, radioterapia e quimioterapia antineoplásica de maneira isolada ou em combinação (NIH, 2019).

A escolha do tipo de tratamento vai depender do tipo de câncer e do quão avançado ele está. As cirurgias e radioterapias consistem em métodos físicos de eliminação de focos tumorais. Enquanto a quimioterapia é a mais antiga e convencional forma de tratamento, o sucesso dela depende da precocidade do diagnóstico junto com tratamento eficaz visando aumentar a chance de cura e prolongar o tempo de vida do paciente. Ela se baseia na administração por via sistêmica de um ou mais medicamentos, chamados de antineoplásicos, para eliminar células tumorais espalhadas no organismo e que podem ser associados aos demais tipos de tratamento (JESUS et al., 2016).

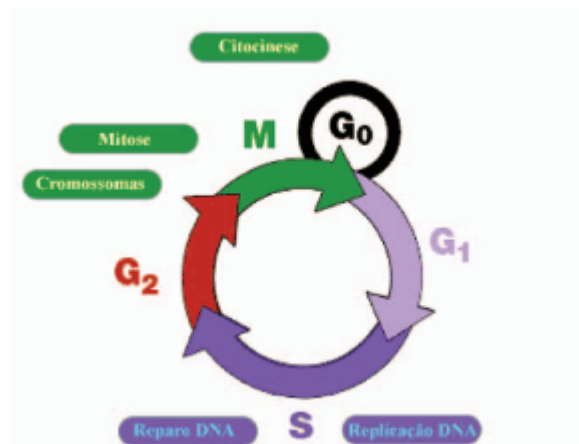
Contudo a maioria dos antineoplásicos existentes na atualidade no mercado apresentam impasses que vão desde entraves físico-químicos dos fármacos, dificuldade de obtenção até a alta toxicidade dos mesmos. Essa toxicidade está relacionada à falta de especificidade pelo alvo de ação que são as células tumorais, ou seja, os fármacos além de atuar nas células neoplásicas atuam também nas células de divisão rápida como as gastrointestinais, capilares e do sistema imunológico, isso explica a maioria dos efeitos colaterais da quimioterapia como perda de cabelo, náuseas e suscetibilidade a infecções. Além disso, o quadro de resistência primária ou adquirida aos antitneoplásicos tem se tornado um problema na quimioterapia, devido às falhas no tratamento, sendo um grande impedimento à sobrevivência do paciente e a principal causa de óbito de pacientes com câncer em estágios avançados (ALMEIDA et al., 2005; ZARGAR et al., 2020).

Diversos princípios ativos e medicamentos antineoplásicos foram desenvolvidos ao longo dos anos e a demanda é crescente e urgente para descoberta e pesquisa de outros novos além de melhora dos já existentes na tentativa de conseguir menores efeitos tóxicos e melhores efeitos terapêuticos frente às diversas linhagens de câncer existentes e refratárias aos tratamentos já disponíveis (ZARGAR et al., 2020; SHARPE et al., 2020).

Eles podem ser classificados dependendo do local e da forma que agem, em ciclo celular específico e ciclo celular não específico. O ciclo celular específico atua diretamente sobre células que estão no ciclo celular interferindo na divisão celular, enquanto que o ciclo celular não específico consegue eliminar a célula independente dela está atravessando o ciclo celular ou em repouso no compartimento G_0 (ALMEIDA et al., 2005).

O ciclo celular consiste em um conjunto de fases que as células passam para se duplicar e dá origem a duas novas células. Como o câncer é uma doença causada por uma divisão celular descontrolada seu desenvolvimento e progressão está ligada a alterações do ciclo celular (Figura 2). Ele se divide em interfase (I), fase inicial e mais longa onde ocorre a preparação da célula para divisão com duplicação do material genético, envolve as etapas G_1 , S, G_2 , G_0 . Mitose (M) onde se tem a separação dos cromossomos da célula mãe e engloba a prófase, prometáfase, metáfase, anáfase, e telófase. E citocinese parte final onde ocorre a divisão do citoplasma (ALMEIDA et al., 2005).

Figura 2 - Ciclo de replicação celular esquemático para célula em mitose.



Fonte: ALMEIDA et al., 2005.

Os produtos naturais se mostram como fontes ricas em princípios ativos, principalmente os derivados de plantas medicinais, cada vez mais procuradas por grupos de pesquisa voltados para área oncológica, por apresentarem-se como alternativas promissoras para o desenvolvimento de medicamentos oncológicos inovadores contra diversos tipos de câncer, como o derivados da vinca, vincristina (Oncovin) e vimblastina (Velban), os taxanos, taxol (Paclitaxel[®]) e docetaxol (Taxotere), as podofilotoxinas (etoposida e teniposida) todos atuando nas fases do ciclo celular para atingirem sua ação (BRANDÃO et al., 2010).

2.2 CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA

Os fármacos podem ser classificados em quatro categorias diferentes de acordo com seus graus de solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal, estes dois parâmetros podem se apresentar em níveis alto ou baixo e controlam diretamente como ocorrerá a absorção dos fármacos por via oral em condições fisiológicas. Esta classificação é conhecida como Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) e foi criada no ano de 1995, servindo como ferramenta para auxiliar nas decisões sobre estudos de bioequivalência e de biodisponibilidade dos fármacos, porém seu conceito consegue ir muito além destas funções e o SCB pode ser utilizado em etapas de formulação dos medicamentos, antes mesmo destes chegarem aos estudos clínicos, pois este pode indicar possíveis dificuldades que venham a complicar o processo de desenvolvimento (BEDOR, 2011; KAWABATA et al., 2011; CRISTOFOLETTI, 2013; GOMES et al., 2015; COSTA, 2016).

Sendo os fármacos subdivididos nas classes: I- alta solubilidade e alta permeabilidade; II- baixa solubilidade e alta permeabilidade; III- alta solubilidade e baixa permeabilidade e IV- baixa solubilidade e baixa permeabilidade. Entende-se que para os fármacos de classes I ou III, as formulações podem ser desenvolvidas a partir de estratégias mais simples, porém, para fármacos da classe II ou IV é necessário que suas formulações estejam baseadas nas propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas, a fim de obter a biodisponibilidade necessária e reprodutível após sua administração oral. A alta solubilidade de um fármaco é atingida quando a maior dose deste é solúvel em volume igual ou menor que 250 mL de meio aquoso (volume geralmente utilizado para administração de medicamentos orais) dentro de uma faixa de pH de 1,0 a 7,5, já a alta permeabilidade de um fármaco ocorre quando sua extensão de absorção for maior ou igual a 90% da dose administrada comparada a uma dose de referência por via intravenosa. (FDA, 2000; CHARKOFTAKI et al, 2009; KAWABATA et al., 2011; DEZANI et al., 2013).

Os fármacos que se encontram na classe II representam um número muito grande das fármacos de origem sintética que constituem medicamentos importantes para o tratamento de diversas doenças, em contrapartida, estes fármacos trilham um longo caminho até a obtenção de formulações devido aos seus problemas em torno da biodisponibilidade que é limitada pela taxa de dissolução, esta por sua vez pode ser modificada por meio de estratégias de tecnologia farmacêutica que busquem o aumento desta taxa, bem como o desempenho da dissolução de fármacos classe II (GOMES et al, 2015).

2.3 β -LAPACHONA

2.3.1 Propriedades gerais

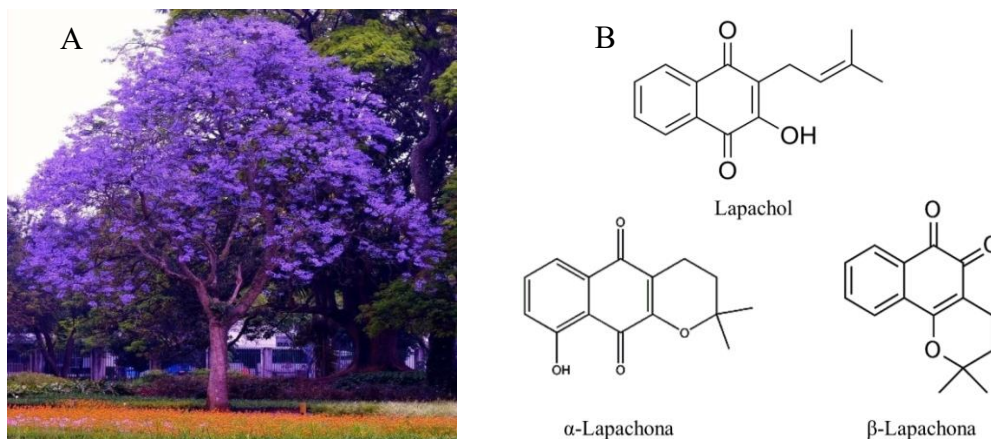
As quinonas são metabólitos bem distribuídos na natureza, podem ser encontrados em plantas, bactérias, fungos e no reino animal. A partir do sistema aromático que sustenta o anel quinonoídico podem ser classificadas em: benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas e fenantraquinonas. Dentre as quinonas, as naftoquinonas estão sendo muito estudadas, por suas propriedades farmacológicas e apresentam colorações que variam do amarelo ao vermelho. Atuam por meio do ciclo redox, no qual o substrato quinonoídico é reduzido e catalisado por enzimas, como a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) ou nicotinamida adenina dinucleotídeos (NADH). São geradas EROs e depois os intermediários bioalquilantes,

que levam a peroxidação lipídica, danos às proteínas e fragmentação do DNA (HUSSAIN et al., 2007; FERREIRA et al., 2009; CUNHA-FILHO et al., 2009; SILVA et al., 2012; SOUSA et al., 2016).

O lapachol conhecido como 2-hidroxi-3-(3-metil-2butenil)-1,4-naftoquinona é um dos compostos mais pesquisados, entre as várias naftoquinonas biologicamente ativas existentes. Foi em 1982, quando Paterno isolou o composto pela primeira vez, a partir de uma árvore da família das Bignoniaceae, a *Tabebuia avellanedae*. No Brasil conhecida por “ipê-roxo” (Figura 3A) ou “pau d’arco”, sua extração é realizada a partir da serragem da madeira das árvores. O lapachol (Figura 3B) já foi comercializado para utilização como coadjuvante no tratamento de certos tipos de câncer, sendo fabricado pelo laboratório farmacêutico do Pernambuco (LAFEPE), não mais disponível no mercado. Ele pode ser convertido em α e β -Lapachona (β -LAP) (Figura 3B), por meio da ciclização ácida, processo pelo qual a β -LAP é obtida de forma mais abundante que o seu isômero, α -Lapachona (Figura 3B). Para obtenção da β -LAP pura realiza-se o processo de separação do seu isômero (FERREIRA et al., 2009; CUNHA-FILHO et al., 2009; SILVA et al., 2012).

A β -LAP, é uma molécula pequena com peso molecular de 242,27 g/mol, conhecida quimicamente como 3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-naftol[1,2-b] pirano-5,6-diano. É uma ortonaftoquinona com significado potencial terapêutico de ocorrência natural. Trata-se de um fitofármaco que vem sendo exaustivamente estudada devido ao seu excelente potencial antineoplásico *in vitro*, principalmente frente às linhagens de câncer refratárias aos tratamentos convencionais, como o câncer de próstata, mama, leucemias, melanoma, pâncreas e cólon. Porém, a partir do sistema de classificação biofarmacêutica, é classificada como classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade). Dessa forma, apresenta-se como um fármaco fracamente solúvel em água e fluidos aquosos, levando a uma absorção limitada devido à baixa velocidade de dissolução (CUNHA-FILHO et al., 2007; BEY et al., 2007; FREITAS-NETO et al., 2012; JANG et al., 2013).

Figura 3 – Árvore ipê-roxo (A) e estruturas químicas do Lapachol, α -Lapachona e β -Lapachona (B).



Fonte: Autoria própria.

2.3.2 Atividade biológica

Nos últimos anos diversas atividades farmacológicas têm sido atribuídas a β -LAP frente a diferentes doenças. Dentre essas atividades estão: antifúngica (MEDEIROS et al., 2010), antibacteriana (MACEDO et al., 2013), anti-inflamatória (HUSSAIN et al., 2007), antileishmaniana (MORENO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2019); antiesquistossômico (AIRES et al., 2014) e antitripanossoma (SILVA-JUNIOR et al., 2010), com destaque para seu potencial antitumoral (Quadro 1), em especial, diante de neoplasias resistentes aos tratamentos convencionais. Por isso há um forte interesse voltado ao uso comercial da β -LAP que pode ser demonstrado pelas diversas patentes concedidas nos últimos anos a essa quinona (SILVA et al., 2003; CUNHA-FILHO et al., 2009).

Quadro 1 - Linhagens celulares sensíveis à atividade antitumoral da β -LAP.

Linhagem Celular	Referência
Carcinoma epidermóide oral (HSC3)	DIAS et al., 2018
Melanoma (SKCM)	LAMBERTI et al., 2018
Câncer de pâncreas	BEG et al., 2017
Adenocarcinoma pancreático	BEG et al., 2019
Carcinoma de próstata (DU145)	LEE et al., 2005
Câncer de próstata (DU145, PC-3, LNCaP)	DONG et al., 2009
Carcinoma gástrico (AGS)	YU et al., 2014
Câncer de mama (MDA-MB-231, MCF-7)	YANG et al., 2017
Câncer de mama (MDA-MB-231)	KIM; CHO, 2018
Câncer de mama (MDA-MB-231)	ZADA et al., 2019
Mieloma múltiplo (ARH-77, HS Sultan)	LI et al., 2000
Leucemia (U937, K562, HL60 e THP-1)	MOON et al., 2010
Câncer de colón (HT29)	LIU et al., 2015
Câncer de colón (CT26)	KEE et al., 2017

Fonte: Autoria própria.

A atividade antitumoral da β -LAP está relacionada a sua capacidade de conseguir induzir a apoptose independente da p53 e status de capazes. Além de promover danos ao DNA, devido a inibição da atividade das enzimas DNA topoisomerase, o que resulta em citotoxicidade. Atualmente alguns estudos *in vitro* e *in vivo* relatam um mecanismo inovador de ativação celular direta dos *checkpoints* imunológicos pela β -LAP levando a apoptose em neoplasias de ciclo celular lento, como em cânceres de próstata, cólon, ovário e mama (PARK et al., 2014; XAVIER-JUNIOR et al., 2017).

A enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo (fosfato):quinona oxidoredutase 1 (NQO1) quando ativada pela β LAP, entra no ciclo redox, gerando radicais livres. Comumente, a enzima NQO1 reduz quinonas para hidroquinonas estáveis que são excretadas quando conjugadas com glucoronido ou sulfato. A NQO1 se apresenta em elevados níveis em alguns tipos específicos de cânceres, como de mama, pulmão de células não pequenas, pancreático, cólon e próstata quando comparados a células normais. Apresentando maior sensibilidade à ação da β -LAP (PINTO et al., 2009; PARK et al., 2014).

A β -LAP é capaz de inibir o complexo das topoisomerases, responsáveis para que ocorram normalmente as funções de transcrição, reparação, replicação e estruturação dos cromossomos. Quando ocorre a inibição do complexo topoisomerases-DNA, impedindo as topoisomerases de se reconectarem ao DNA e desfazendo o complexo, impulsionam a formação de pontos de checagem no processo da divisão celular, causando bloqueio do ciclo celular entre as fases G1 e S, levando a morte das células malignas. O DNA e a enzima não continuam com suas funções normais. Por se multiplicarem rapidamente, as células neoplásicas se tornam um alvo mais sensível aos inibidores da topoisomerases (SILVA et al., 2003; KLEINER et al., 2003).

As espécies de ERO são produtos secundários da produção de adenosina trifosfato (ATP) na cadeia de transferências de elétrons das mitocôndrias. As ERO vêm sendo amplamente estudadas, pois podem causar níveis de estresse oxidativo associado a danos agudos aos componentes celulares. O acúmulo de dano oxidativo pode resultar em desvios funcionais do metabolismo celular e das vias de sinalização assim como vários distúrbios patológicos. No entanto, as ERO também mediam uma gama diversificada de processos celulares, como sinalização em cascatas, controle do ciclo celular e autofagia. Sendo assim, a liberação de ERO pode servir como um modulador da redox-homeostase e das vias de sinalização celular. A inflexão controlada dos níveis de ERO pode oferecer tratamento para um grande número de doenças como câncer, diabetes, distúrbios cardiovasculares e neurodegenerativos (MA et al., 2015).

Além disso, a β -LAP combinada com outras substâncias que atuam em diferentes mecanismos celulares pode ser uma alternativa quimioterápica. Zhang e colaboradores (2015) encapsularam β -LAP com Paclitaxel (PTX) em micelas poliméricas de poli (etileno glicol)-b-micelas poli (D, ácido L-láctico) (PEG-PLA), a fim de melhorar suas características físico-químicas e obter uma melhor entrega do fármaco, sendo possível pois o PTX e a β -LAP fazem interações moleculares que permitem essa união. Já Li e colaboradores (2018) utilizaram transportadores lipídicos nanoestruturados (NLCs) em uma associação de β LAP e doxorubicina (DOX). Os NLCs são uma segunda geração de transportadores lipídicos baseados em nanopartículas lipídicas sólidas, com objetivo de permitir maior estabilidade e liberação controlada de medicamentos. Essa ligação permitiu uma ação melhorada de ambos os fármacos.

2.3.3 Tecnologia farmacêutica: inovação aplicada à β -Lapachona

Embora a β -LAP apresente excelente potencial farmacológico, principalmente antineoplásico, ela apresenta limitações físico-químicas que podem prejudicar sua biodisponibilidade e eficácia terapêutica, devido a sua alta permeabilidade e baixa solubilidade aquosa que a enquadra como classe II pela classificação biofarmacêutica. Diversas tecnologias têm sido aplicadas na tentativa de contornar sua deficiente solubilidade aquosa.

Nesse sentido, Blanco e colaboradores (2007) desenvolveram micelas poliméricas de poli(ácido láctico) (PLA) contendo β -LAP, com densidade de alta carga de fármaco, ótimo tamanho e cinética de liberação baseada em difusão (75% em pH 7,4). Apresenta estrutura núcleo-casca resultando na automontagem de copolímeros de blocos anfifílicos em ambientes aquosos. O núcleo hidrofóbico atua como um reservatório que solubiliza medicamentos insolúveis em água, como β -LAP fornecendo proteção contra degradação enzimática e inativação. O tamanho micelar junto com baixas concentrações críticas de micelas (CMCs) contribuem para a acumulação preferencial de micelas no tecido tumoral através o efeito aprimorado de permeabilidade e retenção (EPR). Após a administração nas células NQO1 + e NQO1-, observou-se uma citotoxicidade dependente de NQO1, onde as células NQO1 + são efetivamente mortas e as células NQO1- são poupadas. Destacando o sistema como uma potencial estratégia de tratamento contra tumores que superexpressam NQO1.

Estudo mais recente desenvolvido por Zhang e Colaboradores (2015) realizaram co-encapsulamento de β -LAP com paclitaxel (PTX) em micelas de PEG-PLA obtendo um eficiente encapsulamento dos medicamentos combinados (100%) e com significativa melhora na solubilidade da β -LAP. Apresentando uma abordagem com potencial de superar a administração de medicamentos, desafiando a entregar por via intravenosa de uma solução pouco solúvel com uma cristalização rápida se tornasse estável através de uma formulação viável, onde o PXT além de ser farmacologicamente ativo atuou inibindo a rápida cristalização da β -LAP favorecendo que a supersaturação alcançada por ela permanecesse por mais tempo no meio.

A união de β -LAP e DOX em um transportador lipídico nanoestruturado (NLC) com PEG como uma nova alternativa para a terapia de câncer de mama resistente aos fármacos já disponíveis, com carregamento uniforme na matriz nanoestruturada e liberação sustentada alcançando teor 80% de β -LAP em 24 h. A utilização do PEG permite aumentar a estabilidade

e o tempo de circulação do NLC que contribui para o aumento da acumulação no tecido tumoral via permeabilidade e retenção aprimoradas. Após endocitose pelas células cancerígenas, a liberação de β -LAP exerceria forte influência na expressão da P-glicoproteína (P-gp). O efluxo de fármacos mediado pela P-gp via catálise NQO1, que pode reverter drasticamente a resistência a fármacos em células cancerígenas e promover o transporte nuclear de DOX (LI et al., 2018).

Vários trabalhos na literatura relatam a interação de β -LAP com ciclodextrinas (CDs) formando complexos de inclusão como uma alternativa pra driblar a baixa solubilidade aquosa da mesma. Xavier-Junior e colaboradores (2017), Seoane e Colaboradores (2013), Mangas-Sanjuan e Colaboradores (2015) e Cunha-Filho e Colaboradores (2013) produziram complexos de inclusão estáveis de éter sulfobutil- β -ciclodextrina (SBE- β -CD) com β LAP (β LAP: SBE- β -CD) e de randômica metilada- β -ciclodextrina (RM- β -CD) com β LAP (β LAP: RM- β -CD). Enquanto que Cavalcanti e colaboradores (2011) obtiveram complexo de inclusão de 2-Hidropropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) com β -LAP e encapsularam em lipossomas. E todos evidenciaram melhora significativa de sua solubilidade.

Dispersões sólidas (DS) são um sistema de liberação no qual um insumo farmacêutico ativo (IFA) está disperso em uma matriz carreadora geralmente um polímero hidrofílico. Santos e Colaboradores (2017) sintetizaram dispersões sólidas com β -LAP em dois diferentes polímeros poli(etileno glicol) 6000 (PEG) e polivinilpirrolidona K30 (PVP) e observaram que a proporção de fármaco:polímero utilizada influenciava a taxa de dissolução, pois as maiores quantidades de polímero hidrofílico levaram a dissolução melhorada do fármaco. E que as DS com PVP ofereceram uma maneira mais eficaz de superar a fraca solubilidade da β -LAP.

Li e colaboradores (2017) projetaram um sistema de distribuição controlada de medicamentos. Realizando o encapsulamento do fármaco com nanopartículas visando impedir que o medicamento seja degradado no transporte, prolongar o tempo de circulação no sangue, aumentar a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água e melhorar a eficiência de entrega do fármaco. Nesse estudo foram sintetizadas nanopartículas poliméricas fotossensíveis de β -LAP a partir de monômeros de 2-nitrofeniletileno glicol e 7-dietilamino-4-hidroximetilcumarina reticulados com dimetacrilato de poli (etileno glicol), a fim de que após a irradiação UV, suas partículas se expandam e permitam a liberação do controlada do fármaco. Após caracterização por espectros de absorbância por espalhamento dinâmico de luz (DLS), UV-vis observou-se que as nanopartículas aumentaram após irradiação, permitindo uma liberação de medicamentos eficaz.

Ma e colaboradores (2015) em suas investigações sobre o mecanismo de geração de EROS aumentado em células tumorais, trazem que a estimulação excessiva de EROS em mitocôndrias pode provocar a morte dessas células malignas. Analisando isso sintetizaram uma versão direcionada de β -LAP mitocondrial com base em uma plataforma para o projeto de gerações EROS direcionadas a mitocôndrias e conseguiram bons resultados com extensos danos a células cancerígenas.

2.4 INCREMENTO DE SOLUBILIDADE

Com o enfoque no aumento da biodisponibilidade de fármacos classe II, tem-se um dos mais relevantes desafios da área farmacêutica, o desenvolvimento de formulações que driblem esse entrave físico químico. A tecnologia farmacêutica aliada a ciência dos materiais surgem com alternativas e excipientes que possam atuar no incrementadores de dissolução. Possibilitando modificações físicas focadas em redução do tamanho de partículas ou estados de amorfização. Nesse sentido algumas estratégias têm sido bastante utilizadas nos últimos anos.

As dispersões sólidas estão entre ela, descritas com um produto sólido constituído por pelo menos dois componentes diferentes, um fármaco hidrofóbico disperso em uma matriz geralmente hidrofílica (polímeros solúveis). Que dependendo do grau de interação proporcionam a este fármaco um melhor desempenho no meio de dissolução, devido a amorfização provocada na estrutura dele e na redução do tamanho de sua partícula quase a nível molecular dispersa no carreador, aumentando a superfície de contato e favorecendo maior molhabilidade pelo meio. Funcionam como sistemas estabilizadores (COSTA, 2016).

Os complexos de inclusão por sua vez são formados pela complexação estável de um fármaco hidrofóbico com uma ciclodextrina (CD). As ciclodextrinas são carboidratos cíclicos de origem natural (α -CD, β -CD, γ -CD) ou semissintética (2-Hidroxi-Propil- β -CD, Sulfobutil-éter- β -CD, Randômica metilada- β -CD, 2-Hidroxi-propil- γ -CD) com estrutura cônica com cavidade hidrofóbica e exterior hidrofílico, o que confere a elas capacidade de se solubilizarem em meio aquoso e ao mesmo tempo carregarem no interior de sua cavidade moléculas hidrofóbicas. Dessa maneira conseguem aumentar a solubilidade e dissolução de fármacos pouco solúveis, sua biodisponibilidade e sua estabilidade (GUEDES et al., 2008).

E os sistemas particulados (micro/nano) uma vez que nos últimos anos a nanotecnologia vem ganhando espaço na obtenção de sistemas carreadores para

melhoramento de biodisponibilidade de fármacos com baixa solubilidade aquosa, isso graças ao tamanho nanométrico desses sistemas veiculares que permite a passagem eficiente pelas barreiras biológicas, melhorando tolerância do tecido, a absorção e o transporte celular e consequentemente a entrega eficaz de agentes terapêuticos em sítios alvos. Como nanopartículas lipídicas, lipossomas, micelas poliméricas, dendrímeros, nanopartículas poliméricas (DIMER et al., 2013).

2.5 NANOTECNOLOGIA

Nos últimos anos, a nanotecnologia se desenvolveu rapidamente e mostrou enorme potencial de aplicação no campo biomédico, sendo explorada para buscar dentre outros objetivos, avanços principalmente para o diagnóstico e tratamento do câncer, distúrbios infecciosos e imunológicos. Muitos materiais em nanoescala, ou seja, com diâmetro inferior a 100 nm, como nanopartículas, nanoemulsões, micelas e lipossomas são desenvolvidos com o objetivo de melhorar as propriedades e/ou funções dos compostos e podem atuar como nanocarreadores para moléculas de fármacos, onde conseguem reduzir significativamente os efeitos colaterais e facilitar a liberação dos mesmos, especialmente os pouco solúveis em água (MOHAMED et al., 2017; WANG et al, 2018; LI et al, 2019).

As abordagens da nanotecnologia oferecem oportunidades para superar desafios na terapêutica das doenças, incluindo a capacidade de circular fármacos por longos períodos e permitir o seu direcionamento promovendo o transporte através das membranas celulares. É considerada uma ferramenta potente para superar outros desafios clínicos, como engenharia de tecidos, através da reconstrução de ossos e nervos, geração de imagens e diagnóstico (CAI et al, 2015; WANG et al, 2018)

Na terapêutica do câncer é necessário que os fármacos se acumulem nas regiões tumorais com uma concentração alta o suficiente para o tratamento das células anormais, no entanto, a distribuição dos fármacos não ocorre facilmente e a eficácia terapêutica dos mesmos é baixa devido a dificuldade de solubilidade, metabolização e excreção rápidas, além da falta de seletividade em relação a células cancerígenas específicas. Para resolver essas limitações, a nanomedicina vem buscando o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos com alta capacidade de carga e liberação controlável. As últimas duas décadas testemunharam um grande progresso na nanomedicina anticâncer com desenvolvimento de sistemas de liberação fármacos onde vários materiais, incluindo micelas poliméricas, lipossomas, partículas de sílica porosa,

nanotubos de carbono, nanopartículas de óxido de ferro e nanopartículas de ouro, vem sendo aplicados como carreadores de fármacos. Porém, embora várias destas formulações tenham sido aprovadas para uso em clínica, ainda é desejável desenvolver nanocarreadores simples e eficazes (WANG et al, 2018).

O uso da nanoescala em ensaios clínicos está em constante aumento desde a aprovação do Doxil pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA, que foi o primeiro nanocarreador aprovado por esta organização para prática clínica. Após este marco, em janeiro de 2012, dos 789 ensaios clínicos em andamento, 25 envolveram nanodispositivos e 122 envolveram nanoterapêuticos. Em 2014, Weissig e colaboradores concluíram que existem 43 medicamentos nanofarmacêuticos aprovados pelo FDA (ou agências estrangeiras equivalentes) e foi constatada uma alta porcentagem de ensaios clínicos (~ 72% de 6242 entradas) envolvendo nanofármacos, relacionados a tratamentos contra o câncer (MALLAPRAGADA et al, 2015).

2.6 METAL ORGANIC FRAMEWORKS (MOFs)

Nas duas últimas décadas uma classe importante de materiais tem sido bastante estudada na química, farmacêutica, engenharia química e inclusive na nanomedicina devido a enorme variedade de funções que podem desempenhar, dentre elas o transporte de fármacos. São as estruturas metal-orgânicas (MOFs), também chamadas de polímeros de coordenação ou redes de coordenação porosa. As MOFs são estruturas cristalinas híbridas criadas a partir de pontos de ligação de metais ou óxidos de metais e ligantes orgânicos como os fosfonatos, imidazolatos e carbonatos, ou seja, possui natureza orgânica e inorgânica ao mesmo tempo, que lhe confere algumas características importantes como, alta porosidade, uma estrutura geometricamente bem definida, alta área superficial e baixa densidade, o que as tornam extensivamente interessantes para aplicação potencial em catálise, adsorção e separação seletiva, armazenamento de gás e para possíveis aplicações biomédicas em diversas áreas, incluindo o transporte de fármacos, imagens moleculares e detecção biológica (HORCAJADA et al., 2006; WALTON et al., 2007; HORCAJADA et al., 2008; SHEKHAH et al., 2009; FERNANDEZ et al., 2010; HURXFORD et al., 2010; SUN et al, 2012A; ZHUANG et al., 2014; CAI, 2015; YAO et al., 2016; TAHERZADE et al., 2017).

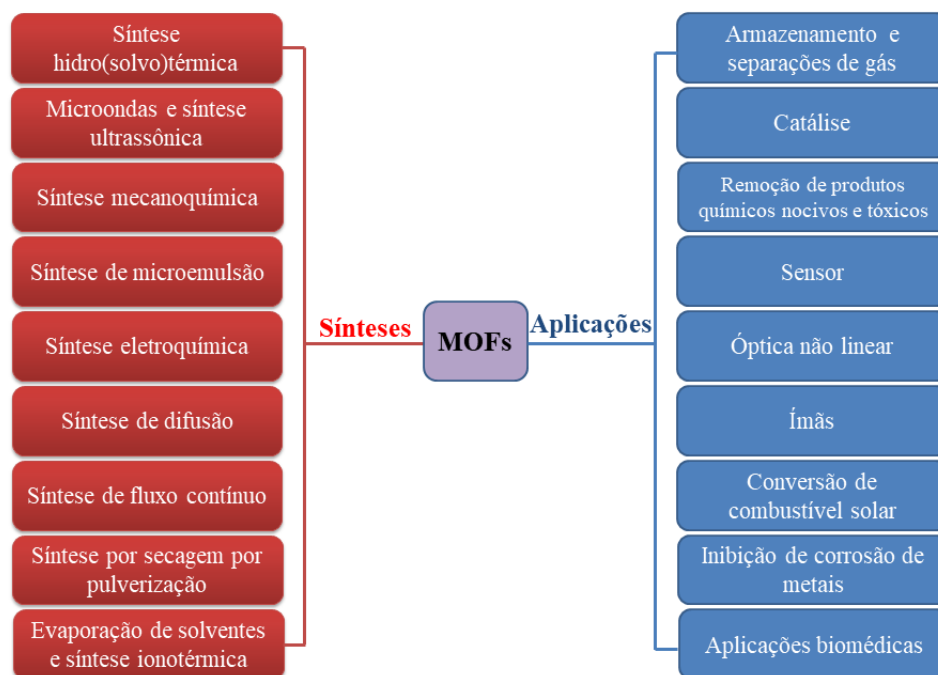
Sabe-se que as diferentes combinações de metais e ligantes orgânicos compostos levam a MOFs com topologias, tamanhos de poros e funcionalidades variadas e, além disso,

os diversos métodos usados para sua síntese oferecem a oportunidade de projetar e controlar as propriedades químicas e físicas dessas estruturas que podem inclusive serem responsivos a estímulos externos, o que torna possível sua aplicação no desenvolvimento de materiais inteligentes. Dentre os metais, ferro, zinco, cálcio, magnésio e manganês são os mais adequados para a construção de MOFs e o ferro por exemplo, já mostrou a capacidade de formar MOFs seguras e não tóxicas como o tipo MIL-100, onde muitos estudos sugerem a nano-MIL-100 (Fe) como um carreador seguro e estável para vários fármacos de moléculas pequenas (WALTON et al., 2007; FERNANDEZ, 2010; TAHERZADE et al., 2017)

Existem várias vias de preparação utilizadas para obtenção destas estruturas (Figura 4), dentre elas a solvatação ou técnica hidrotérmica, a microemulsão de fase reversa, a irradiação ultrassônica ou sonoquímica, mecânicoquímica e a síntese assistida por micro-ondas, onde ao final, os produtos das reações podem ser facilmente cristalizados e caracterizados (CAI et al., 2015; KOTZABASAKI et al., 2017).

