



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

NATÁLIA MILLENA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS NANOPARTICULADOS PARA
LIBERAÇÃO MODIFICADA DE EFAVIRENZ A PARTIR DA MOF (nZIF-8)**

RECIFE

2021

NATÁLIA MILLENA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS NANOPARTICULADOS PARA
LIBERAÇÃO MODIFICADA DE EFAVIRENZ A PARTIR DA MOF (nZIF-8)**

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

Área de concentração: Território, Desenvolvimento e Inovação tecnológica em saúde.

Orientador: Prof^o. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE

2021

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Silva, Natália Millena da

Desenvolvimento de sistemas nanoparticulados para liberação modificada de efavirenz a partir da MOF (nZIF-8) / Natália Millena da Silva - 2021.

132 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica. Recife, 2021.

Inclui referências, apêndice e anexos.

1. Terapia antirretroviral 2. Efavirenz 3. Excipientes inteligentes
I. Rolim Neto, Pedro José (Orientador) II. Título

615.3 CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-107

NATÁLIA MILLENA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS NANOPARTICULADOS PARA
LIBERAÇÃO MODIFICADA DE EFAVIRENZ A PARTIR DA MOF (nZIF-8)**

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

Aprovada em: 26/02/2021.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. José Yago Rodrigues Silva (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a Deus, meu Pai amado e centro da minha vida, pois nada é sobre quem sou, mas tudo é sobre Tua Graça!

AGRADECIMENTOS

O tempo de mestrado foi rico em graças profissionais e autoconhecimento! Mas nenhum dos aprendizados que obtive nesse período seriam possíveis sem que Deus tivesse usado de sua mão condutora para me mostrar as verdades e o caminho que eu precisava trilhar... Deus me ajudou na solidão dos meus pensamentos. Ele quem me levantou da cama quando eu não tinha mais forças. Ele foi meu descanso e repouso após longos dias de trabalho. Deus me fez uma mulher muito mais forte nesses dois anos! Manteve minha saúde física e psicológica em meio à uma pandemia e ainda me deu esta vitória de concluir minha dissertação nesse mesmo período... Eu só tenho que agradecer-lo e louvá-lo por suas obras em minha vida!

Agradeço imensamente a minha família, **Jozival, Núbia e Natyelli**, por que certamente são meus melhores amigos! Vocês sempre se esforçaram muito para me proporcionar o melhor que podiam e assim me fizeram ter a força necessária para continuar em meio as dificuldades. Sei que vocês se enchem de orgulho a cada degrau que eu subo, mas não imaginam o quanto sou orgulhosa em tê-los como minha família! Amo vocês.

Ao meu noivo, **Pablo**, só tenho que agradecer por toda parceria e companheirismo. Me faltam palavras para expressar o quanto o seu apoio foi essencial para mim nos últimos dois anos... Nós concluímos nossa graduação juntos e eu me aventurei em continuar minha formação, essa decisão resultou em mais alguns meses de distância física entre nós e muitos estresses adicionalmente kkk, porém, você com sua paciência e disponibilidade, segurou em minha mão e embarcou nessa comigo. Amor, você me impulsionou como mais ninguém poderia! Eu te amo!

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Pedro Rolim**, primeiramente pela oportunidade que me deu quando me acolheu no LTM, ainda quando aluna de TCC, de sonhar e me ajudar a concretizar essa etapa da minha formação acadêmica. Ao ser acolhida como sua orientanda de TCC eu tive a honra de ser apresentada a um ambiente de tanto profissionalismo e de vê-lo trabalhando com tanto empenho e dedicação pela pesquisa e pela ciência do país e isso me motivou à sonhar e ter a coragem de lhe pedir para que me deixasse imersa ali, naquele local de excelência, como mestranda. Depois disso, cresci tanto, professor! Vendo seu exemplo de liderança e de companheirismo com seus alunos, me sinto mais confiante em continuar lutando para estar inserida nesse mundo difícil, porém muito prazeroso que é o da pesquisa. Obrigada!

Segundamente agradeço ao **LTM**, na figura de tantos outros colegas, por que com vocês sempre me senti em casa e pertencente à uma família que cresce junto! Sou outra profissional

depois de viver essa experiência com vocês! Aqui materializo as minhas amigas **Aline Ferreira** e **Alinne Élide**, do eterno grupo MOF, por que me ensinaram TANTO! Sem vocês não teria conseguido, meninas... Obrigada por toda a ajuda que vocês me deram, tanto nos experimentos quanto no planejamento deles e no tratamento dos dados. Vocês são profissionais brilhantes e extremamente dedicadas! Eu me sinto muito honrada e abençoada por Deus por ter me presenteado com vocês, colegas de grupo de pesquisa e também amigas de vida. Amo vocês!

Ainda do LTM, agradeço a **Prof. Larissa Rolim, a Prof. Rosali, Leslie e Larissa Morgana** por me ajudarem sempre que surgiam algumas dúvidas do projeto. A **Alessandra** (por que sempre me ajudou com palavras de apoio, me impulsionou profissionalmente e por que é uma amiga que me transmite muitos ensinamentos e paz). A **Widson e Fernanda** (por que desde o primeiro dia de nossas pós partilhamos muitas conversas e muitas experiências de vida). A **Victor** (por que sempre me ajudou com as traduções dos trabalhos e me passou muitos conhecimentos importantes do mundo dos artigos e submissões. Obrigada!). A **Pollyne** (por que desde a graduação é uma amiga muito querida com a qual compartilho muitas histórias e experiências). A **Ilka** (que nos últimos meses me ajudou muito na rotina dos experimentos). A **Stefani e Joanellys** (pela ajuda que me deram nas dissoluções). A **Emerson** (pelas análises térmicas). A **Taysa** (por que compartilhar a vida contigo no apartamento é top) e a todos os demais membros do LTM, por que tornaram essa caminhada mais leve!

Agradeço as minhas amigas da graduação (**Vanessa, Millena e Carine**) e as minhas amigas de apartamento, principalmente **Tayná e Eduarda**, por que sempre confiaram na minha capacidade e me ajudaram com muitas conversas e troca de experiências. Amo vocês demais!