As moléculas de fármacos podem ser carregadas nas MOFs por rotas de encapsulamento *in situ* e *ex situ*. Na primeira rota os fármacos são encapsulados nas MOFs quando estas ainda estão sendo sintetizadas e a estas se adicionam a solução de medicamento, enquanto na segunda rota a MOF é obtida separadamente e posteriormente embebida em uma solução de medicamento para obter carga. Geralmente, quando o tamanho das moléculas do medicamento é menor que o tamanho dos poros de MOF as moléculas do fármaco são encapsuladas com sucesso por meio de ligações de hidrogênio entre as estruturas e, quando o tamanho das moléculas do fármaco é maior que o dos poros da MOF estas são absorvidas pelas MOFs por meio de interações eletrostáticas (CAI et al., 2015; KOTZABASAKI et al., 2017).

Figura 4 – Métodos de síntese e aplicações das MOFs.



Fonte: Adaptado de WU; YANG et al, 2017.

Muitos estudos na área da tecnologia farmacêutica vêm tentando demonstrar a capacidade das MOFs como sistemas de carregamento de fármacos por que já se tem conhecimento sobre as vantagens que estas estruturas apresentam como, a opção de serem preparadas em tamanhos pequenos (nanopartículas); serem biocompatíveis, não tóxicas devido aos compostos orgânicos que os formam; serem biodegradáveis devido aos seus fracos vínculos de coordenação; possuírem grande área de superfície interna e altas porosidades que proporcionam a alta capacidade de carga de diferentes fármacos; possuírem estabilidade térmica e mecânica razoável; possuírem grande variedade de composições químicas opcionais e proporcionarem um longo período de liberação de fármacos com a capacidade de incorporar diferentes grupos funcionais (MOHAMED et al., 2017; WU; YANG, 2017; GOMAR; YEGANEHI, 2019).

O primeiro estudo em que as MOFs foram propostas com o intuito de carregamento de fármacos objetivou à adsorção da molécula modelo de ibuprofeno em MOFs sólidas dos tipos MIL-100 e MIL-101 (MIL = Material Institut Lavoisier) sintetizadas a partir do metal cromo (Cr) e de ácidos di ou tricarboxílicos com poros muito grandes. Eles exibiram uma capacidade de armazenamento do fármaco muito alta, de até 1,4 g por grama de MOF e uma liberação completa controlada em condições fisiológicas de 3 dias para a MIL- 100 e de 6 dias para a MIL-101, notavelmente abrindo acesso para uma gama de trabalhos que buscam desenvolver

a entrega direcionada de fármacos baseados em MOFs. Nos últimos anos, as MOFs têm recebido atenção extensiva no desenvolvimento de plataformas teranósticas para resolução de doenças como o câncer, empregando em sua maioria as MOFs no regime de nanoescala (nMOFs) pois estes são potenciais nanocarreadores para a entrega de agentes terapêuticos para áreas específicas do corpo com maior eficiência (HORCAJADA et al, 2008; HURXFORD et al, 2010; WU; YANG, 2017).

2.6.1 Nano Metal Organic Frameworks (nMOF)

As nMOFs surgiram recentemente como uma alternativa promissora para entrega de fármacos, apresentando características vantajosas como grande área superficial, porosidade permanente, diferentes topologias, alta estabilidade térmica, alta capacidade de inserção de espécies iônicas e pequenas moléculas. Estudos realizados conjugando nMOFs com alguns antineoplásicos, dentre eles com o Paclitaxel, a Cisplatina e a Camptotesina obtiveram *Drug Delivery System* (DDS), com carregamento de elevada quantidade do fármaco, melhora de solubilidade, redução de citotoxicidade e em alguns casos entrega direcionada das substâncias. Resultados que são animadores, uma vez que a entrega orientada desses fármacos permitiria melhor qualidade de vida aos pacientes oncológicos com minimização dos efeitos tóxicos provocados pelos medicamentos antineoplásicos, um dos grandes problemas na terapia oncológica (HE et al., 2014; ZHUANG et al., 2014; CHOWDHURI et al., 2017).

2.6.2 Zeolitic Imidazolate Framework (ZIF-8)

Zeolitic Imidazolate Framework (ZIF) é uma subfamília nova e interessante de MOFs, que apresenta uma estrutura constituída por unidades tetraédricas formadas por um íon bivalente de metais como (M= Co, Cu, Zn, etc.) ligados a unidades de ânions imidazolatos (Im^-), semelhante ao tetraedro de SiO_2 em zeólitos. Essa mistura dos componentes pode resultar em vários tipos de ZIFs com diferentes tamanhos de poros (Figura 5). Esses materiais porosos geralmente exibem excepcional estabilidade térmica e química, pois englobam as características das MOFs convencionais (poros e cavidades facilmente ajustáveis) e dos zeólitos (alta estabilidade aquosa), que sugerem uma potencial aplicabilidade para armazenamento de produtos químicos, encapsulamento e entrega controlada de

fármacos, detecção e separações químicas (KARAGIARIDI, 2012; WU; YANG, 2017; NASSIR et al., 2018; GOMAR; YEGANEHI, 2019).

Figura 5 – Estrutura das ZIFs.



Fonte: PARK et al., 2006.

As ZIFs possuem várias características atraentes em relação aos zeólitos, como maior área superficial e maior capacidade de adaptação estrutural. No entanto, o potencial destas estruturas ainda precisa ser mais explorado pois, apenas um pouco mais de 100 estruturas de ZIFs distintas foram relatadas até 2010, enquanto mais de 190 zeólitos já eram conhecidos, além disso, muitas ZIFs só foram obtidas na escala de alguns cristais o que dificultou o acesso a dados sobre propriedades e desempenho em massa das mesmas, sendo coletadas informações para apenas um subconjunto muito pequeno de todos os ZIFs conhecidos e uma fração infinitesimal de possíveis compostos ZIFs (KARAGIARIDI, 2012).

A ZIF-8 é um composto formado pela ligação do íon bivalente de zinco (Zn^{+2}) ao ligante 2-metilimidazolato na estequiometria 1: 2 e possui uma estrutura do tipo zeólito com grandes cavidades esféricas bem definidas (11,6 Å de diâmetro) acessíveis por pequenas aberturas de poros (3,4 Å de diâmetro). Trata-se do tipo de ZIF mais amplamente estudado, talvez devido ao fato de sua estabilidade hidrotérmica ser única quando comparada a outros MOFs interligados por carboxilatos, onde um estudo relatou que a ZIF-8 se manteve sem danos mesmo exposta ao vapor de 300 °C, o que permite sua aplicação em processos que envolvem alta temperatura. Amarante e colaboradores em 2016, relataram trabalhos em que a ZIF-8 foi suspensa em água fervente e vários solventes orgânicos durante 7 dias e ainda manteve a sua cristalinidade total e que ela também pode suportar a temperatura de 550 °C em N_2 (PARK et al., 2006; LIÉDANA et al., 2012; KARAGIARIDI, 2012; COOKNEY et al., 2014; AMARANTE, 2016; WU; YANG, 2017).

Alguns estudos já foram desenvolvidos buscando verificar o potencial da ZIF-8 na entrega de fármacos, Cai e colaboradores (2015), por exemplo, relatam a liberação do 5-Fluorouracil, um fármaco anticâncer, através da ZIF-8 em duas abordagens diferentes, em pH

= 7,4 e em pH = 5, onde a liberação do fármaco ocorreu de forma lenta no primeiro pH e com maior velocidade no pH = 5, devido a característica desta estrutura se decompor em meio ácido. As pesquisas continuam nesta perspectiva, mas também vem em ascensão o número de pesquisas que agora buscam desenvolver estas aplicações utilizando a escala nano da ZIF-8.

2.6.3 Nano Zeolitic Imidazolate Framework (nZIF-8)

Quando as estruturas MOFs são reduzidas a nanoescala (nMOFs) estas prometem ser uma via ainda mais poderosa para a entrega e liberação controlada de moléculas de fármacos e de agentes de contraste de imagem em virtude de seus tamanhos mais semelhantes as estruturas biológicas, sua alta porosidade e funcionalidades de superfície controláveis. Nos últimos anos, alguns estudos pioneiros demonstraram o grande potencial dos nMOFs como nanocarreadores de fármacos. No entanto, ainda existem desafios no design desses materiais para que atendam aos requisitos rigorosos dos sistemas biológicos, como a biocompatibilidade do metal e do ligante orgânico, a estabilidade das nMOFs no ambiente biológico e a liberação controlada de fármacos nos locais de destino (HE et al., 2014; REN et al., 2014; ZHENG et al., 2015).

As nMOFs à base de zinco ou *zeolitic imidazolate frameworks- 8* em nanoescala (nZIF-8), mostram excelente biocompatibilidade devido à baixa toxicidade dos íons de zinco e possuem comportamento sensível ao pH, por isso, têm sido um tópico de pesquisa popular no campo da administração de medicamentos nos últimos anos, e estas já foram amplamente utilizadas na terapia do câncer como portadoras de sistemas multifuncionais quimio-fototérmicos. Cai e colaboradores (2015), por exemplo, utiliza as nZIF-8 para carrear o fármaco anticâncer doxirrubicina, estes conseguiram adicionar uma grande carga de fármaco a estas e a liberação da mesma ocorreu de forma progressiva. Zheng e colaboradores (2015), sintetizaram nZIF-8 para carrear a curcumina e estas apresentaram alta eficiência de encapsulamento do ativo (88,2%), boa estabilidade química e rápida liberação em microambientes ácidos de tumores (SOLTANI et al., 2017; SILVA et al., 2018).

A química dos materiais MOF à base de carboxilato em nanoescala começou a ser desenvolvida apenas recentemente. O primeiro trabalho que descreveu como ocorria a síntese e caracterização de um material ZIF em nanoescala, só foi publicado 2009, e demonstrou que o método para sua obtenção era simples e não necessitava de nenhum agente estabilizador

para produzir nanocristais bem modelados na forma sólida ou em dispersões coloidais estáveis. O método se baseava na mistura, à temperatura ambiente, de uma solução de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em metanol, a uma solução do derivado de imidazol, 2-metilimidazol em excesso também em metanol, a proporção molar dessa mistura deveria ser de aproximadamente 1:8. Um diâmetro médio de partícula de 46 nm foi estimado a partir do DRX e confirmado por micrografias eletrônicas. Nune e colaboradores (2010), relataram a primeira síntese seletiva de nZIF-8 com a utilização de um estabilizador, o poli (cloreto de dialildimetilamônio), onde as mesmas foram obtidas com um diâmetro médio de 57 ± 7 nm e uma espessura de 42 nm. E Tsai e colaboradores (2016), explicaram em seu trabalho, que a síntese das nZIF-8 pode ocorrer empregando diversos solventes e aditivos, que contribuem de forma individual para obter estruturas com diferentes dimensões (CRAVILLON et al., 2009).

2.7 CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS FARMACÊUTICOS

2.7.1 Espectroscopia de absorção na região do UV-Visível (UV-Vis)

A espectroscopia na região ultravioleta-visível (UV-Vis) é uma das técnicas analíticas mais utilizadas para a identificação e determinação quantitativa de muitas espécies moleculares inorgânicas, orgânicas e bioquímicas em diferentes tipos de materiais. Entre as vantagens dela está facilidade de manuseio, boa sensibilidade, boa exatidão, seletividade moderada e ampla aplicabilidade (ALVES, 2010). Na análise por esse método, a relação fotometria-luz tem relação direta com a energia, ou seja, na faixa espectral do UV-Vis, a interação entre a matéria e a energia provoca transições eletrônicas com a consequente emissão de fótons. O grau de absorção da energia luminosa, em específicos comprimentos de onda, está diretamente ligado com as possíveis transições eletrônicas que ocorrem nos compostos analisados, com o caminho óptico e com a concentração da substância, ou seja, a espectroscopia UV-Vis é considerada uma técnica qualitativa e quantitativa. (NASCIMENTO et al., 2010; ALVES, 2016).

2.7.2 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) trata-se de uma técnica rápida que pode dar evidências sobre a presença de grupos funcionais. Essa técnica depende da interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética. Os grupos de átomos de cada molécula irão absorver a radiação do IV induzindo uma alteração do estado vibracional da molécula com o aumento da amplitude em torno das ligações químicas. A absorção da radiação IV ocorrerá com uma frequência característica de cada tipo de ligação entre esses átomos presentes em grupos funcionais. Cada composto absorve energia do IV em regiões específicas na parte IV do espectro, conseqüentemente, cada grupo funcional vai ter uma banda específica no espectro de infravermelho, eventos como desaparecimento, surgimento ou deslocamento de bandas características fornece indicativos de interações entre o fármaco e outras substâncias (CALVO et al, 2018; ALVES et al., 2008).

O espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), otimiza a técnica de caracterização do IV, devido transformada de Fourier, uma função matemática, que converte o domínio do tempo para o domínio de frequência. Elimina-se a necessidade de uma varredura lenta de uma faixa de frequências, ou seja, por esse método os espectros são obtidos muito rapidamente e com uma maior taxa de transferência de energia, fornecendo picos mais fortes nos espectros em relação aos métodos antigos (BANNACH; PERPÉTUO, 2011; LÓPEZ-LORENTE; MIZAIKOF, 2016).

2.7.3 Difração de Raios-X (DRX)

A difração de raios-X é a técnica mais indicada na determinação de particularidades na forma sólida de materiais, sendo utilizada para estudos morfológicos em materiais, determinando sua estrutura cristalina, identificando sólidos amorfos, co-cristais, solvatos e polimorfismos. O princípio da técnica está baseado em incidir um feixe de raios-X em um sólido, originando o fenômeno da difração quando o feixe interage com os átomos, caracterizando como esses átomos estão dispostos no plano cristalino do sólido. Quando o feixe é aplicado na amostra, bandas de interferência podem ser detectadas, o ângulo dessas bandas depende do comprimento de onda aplicado e da geometria da amostra com respeito a periodicidades na estrutura, permitindo identificar um composto pelo seu padrão de difração.

A técnica de difração de raios-X identifica simultaneamente os vários ingredientes ativos presentes em diferentes formulações farmacêuticas (ALBERS et al., 2002; ALVES, 2016; CALVO et al., 2018).

2.7.4 Termogravimetria (TG)

As análises térmicas também são usadas para caracterizar propriedades físico-químicas de uma substância em função da temperatura e do tempo. Os instrumentos de análise térmica têm características em comum, diferenciando apenas no tipo de transdutor responsável por converter as propriedades analisadas das substâncias em sinais e dados para a obtenção das 30 informações necessárias. As técnicas termoanalíticas são plenamente usadas para avaliar a estabilidade térmica de materiais, na identificação, caracterização, e determinação do grau de pureza de novos materiais (OLIVEIRA et al, 2011).

Na termogravimetria (TG), a variação da massa da amostra é determinada em função da temperatura e do tempo, enquanto a amostra é submetida a uma temperatura com uma razão de aquecimento controlada. Conhecer a faixa de temperatura em que o material perde massa, permite estabelecer a temperatura de degradação da amostra e em que faixa de temperatura a sua composição química é constante. Fenômenos químicos (degradação oxidação, sublimação, absorção, decomposição térmica) podem ser avaliados, auxiliando na avaliação da estabilidade da amostra e identificação de seus produtos intermediários. Os eventos térmicos no equipamento são avaliados pelos degraus correspondentes a variações de massas, que podem ser utilizados ainda para fins quantitativos. Nesse contexto, a derivada das curvas TG (DTG) apresentam, para cada degrau, picos agudos, tornando a informação, visualmente, mais acessível e com melhor resolução (MATOS et al, 2011).

2.7.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (*Differential Scanning Calorimetry* - DSC) permite a medição qualitativa e quantitativa de todos os processos que requer uma diferença de energia em função da temperatura. Essas variações de entalpia exotérmicas (perda de energia) ou endotérmicas (ganho de energia), ocorrem numa substância durante o processo de aquecimento ou resfriamento. A DSC possibilita acompanhar e obter dados que reflitam às

alterações físico-químicas das amostras (mudanças de estado físico, reações de desidratação), tendo como referência, um material termodinamicamente estável. No método usual, a amostra de uma substância e o produto de referência são aquecidas separadamente de maneira isotérmica. Se a amostra sofrer uma alteração em função da temperatura devido a algum evento exotérmico ou endotérmico em função da temperatura que é submetida, calor é aplicado na amostra para anular a diferença de calor devido ao evento térmico. A potência do calor é registrada para quantificar a energia do evento térmico (MATOS et al., 2011; ALVES, 2016).

2.7.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é utilizada em diversas áreas do conhecimento para a elucidação de aspectos estruturais de matérias. Na ciência de materiais, a MEV nos fornece uma visualização mais detalhada da estrutura das partículas, nos auxiliando na caracterização da estrutura cristalina do composto, nos fornecendo um embasamento para distinguir diversos materiais. Diferente da microscopia óptica, um MEV incide um feixe de elétrons sobre a amostra. A interação entre os elétrons e a amostra induz a produção de mais elétrons que são coletados por detectores e convertidos em sinais para a formação de imagens de alta resolução, fornecendo informações sobre a morfologia da amostra (SUGA et al., 2014). Nas misturas físicas é possível distinguir as partículas de fármaco das partículas do material hospede, utilizado como carreador para incremento das propriedades físico-químicas do insumo ativo. Porém, quando um complexo entre o fármaco e o carreador é formado, o estado cristalino resultante geralmente é diferente do obtido pela simples mistura física desses componentes. Apesar dos estudos de MEV serem inadequados para confirmar a formação de complexos de inclusão, as alterações drásticas na forma das partículas, bem como no seu aspecto e tamanho apontam para a existência de um novo material (ALVES, 2013).

2.7.7 Estudos *in silico*

Os estudos realizados por meio do uso de computadores, utilizando modelos teóricos que descrevem interações físicas são denominados *in silico*. Eles são amplamente relatados na

literatura para estudos de modelagem molecular, principalmente voltados para sistemas de interesse biológico ou farmacológico. Onde a modelagem molecular é uma ferramenta de notável importância na descoberta de fármacos, assim como também no aprimoramento de fármacos já existentes. A partir da evolução tecnológica na área da computação, que em termos de hardware, possibilita a execução de cálculos mais robustos, e de software, com programas e metodologias capazes de reproduzir resultados mais próximos dos obtidos experimentalmente. (RABELO, 2016).

Dentre as metodologias disponíveis para estudos *in silico* o *docking* molecular (categoria de metodologia utilizada para análise de interações químicas), está entre as mais empregadas. Contudo, para tal abordagem ser executada, faz-se necessário que se tenha a estrutura tridimensional do receptor (*host*). O desempenho positivo de um programa de *docking* está associado a dois fatores: o algoritmo de procura conformacional e a função de pontuação – ou *score*, que é uma pontuação atribuída ao ordenamento das soluções de *docking*. O *score* pode vir, muitas vezes, a representar a energia de interação de uma solução (ou *pose*) de *docking* para o complexo *host-guest* (RABELO, 2016; RODRIGUES et al., 2012).

As simulações computacionais podem oferecer uma visão única sobre a natureza das interações *host-guest* (receptor:ligante) no nível atômico. Dessa forma o *docking* molecular vem sendo bastante utilizado para estudos com MOFs, sendo importante aliado em abordagens rápidas de triagem para distinguir entre os fármacos que apresentam alta ou baixa afinidade para incorporação e para identificar os tipos de interações químicas que ocorrem em sistemas (MOF:Fármaco) já desenvolvidos experimentalmente (RODRIGUES et al., 2012).

2.7.8 Estudo de dissolução

O processo para que um fármaco possa exercer sua ação é dependente de alguns fatores, inicialmente pela desintegração, dissolução, solubilização do ativo veiculado em uma forma farmacêutica qualquer nos fluidos biológicos e da concentração depende da dose administrada que será atingida. E posteriormente, pelo seu transporte pelos líquidos corporais através das barreiras das membranas biológicas, ou seja, da quantidade absorvida, da distribuição no local, da velocidade e quantidade eliminada do corpo, fuga à distribuição generalizada para áreas indesejáveis, resistência ao ataque metabólico, penetração em

concentração adequada nos locais de ação e interação de modo específico, provocando uma alteração da função celular (ALVES, 2016).

Os ensaios de dissolução de fármacos são parte fundamental no desenvolvimento de medicamentos, sendo também empregados como uma ferramenta de controle de qualidade para monitorar a liberação do fármaco comparando lote a lote a partir de um produto. Esse é um teste oficial analítico, que envolve vários passos de amostragem, sob interface da temperatura e composição do solvente padronizado, onde a quantidade cumulativa de fármaco que é dissolvido num meio de dissolução é medida em função do tempo com base no ultravioleta permitindo quantificar a velocidade e extensão da liberação de fármacos (FERRAZ, 2017).

Esse ensaio pode ser realizado em dois tipos de condições, a condição *sink* e a *non-sink*. As condições *sink* são aquelas onde se utiliza um volume de meio de três a dez vezes superior ao necessário para criar uma solução saturada do fármaco (evita a saturação), dando condições favoráveis para que o fármaco solubilize com o objetivo de atingir a taxa de dissolução da maneira mais rápida. Contudo tal situação de saturação não ocorre tão frequentemente in vivo devido a proximidade dos tecidos e/ou rápida absorção para a corrente sanguínea (MARCOLONGO, 2003; BRONW et al., 2014).

Nesse contexto, Sun e Colaboradores (2012B) sugerem a utilização das condições *non-sink* a fim de analisar a supersaturação do meio, nucleação e recristalização do fármaco analisado, processos que comumente ocorrem in vivo no TGI. Para obtenção das condições *non-sink* eles indicam o uso do *Sink Index* (SI), que pode ser definido pela Equação 1, que reflete o quão distante essa condição estará da condição *sink*.

$$SI = \frac{Cs \times V}{Dose} \quad (1)$$

Onde: Cs – solubilidade do fármaco no meio, V - volume do meio de dissolução e Dose – corresponde a quantidade de fármaco na amostra utilizada.

Para obtenção de uma condição *sink* o valor de SI será entre 3 e 10, significando que o volume utilizado é de 3 a 10 vezes o necessário para solubilizar todo o fármaco contido no sistema ou seja 3 a 10 vezes abaixo da Cs. Enquanto que para a condição *non-sink* se usa um volume de meio menor para que se tenha uma concentração bem acima da Cs, a partir de baixos valores de SI.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

O insumo farmacêutico ativo β -Lapachona, lote 103, foi semi-sintetizado, purificado e doado pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, com teor de 99,8%. Enquanto que a nZIF-8 foi sintetizada e doada pelo Laboratório de Terras Raras da UFPE.

O Tabela 1 apresenta os reagentes e solventes utilizados para a obtenção dos sistemas, revalidação do método de doseamento e preparo dos meios para os ensaios de solubilidade e dissolução, bem como suas respectivas fórmulas químicas, procedência e grau de pureza dos reagentes.

Tabela 1 - Reagentes utilizados para a obtenção dos sistemas, revalidação do método de doseamento e preparo dos meios para os ensaios de solubilidade e dissolução.

REAGENTES	FÓRMULA	PROCEDÊNCIA	PUREZA
Acetato de sódio trihidratado PA	$\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Neon [®]	99,20%
Ácido clorídrico PA	HCl	Química moderna [®]	37%
Ácido acético glacial PA	CH_3COOH	Química moderna [®]	99,7%
Álcool etílico absoluto PA	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Química moderna [®]	99,3%
Álcool metílico PA	CH_3OH	Química moderna [®]	99,8%
Cloreto de potássio PA	KCl	Química moderna [®]	99%
Hidróxido de sódio em PA	NaOH	Química moderna [®]	97%
Fosfato de potássio monobásico anidro PA	KH_2PO_4	Alphatec [®]	98%
Fosfato de sódio bibásico PA	$\text{NaHPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Dinâmica [®]	98%

Fonte: Autoria própria.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Espectrofotometria de absorção na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis)

Para a obtenção da varredura de 190 a 1000 nm por espectrofotometria na região UV utilizou-se espectrofotômetro ultravioleta da marca SHIMADZU® UVMMini-1240 PC e cubetas de quartzo de 10 mm com volume de 1 mL. Para determinar o comprimento de onda de leitura a ser utilizado na quantificação da β -Lapachona, verificar em qual comprimento de onda a nZIF-8 apresenta máxima absorção e se ela interfere na seletividade de leitura da β -Lapachona.

3.2.2 Obtenção dos sistemas β -Lapachona:nZIF-8

O método de obtenção dos sistemas β -Lapachona:nZIF-8 foi baseado no trabalho de Soltani e Colaboradores (2017), que promove a incorporação/adsorção de fármacos a nZIF-8 já sintetizada; método este denominado *ex situ*. O procedimento utilizado para produção dos sistemas em diferentes proporções molares estabelecidas (1:1, 1:3 e 3:1) teve como base os pesos moleculares da β -Lapachona e da nZIF-8, que correspondem a 242,27 g/mol e 229,61 g/mol respectivamente (FERRAZ, 2017).

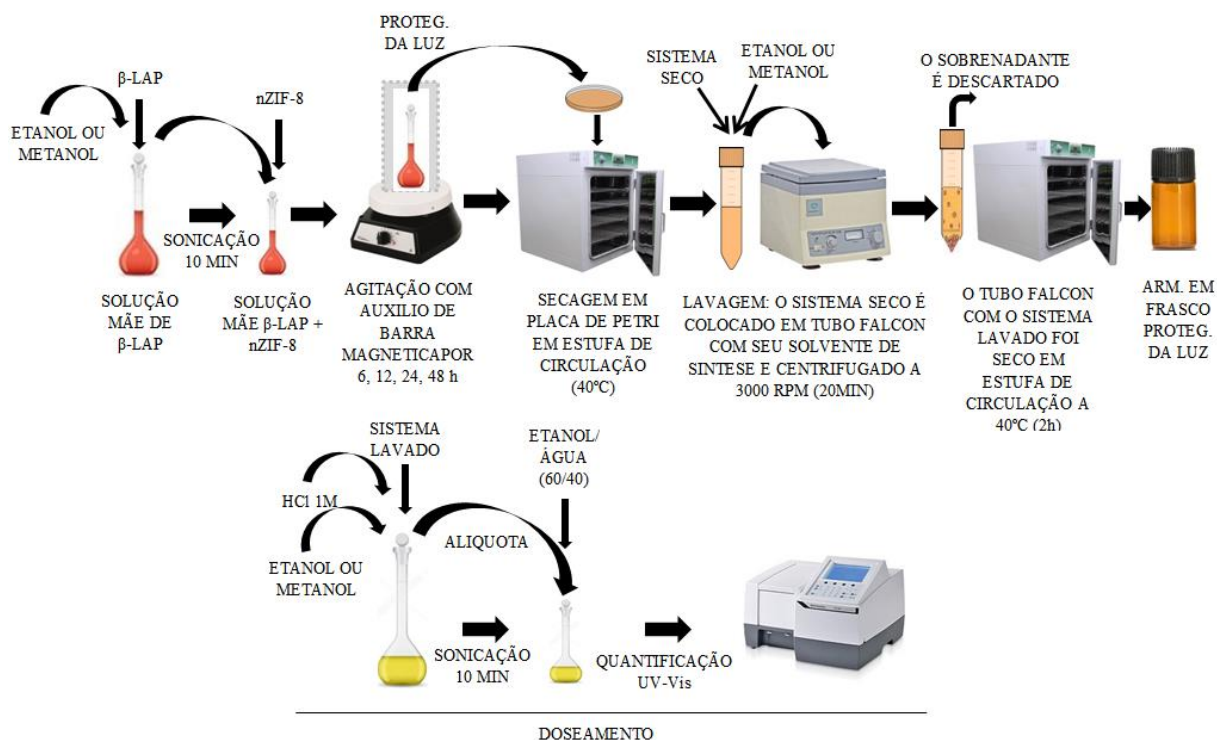
Inicialmente, 75 mg de fármaco foram solubilizados em solventes adequados: etanol ou metanol, em balões com capacidade para 25 mL, obtendo concentrações iniciais de 3 mg/mL. A solução de β -Lapachona foi sonicada por 15 minutos em sonificador Limp Sonic® para garantir a completa solubilização da mesma. Dessa solução, 10 mL foram transferidos para balões de 10 mL, ainda com mesma concentração inicial de 3 mg/mL. Em seguida, a nZIF-8 foi adicionada ao balão contendo os 10 mL da solução de β -Lapachona, de acordo com cada proporção 1:1, 1:3, 3:1 que utilizou respectivamente 28,5 mg, 85,5 mg, 9,5 mg. A mistura foi submetida à agitação intermitente com auxílio de barra magnética e agitador magnético M752A/6 Fisatom® por tempos determinados de 6 h, 12 h, 24 h e 48 h. Ao fim do processo, o material foi transferido a placas de Petri e procedeu-se a secagem do material por meio de estufa de circulação Ethiktechnology M420/5D com temperatura de 40°C até completa evaporação do solvente (com duração em torno de 30 min). Após a raspagem das placas, foram obtidos os sistemas não lavados.

Os sistemas seguiram para o processo de lavagem para retirada do excesso de fármaco livre que pudesse existir. Em tubo falcon de 10 mL foi adicionado o pó do sistema e uma quantidade do solvente utilizado na sua síntese etanol ou metanol, que foi agitado e levado para centrifugação a 3000 rpm por 20 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado levado para secagem em estufa de circulação Ethiktechnology M420/5D por 2 h, para obtenção do sistema lavado que daria continuidade aos experimentos.

Por fim, esses sistemas foram doseados, onde em balões de 100 mL colocaram-se 20 mg de cada sistema lavado, junto a 0,2 mL de HCl 1M, para quebrar a nZIF-8 e liberar o fármaco, e completou-se com o solvente no qual o sistema foi sintetizado, e procedeu-se com a sonicação por 10 min. Uma alíquota correspondente ao ponto médio da curva de calibração (4 µg/mL) de 0,4 mL foi diluída para um balão de 10 mL com etanol:água (60:40 v/v), para posterior quantificação em espectroscopia por absorção na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis). Utilizou-se uma curva de calibração previamente realizada (Equação da reta para o sistema etanol: $y = 0,1212x - 0,0246$; $R^2 = 0,9999$; e Equação da reta para o sistema metanol: $y = 0,1212x + 0,0022$; $R^2 = 0,9999$), obtida a partir da construção de uma curva de incorporação da β -Lapachona à rede de nZIF-8. A Figura 6 sumariza o processo de produção dos sistemas β -Lapachona:nZIF-8.

A utilização de diferentes solventes em diferentes proporções de fármaco e ZIF-8 e variação de tempo de obtenção visou a otimização da máxima eficiência de incorporação (EI%) do fármaco nos sistemas.

Figura 6 – Fluxograma geral para obtenção dos sistemas β -Lapachona:nZIF-8.



Fonte: Autoria Própria.

Todo esse procedimento foi realizado em triplicata, com as vidrarias vedadas, a fim de reduzir a volatilização do solvente e protegidas da luz, uma vez que o fármaco utilizado apresenta fotossensibilidade (CUNHA-FILHO et al., 2005).

Para fins comparativos, foram obtidas Misturas Físicas (MF) na proporção molar (1:1 ou 1:3 ou 3:1) dos sistemas selecionados com melhor percentual de incorporação mediante simples agitação dos pós do fármaco com o da nZIF-8 durante 5 minutos em frascos hermeticamente fechado.

3.2.3 Revalidação do método analítico para quantificação da β -Lapachona presente nas Misturas Físicas e Sistemas por espectrofotometria no UV-Vis

O método foi desenvolvido e validado por Presmich e colaboradores (2010A) e a revalidação foi procedida de acordo com a RDC 166 de 24 de julho de 2017, uma em etanol e em metanol, onde foram contempladas as avaliações dos seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, efeito matriz, precisão (repetibilidade), robustez e exatidão (BRASIL, 2017).

3.2.3.1 Equipamentos

Foram utilizados no processo de revalidação: Balança analítica (Bioprecisa[®]-FA2104N), Ultrassom (Limp Sonic[®]), e Espectrofotômetro UV-Visível (Shimadzu[®] UVMini 1240 PC).

3.2.3.2 Revalidação do método analítico

O propósito da revalidação do método foi devido a uma pequena alteração na preparação da amostra. O método desenvolvido por Presmich e colaboradores (2010A) requer apenas diluição da β -Lapachona em álcool etílico absoluto ou metanol, já o método desenvolvido para o sistema β -Lapachona:nZIF-8, requer a adição de ácido clorídrico (HCl 1M) para evitar a turbidez deixada pela nZIF-8 em suspensão, fazendo com que a mesma se dissolva.

3.2.3.3 Seletividade

A seletividade do método analítico deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz (BRASIL, 2017).

Esse parâmetro foi analisado, a partir de uma leitura comparativa por varredura no espectrofotômetro UV-Vis (190 nm – 1000 nm), entre soluções formadas pela nZIF (9,5 mg) em 100 mL de etanol e metanol (com e sem 0,2 mL HCl 1M) e solução mãe, contendo apenas β -Lapachona em etanol e metanol (concentração de 100 μ g/mL), também com (método ajustado) e sem (método de Presmich) adição de 0,2 mL HCl 1M (o volume de HCl foi o necessário para eliminar a turvação causada pela nZIF-8 presente nos sistemas selecionados).

3.2.3.4 Linearidade

A linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma

amostra. Foi realizada regressão linear de duas curvas, uma obtendo etanol e outra metanol, utilizando ajuste dos dados pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios (BRASIL, 2017).

Preparo das soluções mãe:

Método de Presmich e colaboradores (2010A)

Foram preparadas três soluções mãe para cada solvente, etanol e metanol, com 10 mg de β -Lapachona para balão volumétrico de 100 mL, onde o fármaco foi solubilizado em etanol ou metanol (concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ de β -Lapachona). Em seguida as soluções foram sonicadas por 10 minutos.

Método de Presmich e colaboradores (2010A) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

Foram preparadas três soluções mãe para cada solvente, etanol e metanol, com 10 mg de β -Lapachona para balão volumétrico de 100 mL, onde o fármaco foi solubilizado em etanol ou metanol (concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ de β -Lapachona). Posteriormente, foi adicionado nas soluções contendo etanol e nas soluções contendo metanol 0,2 mL de HCl 1M, completando o balão com o respectivo solvente e sonicando por 10 minutos.

Os ensaios foram realizados, em triplicata, obtidas em sete níveis de concentrações diferentes: 0,5; 1; 2; 4; 8; 10 e 12 $\mu\text{g/mL}$.

3.2.3.5 Efeito Matriz

O efeito matriz tem como finalidade investigar possíveis interferências causadas pelas substâncias que compõem a matriz da amostra (BRASIL, 2017).

Preparo das soluções mãe:

Método de Presmich e colaboradores (2010A)

Foram realizadas curvas da mesma forma que no método de linearidade, utilizando os mesmos níveis de concentração 0,5; 1; 2; 4; 8; 10 e 12 µg/mL, em triplicata.

Método de Presmich e colaboradores (2010A) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

Foram preparadas três soluções mãe para cada solvente, etanol e metanol, com 10 mg de β-Lapachona para balão volumétrico de 100 mL, solubilizando em etanol e em metanol respectivamente (concentração de 100 µg/mL de β-Lapachona). Posteriormente, foram adicionados 9,5 mg de nZIF-8, seguido de adição de 0,2 mL de HCl 1M no balão contendo etanol e no balão contendo metanol, completando o balão com o respectivo solvente e sonicando por 10 minutos.

3.2.3.6 Robustez

A robustez é um parâmetro tipicamente realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. Na espectrofotometria, o parâmetro robustez pode ser averiguado pela variação de pH da solução, diferentes lotes ou fabricantes (BRASIL, 2017). A robustez do método proposto foi verificada através da variação de pH devido à adição de HCl 1M.

Método de Presmich e colaboradores (2010A)

Foram preparadas três soluções mãe para cada solvente, etanol e metanol, com 10 mg de β-Lapachona para balão volumétrico de 100 mL, onde o fármaco foi solubilizado em etanol ou metanol (concentração de 100 µg/mL de β-Lapachona). E em seguida, sonicadas por 10 minutos. Após a sonicação foi realizada a aferição do pH das soluções e os valores de pH

apresentados para as soluções em etanol foram de 5,59 e para as soluções de metanol foram de 7,23.

Método de Presmich e colaboradores (2010A) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

Realizou-se o mesmo método de Presmich e colaboradores (2010) e foram adicionados nas soluções contendo etanol e nas soluções contendo metanol 0,2 mL de HCl 1M, completando o balão com o respectivo solvente e sonicando por 10 minutos. Após a sonicação foi realizada a aferição do pH das soluções e os valores de pH apresentados para as soluções em etanol foram de 1,13 e para as soluções de metanol foram de 0,77.

Os ensaios foram realizados em triplicata, utilizando as concentrações de β -Lapachona de 0,5; 4, e 12 $\mu\text{g/mL}$, representando um ponto baixo, médio e alto da curva.

Os resultados da robustez foram expressos através da relação entre a concentração média, determinada experimentalmente e pela concentração teórica correspondente, dada pela Equação 2:

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (2)$$

3.2.3.7 Precisão (Repetibilidade)

A precisão é um parâmetro que avalia a proximidade dos resultados obtidos, através de ensaios com amostras preparadas, de acordo com o método analítico a ser validado. O teste de precisão pode ser expresso através da avaliação dos critérios de repetibilidade (BRASIL, 2017).

Método de Presmich e colaboradores (2010A) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

A precisão do método foi avaliada por repetibilidade, visando avaliar a concordância entre os resultados sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação, em uma única corrida analítica. O método foi verificado a partir da preparação de duas soluções mãe com 10 mg de β -Lapachona para balão volumétrico de 100

mL, uma das soluções utilizou como solvente o etanol e outra metanol (concentração de 100 µg/mL de β-Lapachona). Posteriormente foi adicionado na solução contendo etanol e na solução contendo metanol 0,2 mL de HCl 1M, completando o balão com o respectivo solvente e sonicando por 10 minutos, a partir das quais seis réplicas de concentração correspondente ao ponto médio da curva de calibração (4 µg/mL) de cada solução no intervalo linear foram preparadas individualmente.

A repetibilidade foi alcançada através da análise do desvio-padrão relativo (DPR) entre as determinações quantitativas realizadas seguindo a Equação 3:

$$\text{DPR} = \frac{\text{DP}}{\text{CMD}} \times 100 \quad (3)$$

Onde: DP - corresponde ao desvio-padrão e CMD - a concentração média determinada.

3.2.3.8 Exatidão

A exatidão de um método analítico deve ser obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. Devendo ser verificada a partir de, no mínimo, nove determinações, contemplando o intervalo linear do método analítico, ou seja, três concentrações: baixa, média e alta, com três réplicas em cada nível (BRASIL, 2017).

Preparo das soluções mãe:

Método de Presmich e colaboradores (2010)

Foram preparadas três soluções mãe para cada solvente, etanol e metanol, com 10 mg de β-Lapachona para balão volumétrico de 100 mL, onde o fármaco foi solubilizado em etanol ou metanol, seguidas de sonicação por 10 minutos.

Método de Presmich e colaboradores (2010) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

Realizou-se o mesmo método de Presmich e colaboradores (2010A) adicionando-se nas soluções contendo etanol e nas soluções contendo metanol 0,2 mL de HCl 1M, completando o balão com o respectivo solvente e sonicando por 10 minutos.

Os ensaios foram realizados em triplicata utilizando as concentrações de β -Lapachona de 0,5; 4 e 12 $\mu\text{g/mL}$, representando um ponto baixo, médio e alto da curva.

Os resultados da exatidão foram expressos através da equação de recuperação (Equação 2), cuja mesma se dar por meio da relação entre a concentração média, determinada experimentalmente e pela concentração teórica correspondente.

3.2.4 Doseamento da β -Lapachona nos Sistemas e Misturas Físicas

Para quantificação da β -Lapachona contida nas misturas físicas e nos sistemas, foram produzidas soluções de sistemas e misturas físicas de concentração teórica final 24 $\mu\text{g/mL}$ em solução de etanol e metanol com HCl 1M, respectivamente, onde a concentração teórica de β -Lapachona sistemas e misturas físicas foi 12 $\mu\text{g/mL}$.

A presença do ácido se faz necessária para que a turbidez gerada pela insolubilidade da nZIF-8 em solvente orgânico (necessário para a solubilização do fármaco a ser quantificado) fosse cessada e para que o fármaco contido no interior da nZIF-8 seja liberado pela desintegração da mesma e assim se torne possível à leitura da β -Lapachona no espectrofotômetro. Uma curva de calibração do fármaco foi utilizada no intervalo de 0,5; 1; 2; 4; 8; 10 e 12 $\mu\text{g/mL}$ para quantificação da mesma, partindo de uma solução-mãe de 100 $\mu\text{g/mL}$ contendo etanol ou metanol e HCl 1M (método revalidado), tendo as alíquotas seus volumes completados com uma solução etanol:água (60:40 v/v). Para a quantificação da β -Lapachona, foi empregada a espectrofotometria por UV-VIS (PRESMICH et al., 2010A).

3.2.5 Caracterização da β -Lapachona, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas

As técnicas descritas a seguir foram utilizadas para avaliar as propriedades físico-químicas dos materiais obtidos, a fim de corroborar a formação dos sistemas. Para fins comparativos, foram realizadas também as caracterizações das Misturas Físicas.

3.2.5.1 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho da β -Lapachona, nZIF-8, MFs e sistemas foram obtidos utilizando o equipamento PerkinElmer[®] (Spectrum 400), com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR), com cristal de selênio. As amostras a serem analisadas foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR. Os resultados foram obtidos por meio de varreduras de 4000 a 550 cm⁻¹.

3.2.5.2 Difratometria de raios-X (DRX)

A análise de DRX foi realizada em difratômetro SmartLab da Rigaku[®], equipado com ânodo de cobre utilizando *step* de 0,01 grau com tempo de aquisição por *step* de 1 segundo, na faixa do ângulo 2 θ de 5° - 50°.

Por se tratar de um material lamelar, o cálculo do espaçamento basal é uma ótima ferramenta para comprovar a formação dos sistemas. O espaço entre as lamelas pode mudar com o aporte do fármaco, tanto devido à forma física, como a presença de cargas elétricas (XIONG et al., 2015).

O cálculo do espaçamento basal foi realizado através da equação de Bragg (Equação 4):

$$2. d. \sin \theta = n. \lambda \quad (4)$$

Onde: d – espaçamento basal; sen Θ – seno do ângulo theta; n – constante; e λ – comprimento de onda do cobre.

3.2.5.3 Termogravimetria (TG)

As curvas TG foram realizadas por meio de termobalança Shimadzu[®], modelo DTG 60-H, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 100 mL/min, sendo a massa da amostra cerca de 5 mg ($\pm 0,05$) para todas as amostras, as amostras foram acondicionadas em porta amostra de platina na faixa de temperatura de 20 a 800°C, na razão de aquecimento de 10°C/min. Antes dos ensaios, a termobalança foi calibrada com oxalato de zinco.

3.2.5.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A curvas de DSC foram obtidas utilizando Calorímetro Shimadzu[®] DSC-60 interligado ao software Shimadzu[®] TA-60WS com atmosfera de nitrogênio de 100 mL/min e razão de aquecimento de 10°C/min, na faixa de temperatura de 25-400°C. As amostras foram colocadas em porta-amostra de alumina hermeticamente fechada, com massa de 2 mg ($\pm 0,2$) para todas as amostras. As determinações foram realizadas em triplicata. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia. Para determinação da pureza da β -Lapachona foram realizadas 3 análises utilizando as mesmas condições descritas acima e o cálculo foi realizado pelo software Shimadzu[®] TA-60WS a partir da equação de van 't Hoff (Equação 5) (RODRIGUES et al., 2005):

$$P = -\frac{\Delta H^{\circ}}{R} \left(\frac{1}{T} \right) + \frac{\Delta S^{\circ}}{R} \quad (5)$$

Onde: P – pureza; ΔH° – variação de entalpia; R – constante universal dos gases perfeitos; ΔS° – variação de entropia; e T – Temperatura.

3.2.5.5 Determinação de Pureza por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Foi preparada solução metanólica (200 μ g/mL) e foi submetida à análise por CLAE-DAD, utilizando uma coluna octadecilsilano (250 x 4,6 mm, 5 μ m, C-18, Agilente[®]), como fase estacionária e fase móvel composta de 2 solventes: solvente A – 0,25% de ácido acético

em água ultrapura e solvente B – acetonitrila em eluição isocrática 50/50, com fluxo de 1 mL/min. A fase estacionária foi mantida a 25°C e o volume injetado foi de 10 µL e as análises monitoradas de 190 a 800 nm.

Para as análises, foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu® LC-20 equipado com um sistema quaternário de bombas modelo LC - 20A DVP, degaseificador modelo DGU - 20A, detector PDA modelo SPD - 20AVP, forno modelo CTO - 20ASVP, injetor automático modelo SIL - 20ADVP e controlador modelo SCL - 20AVP e acoplado a um detector de arranjo de diodos (DAD). Os dados obtidos foram tratados pelo software Shimadzu® LC solution 1.0 (Japão).

O teor relativo de β -Lapachona foi calculado com base na área do cromatograma, onde a área total do cromatograma representava 100%, enquanto a área do pico da β -Lapachona representa seu teor relativo.

3.2.5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras foram preparada sobre dupla fita de carbono contida em suporte (*stub*) de cobre e metalizada, sob vácuo, com a deposição de uma fina camada de ouro. As análises de MEV foram obtidas por microscópio eletrônico de varredura da TESCAN®, modelo Mira 3, com filamento de tungstênio e com acoplamento para dispersão de energia (EDS).

3.2.6 Estudos de Modelagem Molecular

As coordenadas atômicas da estrutura cristalográfica da nZIF-8 foram obtidas a partir do Banco de Dados Estrutural de Cambridge (CSD) (GROOM et al., 2016), com número de identificação 602542 (PARK et al., 2006). As cargas parciais foram atribuídas aos átomos da nZIF-8 através de cálculos de teoria funcional de densidade, obtidas por Rana (RANA et al., 2011). As coordenadas do modelo da β -Lapachona, assim como as cargas parciais, foram obtidas a partir da aplicação do método semiempírico de química quântica PM6 (STEWART, 2007), que faz parte do *software* MOPAC (STEWART, 2016).

Para a realização do estudo de *docking* molecular, foi utilizado o programa AutoDock4 (MORRIS et al., 1998), com o objetivo de avaliar a afinidade entre a β -Lapachona e a superfície da nZIF-8. O modelo molecular utilizado para representar a

superfície da ZIF-8 foi tratado como rígido, uma vez que estas estruturas cristalinas apresentam flexibilidade limitada (ROWSELL; YAGHI, 2005). Por outro lado, o modelo da β -Lapachona foi tratado como flexível.

O algoritmo genético lamarckiano foi utilizado para realizar a busca conformacional. Cada conformação amostrada foi avaliada e ranqueada de acordo com uma função de energia empírica (HUEY et al., 2007). Os *grid maps* foram definidos como uma caixa reticulada com $126 \times 126 \times 126$ pontos de dimensão e espaçamento de 0,14 Å. Foram criados dois diferentes mapas com as caixas centradas em dois pontos distintos, (25,5; 42,478; 40,725) e (33,982; 33,982; 43,519), a fim de amostrar toda a estrutura da nZIF-8 e aumentar a precisão das estimativas das energias de interação.

Os parâmetros utilizados durante a busca conformacional foram: população inicial com 150 indivíduos aleatórios (conformações), um número máximo de $2,5 \times 10^6$ avaliações de energia, um número máximo de 27.000 gerações e taxas de mutação e crossover de 0,02 e 0,8, respectivamente. O número de indivíduos superiores a sobreviver até a próxima geração ajustado no valor 1 (GA_ELITISM = 1). Um máximo de 300 interações por busca local foram permitidas, sendo 0,06 a probabilidade de realizar a busca local.

3.2.7 Estudos de liberação *in vitro* das Misturas Físicas e Sistemas β -Lapachona:nZIF-8

3.2.7.1 Ensaio de Solubilidade de Equilíbrio da β -Lapachona

O ensaio de solubilidade é importante para a realização dos ensaios de dissolução *in vitro* a fim de definir as condições *sink* e *non-sink*, está ultima necessitando dos dados da solubilidade de equilíbrio para determinar o *Sink Index* (SI).

Soluções tampões foram preparadas seguindo a USP 41, para a realização da solubilidade da β -Lapachona: tampões de ácido clorídrico pH de 1,2; tampões fosfato de potássio monobásico pH de 6,8; tampões acetato de sódio pH de 4,5 e água (USP, 2018).

Para cada tampão, foram preparadas amostras em triplicata. Em tubos ensaio, foram adicionados 5 mg de β -Lapachona e 10 mL dos tampões citados, logo sonicados por 15 minutos obtendo uma concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$. Foi utilizado banho-maria (Ethiktechnology[®]) munido de aparato de agitação, com temperatura de $37^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$

(temperatura fisiológica do organismo vivo), onde soluções saturadas do fármaco, nos tampões citados, permaneceram por um período de 72 horas sob uma frequência de agitação (simulando o peristaltismo) de 75 rpm, coletas de 1 mL foram realizadas nos tempos 24, 48, 72 h e submetidas à leitura em UV-Vis (Shimadzu® UVMMini 1240 PC). Foi utilizada uma curva de calibração do fármaco, nos mesmos tampões utilizados no teste, nas concentrações de 0,5 a 12 µg/mL (Adaptado de PRESMICH et al., 2010B).

3.2.7.2 Ensaio de dissolução *in vitro* nas condições *sink*

Os ensaios de dissolução foram realizados a fim de analisar a eficiência dos sistemas e misturas físicas em relação à liberação da β -Lapachona nos meios de dissolução com diferentes pHs (1,2, 4,5 e 6,8). Os ensaios foram feitos sob temperatura de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, utilizando 250 mL de tampão ácido clorídrico (pH 1,2), tampão acetato (pH 4,5) e tampão fosfato (pH 6,8) e água como meios de dissolução, aparato 2 (pá) e velocidade de rotação 75 rpm, utilizando dissolutor Varian® (Modelo VK 7010).

Foram pesadas em balança Shimadzu® (Modelo ATY224) quantidades de amostras determinadas para manter a condição *sink* do ensaio. Em intervalos de tempo predefinidos de 5, 15, 30, 45 min 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5, 5, 6 h, 3 mL das amostras foram coletadas, filtradas em filtro de membrana 0,20 µm e, quando preciso diluídas, para quantificação do teor de β -Lapachona por espectroscopia no UV-Vis (Shimadzu® UVMMini 1240 PC) a 257 nm. Foi efetuada a reposição do meio de dissolução com o mesmo volume de cada alíquota retirada. Todos os ensaios foram efetuados em triplicata.

Os perfis de dissolução foram avaliados e comparados utilizando o parâmetro de área sob a curva (AUC), percentagem de fármaco dissolvido por tempo de coleta e eficiência de dissolução. A eficiência da dissolução (ED%) foi calculada nos tempos correspondentes a pontos iniciais, medianos e finais do ensaio de dissolução. A ED% é a área sobre a curva no tempo t da curva de dissolução expressa como porcentagem da área do retângulo em y 100% no mesmo tempo t (KHAN; RHODES, 1972; KHAN, 1975;). O cálculo de área sob a curva (AUC) e ED% foi realizado com auxílio do *software* Origin® 8 da Origin Lab Solutions e Microsoft Excel® 2007.

3.2.7.3 Ensaio de dissolução *in vitro* nas condições *non-sink*

Para avaliação da capacidade da nZIF-8 de manter a β -Lapachona solúvel em condições de supersaturação, fez-se uso da técnica de dissolução *non-sink*. Foi adotado um valor de *sink index* de 0,2 e fez-se uso da fórmula proposta por Sun e colaboradores (2012B) (Equação 1), utilizando os valores experimentais obtidos para no ensaio de solubilidade de equilíbrio da β -Lapachona em tampão fosfato pH 6,8. Esse cálculo refletiu em uma dose de 1,8 mg e volume de meio de 20 mL. A concentração teórica máxima de β -Lapachona pode ser calculada como sendo de 90 $\mu\text{g/mL}$. Essa condição numérica de SI significa que se trabalhou com volume de meio em torno de cinco vezes menos do que seria necessário para solubilizar toda a β -Lapachona inserida no meio.

Os ensaios foram feitos sob temperatura de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, velocidade de rotação 100 rpm, utilizando dissolutor Erweka[®] (Modelo DT-60) com pás adaptadas para uma cuba de dissolução reduzida. Em intervalos pré-definidos de 5, 10, 15, 20, 25, 45 min 1; 2; 3; 4; 5; e 6 h foram coletadas alíquotas de 300 μL que em seguida foram centrifugadas (Eppendorf[®] Modelo 5417R) a 14000 RCF por 5 min, 200 μL sobrenadante (70% do sobrenadante) foram cuidadosamente coletados e diluídos com o respectivo tampão, para quantificação do teor de β -Lapachona por espectroscopia no UV-Vis (Shimadzu[®] UVMini 1240 PC) a 257 nm. Não foi realizada reposição do meio de dissolução com o mesmo volume de cada alíquota retirada (nota: a soma do volume de todas as alíquotas coletadas totalizou em torno de 20% do meio de dissolução). Todos os ensaios foram efetuados em triplicata.

Para obtenção das condições *non-sink*, utilizou-se o *Sink index* (SI), definido pela Equação 1:

$$SI = \frac{Cs \times V}{Dose} \quad (1)$$

Onde: Cs – solubilidade do fármaco no meio, V - volume do meio de dissolução e Dose – corresponde a quantidade de fármaco na amostra utilizada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, estão descritos os resultados e discussão a respeito dos dados obtidos durante o desenvolvimento dos sistemas nanoparticulados de β -Lapachona:nZIF-8.

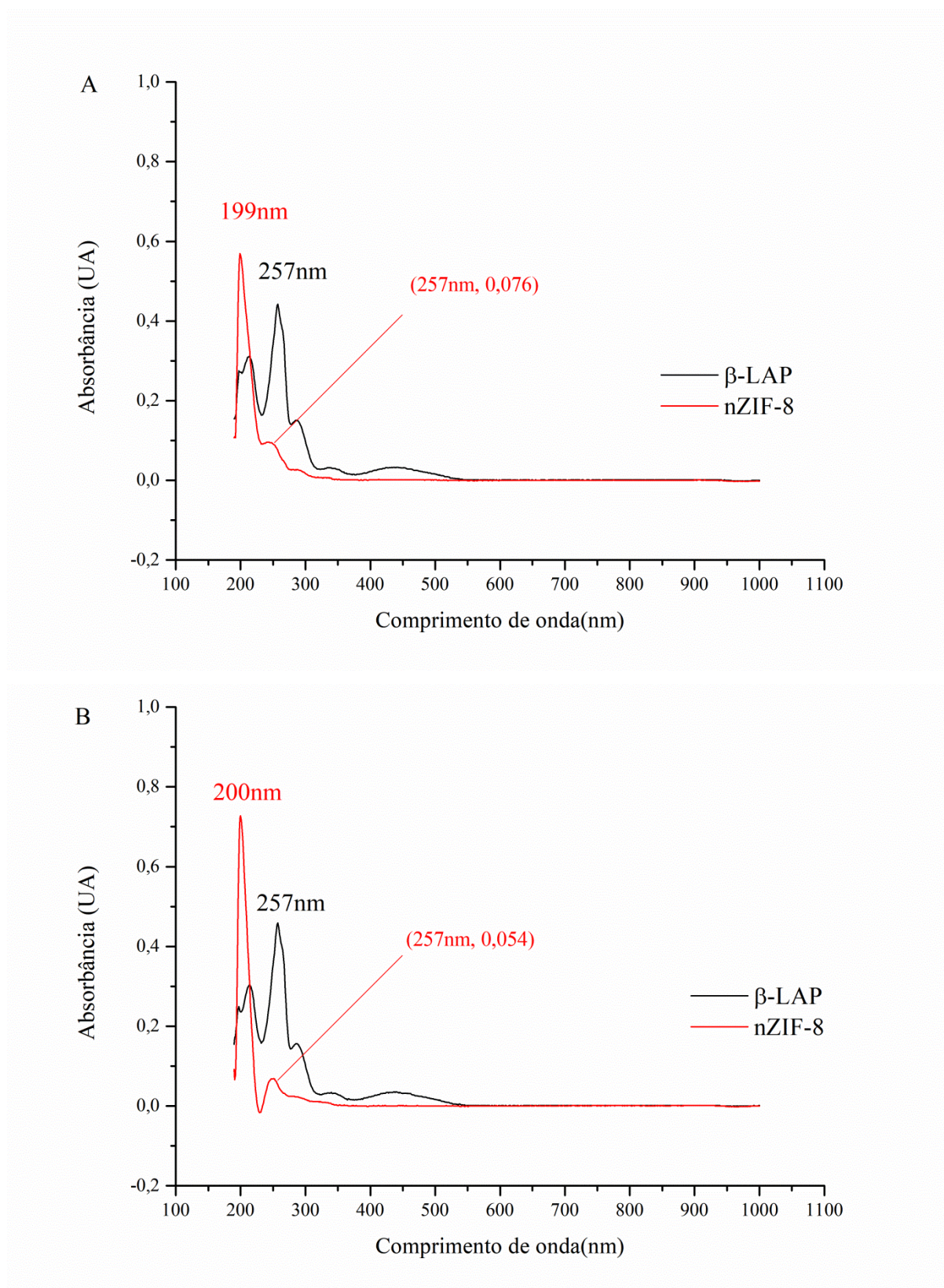
4.1 ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-Vis)

Através da espectroscopia por absorção na região do UV-Vis, foi possível determinar o comprimento de onda de leitura a ser utilizado para a quantificação da incorporação da β -LAP. A partir da varredura (190-1000 nm) (Figura 7), a solução de β -LAP (4 μ g/mL) obteve máxima absorção em 257 nm conforme o que foi visto no trabalho de Cunha-Filho e colaboradores (2009), enquanto que a nZIF-8 apresentou máxima absorção em 199 nm em etanol e 200 nm em metanol.

Com a finalidade de provar que a nZIF-8 não iria interferir na seletividade do método de quantificação da β -LAP, uma quantidade de 9,5 mg (quantidade de nZIF-8 utilizada na produção dos sistemas selecionados conforme o apresentado item 4.2.2) foi suspensa em 100 mL dos solventes etanol e metanol utilizados para obtenção dos sistemas, seguido de filtração em filtro de membrana (poro de 0,22 μ m) e varredura em UV-Vis (190-1000 nm).

Embora a nZIF-8 também apresente pico de absorção na região do UV-Vis, o método não apresentou problemas na seletividade, uma vez que, a mesma não absorve no mesmo comprimento de onda da β -LAP, em 257 nm apresenta uma absorção de apenas 0,076 e 0,054 nos solventes etanol e metanol respectivamente.

Figura 7 – Varredura do espectro de absorção na região do UV-Vis da β -LAP e da nZIF-8 em etanol (A) e metanol (B).



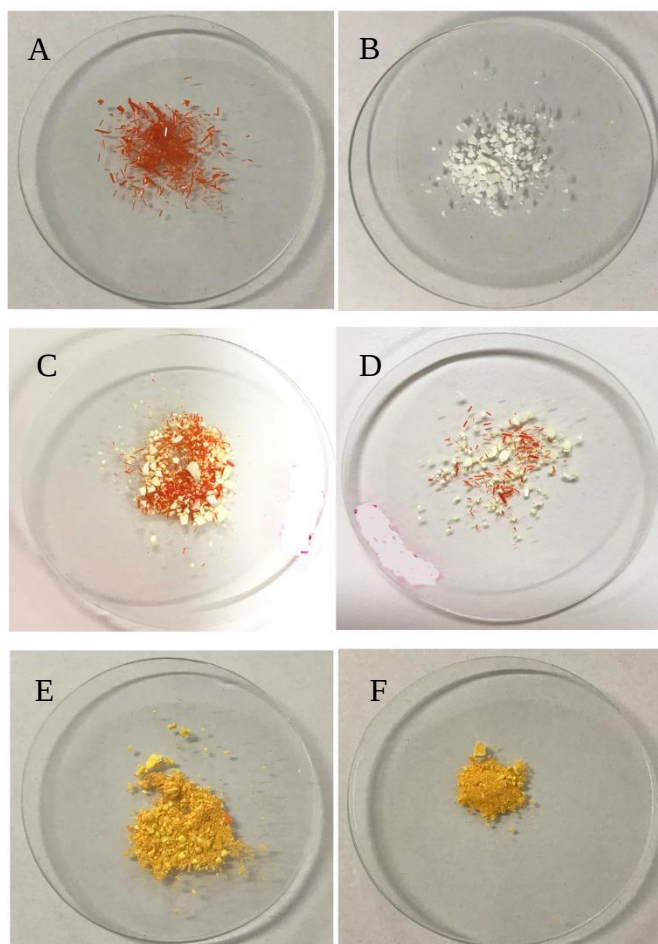
Fonte: Autoria própria.

4.2 OBTENÇÃO DOS SISTEMAS β -LAP:nZIF-8

4.2.1 Aspecto macroscópico

A β -LAP é um pó cristalino de cor intensamente laranja (Figura 8A). Já a nZIF-8 possui cor branca (Figura 8B). Nos sistemas obtidos observou-se uma coloração amarelada, mais característica da β -LAP. Em relação ao aspecto macroscópico do pó, os sistemas apresentam características bem diferentes das amostras isoladas e das MFs (Figura 8C e D), adquirindo uma estrutura de pó com aspecto grumoso (Figura 8E e F).

Figura 8 - Aspecto macroscópico: A) β -LAP; B) nZIF-8; C) Mistura física do sistema etanol 3:1; D) Mistura física do sistema metanol 3:1; E) Sistema obtido em etanol 3:1; F) Sistema obtido em metanol 3:1.

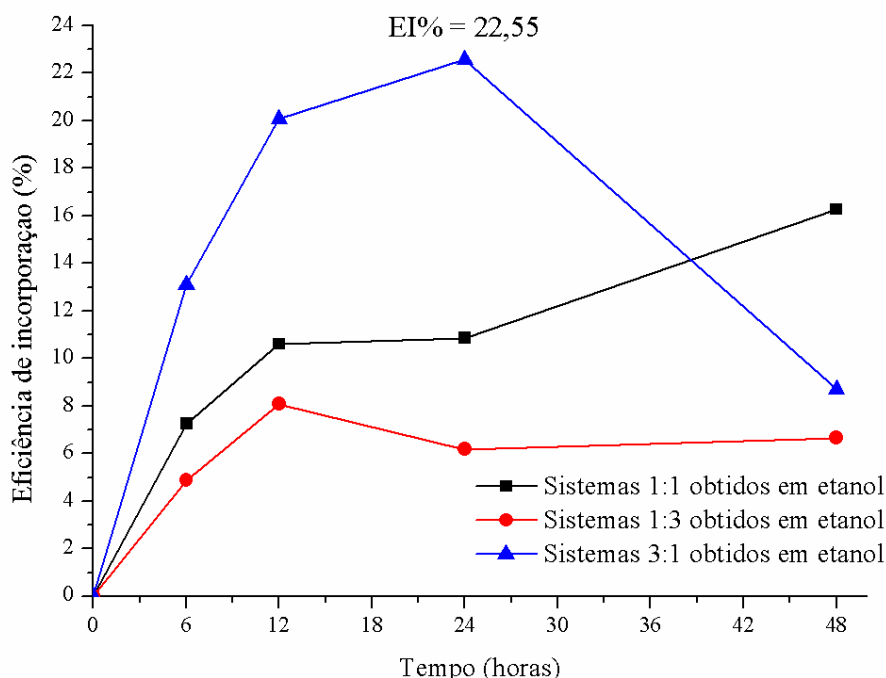


Fonte: Autoria própria.

4.2.2 Avaliação da incorporação do fármaco nos sistemas β -LAP:nZIF-8

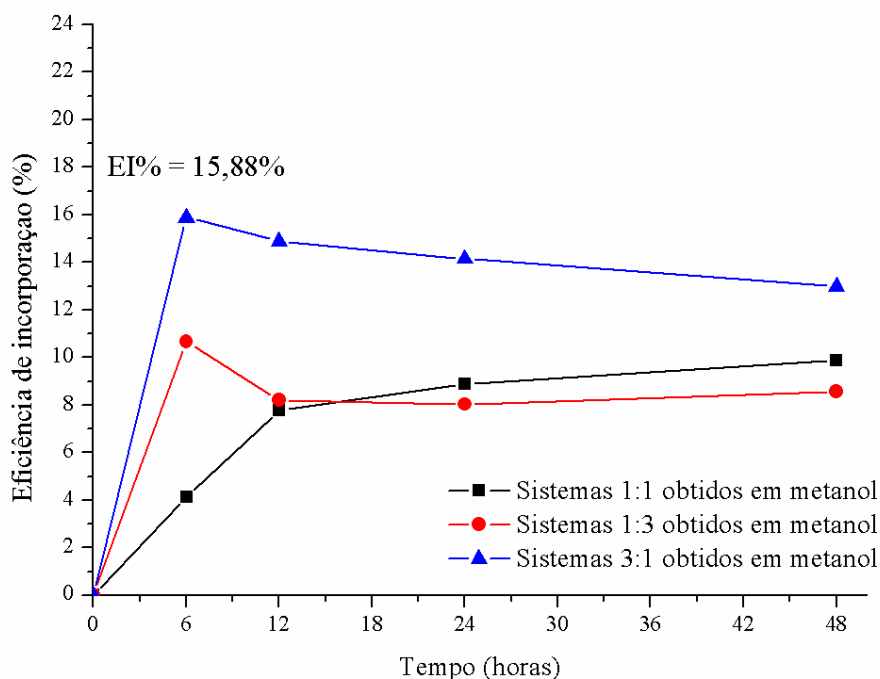
Foi possível construir curvas de calibração, baseadas no método desenvolvido por Presmich e colaboradores (2010A), possibilitando o cálculo de incorporação da β -LAP a rede da nZIF-8. O experimento visou à máxima eficiência de incorporação através do doseamento utilizando HCl 10%, dos sistemas lavados obtidos em intervalos de tempo de 6, 12, 24 e 48 h. Onde o percentual de β -LAP incorporado foi mensurado a partir concentração real de sistema utilizada para o doseamento e da concentração dissolvida encontrada de β -LAP, representada em termo de porcentagem (EI%). As curvas de eficiência de incorporação estão demonstradas nas Figuras 9 e 10.

Figura 9 – Curvas de eficiência de incorporação (EI%) dos Sistemas β -LAP:nZIF-8 obtidos em etanol nas proporções molares 1:1, 1:3 e 3:1 (mol/mol).



Fonte: Autoria própria.

Figura 10 – Curvas de eficiência de incorporação (EI%) dos Sistemas β -LAP:nZIF-8 obtidos em metanol nas proporções molares 1:1, 1:3 e 3:1 (mol/mol).



Fonte: Autoria própria.

A partir das curvas de eficiência de incorporação, foi possível observar que, dentre os sistemas obtidos em etanol, o que apresentou máxima EI% da β -LAP à nZIF-8 foi o de proporção molar 3:1 com 24 h de agitação com 22,55% de β -LAP no sistema. Com relação aos sistemas obtidos em metanol o de proporção molar 3:1 com 6 h de agitação foi o que obteve maior EI% apresentando 15,88% de β -LAP no sistema. Em ambos os solventes a proporção 3:1 apresentou a melhor EI% isso pode ser explicado pela alta concentração de fármaco no meio, forçando o mesmo a entrar na rede da nZIF-8. Resultados de incorporação a nZIF-8 semelhantes foram relatados por Soltani e colaboradores (2017), que conseguiram carregamento de 19% de gentamicina e Nabipour e colaboradores (2017) que apresentaram eficiência de incorporação de 21% de ciprofloxacino.