Agradeço ao **Prof. Severino, Yuri e Yago** (Departamento de química fundamental – UFPE), por que me ajudaram muito nas sínteses de nZIF-8 e nas análises de TG e de MEV. Muito obrigada, meninos! Ao **Prof. Eduardo Padrón** (Departamento de física- UFPE) pelas análises de DRX. A **Marcelo Montenegro** pela realização do *docking* molecular e ao **NCQMC**, por sempre disponibilizar alguns equipamentos para realização dos experimentos.

Agradeço por fim, a todo corpo docente e secretaria do **PPGIT** por serem professores e profissionais brilhantes! E a **FACEPE** pelo financiamento através da bolsa de estudos que me permitiu dedicar a este projeto de forma exclusiva.

RESUMO

A terapia antirretroviral (TARV) foi instituída com o objetivo de diminuir a morbi/mortalidade das pessoas vivendo com HIV. O efavirenz (EFZ) é o terceiro fármaco mais utilizado nessa terapia, entretanto, é tido como um fármaco de classe II (baixa solubilidade e permeabilidade elevada) pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica, atingindo uma biodisponibilidade oral baixa. Por isto, este trabalho objetivou empregar excipientes inteligentes como a *Zeolitic Imidazolate Framework* em escala nanométrica (nZIF-8) para desenvolver sistemas com o intuito de melhorar as características biofarmacêuticas do EFZ, como a modificação de sua liberação. Os sistemas EFZ:nZIF-8 foram obtidos pelo método *ex situ* e selecionados os que obtiveram o maior percentual de incorporação do fármaco na nanoestrutura. As caracterizações realizadas com os sistemas escolhidos foram: Uv-vis, espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Termogravimetria (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Difractometria de Raios-X (DRX) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Além disso, foram realizados ensaios de dissolução *in vitro* nas condições *sink*, no pH 1,2; 4,5 e 6,8 simulando as condições fisiológicas, para evidenciar o perfil de liberação do EFZ a partir dos sistemas. Os sistemas obtidos demonstraram uma eficiência de incorporação de 28% do EFZ à nZIF-8 tanto para os sistemas produzidos em etanol após 6 h de agitação, como para os sistemas obtidos em metanol após 12 h de agitação. Através da caracterização físico-química e das análises térmicas ficou comprovada a obtenção dos sistemas, por evidenciar bandas de absorção do EFZ e da nZIF-8 nos mesmos e por modificar o comportamento térmico do fármaco, inclusive influenciando positivamente na estabilidade térmica deste. As eletromicrografias revelaram mudança na morfologia do EFZ nas amostras dos sistemas, sugerindo solvatação do fármaco, corroborando com os difratogramas dos mesmos. Com o estudo de dissolução, foi possível verificar que os sistemas foram capazes de prolongar a liberação do EFZ, em comparação com o perfil de liberação do fármaco isolado e com as MFs nas três condições de pH (1,2; 4,5 e 6,8) que foram estudadas, sendo que em pH 6,8 foi a melhor condição para observar que o sistema obtido em etanol foi que o mais prolongou a liberação do EFZ, liberando apenas 31,61% do fármaco após as 48h de estudo. Sendo assim, este presente trabalho sugere que a utilização da ZIF-8 em escala nanométrica foi útil para formar sistemas que prolongaram de forma muito intensa a liberação do EFZ.

Palavras-chave: Terapia Antirretroviral. Nano Zeolitic Imidazolate Framework. Excipientes inteligentes. Dissolução. Liberação prolongada.

ABSTRACT

Antiretroviral therapy (ART) was created with the aim of decreasing the morbi/mortality of people living with HIV. Efavirenz (EFZ) is the third most used drug in this therapy. However, according to the Biopharmaceutical Classification System (BCS), EFZ is classified as class II (low solubility and high permeability), presenting a low gastrointestinal absorption due to its poor solubility. For this reason, this work aimed to use smart excipients such as Zeolitic Imidazolate Framework in nanometric scale (nZIF-8) to develop systems in order to improve the biopharmaceutical characteristics of EFZ, such as modifying its release. The EFZ: nZIF-8 systems were obtained by the ex situ method and the samples that obtained the highest percentage of incorporation of the drug in the nanostructure were selected. The method of quantification of EFZ by absorption spectroscopy in the ultraviolet-visible (UV-vis) region has been revalidated for systems measurement. The characterization techniques performed with the chosen systems were: UV-vis, absorption spectroscopy in the infrared region with Fourier transform (FTIR), thermogravimetry (TG) and differential scanning calorimetry (DSC). In addition, in vitro dissolution tests were carried out under sink conditions in pH 1,2 to show the modified EFZ release profile in the systems. The obtained systems demonstrated an incorporation efficiency of 28% of EFZ to nZIF-8 both for systems produced in ethanol after 6 h of agitation, and for systems obtained in methanol after 12 h of agitation. Through the physicochemical characterization and thermal analysis, it was proven that the systems were obtained, by showing specific absorption bands of EFZ and nZIF-8, and by modifying the drug's thermal behavior, positively influencing its thermal stability. Electromicrographs revealed a change in the EFZ morphology in the samples of the systems, suggesting solvation of the drug, corroborating their diffractograms. With the dissolution study, it was possible to verify that the systems were able to prolong the release of EFZ, in comparison with the release profile of the isolated drug and with the MFs in the three pH conditions (1,2; 4,5 e 6 , 8) that were studied, and at pH 6.8 it was the best condition to observe that the system obtained in ethanol was the one that most prolonged the release of EFZ, releasing only 31.61% of the drug after 48 hours of study. Therefore, this present work suggests that the use of ZIF-8 on a nanoscale was useful to form systems that prolonged the release of EFZ very intensely.