A fim de identificar os sistemas que apresentassem maior eficiência de incorporação foram feitas variações nas proporções molares (1:1, 1:3, 3:1 mol/mol), solventes (etanol e metanol) e tempos de agitação (6, 12, 24, 48 h). Contudo os valores de EI% foram todos abaixo dos apresentados nos sistemas 3:1 obtido em etanol por 24 h e 3:1 obtido em metanol

por 6 h. Os experimentos foram realizados em triplicata demonstrando baixo desvio padrão garantindo a confiabilidade dos resultados.

Dessa forma, foram selecionados para dar continuidade ao trabalho os sistemas que conseguiram maiores EI%, eles foram: o sistema 3:1 obtido em etanol por 24 h e sistema 3:1 obtido em metanol por 6 h. Esses sistemas foram denominados respectivamente de SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 ET e SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET, sendo eles o objetivo das técnicas de caracterização. E a partir disso as misturas físicas (MFs) correspondentes a esses sistemas de proporção 3:1 foram feitas, de acordo com os percentuais de incorporação e utilizadas para fins comparativos, elas foram denominadas para serem diferenciadas dos sistemas de MF β -LAP:nZIF-8 ET correspondente ao sistema obtido em etanol selecionado e MF β -LAP:nZIF-8 MET correspondente ao sistema obtido em metanol selecionado.

4.3 REVALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DA β -LAP PRESENTE NAS MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS POR MEIO DE ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-Vis

Abaixo são encontrados os dados referentes a revalidação dos métodos analíticos em dois solventes etanol e metanol visto que foram os utilizados na solubilização do fármaco durante a obtenção dos sistemas e dessa forma também os utilizados para os doseamentos das misturas físicas e sistemas.

4.3.1 Revalidação do Método Analítico com Etanol

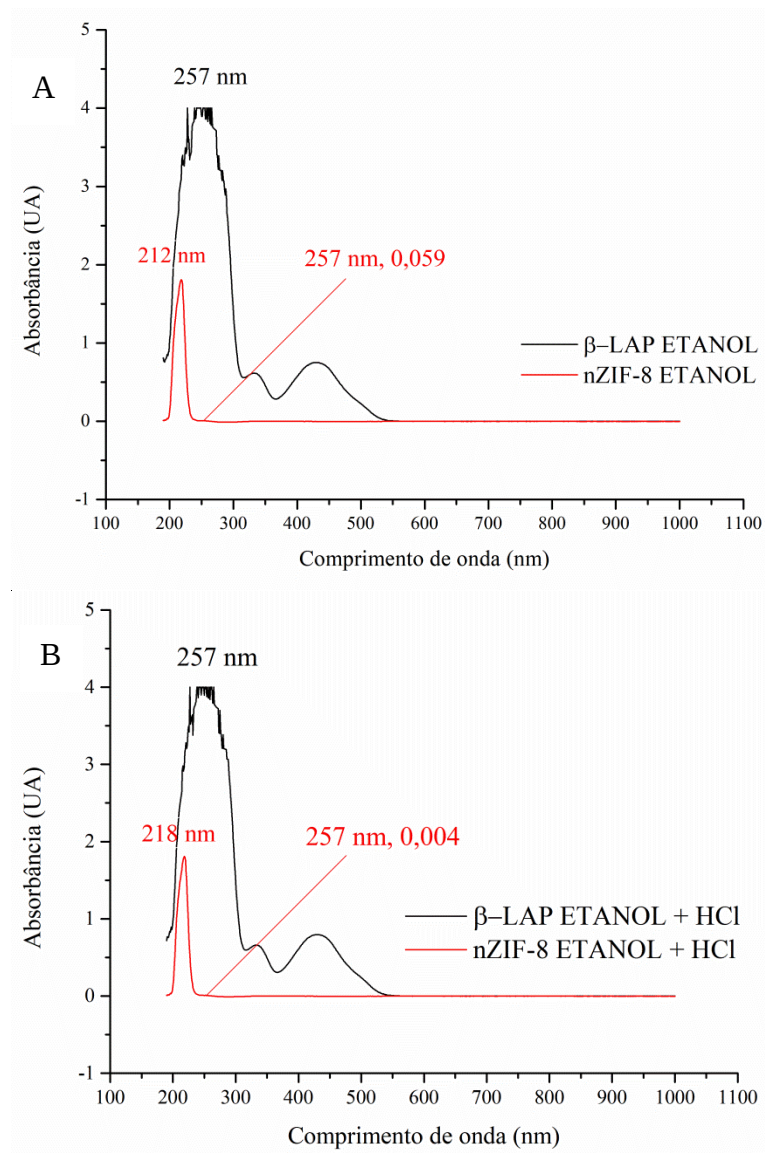
4.3.1.1 Seletividade

Segundo a RDC 166 de 2017 da ANVISA, a seletividade do método analítico deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como componentes da matriz (BRASIL, 2017). Diante disso com o objetivo de avaliar se o método é seletivo para a substância química de referência caracterizada, foram obtidos os espectros de absorção na região do UV-Vis, por varredura das soluções mãe da β -LAP e da nZIF-8, sem HCl (Método Presmich e colaboradores) e como HCl (Método Ajustado em etanol).

A seletividade para revalidação de um método analítico espectrofotométrico verifica comparativamente se a utilização de um método ajustado interfere no comprimento de onda de leitura do analito e se o método continua sendo seletivo apenas para o fármaco, não havendo interferência da matriz (nZIF-8).

A Figura 11 apresenta os espectros UV-Vis demonstrando que o uso do HCl no método ajustado (Figura 11B) quando comparado ao método de Presmich e colaboradores (2010A) (sem HCl) (Figura 11A) não interferem no comprimento de leitura do fármaco (257 nm). Não foram também observadas sobreposições dos picos correspondentes a β -LAP e a nZIF-8, isso significa que a leitura da matriz não ocorre no mesmo ponto em que há máxima absorção de β -LAP. Sendo justificado o uso do HCl para a desorganização da estrutura da matriz. Não interferindo, portanto na leitura para quantificação do fármaco.

Figura 11 – Espectro de absorção na região do UV-Vis do parâmetro seletividade referente ao método com etanol: A) Presmich e colaboradores (2010A) e B) Método Ajustado.



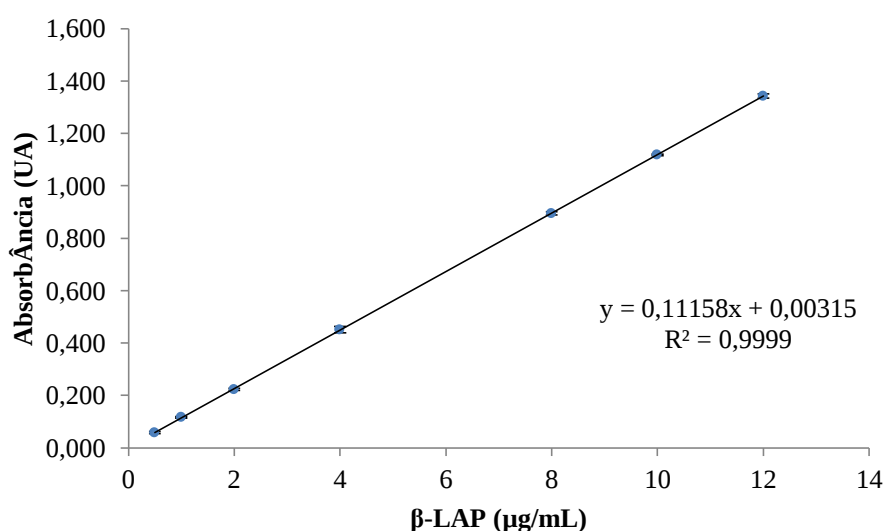
Fonte: Autoria própria.

4.3.1.2 Linearidade

Segundo RDC nº 166 de 2017 da ANVISA, a linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra (BRASIL, 2017). A partir disso, as linearidades das curvas obtidas pelo método de Presmich e colaboradores (2010A) e pelo método ajustado devido a adição de HCl foram comprovadas nas concentrações propostas por meio da análise de regressão linear usando o método dos mínimos quadrados.

No ensaio sem HCl (Método de Presmich e colaboradores), foi possível determinar o valor do coeficiente de correlação $R = 0,9999$ e o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9999$, como mostra a Figura 12. O valor de R^2 indica que 99,99% da variação total relacionado à média são explicadas pela regressão. A obtenção desses resultados confirma que há uma correlação linear entre a absorbância e a concentração das amostras, uma vez que os parâmetros encontram-se dentro dos limites preconizados pela ANVISA, superiores a 0,990.

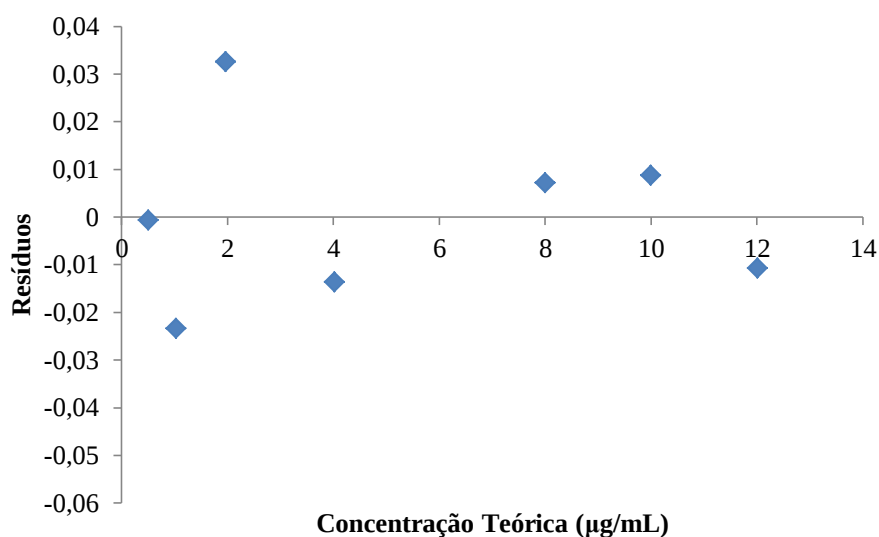
Figura 12 – Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com etanol.



Fonte: Autoria própria.

O cálculo dos resíduos da linearidade do método Presmich e colaboradores (2010A) foi obtido por meio de regressão linear, onde demonstra os valores estimados e os dados observados. Os resíduos distribuíram-se em torno do zero, mostrando que a dispersão é aleatória e sem tendência, indicativo de um bom resultado como o exposto na Figura 13.

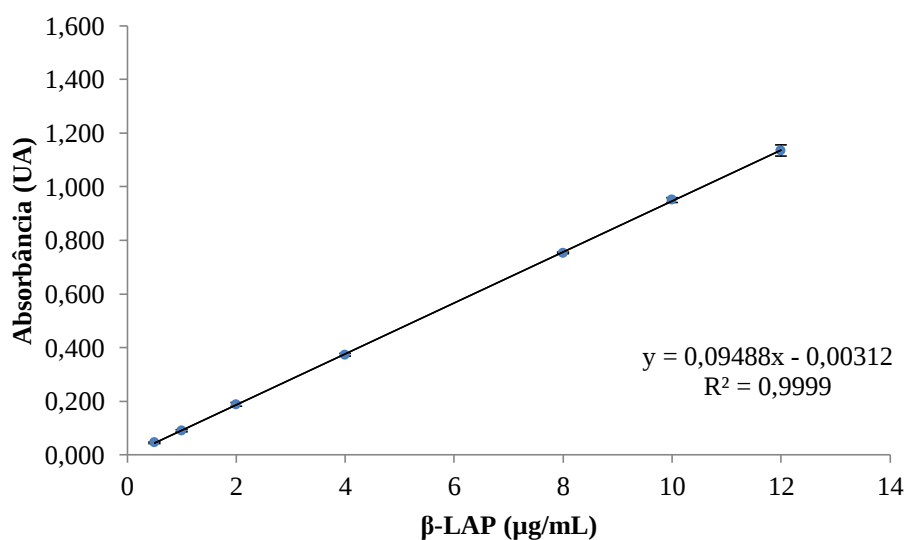
Figura 13 – Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com etanol.



Fonte: Autoria própria.

No método ajustado, contendo HCl 1M, determinou-se o coeficiente de correlação $R = 0,9999$ e o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9999$, confirmando que há uma correlação linear entre as absorbâncias e as concentrações das amostras, como pode ser visto na Figura 14.

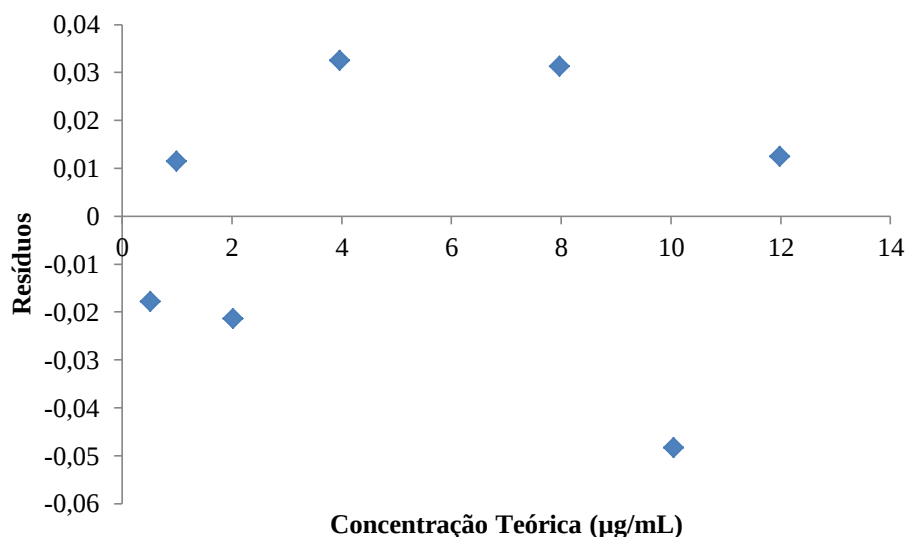
Figura 14 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método ajustado (com HCl 1M) com etanol.



Fonte: Autoria própria.

O cálculo de resíduos da linearidade do método ajustado também apresentou resultados satisfatórios, visto que, os resíduos foram distribuídos em torno do zero, representando uma dispersão aleatória e sem tendência como pode ser observado na Figura 15.

Figura 15 – Gráfico dos resíduos da linearidade por meio do cálculo de regressão linear referente método ajustado (com HCl 1M) com etanol.

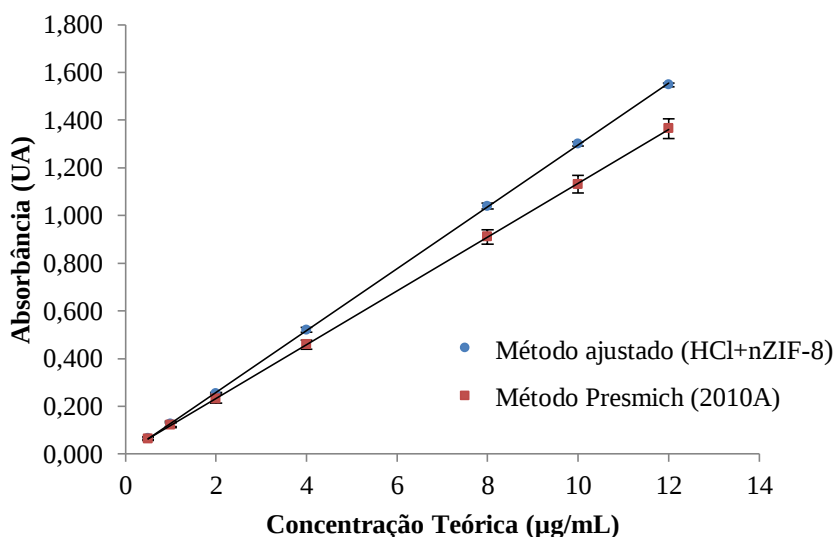


Fonte: Autoria própria.

4.3.1.3 Efeito Matriz

Através dos resultados das inclinações dos métodos de Presmich (2010A) e do ajustado contendo HCl 1M e nZIF-8 pôde-se obter o resultado do efeito matriz, onde o valor obtido foi próximo a 1 (1,1484), esse resultado foi considerado satisfatório em relação ao paralelismo das retas das duas curvas, indicando ausência de interferências dos constituintes da matriz. Os dados também foram analisados estatisticamente por ANOVA fator único tendo o $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$, 0,07 e 4,74. Confirmando dessa forma a linearidade do analito em matriz. O paralelismo entre as retas das duas curvas encontra-se na Figura 16.

Figura 16 – Paralelismo entre retas das curvas com etanol no efeito matriz.



Fonte: Autoria própria.

4.3.1.4 Robustez

Desse modo a robustez foi dada através de análise em diferentes concentrações do fármaco (concentração baixa, média e alta da curva) sem (Método de Presmich e colaboradores) e com adição de HCl (Método Ajustado). Os resultados foram expressos pela Equação 2 e podem ser verificados na Tabela 2.

Tabela 2 – Método com etanol através da variação intencional de pH HCl 1M.

Robustez				
Método	[] Teórica de β -LAP ($\mu\text{g/mL}$)	[] Calculada de β -LAP (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Método Presmich (2010A)	0,5	$0,50 \pm 0,00$	3,38	100,18
Método Presmich (2010A)	4,0	$4,01 \pm 0,01$	2,52	100,34
Método Presmich (2010A)	12,0	$12,01 \pm 0,01$	0,62	100,08
Método Ajustado	0,5	$0,53 \pm 0,00$	4,83	106,29
Método Ajustado	4,0	$3,97 \pm 0,01$	1,48	99,17
Método Ajustado	12,0	$11,99 \pm 0,02$	1,83	99,88

Fonte: Autoria própria.

De acordo com o artigo 61 da RDC 166 de 2017 da ANVISA o parâmetro de robustez observa a capacidade do método analítico resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. O método avaliado se mostrou robusto, o DPR das amostras do método ajustado contendo HCl, foram baixos, ou seja, todas possuem baixa variabilidade intrínseca. Os dados também foram avaliados estatisticamente pelo ANOVA fator único e os valores do $F_{\text{calculado}}$ (0,00) foram inferiores ao F_{tabelado} (4,49) não existindo variação estatisticamente significativa. E apresentou um % de recuperação próximo de 100% nas amostras, permitindo a revalidação do método.

4.3.1.5 Precisão (Repetibilidade)

A repetibilidade foi realizada apenas com o método ajustado contendo HCl, em sextuplicata, os resultados estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 – Repetibilidade do método com etanol.

Amostras	Repetibilidade						Média	DP	DPR (%)
	1	2	3	4	5	6			
Absorbância (UA)	0,516	0,527	0,520	0,530	0,530	0,524	0,525	0,006	1,077

Fonte: Autoria própria. Legenda: DP – Desvio-padrão; DPR – Desvio-padrão relativo.

De acordo com os resultados expostos na Tabela 3, pode-se concluir que o método apresenta boa repetibilidade já que produz resultados com baixo DPR.

4.3.1.6 Exatidão

Esse parâmetro foi realizado a partir da análise que contemplou o intervalo linear do método analítico utilizando diferentes concentrações do fármaco (concentração baixa, média e alta da curva) sem e com adição de HCl. Os resultados da exatidão foram obtidos pela Equação 2 e podem ser vistos na Tabela 4.

Tabela 4 – Exatidão do método com etanol.

Exatidão				
Método	[] Teórica de β-LAP ($\mu\text{g/mL}$)	[] Calculada de β-LAP (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Método Presmich (2010A)	0,5	$0,51 \pm 0,00$	2,89	101,97
Método Presmich (2010A)	4,0	$4,08 \pm 0,02$	4,23	102,05
Método Presmich (2010A)	12,0	$11,81 \pm 0,03$	2,58	98,39
Método Ajustado	0,5	$0,56 \pm 0,00$	2,32	111,20
Método Ajustado	4,0	$4,69 \pm 0,00$	0,39	117,26
Método Ajustado	12,0	$11,83 \pm 0,01$	1,19	98,59

Fonte: Autoria própria.

O método demonstrou-se exato, pois quando comparado com a concentração teórica os resultados obtidos ficaram próximos do valor de concentração conhecido, estando de acordo com a RDC nº 166 de 2017, da ANVISA. Os DPR obtidos foram baixos, e por análise estatística pelo ANOVA fator único os valores do $F_{\text{calculado}}$ (0,01) foram inferiores ao F_{tabelado} (4,49) não existindo variação estatisticamente significativa. O percentual de recuperação demonstrou um pequeno aumento nas concentrações das amostras de concentração mais baixas (0,5 e 4,0 $\mu\text{g/mL}$), porque estas se tornam mais susceptíveis a variações devido a sensibilidade do método. No entanto, o método apresenta um % de recuperação em torno de 100% nas amostras em geral, não inviabilizando a revalidação do método, uma vez que a RDC 166 de 2017, não determina valores para os resultados, mas pede uma justificativa para os mesmos. Vale ressaltar que o método mostrou-se linear e preciso como demonstrado anteriormente.

4.3.2 Revalidação do Método Analítico com Metanol

4.3.2.1 Seletividade

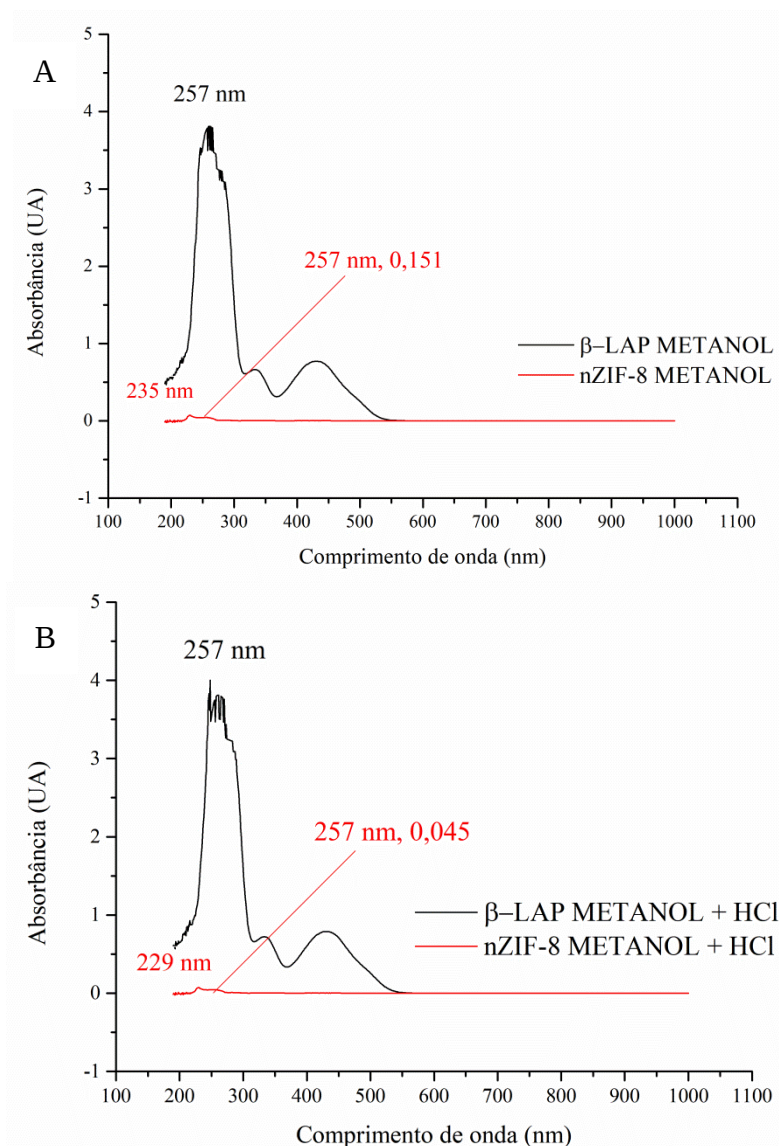
Segundo a RDC 166 de 2017 da ANVISA a seletividade do método analítico deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como componentes da matriz. Diante disso com o objetivo de avaliar se o método é seletivo para a

substância química de referência caracterizada, foram obtidos os espectros de absorção na região do UV-Vis, por varredura das soluções mãe da β -LAP e da nZIF-8, sem HCl (Método Presmich e colaboradores) e como HCl (Método Ajustado em metanol).

A seletividade para revalidação de um método analítico espectrofotométrico verifica comparativamente se a utilização de um método ajustado interfere no comprimento de onda de leitura do analito e se o método continua sendo seletivo apenas para o fármaco, não havendo interferência da matriz (nZIF-8).

A Figura 17 apresenta os espectros UV-Vis demonstrando que o uso do HCl no método ajustado (Figura 17B) quando comparado ao método de Presmich e colaboradores (2010A) (sem HCl) (Figura 17A) não interferem no comprimento de leitura do fármaco (257 nm). Não foram também observadas sobreposições dos picos correspondentes a β -LAP e a nZIF-8, isso significa que a leitura da matriz não ocorre no mesmo ponto em que há máxima absorção de β -LAP. Sendo justificado o uso do HCl para a desorganização da estrutura da matriz. Não interferindo, portanto na leitura para quantificação do fármaco.

Figura 17 – Espectro de absorção na região do UV-Vis do parâmetro seletividade referente ao método com metanol: A) Presmich e colaboradores (2010A) e B) Método Ajustado.



Fonte: Autoria própria.

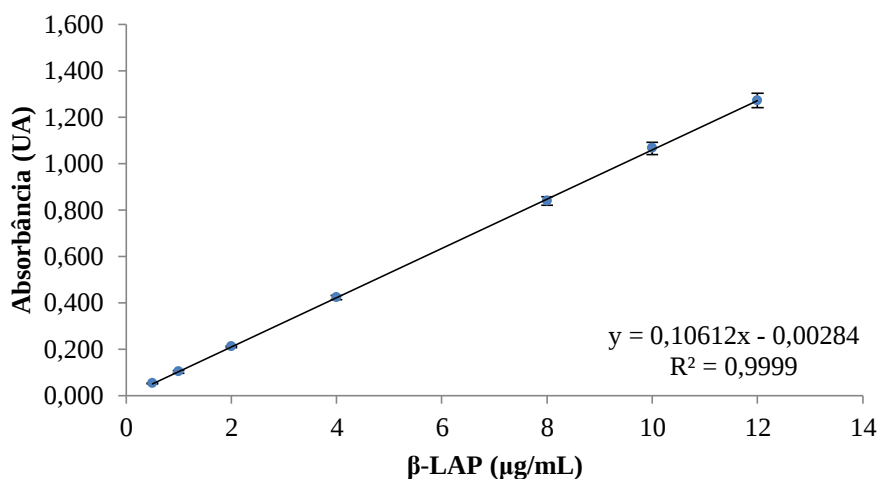
4.3.2.2 Linearidade

As linearidades das curvas obtidas pelo método de Presmich e colaboradores (2010A) e pelo método ajustado devido a adição de HCl foram comprovadas nas concentrações propostas por meio da análise de regressão linear usando o método dos mínimos quadrados.

No ensaio sem HCl (Método de Presmich e colaboradores), foi possível determinar o valor do coeficiente de correlação $R = 0,9999$ e o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9999$, como mostra a Figura 18. O valor de R^2 indica que 99,99% da variação total relacionado à

média são explicadas pela regressão. A obtenção desses resultados confirma que há uma correlação linear entre a absorbância e a concentração das amostras, uma vez que os parâmetros encontram-se dentro dos limites preconizados pela ANVISA, superiores a 0,990.

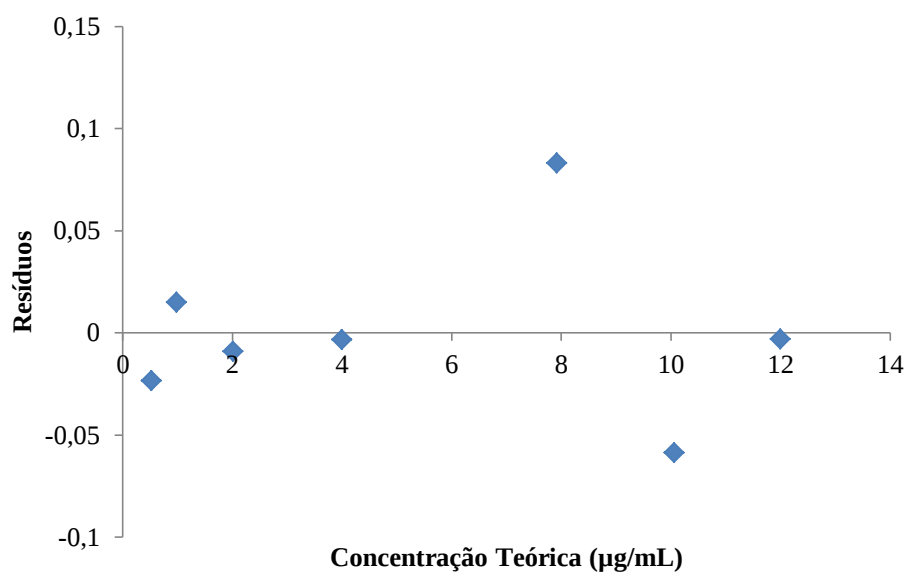
Figura 18 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com metanol.



Fonte: Autoria própria.

O cálculo dos resíduos da linearidade do método Presmich e colaboradores (2010A) foi obtido por meio de regressão linear, onde demonstra os valores estimados e os dados observado. Os resíduos distribuíram-se em torno do zero, mostrando que a dispersão é aleatória e sem tendência, indicativo de um bom resultado como o exposto na Figura 19.

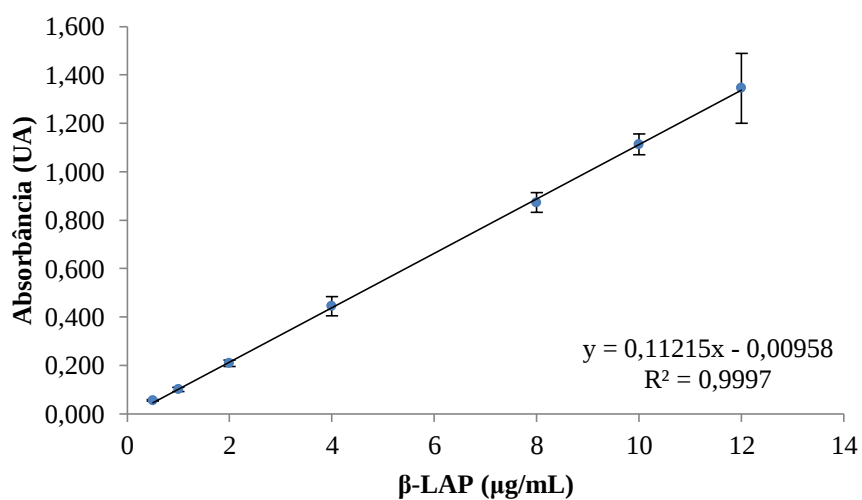
Figura 19 – Gráfico dos resíduos da linearidade por meio do cálculo de regressão linear referente ao método Presmich e colaboradores (2010A) com metanol.



Fonte: Autoria própria.

No método ajustado, contendo HCl 1M, determinou-se o coeficiente de correlação $R = 0,9999$ e o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9997$, confirmando que há uma correlação linear entre as absorbâncias e as concentrações das amostras, como pode ser visto na Figura 20.

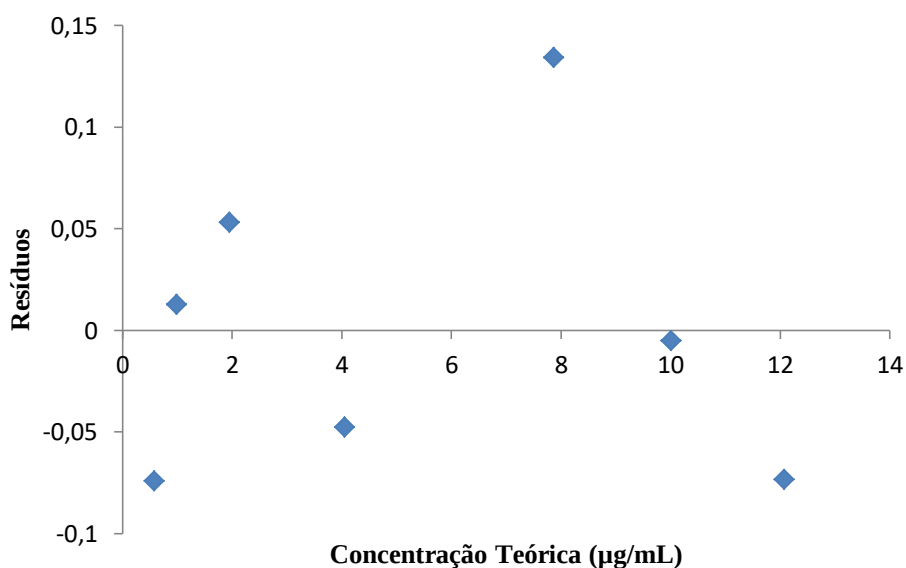
Figura 20 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método ajustado (com HCl 1M) com metanol.



Fonte: Autoria própria.

O cálculo de resíduos da linearidade do método ajustado também apresentou resultados satisfatórios, visto que, os resíduos foram distribuídos em torno do zero, representando uma dispersão aleatória e sem tendência como pode ser observado na Figura 21.

Figura 21 – Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente método ajustado (com HCl 1M) com metanol.

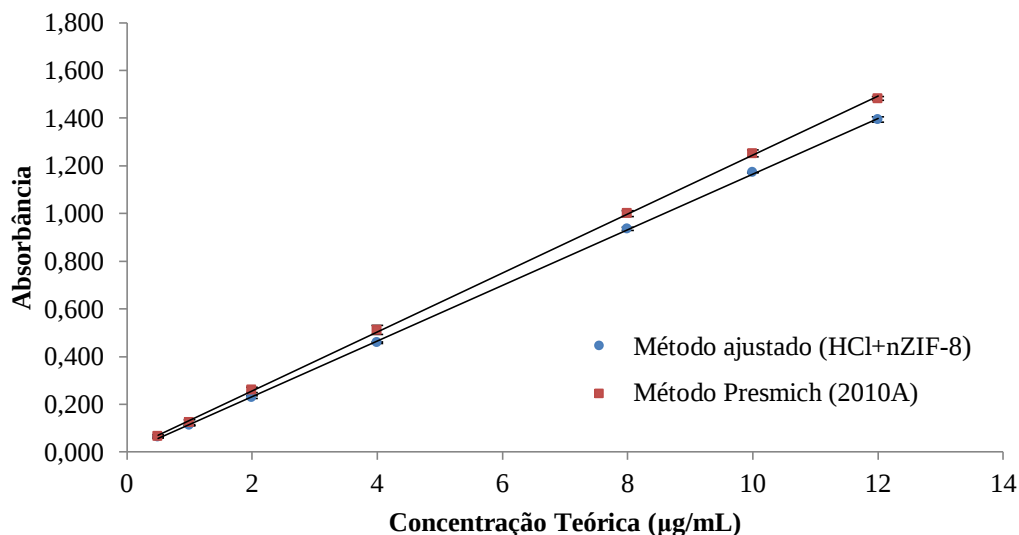


Fonte: Autoria própria.

4.3.2.3 Efeito Matriz

Por meio dos resultados das inclinações dos métodos de Presmich (2010A) e do ajustado contendo HCl 1M e nZIF-8 pôde-se obter o resultado do efeito matriz, onde o valor obtido foi próximo a 1 (0,9437), esse resultado foi considerado satisfatório em relação ao paralelismo das retas das duas curvas, indicando ausência de interferências dos constituintes da matriz. Os dados também foram analisados estatisticamente por ANOVA fator único tendo o $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$, 0,02 e 4,74. Confirmando dessa forma a linearidade do analito em matriz. O paralelismo entre as retas das duas curvas encontra-se na Figura 22.

Figura 22 – Paralelismo entre retas das curvas com metanol no efeito matriz.



Fonte: Autoria própria.

4.3.2.4 Robustez

Desse modo a robustez foi dada por meio da análise em diferentes concentrações do fármaco (concentração baixa, média e alta da curva) sem (Método de Presmich) e com adição de HCl (Método Ajustado). Os resultados foram expressos pela Equação 2 e podem ser verificados na Tabela 5.

Tabela 5 – Método com metanol através da variação intencional de pH HCl 1M.

Robustez				
Método	[] Teórica de β -LAP (µg/mL)	[] Calculada de β -LAP (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Método Presmich (2010A)	0,5	0,52 $\pm$ 0,00	3,95	104,56
Método Presmich (2010A)	4,0	4,34 $\pm$ 0,01	1,10	108,42
Método Presmich (2010A)	12,0	13,11 $\pm$ 0,01	0,67	109,21
Método Ajustado	0,5	0,57 $\pm$ 0,00	4,90	113,37
Método Ajustado	4,0	4,28 $\pm$ 0,00	0,32	107,01
Método Ajustado	12,0	12,62 $\pm$ 0,01	0,69	105,19

Fonte: Autoria própria.

De acordo com o artigo 61 da RDC 166 de 2017 da ANVISA o parâmetro de robustez observa a capacidade do método analítico resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. O DPR das amostras do método ajustado contendo HCl, foram baixos, ou seja, todas possuem baixa variabilidade intrínseca. Os dados também foram avaliados estatisticamente pelo ANOVA fator único e os valores do $F_{\text{calculado}}$ (0,00) foram inferiores ao F_{tabelado} (4,49) não existindo variação estatisticamente significativa. O percentual de recuperação demonstrou um pequeno aumento nas concentrações das amostras de concentração mais baixas (0,5 µg/mL), porque estas se tornam mais susceptíveis a variações devido a sensibilidade do método. Dessa forma, o método apresenta um % de recuperação em torno de 100% nas amostras em geral, não inviabilizando a revalidação do método, uma vez que a RDC 166 de 2017 não determina valores para os resultados, mas pede uma justificativa para os mesmos. Ressaltando que o método mostrou-se linear como demonstrado anteriormente.

4.3.2.5 Precisão (Repetibilidade)

A repetibilidade foi realizada apenas com o método ajustado contendo HCl, em sextuplicata, os resultados estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 – Repetibilidade do método com metanol.

Repetibilidade									
Amostras	1	2	3	4	5	6	Média	DP	DPR (%)
Absorbância (UA)	0,484	0,497	0,504	0,501	0,509	0,506	0,500	0,009	1,786

Fonte: Autoria própria. Legenda: DP – Desvio-padrão; DPR – Desvio-padrão relativo

De acordo com os resultados expostos na Tabela 6, pode-se concluir que o método apresenta boa repetibilidade já que produz resultados com baixo DPR.

4.3.2.6 Exatidão

Esse parâmetro foi realizado a partir da análise que contemplou o intervalo linear do método analítico utilizando diferentes concentrações do fármaco (concentração baixa, média e alta da curva) sem e com adição de HCl. Os resultados da exatidão foram obtidos pela Equação 2 e podem ser vistos na Tabela 7.

Tabela 7 – Exatidão do método com metanol.

Exatidão				
Método	[] Teórica de β-LAP ($\mu\text{g/mL}$)	[] Calculada de β-LAP (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Método Presmich (2010A)	0,5	$0,47 \pm 0,00$	3,95	94,00
Método Presmich (2010A)	4,0	$3,95 \pm 0,01$	2,03	98,78
Método Presmich (2010A)	12,0	$11,95 \pm 0,03$	2,39	99,61
Método Ajustado	0,5	$0,57 \pm 0,00$	4,90	113,37
Método Ajustado	4,0	$4,16 \pm 0,02$	4,76	103,89
Método Ajustado	12,0	$12,06 \pm 0,05$	3,35	100,51

Fonte: Autoria própria.

O método demonstrou-se exato, pois quando comparado com a concentração teórica os resultados obtidos ficaram próximos do valor de concentração conhecido estando de acordo RDC 166 de 2017 da ANVISA. Os DPR obtidos foram baixos, e por análise estatística pelo ANOVA fator único os valores do $F_{\text{calculado}}$ (0,00) foram inferiores ao F_{tabelado} (4,49) não existindo variação estatisticamente significativa. O percentual de recuperação demonstrou um pequeno aumento nas concentrações das amostras de concentração mais baixas (0,5 $\mu\text{g/mL}$), porque estas se tornam mais susceptíveis a variações devido a sensibilidade do método. Dessa forma, o método apresenta um % de recuperação em torno de 100% nas amostras em geral, não inviabilizando a revalidação do método, uma vez que a RDC 166 de 2017 não determina valores para os resultados, mas pede uma justificativa para os mesmos. Vale ressaltar que o método mostrou-se linear e preciso como demonstrado anteriormente.

4.4 DOSEAMENTO DA β -LAP NAS MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS

A partir dos dados de concentrações obtidos por meio da curva analítica proposta, foi possível dosear o percentual de β -LAP que de fato estava contido nos sistemas e misturas físicas, os resultados adquiridos estão elencados na Tabela 8.

Tabela 8 – Doseamento do β -LAP por espectrofotometria.

Amostra	[β] Teórica de sistema ($\mu\text{g/mL}$)	[β] Calculada de β-LAP ($\mu\text{g/mL}$)	% de β-LAP nos sistema
MF β-LAP:nZIF-8 ET	25,2	6,15	24,42
MF β-LAP:nZIF-8 MET	24	4,30	17,94
SIS β-LAP:nZIF-8 3:1 ET	24	6,58	27,81
SIS β-LAP:nZIF-8 3:1 MET	24	2,99	12,48

Fonte: Autoria própria.

O doseamento é de grande importância para quantificação do teor do fármaco nos sistemas, visando sua inserção em formas farmacêuticas, e para prosseguir com os ensaios de dissolução *in vitro*.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DA β -LAPACHONA, nZIF-8, MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS

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

A análise de FTIR é útil para avaliar interações e formação de sistemas entre fármacos e carreadores no estado sólido. A partir de mudanças em bandas características ou nas intensidades dessas bandas da substância pura considera-se a existência de um sistema. Os

espectros infravermelho da β -LAP bem como da nZIF-8 apresentam excelente concordância com os relatados na literatura, confirmando a identidade química das amostras (ALVES et al., 2008; SILVA et al., 2018).

O espectro de absorção no infravermelho da β -LAP evidenciou bandas de absorção de média intensidade em 2973,72 e 2938,22 cm^{-1} (Figura 23 - β -LAP 1 e 2 – página 92) características de deformações axiais assimétricas e simétricas, respectivamente, da ligação C-H da metila. Verificou-se a presença de bandas fracas de combinação e de harmônicas entre 2000 e 1800 cm^{-1} (Figura 23 - β -LAP 3 – página 92). O sinal de forte intensidade na região de 1690,87 cm^{-1} (Figura 23 - β -LAP 4 – página 92) é atribuído à banda de deformação axial de C=O característica das quinonas. As bandas 1589,21 e 1566,62 cm^{-1} (Figura 23 - β -LAP 5 e 6 – página 92) são referentes à deformação axial C=C do anel. Podem ainda ser destacadas duas bandas na região de 1116,41 e 1093,82 cm^{-1} (Figura 23 - β -LAP 7 e 8 – página 92) correspondentes às respectivas deformações axial assimétrica e simétrica de C-O-C (ALVES et al., 2008; FREITAS-NETO et al., 2012; DELARMELINA et al., 2016).

No espectro de absorção da nZIF-8 em 3139,92 e 2938,22 cm^{-1} (Figura 23 - nZIF-8 9 e 10 – página 92) são exibidas duas bandas bem discretas relacionadas ao estiramento de C-H de compostos alifáticos e de aromáticos referentes ao anel imidazol, respectivamente. A vibração de alongamento C=N do anel imidazol apareceu em 1584,37 cm^{-1} (Figura 23 - nZIF-8 11 – página 92). As bandas de forte intensidade em 1418,16 cm^{-1} , 1147,07 e 992,16 cm^{-1} (Figura 23 - nZIF-8 12, 13 e 14 – página 92) foram atribuídas ao alongamento C-N. E por fim não foi possível observar a banda de estiramento Zn-N, uma vez que, ela acontece entre 450 e 400 cm^{-1} e a análise só foi possível em equipamentos que trabalhavam até 550 cm^{-1} (FERRAZ, 2017; SOLTANI et al., 2017; SILVA et al., 2018).

Os espectros das MFs (Figura 23 - MF β -LAP:nZIF-8 ET e MF β -LAP:nZIF-8 MET – página 92) correspondem a uma sobreposição de bandas da nZIF-8 sobre os da β -LAP, onde é possível notar que as bandas características da nZIF-8 foram todos mantidos sem praticamente nenhuma alteração de intensidade enquanto que as bandas da β -LAP se apresentaram de maneira bastante sutil. Diante disso, pressupõe-se um determinado grau de interações entre o fármaco e a nZIF-8 quando estes são unidos apenas por uma mistura física.

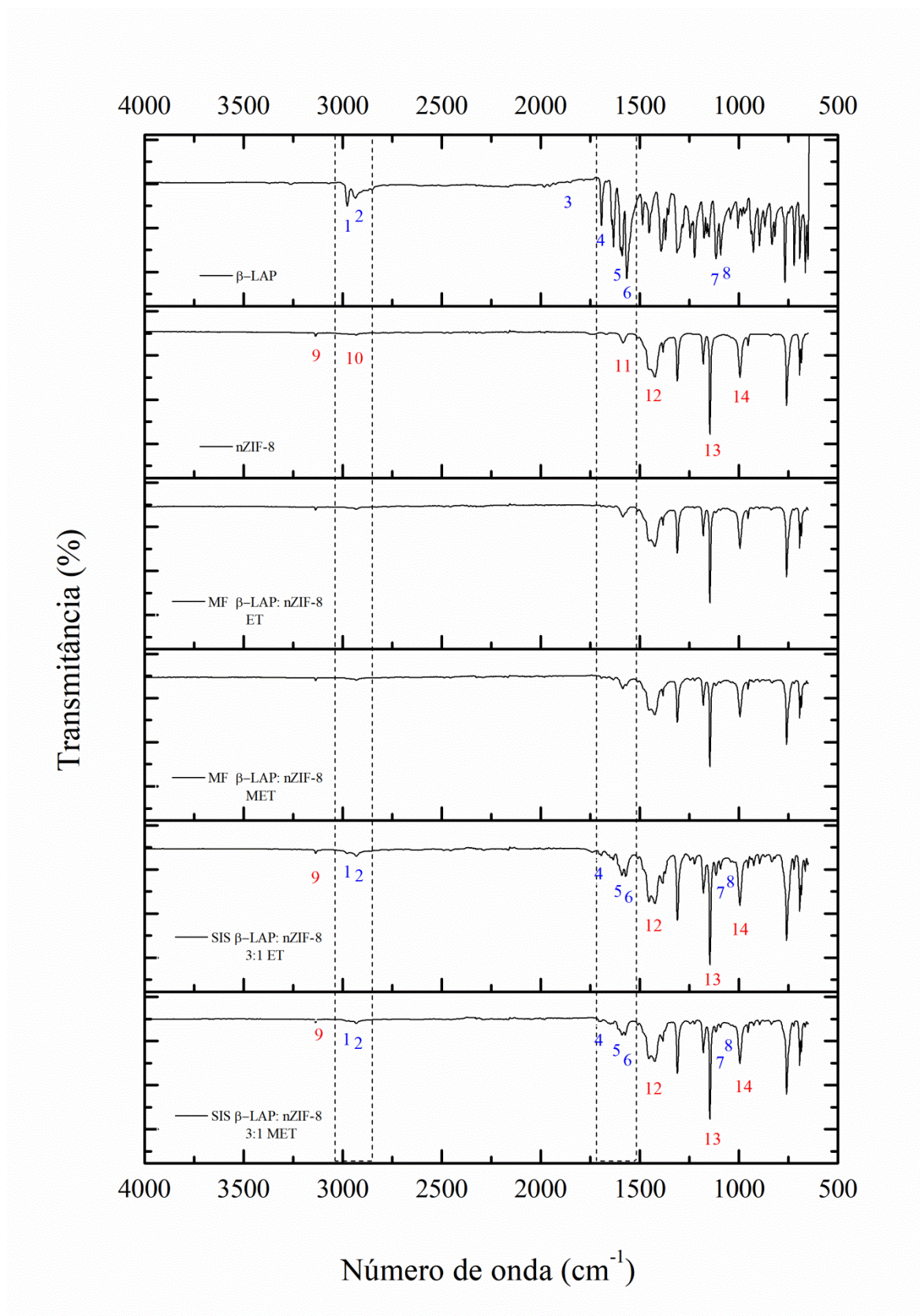
Na análise dos sistemas β -LAP:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol (Figura 23- SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 ET e SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET – página 92) alterações foram observadas, uma vez que, algumas bandas dos materiais isolados não foram bem evidenciadas devido a sobreposição das mesmas (β -LAP e nZIF-8). Entretanto é possível sugerir a presença

do fármaco, que teve suas bandas características com intensidades significativamente diminuídas principalmente no sistema β -LAP:nZIF-8 3:1 obtido em metanol, demonstradas em 2973,72 e 2938,22 cm^{-1} (1 e 2) referentes a deformações axiais assimétricas e simétricas, respectivamente, da ligação C-H da metila, em 1690,87 cm^{-1} (4) atribuída a deformação axial de C=O e em 1589,21 e 1566,62 cm^{-1} (5 e 6) associadas à deformação axial C=C do anel, essas 2 últimas responsáveis por sobrepor a vibração em 1584,37 cm^{-1} (11) do alongamento C=N do anel imidazol da nZIF-8 e que não foram sobrepostas nas misturas físicas.

Dessa forma a nZIF-8 se mostrou presente nos sistemas a partir das bandas em 3139,92 cm^{-1} (9) que teve intensidade reduzida relacionada ao estiramento de C-H de compostos alifáticos, e em 1418,16 cm^{-1} , 1147,07 e 992,16 cm^{-1} (12, 13 e 14) atribuídas ao alongamento C-N, onde a última (14) também apresentou redução na sua intensidade.

Assim ao comparar os espectros das misturas físicas e dos sistemas com as substâncias isoladas, observou-se que tanto as misturas físicas como os sistemas apresentaram picos em menor intensidade e que nos sistemas ainda a β -LAP sobrepôs picos da nZIF-8. Sugerindo a partir disso tudo a formação do sistema devido aos indícios de interação entre a β -LAP e a nZIF-8 (CUNHA-FILHO et al., 2007).

Figura 23 – Espectros de infravermelho da β -LAP, nZIF, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF 3:1 obtidos em metanol e etanol.



Fonte: Autoria própria.

4.5.2 Difratometria de Raios-X (DRX)

O estudo de difração de raios X foi realizado para verificar a cristalinidade ou a amorfização dos diferentes sistemas e misturas físicas em relação aos compostos isolados. Além de fornecer informações, que permitem identificar a partir do cálculo do espaçamento basal, qual possível interação ocorreu entre o fármaco e o carreador, se foi uma adsorção ou uma incorporação, pois trata-se de um material lamelar, esse cálculo é realizado utilizando a equação de Bragg (ZHU et al., 2016). Os difratogramas das amostras isoladas de β -LAP e nZIF-8, das misturas físicas e dos sistemas obtidos estão representados na Figura 24 (página 94).

O perfil difratográfico da β -LAP apresenta uma série de picos bem definidos de alta e média intensidade, demonstrando um padrão típico de produto policristalino, com um pico agudo principal em $9,45^\circ$ (2θ) e picos secundários em $12,93^\circ$, $15,22^\circ$, $18,98^\circ$, $19,52^\circ$, $27,01^\circ$, $33,57^\circ$ e $39,19^\circ$ (2θ) picos semelhantes foram relatados por Santos e colaboradores (2017) e por Freitas-Neto e colaboradores (2012), revelando a autenticidade do insumo farmacêutico ativo utilizado.

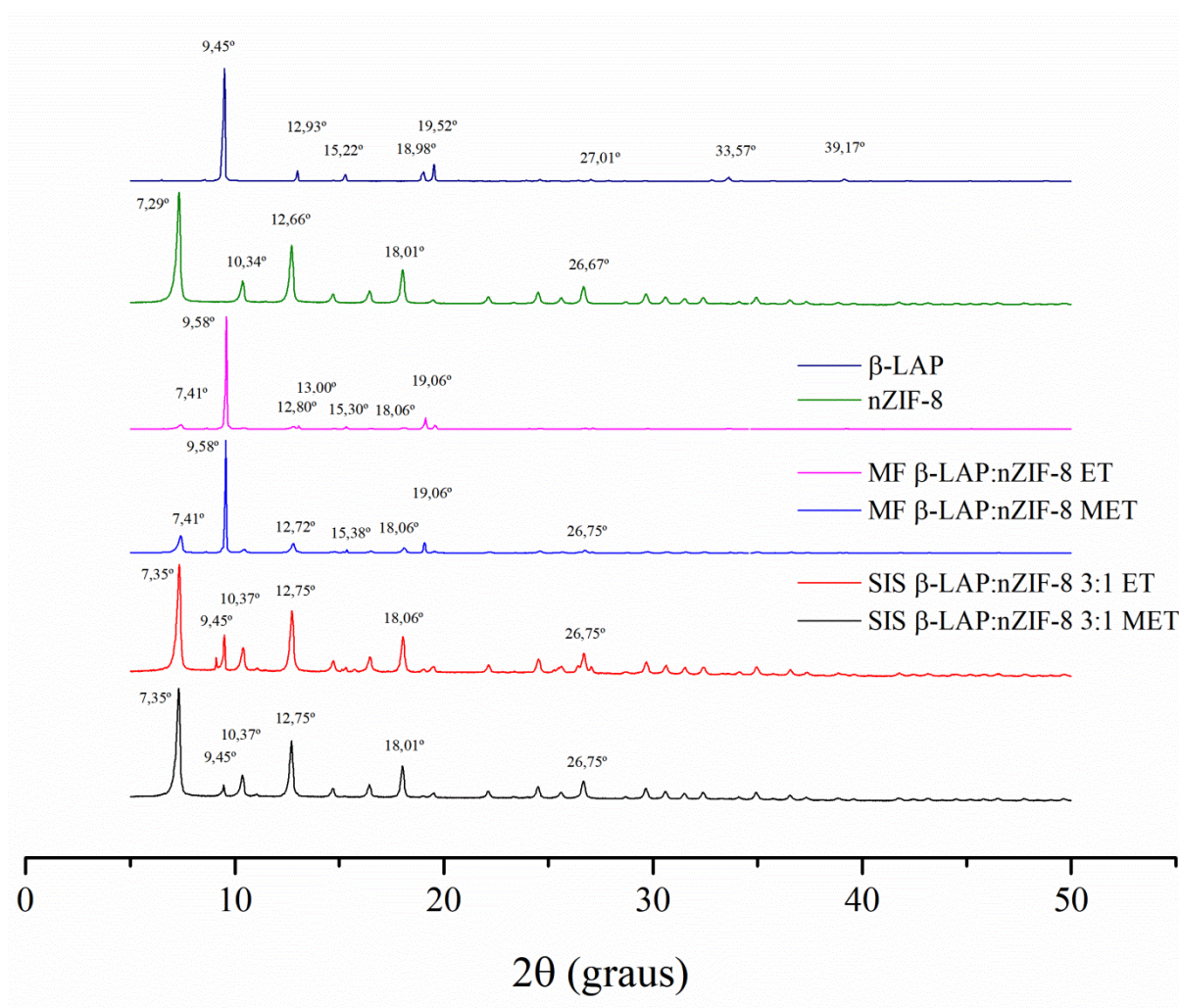
O difratograma da nZIF-8 revelou sua natureza cristalina com picos de alta ($7,29^\circ$) e média intensidade ($10,34^\circ$, $12,66^\circ$, $18,01^\circ$, $26,67^\circ$) que estão de acordo com os apresentados por Nune e colaboradores (2010) confirmando que a amostra possui fase pura de nZIF-8. Os picos $7,29^\circ$, $10,34^\circ$ e $12,66^\circ$ se referem ao cubo de corpo centrado e correspondem as reflexões 011, 002 e 112, respectivamente. Esses dados foram utilizados para os cálculos de espaçamento basal, visando estabelecer um valor de referência para caracterizar a inserção da β -LAP na rede da nZIF-8. Tais resultados estão de acordo com trabalhos recentes (NABIPPOUR et al., 2017; SOLTANI et al., 2017; BUI et al., 2018).

Nas misturas físicas correspondentes aos sistemas obtidos em metanol e etanol foi observado um somatório dos perfis difratográficos dos materiais isolados (β -LAP e nZIF-8), exibindo uma sobreposição de seus picos característicos sem praticamente nenhuma alteração de intensidade no pico principal da β -LAP, sugerindo que não há alteração no estado cristalino do fármaco.

Os sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 (mol/mol) obtidos em etanol e metanol demonstram significativa redução na intensidade de todos os picos referentes ao fármaco, apenas um pico correspondente a β -LAP é visto de maneira bastante sutil em $9,45^\circ$ principalmente nos sistema metanol, confirmando a presença do fármaco nos sistemas, enquanto que os demais picos que

predominaram com alta e média intensidade são semelhantes aos da nZIF-8 em 7,35°, 10,37°, 12,75°, 18,01° e 18,06°. Isso é sugestivo de que interações químicas entre o fármaco e o carreador foram suficientes para gerar uma desorganização na estrutura cristalina da β -LAP quando incorporada a nZIF-8, provocando uma amorfização da β -LAP que vem a contribuir com a taxa de dissolução do IFA (COSTA, 2016). Esses resultados corroboram com a formação dos sistemas.

Figura 24 – Difratogramas de raios-X da β -LAP, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em metanol e etanol.



Fonte: Autoria própria.

Os valores do espaçamento basal foram obtidos a partir da equação de Bragg como parâmetro para identificar a inserção da β -LAP a molécula de nZIF-8 (ZHU et al., 2016). Os espaços interlamelares podem ser alterados com o aporte do fármaco, dessa maneira quando os valores encontrados nos sistemas e misturas físicas são maiores que o basal, ou seja, que o

do carreador, indicam que o fármaco foi inserido na molécula e por isso os espaços entre as lamelas sofrem dilatação. Quando se comparou os resultados dos picos de reflexão característicos da cristalinidade nZIF-8 isolada (011, 002 e 112) com as demais amostras (Tabela 9), foi possível verificar que os valores obtidos foram bem semelhantes (XIONG et al., 2015). Esse fato não exclui a formação do sistema, mas é sugestivo de uma adsorção do fármaco a superfície da nZIF-8, caracterizando uma interação física.

Tabela 9 – Cálculo do espaçamento basal dos picos de reflexão 011, 002 e 112 da nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas obtidos em etanol e em metanol.

Amostra	Pico ($^{\circ}2\theta$)	Reflexão (%)	Espaçamento Basal (Å)
nZIF-8	7,29	011	12,14
	10,34	002	8,56
	12,66	112	7,00
MF β-LAP:nZIF-8 ET	7,41	011	11,93
	10,45	002	8,46
	12,78	112	6,93
MF β-LAP:nZIF-8 MET	7,41	011	11,93
	10,42	002	8,49
	12,78	112	6,93
SIS β-LAP:nZIF-8 ET	7,35	011	12,05
	10,42	002	8,49
	12,75	112	6,95
SIS β-LAP:nZIF-8 MET	7,35	011	12,05
	10,37	002	8,54
	12,65	112	7,00

Fonte: Autoria própria.

4.5.3 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica foi de suma importância para investigação da estabilidade térmica das matérias-primas isoladas, misturas físicas e sistemas obtidos, fornecendo dados sobre a degradação do fármaco frente à temperatura e para corroborar com a formação dos

sistemas (CAVALCANTI et al., 2011; CHOWDHURI et al., 2017). Dessa forma todas as curvas TG dos materiais estão representadas na Figura 25 (página 98).

A curva termogravimétrica da β -LAP indica que o fármaco é termicamente estável até 186,5°C. O seu evento de decomposição térmica aconteceu em apenas uma etapa, entre 186,5 e 328,1°C ($DTG_{pico}=265,2^{\circ}\text{C}$) com uma perda de massa de 67%. Resultados similares foram encontrados por Pontes (2016) e Xavier-Junior e colaboradores (2017) onde também só foi identificado um único evento com pico em 270°C.

Já a curva TG da nZIF-8 demonstra que a molécula apresenta alta estabilidade térmica, sendo estável até 411,6°C (ZHENG et al., 2015). Exibindo uma perda de massa sutil de 0,6% entre 24,0 e 124,9°C ($DTG_{pico}=25,29^{\circ}\text{C}$) onde segundo Chowdhuri e colaboradores (2017) em alguns casos são observados perda de massa até 100°C associadas à perda de umidade ou metanol que são absorvidos pelos poros das nMOFs. O evento térmico de decomposição aconteceu em uma única etapa, na faixa de temperatura de 411,6 até 652,97 ($DTG_{pico}=529,1^{\circ}\text{C}$) e perda de massa de 55% que pode ser interpretada como a perda do ligante orgânico, imidazolato. Esses resultados estão de acordo com trabalhos recentes da literatura (SCHEJN et al., 2014; GADIPELLI; GUO, 2015; SILVA et al., 2018).

Analisando a MF β -LAP:nZIF-8 ET nota-se a presença de três eventos térmicos. O primeiro evento ocorrendo no intervalo entre 175,2 e 272,1°C ($DTG_{pico}=229,5^{\circ}\text{C}$) com perda de massa de 13,0% parece está relacionado com uma antecipação da degradação térmica do fármaco quando comparado com sua curva TG isolada. O segundo evento entre 412,4 e 635,4°C ($DTG_{pico}=542,5^{\circ}\text{C}$), com de perda de massa de 21,4%, é semelhante ao de decomposição térmica da nZIF-8, uma vez que, aconteceu praticamente na mesma faixa da nZIF-8 isolada. E o último evento, que não foi tão bem evidenciado na curva da nZIF-8 isolada, mas foi exibido na mistura física ocorreu entre 635,40 e 800°C ($DTG_{pico}=662,35^{\circ}\text{C}$ - perda de massa de 13,9%), segundo Schejn e colaboradores (2014) pode está relacionado a decomposição térmica da porção inorgânica da nZIF-8 até formação de óxido de zinco.

A da MF β -LAP:nZIF-8 MET apresentou um termograma misto dos materiais isolados. Iniciando nessa MF com um evento entre 174,06 e 246,97°C ($DTG_{pico}=215,4^{\circ}\text{C}$) e perda de massa de 5,2%, também sugerindo uma antecipação da degradação do fármaco quando comparado com sua curva TG isolada. Seguido de um evento entre 419,9 e 640,4°C ($DTG_{pico}=530,7^{\circ}\text{C}$) com perda de massa 17,2% que pode ser relacionado com a decomposição da porção orgânica da nZIF-8. E na faixa de 640,4 até 800°C ($DTG_{pico}=752,8^{\circ}\text{C}$ – perda de massa de 36,8%) observa-se outro evento que talvez esteja associado a degradação da porção

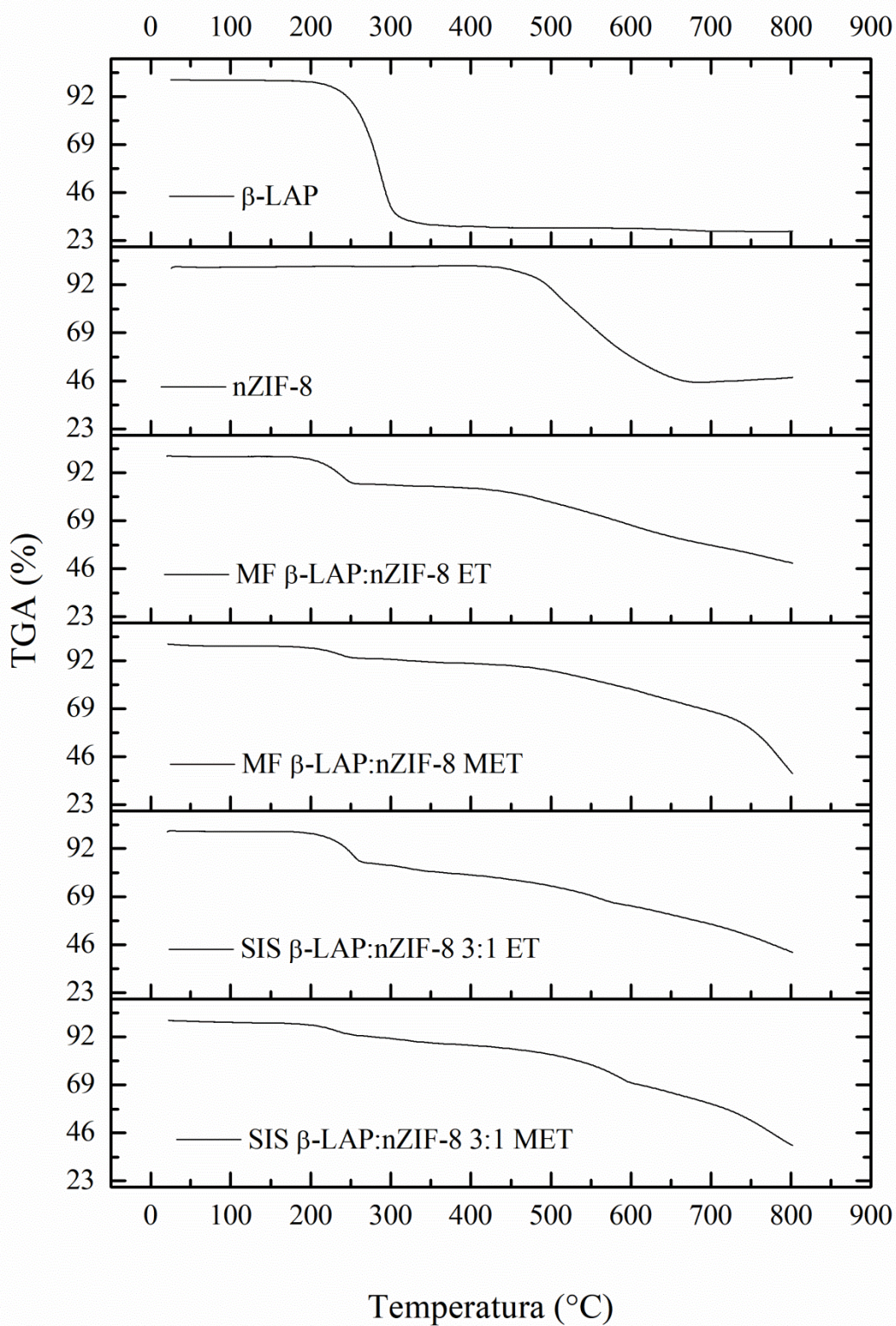
inorgânica da nZIF-8 com formação de óxido de zinco residual. Sendo possível observar que as simples interações físicas produziram curvas TG com um somatório dos eventos térmicos do fármaco e da nMOF isolados.