Keywords: Antiretroviral therapy. Nano Zeolitic Imidazolate Framework. Smart excipients. Dissolution. Prolonged release.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Ciclo de infecção do HIV.....	24
Figura 2-	Mecanismos de ação das classes dos antirretrovirais.....	27
Figura 3-	Estrutura química do efavirenz.....	29
Figura 4-	Classificação dos fármacos de acordo com o SCB.....	32
Figura 5-	Esquema de montagem das MOFs e suas conformações.....	36
Figura 6-	Diferentes métodos empregados nas sínteses das MOFs e suas aplicações.....	38
Figura 7-	Formação da ZIF-8 e carregamento de pequenas moléculas no seu interior.....	40
Figura 8-	Demonstração do perfil de dissolução de formulações de liberação convencional e prolongada.....	43
Figura 9-	Processo de produção e doseamento dos sistemas EFZ:nZIF 8.....	57
Figura 10-	Processo de obtenção das Misturas Físicas EFZ:nZIF-8.....	58
Figura 11-	Varredura do espectro de absorção na região do UV-Vis do EFZ e da nZIF-8 em álcool etílico (A) e metanol (B).....	70
Figura 12-	Aspecto Macroscópico: A) EFZ; B) ZIF-8; C) Sistema obtido em etanol 1.1; D) Sistema obtido em metanol 3.1; E) Mistura física do sistema etanol 1.1; F) Mistura física dos sistemas metanol 3.1.....	72
Figura 13-	Curvas de eficiência de incorporação (EI%) dos sistemas EFZ-nZIF-8 obtidos em etanol nas proporções molares 1:1, 1:3 e 3:1 (mol/mol) nos intervalos de 6, 12 e 24 horas.....	73
Figura 14-	Curvas de eficiência de incorporação (EI%) dos sistemas EFZ-nZIF-8 obtidos em metanol nas proporções molares 1:1, 1:3 e 3:1 (mol/mol) nos intervalos de 6, 12 e 24 horas.....	74
Figura 15-	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método de Alves (2010) em álcool etílico.....	77
Figura 16-	Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao método Alves (2010) em álcool etílico.....	77
Figura 17-	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método ajustado (com HCl 1M) em álcool etílico.....	78
Figura 18-	Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao método Ajustado (com HCl 1M) em álcool etílico.....	78

Figura 19-	Paralelismo entre retas das curvas com álcool etílico no efeito matriz.....	79
Figura 20-	Espectro de absorção na região do UV-Vis do parâmetro seletividade referente ao método com etanol: A) Alves (2010) e B) Método Ajustado.....	83
Figura 21-	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método de Alves (2010) com metanol.....	84
Figura 22-	Gráfico dos resíduos da linearidade por meio do cálculo de regressão linear referente ao método de Alves (2010) com metanol.....	85
Figura 23-	Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método ajustado (com HCl 1M) com metanol.....	85
Figura 24-	Gráfico dos resíduos da linearidade por meio do cálculo de regressão linear referente ao método de Alves (2010) com metanol.....	86
Figura 25-	Paralelismo entre retas das curvas com metanol no efeito matriz.....	87
Figura 26-	Espectro de absorção na região do UV-Vis do parâmetro seletividade referente ao método com metanol: A) Alves (2010) e B) Método Ajustado.....	90
Figura 27-	Espectros de infravermelho do EFZ, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.....	94
Figura 28-	Espectros de infravermelho do EFZ e nZIF-8 sobrepostos.....	95
Figura 29-	Curvas TG do EFZ, da nZIF-8, das Misturas Físicas e dos Sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.....	98
Figura 30-	Curvas DSC do EFZ, da nZIF-8, das Misturas Físicas e dos Sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.....	101
Figura 31-	Difratogramas de Raios-X do EFZ, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.....	103
Figura 32-	Microscopia Eletrônica de Varredura A) EFZ; B) nZIF-8; C) SIS EFZ:nZIF-8 1:1 ET e D) SIS EFZ:nZIF-8 3:1 MET e E) MF EFZ:nZIF-8 1:1 ET.....	106
Figura 33-	Microespécies majoritárias do EFZ em função do pH.....	107
Figura 34-	Soluções de docking molecular mais favoráveis entre nZIF-8 e as microespécies do EFZ, destaque para o anel metilimidazol que interage por meio de interações do tipo “empilhamento em T”	108
Figura 35-	Perfil de dissolução do EFZ, MFs e Sistemas EFZ:nZIF-8 em pH 1,2.....	111

Figura 36-	Perfil de dissolução do EFZ, MFs e Sistema EFZ:nZIF-8 em pH 4,5.....	112
Figura 37-	Perfil de dissolução do EFZ, MFs e Sistema EFZ:nZIF-8 em pH 6,8.....	113
Figura 38-	Perfil de dissolução do Sistema EFZ:nZIF-8 1:1 obtido em etanol em pH 1,2, 4,5 e 6,8.....	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Solventes e reagentes utilizados obtenção dos sistemas EFZ:ZIF-8, na revalidação do método de doseamento e no preparo dos meios do ensaio de solubilidade e dissolução.....	55
Tabela 2-	Resultados da robustez do método com etanol através da variação intencional de pH com HCl 1M.....	80
Tabela 3-	Repetibilidade do método ajustado em etanol.....	80
Tabela 4-	Exatidão do método ajustado em etanol.....	81
Tabela 5-	Resultados da robustez do método com metanol através da variação intencional de pH com HCl 1M.....	87
Tabela 6-	Precisão do método ajustado em metanol.....	88
Tabela 7-	Exatidão do método ajustado em metanol.....	89
Tabela 8-	Doseamento do EFZ nos sistemas e MFs por espectrofotometria.....	91
Tabela 9-	Cálculo do espaçamento basal dos picos de reflexão 011, 002 e 112 da ZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas obtidos em etanol e em metanol....	104
Tabela 10-	Solubilidade do EFZ (mg/mL) em diferentes meios.....	109
Tabela 11-	Valores de AUC [EFZ (%) x h] e ED (%) obtidos a partir dos perfis de dissolução do EFZ, MFs e sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.....	116

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Acquired Immune Deficiency Human
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AUC	Área sob a curva
AZT	Zidovudina
CD	Ciclodextrina
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CMV	Vírus Citomegálico
DFC	Dose Fixa Combinada
DRX	Difração de Raios-X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria Diferencial
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
DS	Dispersão Sólida
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ED	Eficiência de Dissolução
EDS	Dispersão de Energia
EI	Eficiência de Incorporação
EFZ	Efavirenz
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FFSO	Formas Farmacêuticas Sólidas Orais
IFs	Inibidores de Fusão
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
II	Inibidores da Integrase
IPs	Inibidores da Protease
ITRNs	Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídeo-Nucleotídeo