Com relação à análise da curva TG do SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 ET os eventos térmicos se mostraram similares aos das misturas físicas. De 157,8 até 261,0°C ($DTG_{pico}=228,8^{\circ}\text{C}$) houve uma perda de massa de 14,9%, esse evento é indicativo de degradação do β -LAP e foi antecipado. Porém, diferente da nZIF-8 isolada e das MFs o evento que se assemelha ao de decomposição do imidazolato se apresentou em um intervalo diferente (311,3-573,8; $DTG_{pico}=485,4^{\circ}\text{C}$), foi antecipado, com perda de massa de 16,8%, sugerindo que a interação entre o fármaco e a nZIF-8 ocorrida na formação desse sistema pode ser capaz de desestabilizar a porção orgânica dessa última (FERRAZ, 2017). Quanto ao evento que provavelmente é de degradação da porção inorgânica da nZIF-8 ocorreu de 573,8 até 800,0°C ($DTG_{pico}=708,4^{\circ}\text{C}$; perda de massa de 24,2%).

No termograma do SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET o evento que pode ser de decomposição do fármaco também foi antecipado, aconteceu no intervalo de 155,6 - 257,6°C ($DTG_{pico}=211,0^{\circ}\text{C}$), a perda de massa foi de 6,2%. A degradação que acontece em faixa próxima à de degradação do imidazolato na nZIF-8 isolada aconteceu entre 321,5 e 592,7°C ($DTG_{pico}=526,3^{\circ}\text{C}$) e sua perda de massa foi de 20,3%. E a decomposição que ocorre intervalo similar ao de decomposição da porção inorgânica da nZIF-8 foi vista entre 592,7 e 800,0°C ($DTG_{pico}=592,8^{\circ}\text{C}$; perda de massa de 31,5%). Dados semelhantes à sua mistura física correspondente.

Foi possível observar que tanto as misturas físicas como os sistemas exibiram antecipação do evento que provavelmente se refere à decomposição do β -LAP. E que as MFs e sistemas apresentaram características parecidas, esse comportamento pode estar relacionado com o calor utilizado na técnica, que pode provocar uma reação entre o fármaco e o carreador, pois a temperatura pode fornecer uma energia extra para que a barreira energética (energia de ativação) para formação dos produtos seja superada durante a análise permitindo que as MFs apresentassem curvas semelhantes com os sistemas (TIMÓTEO, 2018). Apenas no sistema etanol houve antecipação do intervalo térmico de degradação da porção orgânica da nZIF-8. Nesse sentido outras análises são necessárias para verificar esses comportamentos.

Figura 25 – Curvas TG da β -LAP, nZIF, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF 3:1 obtidos em metanol e etanol.



Fonte: Autoria própria.

4.5.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Nesse estudo, a DSC foi utilizada para caracterização térmica da β -LAP, nZIF, Misturas Físicas e Sistemas obtidos, verificando a pureza do fármaco e identificação da sua forma (cristalina ou amorfa) a partir das entalpias obtidas, uma vez que, cada forma cristalina vai gerar uma energia de entalpia característica (OLIVEIRA et al, 2011). As curvas DSC dos materiais estão dispostas na Figura 26 (página 102).

A curva DSC da β -LAP é caracterizada por um pico endotérmico intenso na faixa de temperatura de 154,7 a 159°C ($T_{pico} = 156,78^\circ\text{C}$; $\Delta H = -71,1 \text{ J/g}$) referente ao processo de fusão da sua estrutura cristalina, esse evento é comum de materiais cristalinos, ou seja, que tem arranjo organizado. Seguido de mais um evento endotérmico (241,0-262,5°C; $T_{pico} = 250,5^\circ\text{C}$; $\Delta H = -152,2 \text{ J/g}$) relacionado com a degradação do fármaco com perda de massa de 67,1% conforme foi detectado na curva termogravimétrica. E com pureza de 99,8% calculada pela equação de Van't Hoff do evento de fusão. Esses dados estão em conformidade com outros encontrados na literatura (CUNHA-FILHO et al, 2007; CUNHA-FILHO et al, 2008; FREITAS-NETO et al., 2012; MANGAS-SANJUAN et al., 2015).

Em adição a análise de pureza foi obtido o cromatograma da β -LAP em 257 nm de acordo com a absorção máxima de UV demonstrado no espectro obtido pelo DAD (Figura 27A). O pico cromatográfico único característico da β -LAP, não demonstrou impureza (Figura 27B). Sendo o teor relativo da β -LAP na matéria-prima calculado de 99,8%, confirmando o resultado encontrado no DSC, evidenciando desta forma o elevado grau de pureza do fármaco e a boa qualidade do processo de purificação do mesmo.

Na curva DSC da nZIF-8 houveram eventos com pouca definição, que podem ser devido a sua natureza orgânica e inorgânica desse carreador e que demonstra sua boa estabilidade térmica (CRAVILLON et al., 2009). Apresentando eventos exotérmicos ($T_{pico1} = 29,17^\circ\text{C}$; $T_{pico2} = 139,26^\circ\text{C}$; $\Delta H1 = 0,86 \text{ J/g}$; $\Delta H2 = 164,29 \text{ J/g}$) e endotérmico ($T_{pico} = 370,55^\circ\text{C}$; $\Delta H = -79,90 \text{ J/g}$) discretos que é sugerido segundo Kaur e colaboradores (2017) a remoção de moléculas não reagidas (metil-imidazol) resultantes do processo da sua síntese que ficam nos poros do nanomaterial. Em auxílio a isso foi feita a análise da curva DTA (Apêndice A), uma vez que a nZIF-8 não apresenta processos de degradação consideráveis até em torno de 400,0°C de acordo com a curva TG corroborando com sua alta estabilidade térmica e por isso a falta de eventos definidos na curva DSC, já que essa análise é realizada até 400°C. Ainda na curva DTA um alto fluxo de calor foi observado na faixa de temperatura entre 400,0 e

676,0°C ($T_{pico} = 532,7^{\circ}\text{C}$) com $\Delta H = 6,5 \text{ k J/g}$, indicando liberação de energia sugestiva de clivagem das ligações químicas, pois é nessa faixa que a nZIF-8 exibe o processo de decomposição da sua porção orgânica, de acordo com o que foi evidenciado na curva TG (NUNE et al., 2010).

Na MF β -LAP:nZIF ET um evento endotérmico intenso referente a fusão da β -LAP surgiu entre 154,5 e 158,0°C, que quando comparado com o fármaco isolado não apresenta deslocamento do pico ($T_{pico} = 156,0^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -25,41 \text{ J/g}$). Enquanto que no intervalo entre 228,87 e 269,83 onde existia um pico endotérmico de degradação da β -LAP, após a simples mistura física entre a β -LAP e a nZIF-8 surge um pico exotérmico também de decomposição, que provavelmente se deve a uma sobreposição do evento exibido pela β -LAP pelo exotérmico que a nZIF-8 isolada apresentou provavelmente resultado de substâncias da sua síntese que ficaram no interior de seus poros e no processo energético devido a ser um processo que envolve mais energia ele foi capaz de se sobrepôr ao evento de decomposição da β -LAP ($T_{pico} = 250,07^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = 85,4 \text{ J/g}$).

E a MF β -LAP:nZIF-8 MET apresentou-se com curva DSC parecida com a da MF ET. O pico endotérmico de fusão da β -LAP ocorreu de 154,12 - 157,89 ($T_{pico} = 155,8^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -18,40 \text{ J/g}$), quase que no mesmo intervalo que a β -LAP sozinha. Também apresentando sobreposição do processo exotérmico da nZIF-8 sobre o endotérmico de decomposição da β -LAP ($T_{pico} = 247,24^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = 36,12 \text{ J/g}$). Com intensidade do processo de fusão do fármaco e exotérmico que é indicativo que seja da nZIF-8 um pouco menores que os observados na mistura discutida anteriormente.

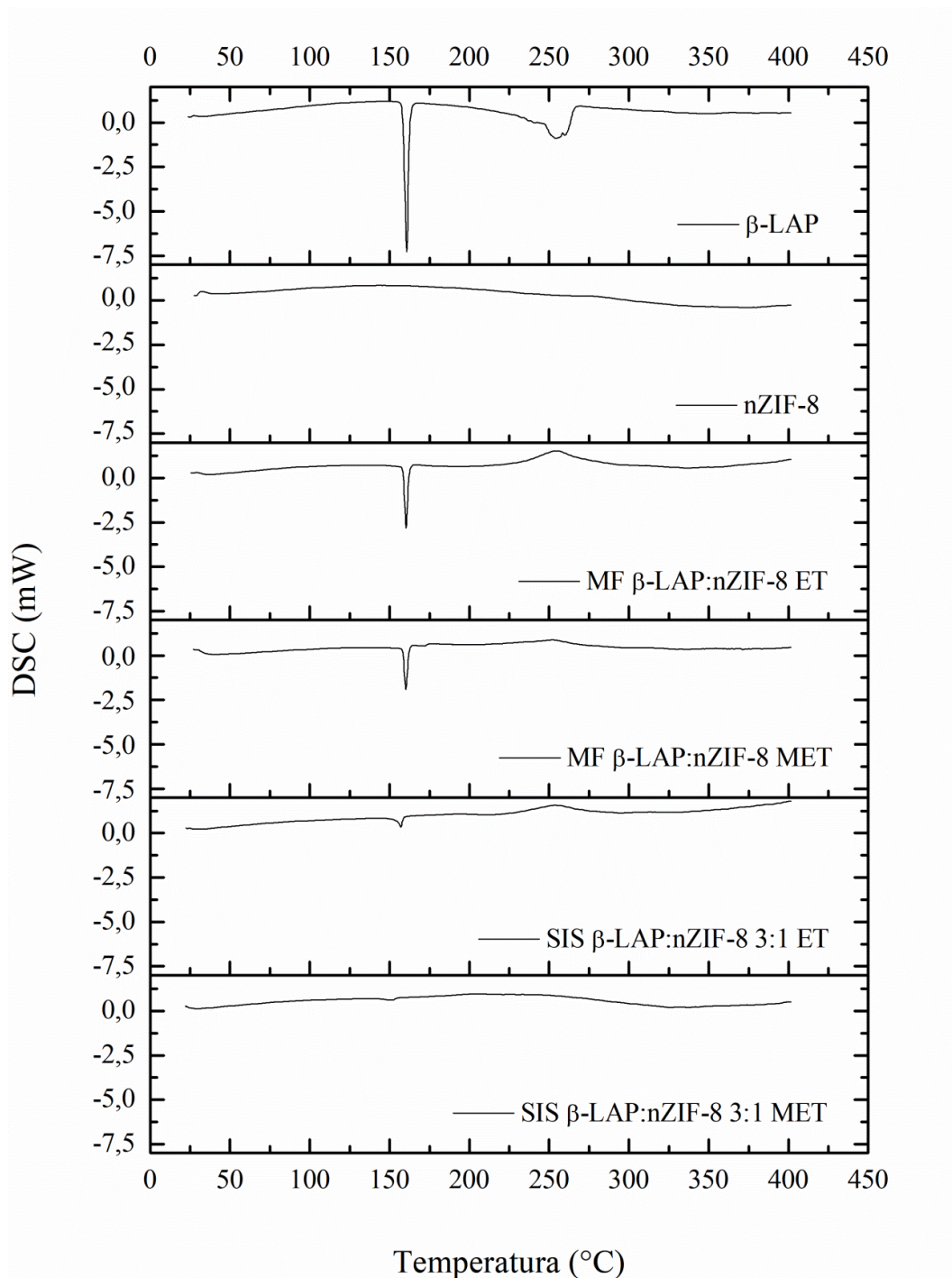
Enquanto que no SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 ET o pico de fusão da β -LAP ($T_{pico} = 155,04^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -6,3 \text{ J/g}$) ainda foi observado porém teve sua intensidade bastante reduzida quando comparado com o exibido na curva DSC do fármaco isolado e da sua mistura física correspondente (MF β -LAP:nZIF-8 ET). E quanto ao pico que talvez esteja relacionado com uma sobreposição do processo endotérmico de degradação da β -LAP pelo exotérmico da nZIF-8 também foi evidenciado entre 224,68 e 265,47 ($T_{pico} = 251,56^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = 43,28 \text{ J/g}$).

Já o SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET apresentou curva DSC bem similar a da nZIF-8 o pico de fusão da β -LAP apareceu discretamente ($T_{pico} = 151,18^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -2,99 \text{ J/g}$), pouco visível, diferente do observado na sua mistura física correspondente (MF β -LAP:nZIF-8 MET) e no fármaco isolado, isso é sugestivo de uma amorfização da estrutura, corroborando com os dados do DRX onde praticamente todos os planos cristalinos do fármaco desapareceram no sistema e apenas um foi visto sutilmente (COSTA, 2016; XAVIER-

JÚNIOR et al., 2017). O pico de fusão foi levemente antecipado, geralmente o deslocamento do máximo pico de temperatura de fusão para temperaturas inferiores e o alargamento do pico de fusão pode indicar a redução no tamanho dos cristalitos e, conseqüentemente, uma melhor solvatação dos mesmos pelo solvente, além de menor de entalpia quando se compara com o fármaco isolado e com sua mistura física correspondente, o que pode ocasionar um incremento de solubilidade por necessitar de menos energia para solubilizar (FERRAZ, 2017). E o evento de degradação não é mais bem definido como nas curvas discutidas anteriormente, sendo observados agora discretos eventos, um exotérmico ($T_{pico} = 205,71^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = 6,97 \text{ J/g}$) e outro endotérmico ($T_{pico} = 327,65^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -123,17 \text{ J/g}$) largos, assim como os observados na curva da nZIF-8 isolada. Esses dados corroboram com a formação do sistema e permite identificar que o sistema obtido em metanol é mais eficiente no que tange a incorporação do fármaco.

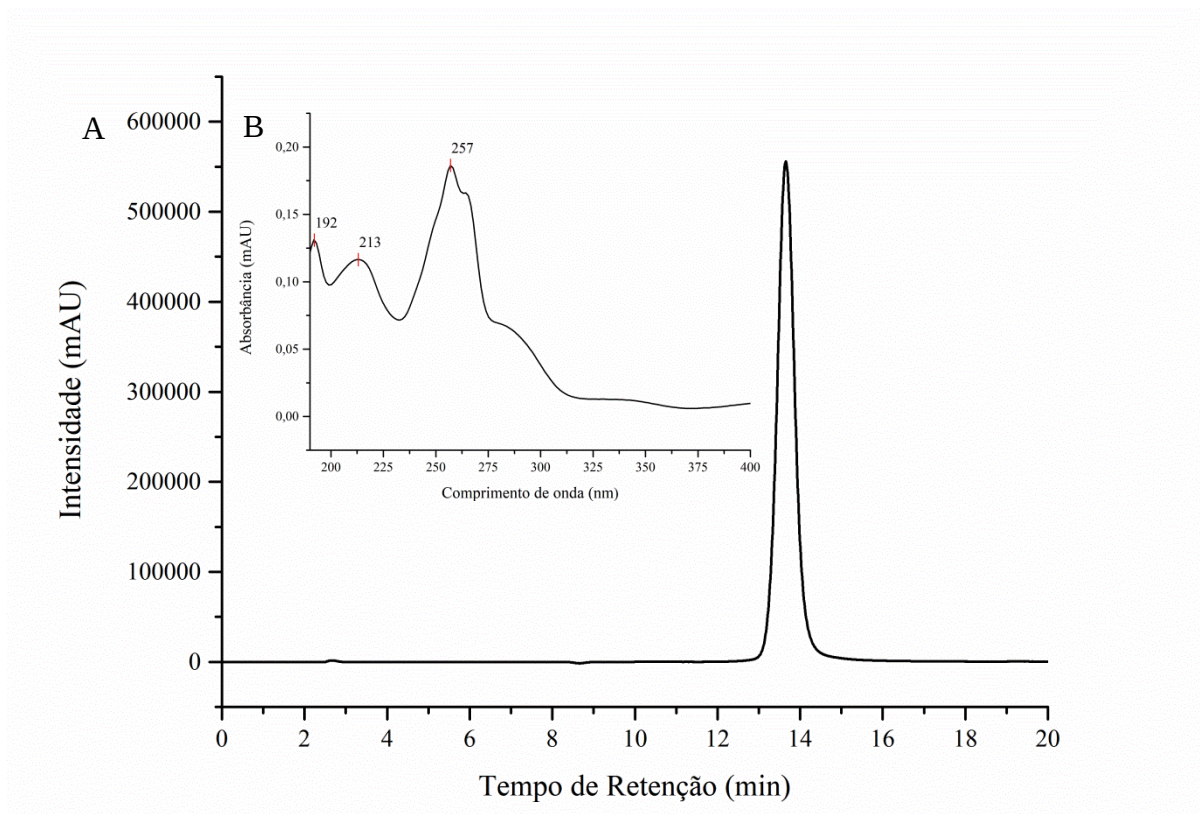
Dessa forma, foi possível verificar que nas MFs os picos de fusão estiveram presentes de maneira intensa e ocorreram praticamente na mesma faixa da β -LAP sozinha. Enquanto que nos sistemas o pico de fusão foi bastante reduzido, sendo praticamente não visualizado e levemente antecipado no sistema obtido em metanol. Corroborando com os resultados da DRX que exibem a alta natureza cristalina das misturas físicas, conforme observado nos planos de difração semelhantes aos da β -LAP, mostrando a incapacidade que o processo de obtenção destes compostos (processo físico) tem de alterar a cristalinidade do fármaco. E onde os sistemas praticamente não apresentaram planos cristalinos do fármaco, confirmando que o método de obtenção é capaz de alterar a cristalinidade do fármaco, uma vez que envolve a solubilização dos componentes, ou seja, desorganização cristalina e conseqüente solvatação pelas moléculas do solvente, favorecendo interações que após retirado o solvente mantenham o material com cristalinidade reduzida ou amorfo (DANDA, 2018).

Figura 26 – Curvas DSC da β -LAP, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em metanol e etanol.



Fonte: Autoria própria.

Figura 27 - Cromatograma da β -LAP obtido em 257 nm (A) conforme a absorção máxima de UV demonstrada no espectro obtido pelo DAD (B).



Fonte: Autoria própria.

4.5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise por MEV é amplamente utilizada para investigação da estrutura morfológica dos materiais isolados e de suas misturas, proporcionando imagens de alta resolução com riqueza de detalhes, permitindo identificar alterações sofridas após um processo e o tamanho das partículas dos compostos, dados importantes para compreensão e previsão das propriedades e do comportamento dos fármacos (KWIECIŃSKA et al., 2019). As eletromicrografias da β -LAP, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em metanol e etanol foram exibidas na Figura 28 (página 105).

O MEV da β -LAP (Figura 28A) demonstra que ela exibe uma estrutura cristalina bem definida, com cristais acirculares de tamanhos irregulares variando entre 200 e 500 μm visíveis até mesmo macroscopicamente, corroborando com os resultados do DRX e do DSC. A partir da observação do aspecto cristalino do fármaco é possível compreender os estudos de dissolução, uma vez que, a cristalinidade e o tamanho de partículas estão diretamente ligados

ao perfil de dissolução e solubilização do mesmo (CUNHA-FILHO et al., 2007; FREITAS NETO et al., 2012; SANTOS et al., 2017).

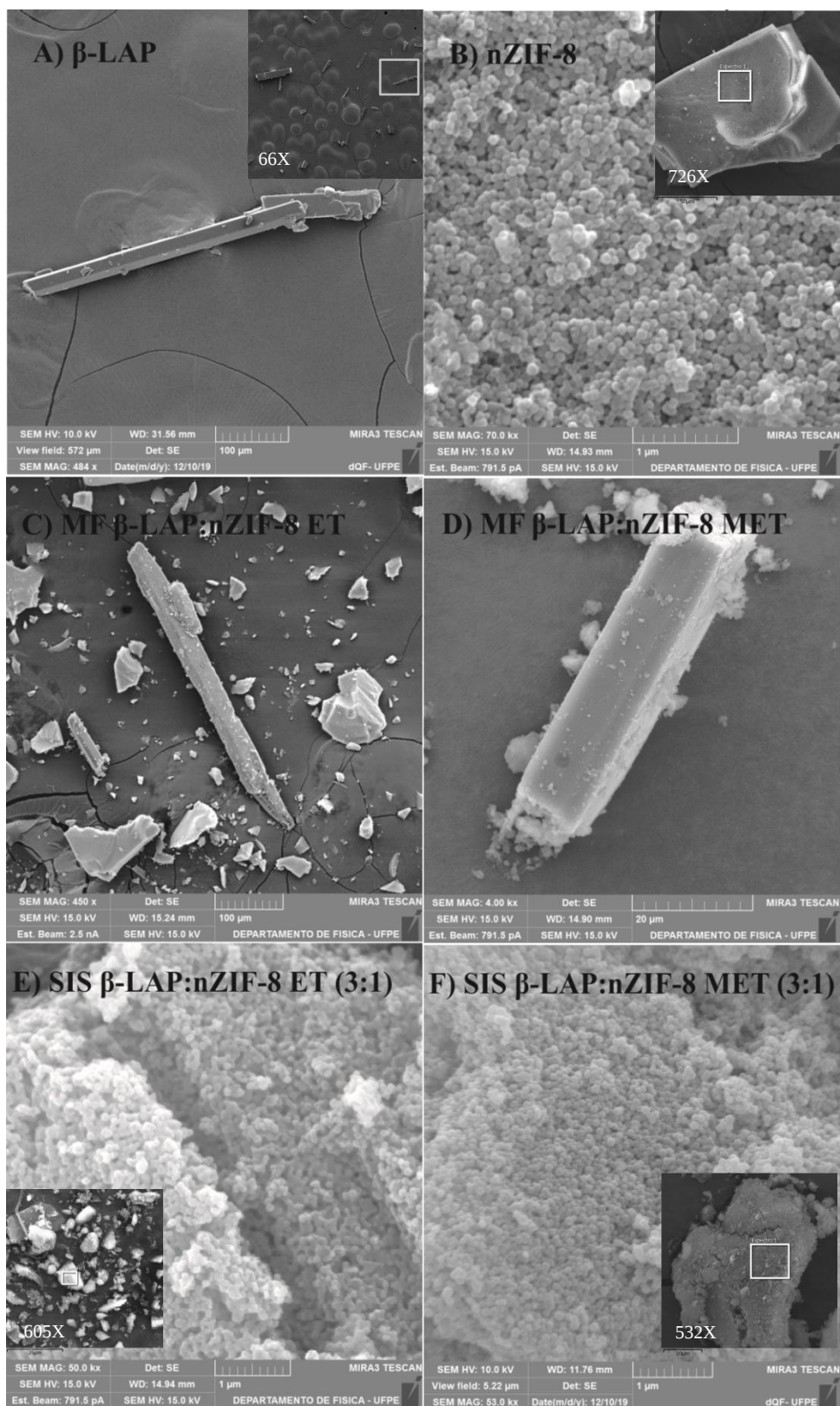
A eletromicrografia da nZIF-8 (Figura 28B) demonstrou cristais aglomerados de formato hexagonal (quase esférico) característicos da nZIF-8, com tamanhos regulares em torno de 100 nm, evidenciando dessa forma a natureza manométrica do material, confirmando os dados obtidos no DRX da mesma no que tange a cristalinidade, esses dados estão em consonância com os achados de Schjen e colaboradores (2014) para nZIF-8 obtida utilizando como sua fonte de zinco o $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, que foi o precursor da nZIF-8 utilizada nesse trabalho, eles trazem que a mudança na fonte de zinco (ZnSO_4 , $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$, ZnCl_2 ,) altera o formato e o tamanho das partículas (CRAVILLON et al., 2009; ZHENG et al., 2015; ZHENG et al., 2016).

Nas imagens das misturas físicas correspondente aos sistemas obtidos em etanol (Figura 28C e D) e obtidos em metanol são vistos os cristais da β -LAP e da nZIF-8, está última aparece isolada e adsorvida na superfície do fármaco, sem nenhuma modificação na estrutura dos dois, comprovando que a simples MF não produziu interações aparentes entre os dois componentes. Dessa forma os resultados de DRX e DSC estão em consonância já que em ambos, percebeu-se que as MFs ainda apresentavam características bastante cristalinas e verificou-se um somatório dos eventos encontrados nos materiais isolados.

Em contrapartida, nas fotomicrografias dos sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol (Figura 28E e F) foram notadas alterações significativas, os cristais do fármaco não são mais visualizados levando a acreditar que ele foi disperso nos poros da nZIF-8, o sistema ficou com o aspecto semelhante ao da nZIF-8, porém as partículas ficaram um pouco mais coesas, não sendo mais possível distinguir os dois componentes, evidenciando que o método de obtenção foi capaz de proporcionar interações químicas entre a β -LAP e a nZIF-8, diferente das misturas físicas. O tamanho das partículas dos sistemas ficaram em torno de 100 nm assim como na nZIF-8 isolada caracterizando-os como nanoparticulados.

Esses resultados também estão de acordo com o DRX, os picos característicos do fármaco foram praticamente ausentes e os da nZIF-8 foram vistos com alta e média intensidade e com o DSC, pico de fusão do fármaco foi discretamente visível principalmente para o sistema obtido em metanol, confirmado que estrutura cristalina do fármaco foi desorganizada e a formação dos sistemas. Isso pode indicar um incremento de solubilidade da β -LAP, devido ao aumento da área de superfície e conseqüentemente do maior grau de solvatação do fármaco que poderá ser confirmado no teste de dissolução (LIU et al., 2018).

Figura 28 – Microscopia Eletrônica de Varredura A) β -LAP; B) nZIF-8; C) MF β -LAP:nZIF-8 ET; D) MF β -LAP:nZIF-8 MET; E) SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 ET F) SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET.

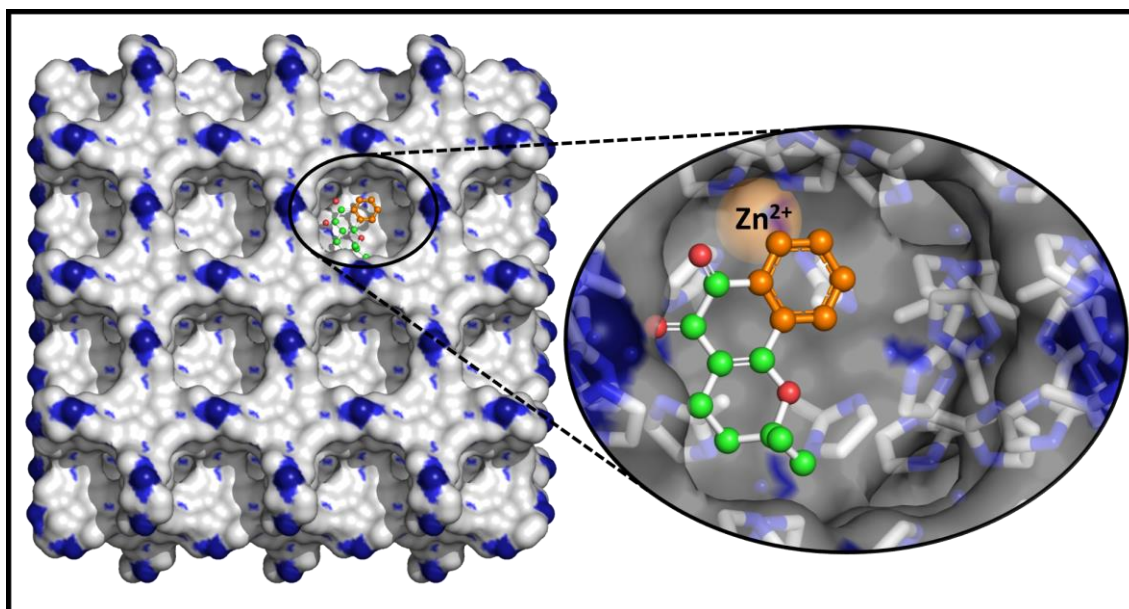


Fonte: Autoria própria.

4.6 ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR

Os resultados de *docking* (300 soluções) foram agrupados em *clusters* com variação de RMS menor que 0,5 Å entre as estruturas. A solução de *docking* mais favorável foi definida como sendo a melhor solução dentro do *cluster* de menor energia ($-2,86 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e maior representatividade (87 soluções). A topologia reduzida da molécula β -Lapachona permite sua acomodação dentro da cavidade da nZIF-8, sugerindo assim, a sua incorporação como pode ser visto na solução de *docking* apresentada na Figura 29. Esta incorporação é caracterizada por interações hidrofóbicas e por uma interação do tipo cátion- π entre o cátion Zn^{2+} da nZIF-8 e os elétrons π do anel benzênico da β -Lapachona, ambos destacados em laranja na referida figura. Estes achados corroboram com os resultados de DSC, DRX e MEV, que também indicam a incorporação da β -Lapachona a nZIF-8.

Figura 29 - Solução de *docking* molecular mais favorável entre a nZIF-8 e a β -Lapachona. Destaque para a interação entre o cátion Zn^{2+} da nZIF-8 e o anel benzênico da β -Lapachona, ambos em laranja.



Fonte: Autoria própria.

4.7 ESTUDOS DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DAS MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS β -LAPACHONA:nZIF-8

4.7.1 Ensaio de Solubilidade de Equilíbrio da β -LAP

A solubilidade dos fármacos é a propriedade que possui grande influência no processo de absorção, uma vez que, o fármaco ingerido por via oral só consegue ser absorvido se apresentar solubilidade aquosa sob condições fisiológicas e permeabilidade intestinal, além disso, ela está relacionada com a taxa de dissolução do fármaco (GOMES et al., 2015). Nesse sentido o ensaio de solubilidade foi utilizado a fim de identificar as condições *sink* e *non-sink* para execução dos ensaios de dissolução *in vitro*.

A Tabela 10 mostra a solubilidade da β -LAP nos diferentes meios avaliados, água, tampão ácido clorídrico pH 1,2, tampão acetato de sódio pH 4,5 e tampão fosfato de sódio pH 6,8. Os resultados encontrados foram similares aos obtidos por Presmich e colaboradores (2010B) e exibe a baixíssima solubilidade da β -LAP em água e nos meios utilizados.

Tabela 10 – Solubilidade da β -LAP (mg/mL) em diferentes meios.

Meios	Solubilidade (mg/mL)
Água	0,023 $\pm$ 0,000
Tampão Ácido Clorídrico pH 1,2	0,031 $\pm$ 0,001
Tampão Acetato de Sódio pH 4,5	0,030 $\pm$ 0,002
Tampão Fosfato de Sódio pH 6,8	0,018 $\pm$ 0,000

Fonte: Autoria própria.

4.7.2 Estudo dos perfis de dissolução *in vitro*

Os ensaios de dissolução são muito utilizados durante as etapas de desenvolvimento de medicamentos e controle de qualidade dos mesmos, com o intuito de avaliar a taxa de dissolução dos fármacos visto que o processo de absorção só é possível quando o fármaco está solúvel no meio (GRADY et al., 2018). Estes podem ser realizados em condições *sink* ou *non-sink*. A condição *sink* preconiza a utilização de um volume de meio de dissolução com no mínimo três vezes o necessário para formar uma solução saturada do fármaco, com o objetivo

de atingir uma taxa de dissolução mais rápida. Enquanto que a condição *non-sink* é realizada em condições de supersaturação do meio.

Nesse estudo, amostras que apresentavam quantidades equivalentes a 0,97 mg (pH 1,2), 0,94 mg (pH 4,5), 0,56 mg (pH 6,8) e 0,72 mg (pH água 6,1) de β -LAP foram utilizadas nos ensaios de dissolução, significando que se completamente dissolvida em um volume de 250 mL, apresentariam concentrações abaixo do ponto de saturação, estabelecendo dessa maneira a condição *sink*, com 8x menos fármaco do que seria necessário para saturar os meios de acordo com o estudo de solubilidade (item 4.7.1). As amostras foram avaliadas em diferentes pHs visando identificar o comportamento de liberação da β -LAP pela nZIF-8, devido a característica da nZIF-8 ser rompida em pHs ácidos.

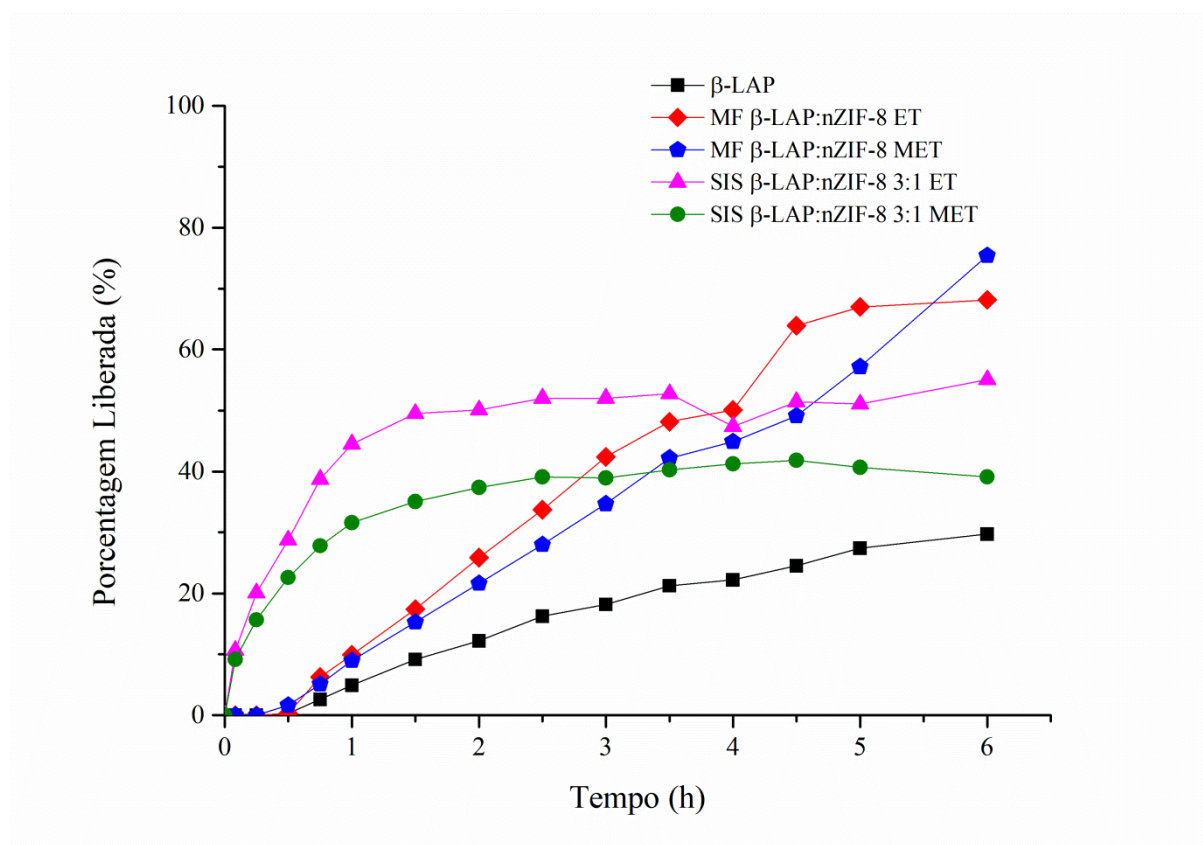
Os perfis de dissolução sob condição *sink* da β -LAP, das misturas físicas e dos sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol estão dispostos a seguir nas Figuras 30 (pH 1,2), 31 (pH 4,5), 32 (pH 6,8) e 33 (pH água 6,1).

Em meio ácido (pH 1,2) simulando o fluido gástrico (Figura 30) a β -LAP atingiu um teor máximo de apenas 29,70% do total de massa inserida no meio, somente em 6 h. As misturas físicas inicialmente demonstraram um comportamento similar ao fármaco porém, após 2,5 h exibiram um aumento de teor gradativo até 6 h que resultou em uma liberação máxima de 59,19% e 66,99% para a MF β -LAP:nZIF-8 ET e MF β -LAP:nZIF-8 MET, respectivamente. No entanto os sistemas iniciaram sua liberação a partir dos primeiros 5 min alcançando já 10% de β -LAP diferente do fármaco isolado e das misturas físicas que nesse mesmo tempo estavam em 0%, isso pode ser justificado pelo fato de em pH ácido a nZIF-8 ser desintegrada consequentemente, liberando o fármaco de maneira mais rápida (SUN et al., 2012A). O SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 ET se apresentou superior a liberação do fármaco isolado e das MFs até 3,5 h com 52,77% mas sua máxima liberação ocorreu em 6 h (55,07%) enquanto que no SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET a liberação foi superior ao fármaco isolado e as MFs até 2,5 h com 39,12% e seu máximo foi em 4,5 h (41,86%). Um destaque é dado para os sistemas e MFs visto que em pH ácido é geralmente onde fármacos classe II menos solubilizam (COSTA, 2016). A partir disso, observa-se que o fármaco e as MFs apresentaram um perfil mais linear, enquanto que os sistemas demonstram um perfil modulado de liberação da β -LAP e que esses dois últimos sugerem melhora da taxa de dissolução do fármaco.

Embora em pH ácido a nZIF-8 seja desintegrada liberando o fármaco, não se alcançaram taxas elevadas de liberação pelos sistemas, mas estas foram melhores que a do fármaco, provavelmente devido a tensão superficial entre o fármaco e o meio como relatado

nos estudo de Presmich e colaboradores (2010B), que obtiveram formas farmacêuticas finais cápsulas gelatinosas de β -LAP visando melhorar sua solubilidade e avaliaram sua liberação em diversos pHs, inclusive no pH 1,2 e ainda assim para formulações conseguiram liberações de apenas 15,33% em 1 h nesse meio. Os resultados obtidos neste trabalho para um produto intermediário, que são os sistemas, demonstraram maiores taxas e consequentemente indicam maior incremento de solubilidade em 1 h, 32% para o sistema obtido em metanol e 40% para o obtido em etanol.

Figura 30 – Perfis de dissolução *sink* da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP: nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em pH 1,2.

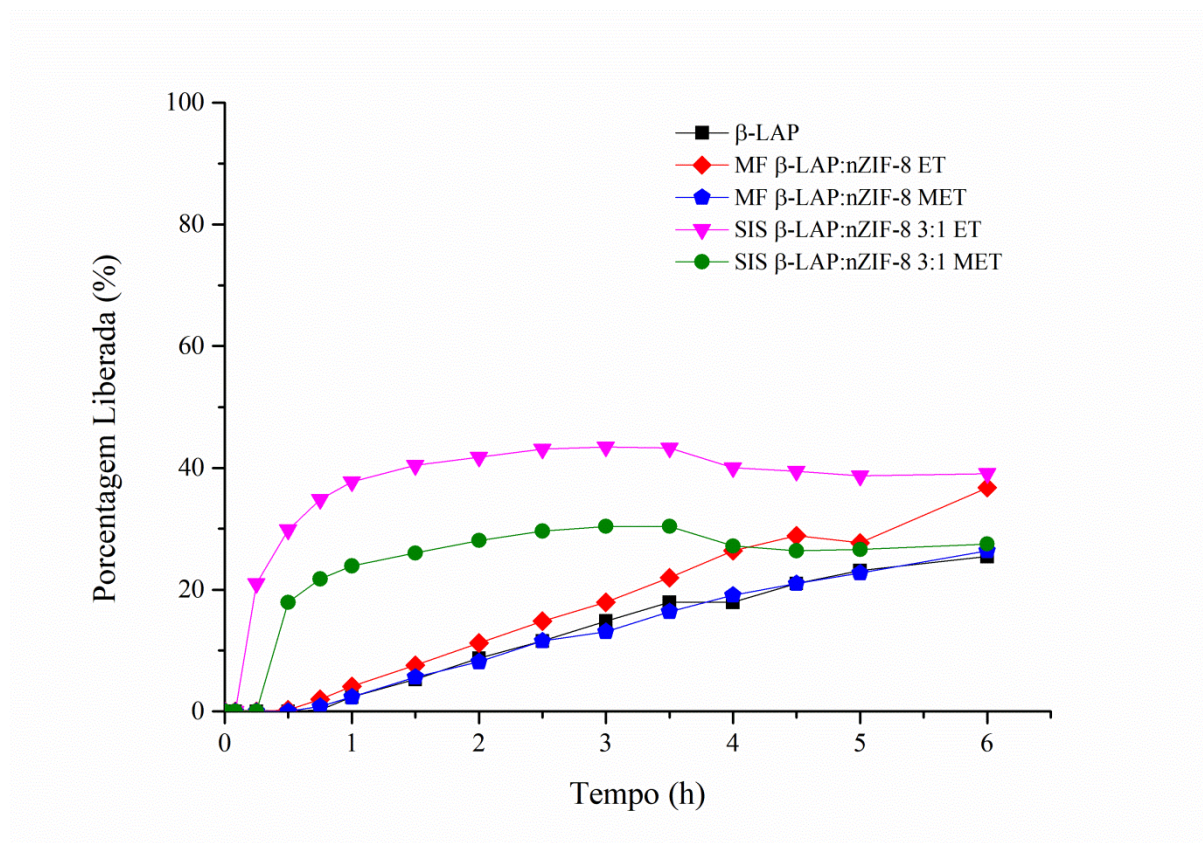


Fonte: Autoria própria.

Em pH intermediário 4,5 h (Figura 31) a β -LAP obteve concentração máxima dissolvida de 25,41% em 6 h. As misturas físicas acompanharam o perfil do fármaco isolado, principalmente a MF β -LAP:nZIF-8 MET que foi praticamente igual até as 6 h ($C_{\text{máx}}$ 26,38%), já a MF β -LAP:nZIF-8 ET se sobressaiu um pouco a partir de 3,5 h e em 6 h atingiu teor de 36,75% de β -LAP. Nos sistemas fica notório um maior percentual de liberação de β -LAP que o fármaco isolado e as MFs, em 1 h os sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 ET e β -

LAP:nZIF-8 3:1 MET já apresentavam respectivamente 37,71% e 23,88% de liberação de β -LAP, enquanto o fármaco e as MFs não ultrapassaram 4%. Ambos os sistemas exibiram $C_{\text{máx}}$ em torno de 3 h 43,37% para o obtido em etanol e 30,41% para o obtido em metanol e nesse mesmo horário o fármaco sozinho tinha teor de 14,85%. Sugerindo que os sistemas manifestaram um discreto incremento de solubilidade.

Figura 31 – Perfis de dissolução *sink* da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em pH 4,5.

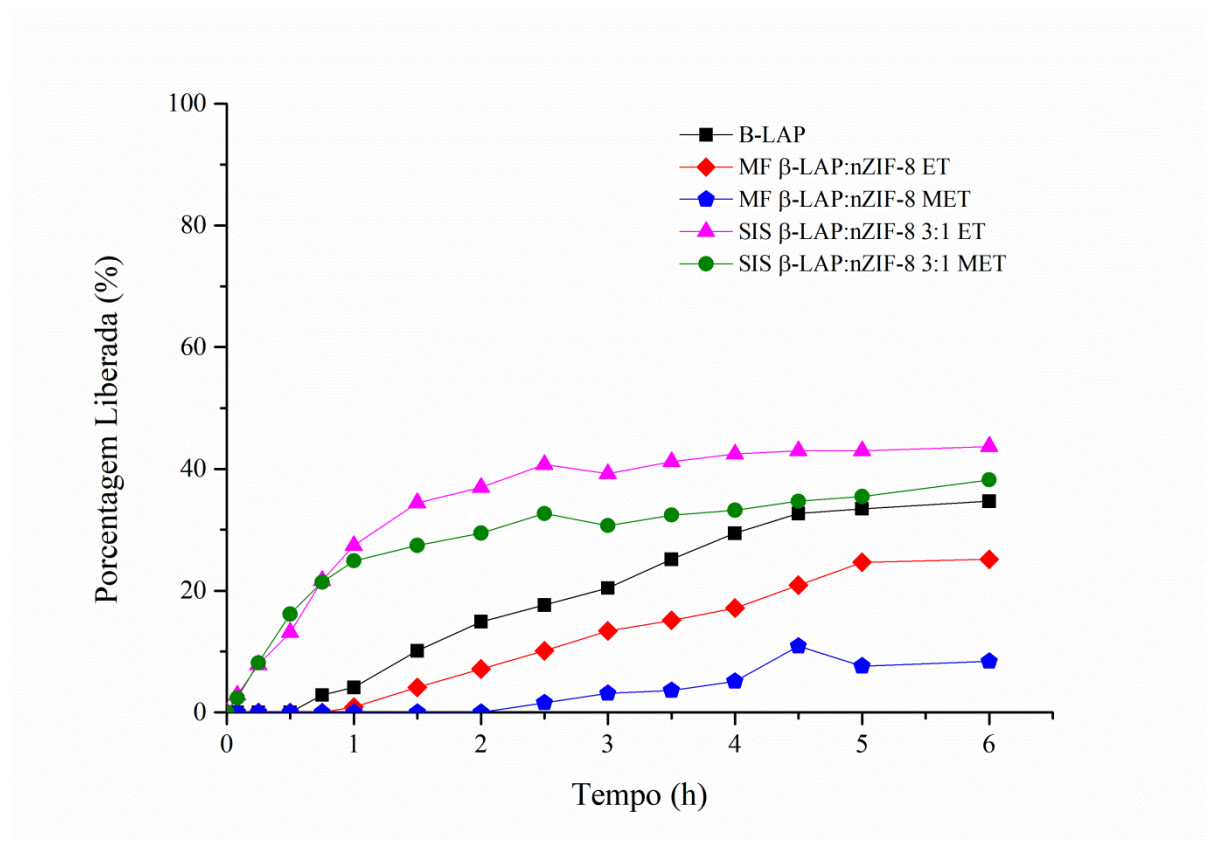


Fonte: Autoria própria.

Avaliando o perfil de dissolução da β -LAP em água (Figura 32) nota-se que ela demonstrou percentual de liberação superior as MFs, já a partir de 1 h onde apresentava cerca de 5% de teor dissolvido achado que corrobora com o encontrado por Freitas Neto e Colaboradores (2012) e com $C_{\text{máx}}$ de 34,69% em 6 h. Em paralelo a MF β -LAP:nZIF-8 ET obteve 25,16% e a β -LAP:nZIF-8 MET 8,37%. Mas ainda assim os sistemas superaram e em 5 h alcançaram uma liberação máxima de 42,96% de β -LAP do SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 ET e de 35,44% de β -LAP do SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET. Sugerindo melhora da taxa de dissolução do fármaco a partir dos sistemas de maneira mais acentuada nas primeiras 2,5 hs.

Trabalhos relatam sobre a baixa solubilidade da β -LAP em água e nos fluidos biológicos e da necessidade de estratégias para superar essa limitação, como sua veiculação em complexos de inclusão com ciclodextrinas (MANGAS-SANJUAN et al., 2015), dispersões sólidas com polímeros solúveis (SANTOS et al., 2017), micropartículas (CUNHA-FILHO et al., 2008) entre outros e conseguiram valores de liberação variando entre 80%-100% em água, só que devido a dificuldade de solubilização da β -LAP nos meios de dissolução utilizaram como alternativa adição de lauril sulfato de sódio (0,5% - 1%) nos meios, visando reduzir da tensão superficial entre o fármaco e o meio conseguindo dessa forma melhores taxas de dissolução, devido ao incremento da solubilidade intrínseca do fármaco pelo surfactante. Enquanto que, neste trabalho os resultados foram obtidos sem uso de lauril de maneira que os teores alcançados pelos sistemas variaram em torno de 35-45%.

Figura 32 – Perfis de dissolução *sink* da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em água (pH 6,1).



Fonte: Autoria própria.

A fim de reproduzir o pH intestinal (duodeno e jejuno) realizou-se a dissolução em pH 6,8 (Figura 33) e a partir da comparação dos perfis obtido os resultados mais relevantes são

alcançados pelos sistemas, em particular pelo sistema obtido em metanol que foi capaz de proporcionar concentrações de β -LAP de 52,34% dentro de 2 h ($C_{\text{máx}}$ 63,31% em 6 h). Já o sistema obtido em etanol chegou em 33,02% ($C_{\text{máx}}$ 49,19% em 6 h). Porém, o fármaco sozinho e as MFs não ultrapassaram 5% de teor em 2 h ($C_{\text{máx}}$ em torno 30%) e exibiram comportamentos bem parecidos. Observa-se que os sistemas proporcionaram uma liberação modulada, mantendo concentrações gradualmente constantes, interessantes para garantir a segurança durante um tratamento no que tange a menores oscilações de concentração e sugere uma acentuada melhora da taxa de dissolução do fármaco desde os primeiros 5 min, indicando possível incremento de solubilidade, resultados que podem ser relacionados com redução da cristalinidade do fármaco evidenciadas nas análises DRX e DSC dos sistemas.

Para atingir condições de dissolução ideais é preconizado pela USP 41 para formas farmacêuticas finais uma liberação igual ou superior a 85%. Em nenhum dos pHs avaliados houve liberações igual a esse teor no período de tempo avaliado, porém esse parâmetro de liberação é utilizado para formas farmacêuticas enquanto que o trabalho em questão desenvolveu sistemas para futura veiculação nelas. Os sistemas desenvolvidos se mostraram capazes de modular a liberação do fármaco e proporcionar maiores percentuais dissolvidos consequente de um incremento de solubilidade principalmente em pH 6,8, onde foi encontrado o maior percentual alcançado, em torno 50-65% com destaque para o obtido em metanol e isso é interessante segundo Barmejo e colaboradores (2016) pois esse pH simula o intestinal que é o mais propício para absorção da β -LAP devido a sua alta permeabilidade intestinal. Visto isso, a futura forma farmacêutica onde o sistema será incorporado utilizará de tecnologias para melhorar ainda mais essa taxa de dissolução e revestimentos para proteção visando uma liberação entérica (USP, 2018).

Além disso, como a β -LAP pela classificação biofarmacêutica apresenta-se como classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) a USP 41 sugere a utilização de surfactantes (exemplo lauril sulfato de sódio, polissorbato) nos estudos de dissolução *in vitro* de formas farmacêuticas contendo fármacos dessa classe para melhorar a solubilidade dos mesmos nos meios. Como o objetivo do trabalho foi verificar a contribuição da nZIF-8 como carreador da β -LAP, não foram utilizados surfactantes assim como relatado por Nascimento (2017), mas eles poderiam colaborar com significativos aumentos nos teores encontrados (USP, 2018).

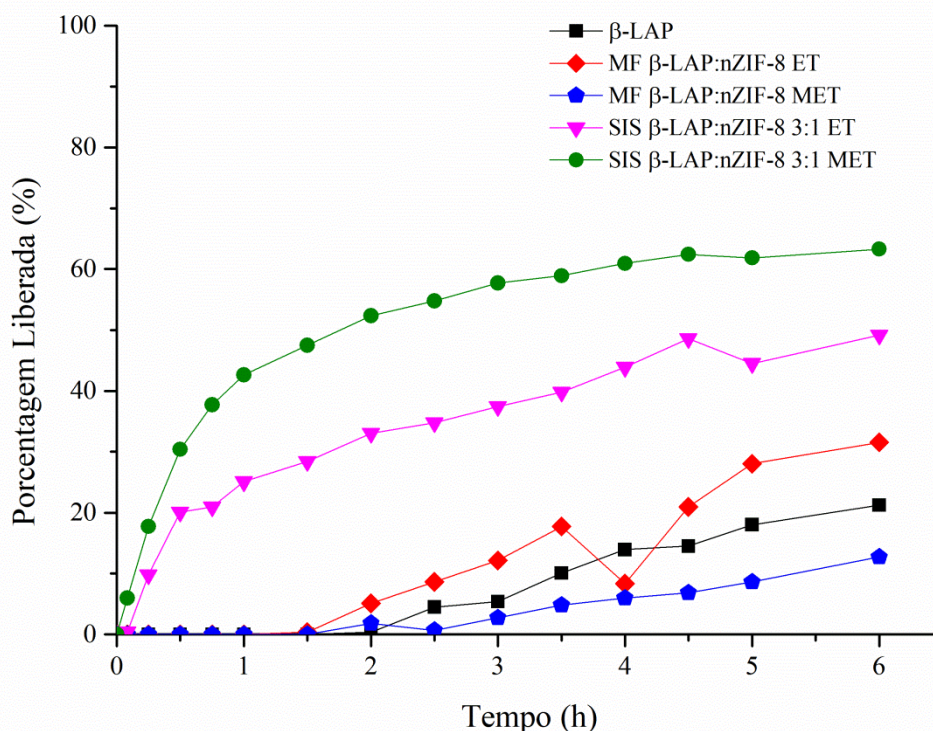
A maioria dos trabalhos realizados com ZIF-8 e nZIF-8 apresentam apenas liberação prolongada, onde em pH ácido são atingidos teores elevados em poucas horas devido a

desintegração da ZIF nesse pH e em pH próximo da neutralidade são evidenciadas aumento de teor lento e alcance de concentrações elevadas após longo período de tempo de ensaio.

Como em Soltani e Colaboradores (2017) desenvolveram um sistema de nZIF-8 carregados gentamicina, taxas de 84% em pH 5,0 e de 61% de gentamicina foram atingidas pelos sistemas após 120 h. Já Kaur e Colaboradores (2017) sintetizaram um sistema com nZIF-8 e Mercaptopurina obtendo teores dissolvidos de 90% do fármaco após 10 h no pH 5,0 e só depois de 7 dias em pH 7,4. E em Nabipour e Colaboradores (2017) que obtiveram sistemas de nZIF-8 com Ciprofloxacino com liberação de 97% em pH 5,0 e 83% em pH 7,4.

Um trabalho anterior (FERRAZ, 2017) além de prolongamento de liberação conseguiu discreto incremento de solubilidade em sistema de ZIF-8 com Benznidazol, uma vez que, em 7 h de dissolução, enquanto o fármaco tinha teor em torno de 60%, o sistema tinha 80% do fármaco liberado. Por isso esse estudo é um dos pioneiros na demonstração da ação da nZIF-8 como agente para incremento de solubilidade de fármacos associado melhores taxas de dissolução e modulação de liberação de fármacos pouco solúveis como a β -LAP.

Figura 33 – Perfis de dissolução *sink* da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em pH 6,8.



Fonte: Autoria própria.

Os resultados dos perfis de dissolução podem ser confirmados por meio da análise da área sob a curva (AUC) e eficiência de dissolução (ED%), sendo possível verificar ao final da dissolução que os sistemas apresentaram valores mais elevados de AUC e ED% que o fármaco isolado e as misturas físicas. Os dados exibidos na Tabela 11 constataam a eficácia dos sistemas desenvolvidos no tocante a modulação da liberação da β -LAP e a obtenção do incremento de solubilidade dos mesmos, com melhora de sua taxa de dissolução.

Tabela 11 – Valores de AUC [β -LAP (%) x h] e ED (%) obtidos a partir dos perfis de dissolução da β -Lapachona, misturas físicas e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol.

pH	Tempo (h)	β -LAP		MF β -LAP:nZIF-8		MF β -LAP:nZIF-8		SIS β -LAP:nZIF-8		SIS β -LAP:nZIF-8	
				ET		MET		3:1 ET		3:1 MET	
		AUC	ED	AUC	ED	AUC	ED	AUC	ED	AUC	ED
1,2	0,25	0	0	0	0	0	0	0,44	0,05	0,38	0,05
	3	25,89	0,09	54,43	0,18	46,15	0,15	127,86	0,43	94,38	0,31
	6	99,80	0,17	230,43	0,38	203,54	0,34	282,47	0,47	215,83	0,36
4,5	0,25	0	0	0	0	0	0	1,75	0,07	0	0
	3	17,43	0,06	23,37	0,08	17,04	0,06	108,17	0,36	68,35	0,23
	6	79,60	0,13	105,62	0,18	78,78	0,13	228,93	0,38	151,60	0,25
6,8	0,25	0	0	0	0	0	0	0,87	0,03	2,23	0,09
	3	3,79	0,01	10,08	0,03	1,95	0,01	79,22	0,26	129,21	0,43
	6	48,53	0,08	73,42	0,12	24,27	0,04	212,69	0,35	312,81	0,52
H ₂ O (6,1)	0,25	0	0	0	0	0	0	1,01	0,04	0,97	0,04
	3	28,68	0,10	14,34	0,05	1,58	0,01	86,82	0,29	73,15	0,24
	6	119,84	0,20	75,36	0,13	22,05	0,04	213,99	0,36	176,64	0,29

Fonte: Autoria própria.

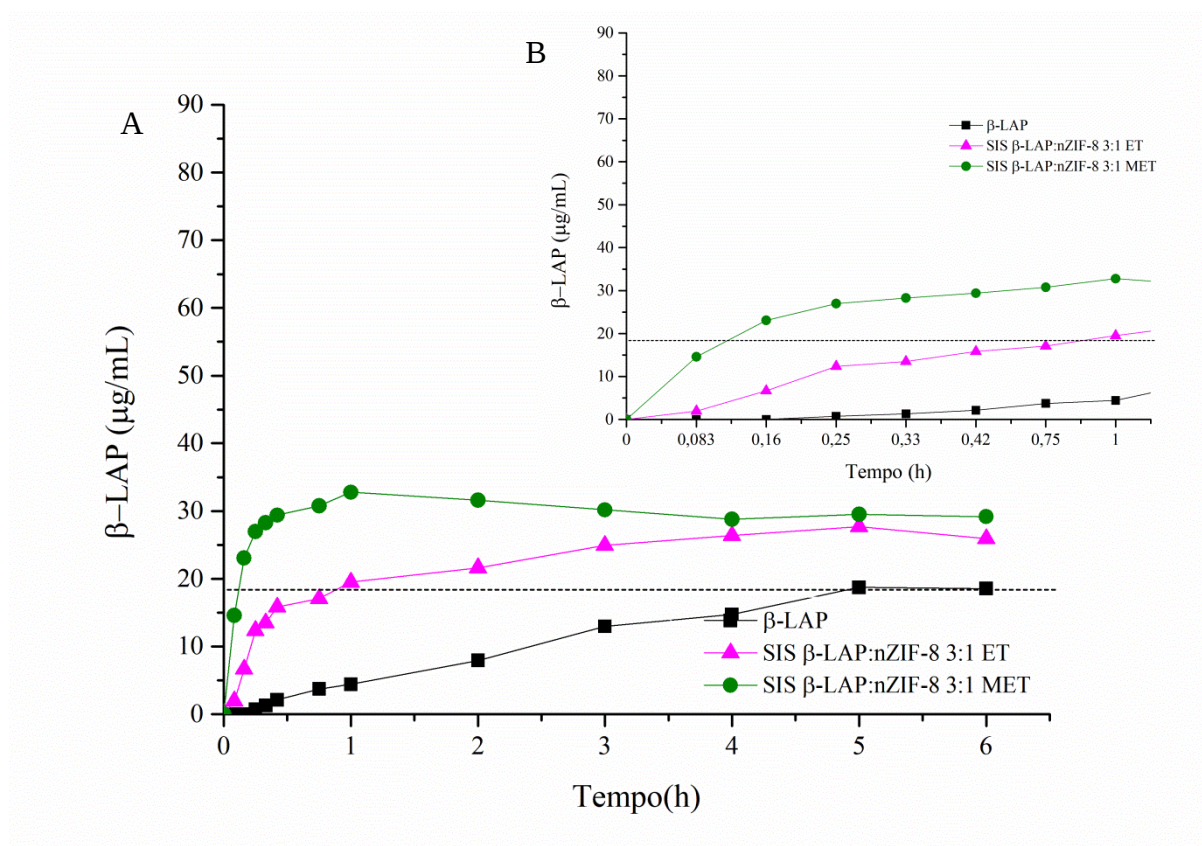
A dissolução realizada em condição *non-sink* levou em consideração a solubilidade de equilíbrio encontrada para a β -LAP experimentalmente para tampão fosfato pH 6,8 (18 μ g/mL) e foi realizada apenas nele porque foi onde se apresentou o maior perfil de liberação da β -LAP. E de forma a obedecer a condição *non-sink* foi utilizado um SI de 0,2. A figura 34 ilustra o perfil de dissolução *non-sink* da β -Lapachona e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos

em etanol e metanol, as misturas físicas não foram avaliadas visto que durante as caracterizações e dissoluções *sink* elas não modularam a liberação do fármaco.

A partir da análise da Figura 34, se pode observar que β -LAP só consegue se solubilizar até atingir sua solubilidade de equilíbrio ($C_{\text{máx}}$ 18,73 $\mu\text{g/mL}$ em 5 h). Isso acontece devido às condições desfavoráveis que o fármaco encontra para sua solubilização, já que o volume de meio utilizado é insuficiente para produzir uma solução saturada dele em sua forma cristalina. Além disso, nota-se que ele apresenta uma taxa de dissolução mais lenta que os sistemas. Mas os sistemas apresentaram significativa influência sobre a β -LAP conforme já observado nas condições *sink*, permitindo sua rápida liberação no meio e ainda conseguindo formar soluções supersaturadas ao atingir concentrações superiores a sua C_s mantendo o fármaco em solução por algumas horas. Esse resultado pode impactar diretamente sobre a biodisponibilidade da β -LAP, pois como a supersaturação do fármaco aumenta a força motriz de absorção oral, a manutenção de um nível elevado e sustentado dessa supersaturação é fundamental para melhorar a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água (SUN; LEE, 2013).

Com destaque para o SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 MET que alcançou a C_s de β -LAP nos primeiros 10 min e $C_{\text{máx}}$ de 32,78 $\mu\text{g/mL}$ em 1 h se mantendo com lento decaimento, não muito aparente. Em paralelo o SIS β -LAP:nZIF-8 3:1 ET que chegou na C_s em 45 min e atingiu $C_{\text{máx}}$ após 5 h iniciando seu decaimento. Sabendo-se que a nZIF-8 é um polímero de coordenação insolúvel no meio utilizado, é possível fazer uma correlação com um trabalho desenvolvido por Sun & Lee (2015) desenvolvedores de diversos estudos sobre dispersões sólidas amorfas (DSA) a partir de polímeros solúveis e insolúveis em água, onde explicam que esse comportamento mais sustentado de supersaturação são característicos de polímeros insolúveis uma vez que esses apresentam um mecanismo de liberação difusional gradual, em que após o nível de supersaturação no meio de dissolução se aproximar da concentração do fármaco supersaturado no veículo DSA o fármaco amorfo aprisionado não será mais liberado.

Figura 34 – Perfis de dissolução *non-sink* da β -Lapachona e sistemas β -LAP:nZIF-8 3:1 obtidos em etanol e metanol em pH 6,8 de 0-6 h (A) e uma ampliação dos perfis de 0-1 h (B). A linha tracejada indica a concentração de saturação (C_s).



Fonte: Autoria própria.

5 CONCLUSÃO

Em virtude de todos os argumentos demonstrados no presente trabalho, foi possível inferir que, através de um método de obtenção *ex situ*, variando proporções molares, tempos de agitação e solventes de solubilização, foi possível selecionar e obter sistemas β -LAP:nZIF-8 com bons percentuais de incorporação, sendo ambos na proporção 3:1 onde obtido em etanol teve EI%=22,55% e o obtido em metanol EI%=15,88%.

O método de quantificação da β -LAP, revalidado de acordo com a RDC 166 de 2017 da ANVISA demonstrou-se linear, preciso, exato e seletivo para os parâmetros avaliados. Além disso, comprovado pelo efeito matriz, a metodologia se mostrou adequada para substituir o método já validado, pois não houveram diferenças significativas entre os resultados obtidos com a adição do ácido.

As técnicas de caracterização utilizadas no presente trabalho evidenciaram a formação dos sistemas, principalmente devido as comparações realizadas com os materiais isolados e suas misturas físicas correspondentes.

Por meio da técnica de DRX observou-se que os sistemas tiveram significativa redução de cristalinidade, devido a intensa redução do pico principal e ausência dos demais picos relacionados ao fármaco, principalmente no sistema obtido em metanol. Diferentemente das misturas físicas que evidenciaram um somatório de perfis da β -LAP com nZIF-8 sem alterações na de cristalinidade do fármaco.

Na análise de MEV dos sistemas, foram notadas alterações significativas, os cristais do fármaco não são mais visualizados levando a acreditar que ele foi disperso nos poros da nZIF-8 ficando com aspecto semelhante ela, porém as partículas ficaram um pouco mais coesas e exibindo tamanhos em torno de 100 nm. Contudo nas misturas físicas são vistos os cristais da β -LAP e da nZIF-8, sem nenhuma modificação na estrutura dos dois.

Ainda foi possível pelas análises de TG e DSC avaliar a influência que a nZIF-8 exerce sobre a β -LAP, caracterizadas pelo seu comportamento térmico, embora tenha sido notada uma leve antecipação dos picos de degradação, os sistemas apresentaram picos de fusão bastante reduzidos quando comparados com suas misturas físicas, onde os picos de fusão estiveram presentes de maneira intensa e ocorreram praticamente na mesma faixa da β -LAP sozinha. Sendo praticamente não visualizado e levemente antecipado no sistema obtido em metanol.

Os ensaios de dissolução *in vitro* sob condição *sink* demonstraram que em pH 6,8 foi obtido o maior perfil de liberação da β -LAP pelos sistemas, com teores dissolvidos em 6 h de 49,3% pelo sistema obtido em etanol e de 63,4% pelo sistema obtido em metanol, com destaque para esse último, enquanto que o fármaco fica em torno de 21,26% no mesmo tempo. E nos demais pHs os percentuais de liberação obtidos foram um pouco menores, porém ainda assim superiores aos exibidos pelo fármaco isolado. Os sistemas apresentaram valores mais elevados de AUC e ED% que o fármaco isolado e as misturas físicas, constatando a eficácia dos sistemas desenvolvidos no tocante a modulação da liberação da β -LAP e a obtenção do incremento de solubilidade dos mesmos, com melhora de sua taxa de dissolução.

E sob condição *non-sink* em pH 6,8, o perfil de dissolução dos sistemas revelou a capacidade que o carreador apresenta de manter o fármaco em solução supersaturada, retardando seus eventos de nucleação e recristalização, permitindo sugerir maior biodisponibilidade.

Dessa forma, obtiveram-se sistemas nanoparticulados adequados, capazes de superar as limitações de solubilidade da β -LAP sendo esse estudo um dos pioneiros na demonstração da ação da nZIF-8 como agente para incremento de solubilidade de fármacos associado a melhores taxas de dissolução e modulação de liberação de fármacos pouco solúveis.

5.1 PERSPECTIVAS

- Realizar análise de partícula (área superficial e tamanho), volume e tamanho de poro das amostras, para melhor elucidar a formação dos sistemas β -LAP:nZIF-8, análises já agendadas no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE).
- Avaliar a viabilidade celular do melhor sistema, através do método de redução do metiltetrazólio (MTT). Experimentos estão em curso, faltando analisar/tratar os resultados.
- Realizar depósito de pedido de patente no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) dos sistemas β -LAP:nZIF-8 obtidos.
- Estudo comparativo da eficiência da ZIF-8 em escala micrométrica e nanométrica frente a diferente IFA's.