ITRNNs	Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Nucleosídeos
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
HIV	Do inglês Vírus da Imunodeficiência Humana
MF	Mistura Física
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MOF	Do inglês <i>Metal Organic Framework</i>
nZIF-8	Do inglês <i>Nano Zeolitic Imidazolate Framework</i>
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVP	Polivinilpirrolidona
RNA	Ácido Ribonucléico
Rpm	Rotações por Minuto
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SI	<i>Sink index</i>
SIV	Vírus de Imunodeficiência Símio
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde
TARV	Terapia Antirretroviral
TG	Termogravimétrico
TGI	Trato Gastrointestinal
TR	Transcriptase Reversa
UNAIDS	Do inglês Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
ZIF-8	Do inglês <i>Zeolitic Imidazolate Framework</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

[]	Concentração
Å	Ângstrom
%	Porcentagem
M	Molaridade
mol	Quantidade de matéria
min	Minuto
H	Hora
ΔH	Varição de Energia entalpica
mg	Miligrama
g	Gramma
®	Marca Registrada
Cr	Cromo
Co	Cobalto
Cu	Cobre
Zn	Zinco
Im^{-1}	Ânions Imidazolato
°C	Graus Celsius
nm	Nanômetro
μg	Micrograma
$\mu\text{g/mL}$	Micrograma por mililitro
g/mol	Gramma por mol
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mg/cm/min	Miligrama por centímetro por minuto
m^2/g	Metro ao quadrado por grama
±	Mais ou menos
Θ	Theta
S	Enxofre

C	Carbono
R	Coefficiente de Correlação
R ²	Coefficiente de determinação
Sen Θ	Seno do ângulo Theta
°	Graus
HCl	Ácido Clorídrico
cm ⁻¹	Centímetro
C _{máx}	Concentração máxima
C _s	Concentração de saturação/ solubilidade de fármaco no meio
PF	Ponto de Fusão
V	Volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	OBJETIVOS	20
1.1.1	Objetivo Geral.....	20
1.1.2	Objetivos Específicos	21
2	REFERENCIAL TEÓRICO	22
2.1	SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA: ASPECTOS GERAIS E TERAPÊUTICA.....	22
2.2	EFAVIRENZ	27
2.3	SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA	31
2.4	EXCIPIENTES	33
2.4.1	Tecnologias aplicadas ao EFZ	34
2.5	METAL ORGANIC FRAMEWORKS (MOFS).....	35
2.6	ZEOLITIC IMIDAZOLATE FRAMEWORKS (ZIFs)	39
2.7	LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS	41
2.7.1	Liberação convencional.....	42
2.7.2	Liberação Prolongada	43
2.8	CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS FARMACÊUTICOS	44
2.8.1	Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	44
2.8.2	Espectroscopia de absorção na região do UV-Visível (UV-Vis)	45
2.8.3	Termogravimetria (TG)	47
2.8.4	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	48
2.8.5	Difratometria de Raios- X (DRX)	49
2.8.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	50
2.9	ESTUDOS IN SÍLICO	51
2.10	ESTUDO DE DISSOLUÇÃO	52
3	MATERIAL E MÉTODOS	55
3.1	MATERIAL.....	55
3.2	MÉTODOS	55
3.2.1	Espectrofotometria de absorção na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis)	55
3.2.2	Obtenção dos sistemas EFZ:nZIF-8.....	56
3.2.3	Obtenção das Misturas Físicas (MFs).....	58
3.2.4	Revalidação do método analítico para quantificação do EFZ presente nas misturas físicas e sistemas por espectrofotometria no UV-Vis.....	58

3.2.5	Caracterização do Efavirenz, nZIF-8, Misturas físicas e Sistemas.....	64
3.2.6	Estudos de Modelagem Molecular	65
3.2.7	Estudos de liberação <i>in vitro</i> dos Sistemas EFZ:nZIF-8 e Misturas Físicas	67
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
4.1	ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISIVEL (UV-VIS)	69
4.2	OBTENÇÃO DOS SISTEMAS EFZ:nZIF-8.....	71
4.2.1	Aspecto macroscópico	71
4.2.2	Avaliação da incorporação do fármaco nos sistemas EFZ:nZIF-8.....	73
4.3	REVALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFZ PRESENTE NAS MISTURAS FÍSICAS E SISTEMAS POR MEIO DE ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-Vis	76
4.3.1	Revalidação do Método Analítico com Álcool Etilico	76
4.3.2	Revalidação do Método Analítico com Metanol	84
4.4	DOSEAMENTO DO EFZ NOS SISTEMAS E MISTURAS FÍSICAS	91
4.5	CARACTERIZAÇÃO DO EFZ, nZIF-8, SISTEMAS E MISTURAS FÍSICAS.....	91
4.5.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	91
4.5.2	Termogravimetria (TG)	95
4.5.3	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	99
4.5.4	Difratometria de Raios- X (DRX)	102
4.5.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	104
4.6	ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR	107
4.7	ESTUDOS DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DOS SISTEMAS EFZ:NZIF-8 E MISTURAS FÍSICAS	108
4.7.1	Ensaio de solubilidade do EFZ	108
4.7.2	Estudos dos perfis de dissolução <i>in vitro</i>	109
5	CONCLUSÃO.....	117
5.1	PERSPECTIVAS.....	118
	REFERÊNCIAS	119
	APÊNDICE A – CURVAS DE TG E DTA DA nZIF-8	130
	ANEXO A - ARTIGO ORIGINAL ACEITO PELA REVISTA CURRENT HIV RESEARCH, INTITULADO: “PROLONGED RELEASE OF ANTI-RETROVIRAL EFAVIRENZ FROM SYSTEM USING ZIF-8 AS CARRIER”.....	131
	ANEXO B – 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”. 132

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, do inglês AIDS, foram publicados em 1981, nos Estados Unidos e alguns anos depois o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), agente etiológico da síndrome, foi identificado. Em 2020, o Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (UNAIDS) lançou as estatísticas globais da doença, onde foi estimado que 38 milhões de pessoas viviam com HIV no mundo até o final de 2019. Destas, 690.000 pessoas morreram por causas relacionadas à AIDS até o mesmo ano e 25,4 milhões de pessoas com HIV passaram a ter acesso à terapia antirretroviral, um aumento de 6,4 milhões em comparação com o ano de 2009 e representando um total de 67% de todas as pessoas vivendo com HIV (RACHID et al., 2017; UNAIDS, 2020).

O Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos, do Ministério da Saúde, aborda os diferentes esquemas terapêuticos adotados com o objetivo de diminuir a morbidade e mortalidade das pessoas vivendo com HIV/AIDS no Brasil. O Efavirenz (EFZ), está incluso como um dos antirretrovirais da primeira linha de tratamento, entretanto, este é classificado como fármaco de classe II, segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), por apresentar baixa solubilidade e alta permeabilidade, desta forma, resulta em problemas de absorção no trato gastrointestinal e, conseqüentemente, biodisponibilidade inadequada para sua ação terapêutica. Assim sendo, o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas contendo o EFZ como Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) representa um impasse para a tecnologia farmacêutica (NEVES et al., 2010; SHARMA et al., 2011; AMIDON et al., 1995; BEDOR, 2011; GOMES et al., 2015; Brasil 2018).

Os excipientes farmacêuticos possibilitam, entre outras muitas funções, dentro deste contexto de modificação da solubilidade e liberação de fármacos, o aumento da estabilidade química, física e microbiológica e a melhora da biodisponibilidade biológica dos mesmos. Atualmente, os excipientes são considerados constituintes essenciais de uma formulação, capazes de garantir o bom desempenho do medicamento e a otimização do alcance e manutenção do efeito terapêutico (TABOSA, 2020).

A tecnologia farmacêutica está cada vez mais disposta à pesquisar por excipientes inteligentes que sejam capazes de incrementar a solubilidade em água de fármacos pouco solúveis e protege-los físico-quimicamente, para isto, está lançando mão de técnicas e materiais como: complexos de inclusão, dispersões sólidas, sistemas multiparticulados, hidróxidos

lamelares e, mais recentemente, as Redes Organometálicas, do inglês Metal Organic Framework (MOF).

As MOFs são uma classe de materiais híbridos porosos construídos a partir de íons metálicos, que têm atraído cada vez mais atenção nos últimos anos. Possuem grandes áreas de superfície, altamente ordenadas e estruturas bem definidas, com a capacidade de carregar e liberar diferentes componentes, especialmente agentes terapêuticos (XUE WU et al., 2017). Promovendo liberações lentas, incremento de solubilidade e menores repetições de doses, estabelecendo níveis plasmáticos constantes, com menos efeitos tóxicos e melhor eficácia terapêutica (CUNHA, 2010; PESSANHA et al, 2012).

A *zeolitic Imidazolate Framework* (ZIF-8) é uma subclasse de MOF que por apresentar diversidade estrutural e estabilidade excepcionais, além de baixa toxicidade, vem sendo utilizada para diversos fins, tais como: armazenamento de produtos químicos, encapsulação e entrega controlada, biossensores, dentre outras. Ainda mais, quando produzidas em nanoescala (nZIF-8) apresentam vantagens indiscutíveis como: tamanho com mais ampla superfície externa, porosidade, alta estabilidade térmica, maior permeabilidade e em alguns casos entrega direcionada de medicamentos (ZHUANG et al., 2014; CAI et al., 2015; AMARANTE et al., 2016; WU; YANG, 2017). Diante do exposto, esse projeto propõe desenvolver sistemas nanoparticulados à base de EFZ intercalado à nZIF-8 com o intuito de modular sua liberação, como uma alternativa de melhora da eficácia terapêutica do EFZ.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Obter e caracterizar sistemas nanoparticulados de liberação prolongada à base de Efavirenz:MOF (nZIF-8).

1.1.2 Objetivos Específicos

- Realizar a caracterização físico-química do EFZ e da nZIF-8;
- Obter a partir de um planejamento os sistemas nanoparticulados de EFZ:nZIF-8 e misturas físicas (MFs) em diferentes proporções;
- Caracterizar as amostras obtidas (EFZ, nZIF-8, MFs e sistemas) através de diversas técnicas analíticas;
- Revalidar metodologia por UV-visível para doseamento do fármaco no sistema EFZ-nZIF-8;
- Realizar ensaios de dissolução *in vitro* dos sistemas obtidos EFZ:nZIF-8 e de suas respectivas MFs, para avaliação do perfil de liberação do fármaco.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA: ASPECTOS GERAIS E TERAPÊUTICA

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) é a fase final da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês HIV), caracterizando-se pelo aparecimento de infecções e/ou tumores oportunistas e certos transtornos neurológicos, indicativos de déficit de imunidade celular, sem outras causas que não a infecção pelo HIV. O caso de SIDA mais antigo comprovado foi encontrado em um homem adulto da República Democrática do Congo, em 1959, mas a conhecida “Era SIDA” só começou oficialmente em 5 de junho de 1981 quando os *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dos Estados Unidos descreveram cinco casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* em contextos clínicos que sugeriam queda abrupta na condição imunológica de homens jovens homossexuais, sexualmente ativos com prévias ou atuais infecções pelo Vírus Citomegálico (CMV) e por *Cândida sp* (DURO, 2016; MELHUIISH, 2018).

Através da técnica de sequenciamento molecular foi possível concluir que a síndrome provavelmente se originou na África Central no início do século 20, onde o ser humano o travou dos chimpanzés, animais portadores originais do vírus nomeado de SIV cpz (Vírus de Imunodeficiência Símio), que por ser bastante similar ao HIV, sofreu fenômenos de recombinação e evolução dando origem ao HIV. A sua proliferação ao ser humano possivelmente se deu no momento do contato com o sangue contaminado do chimpanzé durante sua caça. Inicialmente a propagação do vírus foi lenta e focal, mudando seu perfil posteriormente para uma rápida cadeia de propagação, possivelmente devido à rápida urbanização na era pós-colonial, conquistando uma posse mais profunda nas cidades africanas, e rapidamente se espalhando pelo mundo através de indivíduos em risco na maioria das regiões em meados dos anos 70 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018; DURO, 2016; MELHUIISH, 2018).