REFERÊNCIAS

- AIRES, A.L. et al. β -Lapachone: A naphthoquinone with promising antischistosomal properties in mice. **Phytomedicine**, v. 21, n. 3, p. 261-267, 2014.
- ALBERS, A.P.F. et al. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, v. 48, n. 305, p. 34-37, 2002.
- ALVES, G.M.C. et al. Purificação e caracterização da β -lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 413-416, 2008.
- ALVES, A.E.G. **Obtenção de Associação Benznidazol:MOF Visando Liberação Prolongada Para Otimização do Tratamento da Doença de Chagas**. 2016. 121p. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.
- ALVES, I. B. V. **Metal-Organic Frameworks (MOFs): alternativa inteligente para carregamento de fármacos anti-inflamatório e antineoplásico**. 2013. 83p. Tese (Doutorado em Ciências de Materiais) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013
- ALVES, L.D.S. et al. Desenvolvimento de Método Analítico Para Quantificação do Efavirenz Por Espectrofotometria No Uv-Vis. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1967-1972, 2010.
- ALMEIDA, V.L. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o dna: Uma introdução. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.
- ALWAN, A. et al. Monitoring and surveillance of chronic non-communicable diseases: progress and capacity in high-burden countries. **Lancet**, v. 376, n. 9755, p. 1861–68, 2010.
- AMARANTE, S. F. Síntese e Caracterização de redes metalorgânicas, ZIF-8 e ZIF-67. **Scientia Plena**, v. 12, n. 5, p. 1-9, 2016.
- BANNACH, G.; PERPÉTUO, G. P. Efeitos da História Térmica nas Propriedades do Polímero Pet: Um Experimento Para Ensino de Análise Térmica. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1825-1829, 2011.
- BARATA, R.B. Epidemiologia e políticas públicas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 16, n. 1, p. 3-17, 2013.
- BARMEJO, M. et al. Enhancing Oral Absorption of b-Lapachone: Progress Till Date. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 42, n. 1, p. 1-10, 2016.
- BEY, E.A. et al. An NQ01-and PARP-1-mediated cell death pathway induced in non-small-cell lung cancer cells by β -lapachone. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 28, p. 11832-11837, 2007.
- BEDOR, D. C. G. **Avaliação Biofarmacotécnica do Efavirenz um fármaco classe II (SCB)**. 2011. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

BEG, M.S. et al. Using a novel NQO1 bioactivatable drug, beta-lapachone (ARQ761), to enhance chemotherapeutic effects by metabolic modulation in pancreatic cancer. **Journal Surgical Oncology**, v. 116, n. 1, p. 83-88, 2017.

BEG, M.S. et al. 708P - A phase I/Ib, multi-center trial of ARQ-761 (Beta-Lapachone) with gemcitabine/nab-paclitaxel in patients with advanced pancreatic cancer. **Annals of Oncology**, v. 30, n. 5, p. 271, 2019.

BLANDINO, G. et al. Wild type- and mutant p53 proteins in mitochondrial dysfunction: emerging insights in cancer disease. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 98, p. 105-117, 2020.

BLANCO, E. et al. β -Lapachone-containing PEG-PLA polymer micelles as novel nanotherapeutics against NQO1-overexpressing tumor cells. **Journal Controlled Release**, v. 122, p. 365-374, 2007.

BRANDÃO, H.N. et al. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BROWN, C. K. et al. Acceptable analytical practices for dissolution testing of poorly soluble compounds. **Pharmaceutical Technology**, v. 1, p. 56-65, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução Nº 166, de 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Estimativa/ 2016 – Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2015. Disponível em: <<http://santacasadermatoazulay.com.br/wp-content/uploads/2017/06/estimativa-2016-v11.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Nº 399, de 22 de Fevereiro de 2006**. Divulga o Pacto pela Saúde 2006 – Consolidação do SUS e aprova as Diretrizes Operacionais do Referido Pacto. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0399_22_02_2006.html>. Acesso em: 18 dez. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de bases técnicas da oncologia –Sistema de informações ambulatoriais**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_base_tecnicas_oncologia_13ed.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2017.

BUI, T.T. et al. In situ growth of microporous ZIF-8 nanocrystals on a macroporous phyllosilicate mineral. **Materials Letters**, v. 212, p. 69-72, 2018.

CAI, W. et al. Metal-organic framework-based nanomedicine platforms for drug delivery and molecular imaging. **Small**, v. 11, n. 37, p. 4806-4822, 2015.

CALVO, N.L. et al. Characterization of pharmaceutically relevant materials at the solid state employing chemometrics methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 147, p. 538-564, 2018.

- CAVALCANTI, I.M.F. et al. The encapsulation of b-lapachone in 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex into liposomes: A physicochemical evaluation and molecular modeling approach. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, p. 332-340, 2011.
- CHARKOFTAKI, G. et al. Biopharmaceutical classification based on solubility and dissolution: a reappraisal of criteria for hypothesis models in the light of the experimental observations. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, p. 168-172, 2009.
- CHOWDHURI, A.R. et al. Synthesis of multifunctional upconversion NMOFs for targeted antitumor drug delivery and imaging in triple negative breast cancer cells. **Chemical Engineering Journal**, v. 319, p. 200-211, 2017.
- COSTA, S.P.M. **Obtenção de sistemas poliméricos microparticulados para o aumento da velocidade de dissolução do efavirenz na terapia anti-hiv**. 2016. Tese (Doutorado em Inovação Terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.
- COOKNEY, J. et al. Dynamic response of ultrathin highly dense ZIF-8 nanofilms. **Chemical communications**, v. 50, n. 79, p. 11698-11700, 2014.
- CRAVILLON, J. et al. Rapid room-temperature synthesis and characterization of nanocrystals of a prototypical zeolitic imidazolate framework. **Chemistry of Materials**, v. 21, n. 8, p. 1410-1412, 2009.
- CRISTOFOLETTI, R. et al. A comparative analysis of biopharmaceutics classification system and biopharmaceutics drug disposition classification system: a cross-sectional survey with 500 bioequivalence studies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 9, p. 3136-44, 2013.
- CUNHA-FILHO, M.S.S. et al. Effect of storage conditions on the stability of b-lapachone in solid state and in solution. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 65, p. 798–806, 2013.
- CUNHA-FILHO, M.S.S. et al. Validação da Metodologia Analítica e Desenvolvimento do Teste de Dissolução para o Antineoplásico Beta-Lapachona. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 6, p. 805-811, 2009.
- CUNHA-FILHO, M.S.S. et al. Compatibility of the antitumoral -lapachone with different solid dosage forms excipientes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, p. 590–598, 2007.
- CUNHA-FILHO, M.S.S. et al. Beta-lapachona: desenvolvimento e validação de metodologia analítica para nova alternativa terapêutica antineoplásica. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 86, n. 1, p. 39-43, 2005.
- CUNHA-FILHO, M.S.S. et al. Dissolution rate enhancement of the novel antitumoral b-lapachone by solvent change precipitation of microparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 871–877, 2008.

DANDA, L.J.A. **Dispersões sólidas binárias e ternárias para o incremento da solubilidade cinética de Posaconazol**. 2018. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

DELARMELINA, M. et al. Vibrational spectroscopy of lapachol, a- and b-lapachone: Theoretical and experimental elucidation of the Raman and infrared spectra. **Vibrational Spectroscopy**, v. 86, p. 311–323, 2016.

DEZANI, A.B. et al. Determination of lamivudine and zidovudine permeability using a different ex vivo method in Franz cells. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 64, n. 3, p. 194-202, 2013.

DIAS, R.B. et al. β -Lapachone and its iodine derivatives cause cell cycle arrest at G₂/M phase and reactive oxygen species-mediated apoptosis in human oral squamous cell carcinoma cells. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 126, p. 87-100, 2018.

DIMER, F.A. et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1520-1526, 2013.

DONG, Y. et al. Intratumoral Delivery of B-Lapachone via Polymer Implants for Prostate Cancer Therapy. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 1, p. 131-139, 2009.

FÁVARO, O.C.N. et al. Seleção por meio de células KB de substâncias e extratos potencialmente ativos em quimioterapia do câncer. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 62, n.3, p. 217-224, 1990.

FDA. Food and Drug Administration. **Guidance for industry: Waiver of in vivo bio-availability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system**. [S.I.]: Rockville, 2000.

FERREIRA S.B. et al. β -lapachona: Sua Importância em Química Medicinal e Modificações Estruturais. **Revista Virtual de Química**. v. 2, n. 2, p.140-160, 2009.

FERRAZ, L.R.M. **Desenvolvimento e avaliação da liberação *in vitro* de drug delivery system pH-dependente à base de Benznidazol e ZIF-8 visando a obtenção de uma terapia alternativa para a doença de Chagas**. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

FERNANDEZ, C.A. et al. Gas-induced expansion and contraction of a fluorinated metal-organic framework. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n. 3, p. 1037-1039, 2010.

FREITAS-NETO, J.L. et al. Caracterização físico-química do potencial agente antineoplásico β -lapachona. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 545-553, 2012.

GADIPELLI, S.; GUO, Z.X. Tuning of ZIF-Derived Carbon with High Activity, Nitrogen Functionality, and Yield – A Case for Superior CO₂ Capture. **ChemSusChem**, v. 8, p. 2123-2132, 2015.

GLOBOCAN. Global Cancer Observatory. **Estimated number of new cases in 2018, all cancers, both sexes, all ages**. [S.I.]: Globocan, 2018. Disponível em: <http://gco.iarc.fr/today/online-analysis->

pie?v=2018&mode=population&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=7&group_cancer=0&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1&half_pie=0&donut=0&population_group_globocan_id=>. Acesso em: 21 abr. 2019.

GONZALEZ-FIERRO, A.; DUEÑAS-GONZÁLEZ, A. Drug repurposing for cancer therapy, easier said than done. **Seminars in Cancer Biology**, v. x, n. x, p. 1:9, 2019.

GOMAR, M., YEGANEHI, S. Adsorption of 5-Fluorouracil and Thioguanine drugs into ZIF-1, ZIF-3 and ZIF-6 by simulation methods. **Materials Science and Engineering: C**, v. 97, p. 461-466, 2019.

GOMES, T.A. et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 2, p. 239-249, 2015.

GRADY, H. Industry's View on Using Quality Control, Biorelevant and Clinically Relevant Dissolution Tests for Pharmaceutical Development, Registration and Commercialization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, p. 34-41, 2018.

GROOM, C. R. et al. The Cambridge structural database. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials**, v. 72, n. 2, p. 171–179, 2016.

GUEDES, F. L. et al. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, p. 220-225, 2008.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-74, 2011.

HE, C. et al. Nanoscale metal–organic frameworks for the co-delivery of cisplatin and pooled siRNAs to enhance therapeutic efficacy in drug-resistant ovarian cancer cells. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 14, p. 5181-5184, 2014.

HUSSAIN, H. et al. Lapachol: an overview. **Special Issue Reviews and Accounts**, v. 2, p. 145-171, 2007.

HORCAJADA, P. et al. Metal–organic frameworks as efficient materials for drug delivery. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, n. 36, p. 5974-5978, 2006.

HORCAJADA, P. et al. Flexible porous metal-organic frameworks for a controlled drug delivery. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 21, p. 6774-6780, 2008.

HUXFORD, R.C. et al. Metal–organic frameworks as potential drug carriers. **Current opinion in chemical biology**, v. 14, n. 2, p. 262-268, 2010.

HUEY, R. et al. A Semiempirical Free Energy Force Field with Charge-Based Desolvation. **Journal of computational chemistry**, v. 28, n. 6, p. 1145-1152, 2007.

INCA. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil**. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA,

2017. Disponível em: < http://www1.inca.gov.br/rbc/n_64/v01/pdf/15-resenha-estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>. Acesso em: 27 de mai. 2019.

JANG, S.B. et al. Impact of micellar vehicles on in situ intestinal absorption properties of beta-lapachone in rats. **Korean Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 17, p. 9-13, 2013.

JESUS, L.G. et al. Repercussões orais de drogas antineoplásicas: uma revisão de literatura. **Passo Fundo**, v. 21, p. 130-135, 2016.

KARAGIARIDI, O. et al. Opening ZIF-8: a catalytically active zeolitic imidazolate framework of sodalite topology with unsubstituted linkers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 45, p. 18790-18796, 2012.

KAWABATA, Y. et al. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 420, p. 1-10, 2011.

KAUR, H. et al. Synthesis and characterization of ZIF-8 nanoparticles for controlled release of 6-mercaptopurine drug. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 41, p. 106-112, 2017.

KEE, J. et al. Beta-lapachone inhibits lung metastasis of colorectal cancer by inducing apoptosis of CT26 cells. **Integrative Cancer Therapies**, v. 1, p. 1-12, 2017.

KHAN, K. A. The concept of dissolution efficiency. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27, p. 48-49, 1975.

KHAN, K. A.; RHODES, C. T. Effect of compaction pressure on the compare dissolution profiles and a rationale for wide dissolution efficiency of some direct compression systems. **Pharmaceutical Acta Helvetiae**, v. 47, p. 594-607, 1972.

KIM, D.W.; CHO, J.Y. NQO1 is Required for β -Lapachone-Mediated Downregulation of Breast-Cancer Stem-Cell Activity. **International Journal of Molecular Science**, v. 19, n. 12, p. 1-15, 2018.

KLAUNING, J.E.; WANG, Z. Oxidative stress in carcinogenesis. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 116–121, 2018.

KLEINER, J.A. et al. Tumores ósseos em pequenos animais. **MedVep**, v. 1, n. 3, p. 193-200, 2003.

KOTZABASAKI, M. et al. OH-functionalization strategy in Metal-Organic Frameworks for drug delivery. **Chemical Physics Letters**, v. 685, p. 114-118, 2017.

KWIECÍŃSKAA, B. et al. Application of electron microscopy TEM and SEM for analysis of coals, organic-rich shales and carbonaceous matter. **International Journal of Coal Geology**, v. 211, p. 1-13, 2019.

LAMBERTI, M.J. et al. NQO1 induction mediated by photodynamic therapy synergizes with β -Lapachone-halogenated derivate against melanoma. **Biomedicine e Pharmacotherapy**, v. 108, p. 1553-1564, 2018.

- LEE, J.H. et al. Down-regulation of cyclooxygenase-2 and telomerase activity by β -lapachone in human prostate carcinoma cells. **Pharmacological Research**, v. 51, n. 6, p. 553-600, 2005.
- LI, K. et al. Advances in the application of up conversion nanoparticles for detecting and treating cancers. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 25, p. 177-192, 2019.
- LI, X. et al. Nanostructured lipid carriers co-delivering lapachone and doxorubicin for overcoming multidrug resistance in breast cancer therapy. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 4017-4119, 2018.
- LI, H. et al. Photo-responsive nanoparticles for β -lapachone delivery in vitro. **Chinese Chemical Letters**, v. 1, p. 1-3, 2017.
- LI, Y. et al. Potent Induction of Apoptosis by β -Lapachone in Human Multiple Myeloma Cell Lines and Patient Cells. **Molecular Medicine**, v. 6, n. 12, p. 1008–1015, 2000.
- LIÉDANA, N. et al. CAF@ ZIF-8: one-step encapsulation of caffeine in MOF. **ACS applied materials & interfaces**, v. 4, n. 9, p. 5016-5021, 2012.
- LIU, C. et al. Oral bioavailability enhancement of β -lapachone, a poorly soluble fast crystallizer, by cocrystal, amorphous solid dispersion, and crystalline solid dispersion. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 124, p. 73-81, 2018.
- LIU, H. et al. UDP-Glucuronosyltransferase 1A Determines Intracellular Accumulation and Anti-Cancer Effect of β -Lapachone in Human Colon Cancer Cells. **Plos One**, v. 1, p. 1-17, 2015.
- LÓPEZ-LORENTE, A. I.; MIZAIKOF, B. Recent advances on the characterization of nanoparticles using infrared spectroscopy. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 84, p. 97–106, 2016.
- MA, J. et al. Mitochondrial targeted β -lapachone induces mitochondrial dysfunction and catastrophic vacuolization in cancer cells. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 4828-4833, 2015.
- MACEDO, L. et al. β -Lapachone activity in synergy with conventional antimicrobials against methicillin resistant Staphylococcus aureus strains. **Phytomedicine**, v. 21, p. 25–29, 2013.
- MANGAS-SANJUAN, V. et al. Intestinal Permeability of β -Lapachone and Its Cyclodextrin Complexes and Physical Mixtures. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 41, p. 795–806, 2015.
- MALLAPRAGADA, S.K. et al. Enabling nanomaterial, nanofabrication and cellular technologies for nanoneuromedicines. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 11, n. 3, p. 715-729, 2015.
- MALTA, D.C. et al. Política Nacional de Promoção da Saúde (PNPS): capítulos de uma caminhada ainda em construção. **Ciência e Saude Coletiva**, v. 21, n. 6, p. 1683-1694, 2016.
- MALTA, D.C. et al. Apresentação do plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis no Brasil, 2011 a 2022. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**, v. 20, n. 4, p. 425-438, 2011.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MATOS, J.R. et al. **Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Medicamentos**. In: **STORPIRTIS, S. Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

MEDEIROS, C.S. et al. Antifungal activity of the naphthoquinone beta-lapachone against disseminated infection with *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in dexamethasone-immunosuppressed Swiss mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, n. 4, p. 345-349, 2010.

MOHAMED, N.A. et al. Chemical and biological assessment of metal organic frameworks (MOFs) in pulmonary cells and in an acute in vivo model: relevance to pulmonary arterial hypertension therapy. **Pulmonary circulation**, v. 7, n. 3, p. 643-653, 2017.

MOON, D.O. et al. b-Lapachone (LAPA) Decreases Cell Viability and Telomerase Activity in Leukemia Cells: Suppression of Telomerase Activity by LAPA. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 3, p. 481–488, 2010.

MORRIS, G.M. et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. **Journal of Computational Chemistry**, v. 19, n. 14, p. 1639–1662, 1998.

MORENO, E. et al. Assessment of β -lapachone loaded in lecithin-chitosan nanoparticles for the topical treatment of cutaneous leishmaniasis in *L. major* infected BALB/c mice. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 11, n. 8, p. 2003-2012, 2015.

NABIPOUR, H. et al. Synthesis and characterization of nanoscale zeolitic imidazolate frameworks with ciprofloxacin and their applications as antimicrobial agents. **New Journal of Chemistry**, v. 41, p. 7364-7370, 2017.

NIH. National Cancer Institute - **Types of Cancer Treatment, 2019**. [S.I.]: NIH, 2019. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>>. Acesso em: 21 abr. 2019.

NASCIMENTO, D.D.S.S. **Obtenção de drug delivery system carbamazepina-zif-8 visando liberação prolongada**. 2017. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

NASCIMENTO, J.A. et al. Análise Screening de Vinhos Empregando um Analisador FluxoBatelada, Espectroscopia Uv-Vis e Quimiometria. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 351-357, 2010.

NASIR, A.M. et al. Application of two-dimensional leaf-shaped zeolitic imidazolate framework (2D ZIF-L) as arsenite adsorbent: kinetic, isotherm and mechanism. **Journal of Molecular Liquids**, v. 250, p. 269-277, 2018.

NUNE, S.K. et al. Synthesis and properties of nano zeolitic imidazolate frameworks. **Chemical Communications**, v. 46, n. 27, p. 4878-4880, 2010.

OLIVEIRA, M. A et al. Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Formulações Farmacêuticas na Indústria Farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

OLIVEIRA, L.F.G. et al. The combination therapy of meglumine antimoniate and oxiranes (epoxy- α -lapachone and epoxymethyl-lawsonone) enhance the leishmanicidal effect in mice infected by *Leishmania (Leishmania) amazonenses*. **International Journal for Parasitology Drugs and Drug Resistance**, v. 10, p. 101-108, 2019.

PARK, K.S. et al. Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 27, p. 10186-10191, 2006.

PARK, E.J. et al. β -Lapachone induces programmed necrosis through the RIP1-PARP-AIF-dependent pathway in human hepatocellular carcinoma SK-Hep1 cells. **Cell Death Dis**, v. 5, n. 5, p. 1230, 2014.

PINTO, A.V. et al. The trypanocidal activity of naphthoquinones: a review. **Molecules**, v. 14, p. 4570-4590, 2009.

PONTES, A.C.A.A. **Nanocápsulas de PLGA e gordura de murumuru contendo β -lapachona: preparação, caracterização e atividade citotóxica**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2016.

PRESMICH, G.M.A. et al. Desenvolvimento e Validação de um Método Analítico por Espectrofotometria no UV para Determinação Quantitativa do Anti-Neoplásico β -Lapachona. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 5, p. 645-650, 2010A.

PRESMICH, G.M.A. et al. Cápsulas Gelatinosas à Base de β -Lapachona para Terapias Antineoplásicas. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 5, p. 674-680, 2010B.

RABELLO, M. M. **Desenvolvimento e automação de metodologias in silico para o estudo de complexos de inclusão utilizados na inovação terapêutica**. 2016. Tese (Doutorado em Inovação Terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

RANA, M. K. et al. Estimation of partial charges in small zeolite imidazolate frameworks from density functional theory calculations. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 7, n. 6, p. 1575–1582, 2011.

REN, H. et al. Polyacrylic acid@ zeolitic imidazolate framework-8 nanoparticles with ultrahigh drug loading capability for pH-sensitive drug release. **Chemical Communications**, v. 50, n. 8, p. 1000-1002, 2014.

RODRIGUES, M.O. et al. Metal Organic Frameworks for Drug Delivery and Environmental Remediation: A Molecular Docking Approach. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 1, p. 1-10, 2012.

RODRIGUES, P.O. et al. Aplicação de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização, Determinação da Pureza e Cinética de Degradação da Zidovudina (AZT). **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 24, n. 3, p. 383-7, 2005.

ROWSELL, J. L.C.; YAGHI, O.M. Strategies for hydrogen storage in metal-organic frameworks. **Angewandte Chemie**, v. 44, n. 30, p. 4670–4679, 2005.

SAKANASHI, F. et al. Apoptosis, necroptosis and autophagy in colorectal cancer: Associations with tumor aggressiveness and p53 status. **Pathology - Research and Practice**, v. 215, p. 1-6, 2019.

SANTOS, K.M. et al. Development of solid dispersions of β -lapachone in PEG and PVP by solvent evaporation method. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 44, p. 750-756, 2017.

SANTOS, M.O. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 64, n. 1, p. 119-120, 2018.

SCHEJN, A. et al. Controlling ZIF-8 nano- and microcrystal formation and reactivity through zinc salt variations. **CrystEngComm**, v. 16, p. 4493-4500, 2014.

SEOANE, S. et al. Administration of the optimized b-Lapachone-poloxamer-cyclodextrin ternary system induces apoptosis, DNA damage and reduces tumor growth in a human breast adenocarcinoma xenograft mouse model. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, p. 497-504, 2013.

SHEKHAH, O. et al. Growth mechanism of metal-organic frameworks: insights into the nucleation by employing a step-by-step route. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 27, p. 5038-5041, 2009.

SHARPE, E. et al. From patent to patient: analysing access to innovative cancer drugs. **Drug Discovery Today**, v. 00, p.1-8, 2020.

SILVA, M.N. et al. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. **Química Nova**, v. 26, p. 407-16. 44, 2003.

SILVA, J.S.F. et al. Multifunctional system polyaniline-decorated ZIF-8 nanoparticles as a new chemo-photothermal platform for cancer therapy. **ACS omega**, v. 3, n. 9, p. 12147-12157, 2018.

SILVA, A.M.P. et al. Atividade biológica de naftoquinonas de espécies de Bignoniaceae. **Revista Fitos**, v. 7, n. 4, p.207-15, 2012.

SILVA-JUNIOR, E.M. et al. The evaluation of quinonoid compounds against *Trypanosoma cruzi*: synthesis of imidzolic antharquinones, nor- β -lapachone derivatives and β -lapachone-based 1,2,3-triazoles. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 9, p. 3224-3230, 2010.

SOLTANI, B. et al. Efficient Storage of Gentamicin in Nanoscale Zeolitic Imidazolate Framework-8 Nanocarrier for pH-Responsive Drug Release. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 28, p. 1090-1097, 2017.

SOUSA, E.T. et al. Fontes, formação, reatividade e determinação de quinonas na atmosfera. **Química Nova**, v. 39, p. 486-495, 2016.

SUN, C.Y. et al. Zeolitic imidazolate framework-8 as efficient pH-sensitive drug delivery vehicle. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 23, p. 6906-6909, 2012A.

SUN, D.D. et al. Enhanced kinetic solubility profiles of indomethacin amorphous solid dispersions in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, n. 1, p. 149–158, 2012B.

SUGA, M. et al. Recent progress in scanning electron microscopy for the characterization of fine structural details of nano materials. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 42, p. 1-21, 2014.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements. **Journal of molecular modeling**, v. 13, n. 12, p. 1173–213, 2007.

STEWART, J. J. P. MOPAC2016, Colorado Springs, CO, USA, 2016. Disponível em: <<http://openmopac.net>>. Acesso em: 25 dez. 2019.

SUN, D.D.; LEE, P. I. Evolution of Supersaturation of Amorphous Pharmaceuticals: The Effect of Rate of Supersaturation Generation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 11, p. 4330–4346, 2013.

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

TAHERZADE, S. et al. Application of metal-organic framework nano-MIL-100 (Fe) for sustainable release of doxycycline and tetracycline. **Nanomaterials**, v. 7, n. 8, p. 215, 2017.

TASSITANO, R.M. et al. Agregamento dos quatro principais comportamentos de risco às doenças não transmissíveis entre adolescentes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 1, p. 465-478, 2014.

TIMÓTEO, T.R.R. et al. **Estudo de pré-formulação e caracterização de forma farmacêutica líquida pediátrica com praziquantel (PZQ) utilizando o sistema de hidróxido duplo lamelar**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

TSAI, C.W. et al. The effect of synthesis temperature on the particle size of nano-ZIF-8. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 221, p. 8-13, 2016.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **United States Pharmacopeia and National Formulary** (USP 41-NF 36). [S.I: s.n.], 2018.

WANG, L. et al. Nanoscale metal–organic frameworks for drug delivery: a conventional platform with new promise. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, n. 5, p. 707-717, 2018.

WALTON, K.S. et al. Applicability of the BET method for determining surface areas of microporous metal– organic frameworks. **Journal of the American Chemical Society**, 2007, 129.27: 8552-8556.

WALSH, M.F. et al. Genetic Factors: Hereditary Cancer Predisposition Syndromes. **Part I: Science and Clinical Clinical Oncology**, v. 1, p. 180-220, 2020.

WHO. World Health Organization. **Folha informativa – Câncer**. [S.I]: WHO, 2018A. Disponível em:

<https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=1094>. Acesso em: 21 abr. 2019.

WHO. World Health Organization. **Vigilância em DCNT e fatores de risco**. WHO, 2018A. Disponível em:

<https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=572:vigilancia-em-dcnt-e-fatores-de-risco&Itemid=463>. Acesso em: 21 abr. 2019.

WEISSIG, V. et al. Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, p. 4357-4373, 2014.

WU, M.X.; YANG, Y.W. Metal–organic framework (MOF)-based drug/cargo delivery and cancer therapy. **Advanced Materials**, v. 29, n. 23, p. 1-20, 2017.

XAVIER-JUNIOR, F.H. et al. Supramolecular interactions between β -lapachone with cyclodextrins studied using isothermal titration calorimetry and molecular modeling. **Journal of Molecular Recognition**, v. 1, p. 1-10, 2017.

XIONG, P. et al. Materials design and control synthesis of the layered double hydroxide with the desired basal spacing. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 144, p. 11-16, 2015.

YAO, M.S., et al. MOF Thin Film-Coated Metal Oxide Nanowire Array: Significantly Improved Chemiresistor Sensor Performance. **Advanced materials**, v. 28, n. 26, p. 5229-5234, 2016.

YANG, Y. et al. β -lapachone suppresses tumour progression by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition in NQO1-positive breast cancers. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-13, 2017.

YU, H.Y. et al. β -lapachone-Induced Apoptosis of Human Gastric Carcinoma AGS Cells Is Caspase-Dependent and Regulated by the PI3K/ Akt Pathway. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 22, n. 3, p. 184-192, 2014.

ZADA, S. et al. Protein kinase A activation by β -Lapachone is associated with apoptotic cell death in NQO1-overexpressing breast cancer cells. **Oncology Reports**, v. 42, p. 1621-1630, 2019.

ZARGAR, A. et al. Overcoming the challenges of cancer drug resistance through bacterial-mediated therapy. **Chronic Diseases and Translational Medicine**, v. 1, p. 1-9, 2020.

ZHANG, L. et al. β -Lapachone and Paclitaxel Combination Micelles with Improved Drug Encapsulation and Therapeutic Synergy as Novel Nanotherapeutics for NQO1-Targeted Cancer Therapy. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n.11, p. 3999-4010, 2015.

ZHENG, M. et al. One-step synthesis of nanoscale zeolitic imidazolate frameworks with high curcumin loading for treatment of cervical cancer. **ACS applied materials & interfaces**, v. 7, n. 40, p. 22181-22187, 2015.

ZHENG, R. et al. A hollow spherical doped carbon catalyst derived from zeolitic imidazolate framework nanocrystals impregnated/covered with iron phthalocyanines. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 4, p. 7859-7868, 2016.

ZHU, H. et al. Effect of MIL-53 on phase inversion and gas separation performance of mixed matrix hollow fiber membranes. **RSC Advances**, v. 6, p. 69124-69134, 2016.

ZHUANG, J. et al. Optimized metal–organic-framework nanospheres for drug delivery: evaluation of small-molecule encapsulation. **ACS nano**, v. 8, n. 3, p. 2812-2819, 2014.

APÊNDICE A – CURVAS TG E DTA DA NZIF-8.

ANEXO A – RESUMO DE TRABALHO APRESENTADO NO I COLOQUIO REGIONAL EM MORTEC (RECIFE, PE – 2018) INTITULADO: “NMOFS COMO POTENCIAL ALTERNATIVA PARA DESENVOLVIMENTO DE *DRUG DELIVERY SYSTEMS* ANTICÂNCER”.



NMOFS COMO POTENCIAL ALTERNATIVA PARA DESENVOLVIMENTO DE *DRUG DELIVERY SYSTEMS* ANTICÂNCER

Aline Silva Ferreira¹; Natália Milena da Silva¹; Alinne Élide Gonçalves Alves¹; Alessandra Cristina Silva Barros¹; Pedro José Rolim Neto²

¹ Discente – Universidade Federal de Pernambuco ¹(alessandra.farma@outlook.com)

² Docente – Universidade Federal de Pernambuco ²(rolim.pedro@gmail.com)

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o câncer ganhou uma grande magnitude, tornando-se um grave problema de saúde pública mundial¹. Por isso avanços na nanotecnologia vêm surgindo para auxiliar na terapia antineoplásica, nesse contexto as *Metal Organic Frameworks* em nanoscala (nMOFs) despertam interesse devido a algumas vantagens, entre elas as principais são o tamanho com ampla superfície externa, as várias topologias e a alta porosidade ajustável, características promissoras para o carregamento de fármacos².

OBJETIVO

Este trabalho tem o objetivo mostrar as nMOFs como potencial alternativa para desenvolvimento de *drug delivery systems* anticâncer.

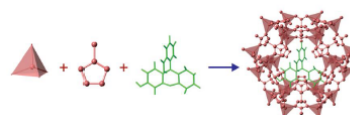
METODOLOGIA

A metodologia baseou-se em uma revisão de literatura, com corte transversal de 2008 a 2017, utilizando periódicos obtidos das bases de dados Scielo, Pubmed e Science.

RESULTADOS

As nMOFs são materiais híbridos, com um imenso número de centros metálicos e blocos de construção orgânicos que podem ser colocados juntos e especificamente adaptado para formar novos materiais com características desejáveis para o transporte controlado de drogas³. Alguns estudos foram realizado conjugando nMOFs com alguns antineoplásicos.

AUTOR/ ANO	ANTINEOPLÁSICO	nMOF	CARACTERÍSTICA DO FÁRMACO COM A NMOF
Chowdhuri et al., 2015	Paclitaxel	Isorecticular Metal Organic Frameworks (nIRMOF-3)	<i>Drug Delivery System</i>
He et al., 2014	Cisplatina	UIO NMOF	Pró-fármaco
Zhuang et al., 2014	Camptotessina	Zeolitic Imidazolate Framework-8 (nZIF-8)	<i>Drug Delivery System</i>
Horcayda et al., 2010	Busulfan	NANO-MIL-89 PEG	<i>Drug Delivery System</i>



Zn Ions 2-MIMs Small Molecules Small Molecules@ZIF-8

Resultados que são animadores, uma vez que a entrega controlada e orientada desses fármacos permitiria melhor qualidade de vida aos pacientes oncológicos com minimização de efeitos adversos, um dos grandes impasses na terapia antineoplásica.

CONCLUSÃO

A partir disso, observa-se que as nMOFs são uma alternativa com grande potencial para o desenvolvimento *Drug Delivery Systems* anticâncer, porém estudos mais aprofundados ainda são necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chowdhuri AR, Bhattacharya D, Sahu SK. Magnetic nanoscale frameworks for potential targeted anticancer drug delivery, imaging and MRI contrast agent. *Dalton Transactions*. 2015; 1-31.
2. He C, Lu K, Liu D, Lin W. Nanoscale Metal-Organic Frameworks for the Co-Delivery of Cisplatin and Pooled siRNAs to Enhance Therapeutic Efficacy in Drug-Resistant Ovarian Cancer Cells. *Journal of the American Chemical Society*. 2014, 136:5181-5184.
3. Metal-Organic Frameworks as Efficient Materials for Drug Delivery. *Agew Chem*. 2006, 118:6120-6124.