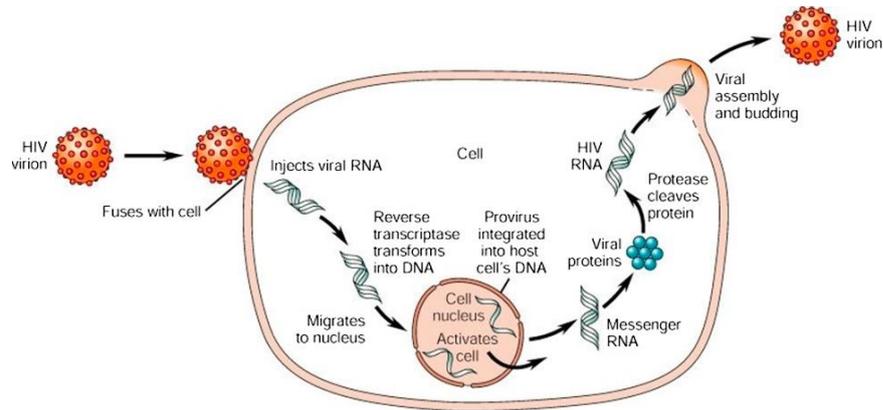
Existem 2 subtipos de HIV: O HIV-1 e o HIV-2, onde seus reservatórios são o Chimpanzé e os macacos Mangabey respectivamente. O HIV-1 é o responsável por quase todos os casos de SIDA no mundo e se divide geneticamente em grupos, onde o grupo M é o mais importante por possuir uma grande distribuição mundial. Este grupo se divide em subtipos que estão associados com a área geográfica específica em que se encontram, já o HIV-2 por sua

vez, causa uma doença semelhante a SIDA só que menos agressiva, e se restringe à África Ocidental (DURO, 2016; MELHUIISH, 2018).

O HIV-1 só foi identificado em 1983 e pertence à subfamília lentivírus dos retrovírus humanos. Geneticamente trata-se de um vírus RNA que se caracteriza pela presença da enzima Transcriptase Reversa (TR), que permite a transcrição do RNA viral em DNA. A sua relação com a queda da imunidade dos pacientes se explica devido ao fato de que as principais células infectadas são as células de defesa do sistema imunológico, os linfócitos T e os macrófagos, por possuírem receptores (CD4), que funcionam recebendo os vírus e mediando a invasão celular. Com este importante comprometimento na imunidade celular, há uma suscetibilidade aumentada a infecções por vírus e bactérias intracelulares, tumores e rejeição de aloenxertos (NEVES, 2010; LIMA; CECILIO; BONAFÉ, 2013; DURO, 2016; RACHID, 2017; SANTANA, 2019).

O ciclo de infecção e multiplicação do vírus HIV se inicia quando este alcança a corrente sanguínea e é encontrado pelas células de defesa do organismo já citadas acima, as proteínas do envelope do vírus (glicoproteínas 120 e 41) se prendem aos receptores CD4⁺ presentes na superfície destas células. A interação entre eles promove a fusão da membrana do vírus com a célula hospedeira, então o material genético do HIV deixa a membrana viral e dentro da célula é liberado o ácido ribonucleico (ARN, do inglês RNA) viral e enzimas virais (transcriptase reversa, integrase e proteases) para o citoplasma. Em seguida, ocorre a transcrição reversa do RNA em ácido desoxirribonucleico (ADN, do inglês DNA) e este DNA formado se liga ao DNA da célula hospedeira. A etapa posterior ocorre se a célula infectada for ativada, onde haverá a tradução em precursores de proteínas virais que irão unir-se ao RNA viral na membrana da célula podendo então desenvolver vírus maduros de RNA que serão liberados da célula entrando na corrente sanguínea novamente, podendo infectar outras células e levando a multiplicação exponencial do HIV por todo o organismo. A figura 1 descreve por completo o ciclo de infecção (COSTA, 2015; ORSEGA, 2015; YOUNG, 2016).

Figura 1 – Ciclo de infecção do HIV



Fonte: YOUNG, 2016.

A infecção pelo HIV pode ser sentida em três fases clínicas diferentes no organismo: a fase aguda, também chamada de soroconversão, a fase assintomática e a fase sintomática e em cada indivíduo o curso da infecção pode ocorrer de forma diferente.

A *infecção aguda* é definida como as primeiras semanas da infecção pelo HIV, até o aparecimento dos anticorpos anti-HIV (soroconversão), que costuma ocorrer em torno da quarta semana após a infecção. Nessa fase, bilhões de partículas virais são produzidas diariamente, a viremia plasmática alcança níveis elevados e o indivíduo torna-se altamente infectante. A maioria das pessoas apresenta sinais/sintomas relacionados à infecção que podem variar de cinco dias até três meses para ocorrerem, os mais frequentes são gripe, mononucleose-símile, adenomegalias e manifestações clínicas de comprometimento do sistema nervoso central que podem ser reversíveis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018; RACHID, 2017).

Na *fase assintomática*, encontram-se os indivíduos infectados com estado clínico básico mínimo ou inexistente, caracterizada por um esgotamento lento e gradual dos linfócitos T CD4, para isto, os exames laboratoriais são de extrema importância para o prognóstico, pois uma ampla variedade de alterações pode estar presente. A história familiar, hábitos de vida, como também uma avaliação do perfil emocional e psicossocial do paciente, seu nível de entendimento e orientação sobre a doença são também importantes, por se tratar da fase mais duradoura da doença. Por fim, a *fase sintomática* refere-se a um conjunto de sinais e infecções ou neoplasias definidoras da doença, ou seja a SIDA propriamente dita, onde as principais ocorrências são as infecções oportunistas (pneumocistose, neurotoxoplasmose, tuberculose pulmonar atípica ou disseminada, meningite criptocócica e retinite por citomegalovírus) e as neoplasias (sarcoma de Kaposi, linfoma não Hodgkin e câncer de colo uterino, em mulheres

jovens), além dos danos direto a certos órgãos ou processos inflamatórios, tais como miocardiopatia, nefropatia e neuropatias que podem estar presentes durante toda a evolução da infecção pelo HIV-1. Nessas situações, a contagem de LT-CD4+ está abaixo de 200 células/mm³, na maioria das vezes e na ausência de qualquer intervenção terapêutica, a média da progressão da doença é de aproximadamente 10 anos (TOULOUMI e HATZAKIS, 2000; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018; RACHID, 2017).

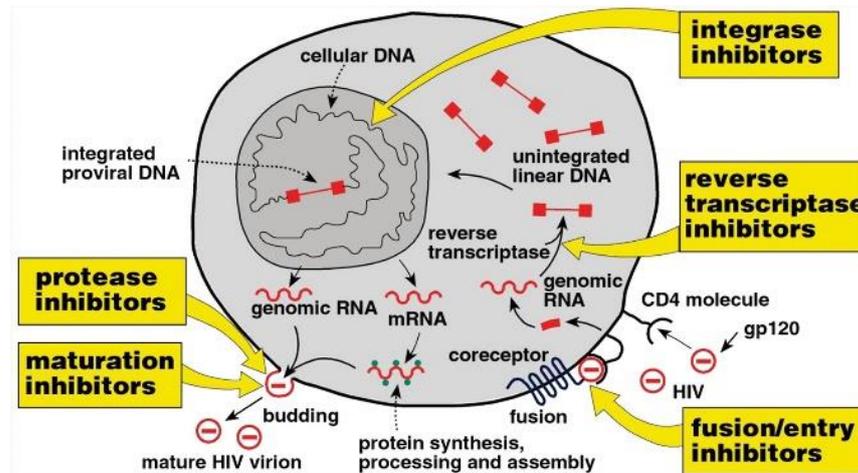
Com Relação a epidemiologia, em 1994 a SIDA constituía a principal causa de morte nos EUA entre a população masculina com idade desde os 25 aos 44 anos. Estima-se que 20 anos depois, em 2014 havia 35 milhões de pessoas vivendo com HIV em todo mundo. No Brasil de 1980 a 2016, foram notificados 842.710 casos da doença e os números de infecções não têm se alterado muito ao longo do tempo, pois segundo o Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (UNAIDS) no ano de 2019 ainda existem cerca de 37,9 milhões de pessoas infectadas no mundo. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018; UNAIDS, 2019). O HIV independente de seu subtipo pode ser transmitido por via sexual, sanguínea, transmissão vertical, aleitamento materno, perfurocortantes, transfusão sanguínea, agulhas e todo material injetável contaminado pelo vírus e devido as suas formas de contágio serem muito simples e ocorrem de diversas formas o controle das taxas virais nos indivíduos contaminados é de grande importância (LIMA; CECILIO; BONAFÉ, 2013).

Segundo a UNAIDS até o fim de junho de 2019, 24,5 milhões de pessoas vivendo com HIV tinham acesso à terapia antirretroviral. Os dados mais estratificados são de 2018, que mostram resultados onde 62% dos adultos com 15 ou mais anos portadores do vírus tinham acesso a terapia, 54% das crianças de 0 a 14 anos, e 82% das mulheres grávidas vivendo com HIV tiveram acesso a medicamentos antirretrovirais para prevenir a transmissão do HIV para seus bebês. A terapia antirretroviral (TARV) foi instituída com o objetivo de diminuir a morbidade e mortalidade das pessoas vivendo com HIV, melhorando a qualidade e a expectativa de vida, através da reconstituição imune, ou seja, as pessoas em uso de TARV, mantêm contagens de LT-CD4+ acima de 500 células/mm³ e carga viral indetectável e estas mesmas pessoas atingem expectativa de vida semelhante à da população geral. Essa terapia teve início em 1987 com a aprovação da zidovudina (AZT) pela vigilância sanitária americana (Food and Drug Administration- FDA) e depois outros fármacos foram sendo liberados para uso e classificados de acordo com o tipo de enzima que eles podem inibir durante a replicação do vírus, atualmente existem mais de 20 medicamentos liberados e sendo usados na TARV (MARDSEN, 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018; COSTA, 2015; FORESTO, 2017; UNAIDS, 2019).

Os fármacos que compõem a TARV são divididos em classes. Os que funcionam através da inibição da enzima transcriptase reversa podem ser dos tipos nucleosídeo-nucleotídeo (ITRNs), por serem análogos dos ácidos nucleicos que formam a enzima, ou não-nucleosídeos (ITRNNs), por não serem análogos aos nucleotídeos, esses fármacos se parecendo ou não com os nucleotídeos se ligam a enzima inibindo seu funcionamento. Os inibidores da TR juntamente aos Inibidores de Protease (IP), são classificados como inibidores clássicos. Posteriormente novos inibidores foram descobertos e estes são capazes de bloquear diferentes estágios da replicação viral, alguns exemplos são os Inibidores de fusão (IF), que impede a fusão das proteínas virais com os receptores das células hospedeiras, os Inibidores de Entrada e os Inibidores de Integrase (II) que por sua vez impede a integração do DNA viral ao DNA humano. A figura 2 demonstra os mecanismos de ação dos antirretrovirais que compõem a TARV (DE SOUZA, 2005; SANTOS, 2014).

Desde então, a TARV pode ser feita através da monoterapia ou empregando combinações de inibidores de diferentes classes, visando bloquear a replicação do vírus em mais de um estágio do ciclo viral e estas combinações podem ser feitas a através dos coquetéis, em que os medicamentos são tomados simultaneamente ou através das formulações em dose fixa combinada (DFC). Os coquetéis de primeira escolha, segundo recomenda o ministério de saúde, consiste na combinação de dois fármacos ITRNs e de um fármaco ITRNN, onde para os ITRNs a zidovudina e a lamivudina são os fármacos de preferência, enquanto o efavirenz representa a classe ITRNN, exceto para gestantes. A disponibilidade da potente combinação da Terapia Antirretroviral (TARV) resultou em grandes benefícios às pessoas que vivem com HIV, como a redução da incidência de doenças oportunistas, diminuição da necessidade e da complexidade das internações hospitalares, estabilização da epidemia e aumento na expectativa de vida (BEDOR, 2010; COSTA, 2015; FORESTO, 2017).

Figura 2 – Mecanismos de ação das classes dos antirretrovirais.



Fonte: ORSEGA, 2015.

2.2 EFAVIRENZ

Um importante componente da Terapia Antirretroviral (TARV) é o Efavirenz (EFZ), fármaco que atua como Inibidor da Transcriptase Reversa Não-Nucleosídeo (ITRNN) contra uma variedade de cepas mutantes do HIV-1, sendo o terceiro mais utilizado na terapia, devido a sua alta eficácia para este tipo de vírus. É há muito tempo considerado o fármaco mais importante de sua classe e faz parte de muitos esquemas terapêuticos internacionais de primeira linha em combinação com outros fármacos que atuam em outras etapas do ciclo da infecção pelo HIV. Até o final de 2013, todas as recomendações emitidas por agências nacionais e internacionais indicavam a preferência pela TARV contendo o EFZ e este continua sendo o antirretroviral de escolha para o tratamento de pacientes co-infectados com tuberculose (COSTA, 2015; APOSTOLOVA, 2017; GESIDA, 2017).

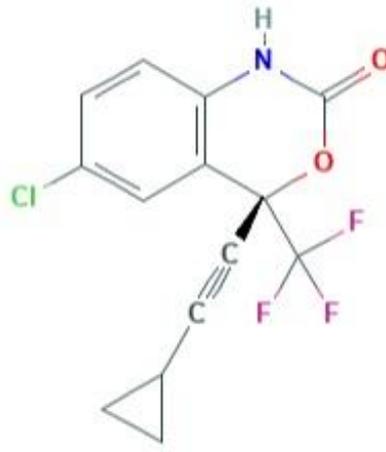
Apesar de ser considerado uma das drogas mais úteis e potentes contra o HIV-1, acontece com o EFZ o mesmo que acontece com muitos outros fármacos antirretrovirais, a dificuldade na adesão terapêutica dos pacientes a TARV, onde a descontinuação do tratamento pelos pacientes portadores de HIV, que utilizam o EFZ como terapia diária corresponde até 20% do número total, devido principalmente aos efeitos colaterais do fármaco no sistema Nervoso Central (SNC) que se desdobram em sintomas neuro-psiquiátricos como, tonturas, confusão, dores de cabeça, depressão, efeitos secundários psiquiátricos e sonhos anormais. O uso do EFZ por mulheres durante primeiro trimestre da gravidez inclusive pode ocasionar

defeitos congênitos do tubo neural do feto e isto fez com que o uso deste fármaco seja limitado em mulheres em idade fértil e comumente substituído pela nevirapina no tratamento de crianças (COSTA, 2015; TABOSA, 2020).

O EFZ foi desenvolvido através de bioisoterismo tendo como base a estrutura da molécula quinazolina L-608,788 onde se desejavam obter otimizações da mesma. Foi descoberto pelos pesquisadores da Merk em parceria com a DuPont e tornou-se comercialmente disponível em setembro de 1998, sendo atendida pelo nome de referência “Sustiva” ou “Stocrin” e patenteada pela Bristol-Myers, tendo a sua licença expirada em 2012, mas a partir de maio de 2007, o governo brasileiro decretou a licença compulsória, permitindo a produção local do medicamento, com o intuito de manter a viabilidade do tratamento contra infecção do HIV pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (COSTA, 2015; COSTA, 2016; APOSTOLOVA, 2017; GESIDA, 2017; TABOSA, 2020).

Com relação as propriedades químicas, o EFZ possui a nomenclatura química: (4S)-6-cloro-4-(2-ciclopropiletinil)-4-(trifluorometil)-2,4-dihidro-1H-3,1- benzoxan-2-ona, devido a sua estrutura ser formada por um núcleo benzoxazinona com grupamentos trifluorometila e ciclopropilacetinila ligados ao carbono C-4 da molécula, como mostra a figura 3. Se apresenta como um pó cristalino branco de natureza lipofílica (Log P de 5,4 e pka de 10,2), com massa molecular de 356,68 g/mol, faixa de fusão de 136,0 °C a 141,0 °C e solubilidade em metanol, etanol, diclorometano, acetona e outros solventes, porém, apresenta baixa solubilidade aquosa, em torno de 9 µg/mL, o que acarreta numa baixa taxa de dissolução intrínseca de 0,037 mg/cm/min, sugerindo problemas de absorção, com limitada taxa de dissolução, já que fármacos com velocidade de dissolução intrínseca inferior a 0,1 mg/cm/min podem ter um fator limitante para a velocidade de absorção oral. De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), o EFZ é um fármaco classe II (baixa solubilidade e permeabilidade elevada) que apresenta uma baixa absorção gastrointestinal, devido a sua solubilidade inadequada nos fluidos gastrointestinais, e uma alta permeabilidade, atingindo uma biodisponibilidade oral baixa, de 40 e 45% (ALVES, 2010; COSTA, 2016; HARI, 2016; FREITAS NETO, 2018; XU, 2018).

Figura 3 – Estrutura química do (4S) -6-cloro-4-(2-ciclopropiletinil) -4-(trifluorometil) -2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxan-2-ona (efavirenz).



Fonte: PUBCHEM, 2020

A dose diária recomendada de EFZ é de 600 mg para adultos, porém em pacientes com idade entre três e dezessete anos, a dose dependerá do peso corporal. A dosagem de 600 mg pode ser encontrada na forma de um comprimido dose única e este resulta em um nível plasmático de 1 a 4 mg/L de fármaco que excede largamente o IC50 plasmático (0,51 µg/L). O pico de concentração do EFZ no plasma é atingido 5 horas após a primeira dose do fármaco e sua meia-vida é de 52 horas quando administrado em dose única e 40-55 horas quando usado em doses múltiplas. Quando coadministrado com outras drogas como antirretrovirais e antibióticos a meia-vida do EFZ pode variar, porém, apesar disto, o EFZ não pode ser administrado em monoterapia devido ao aparecimento relativamente rápido de cepas resistentes. Aproximadamente 99% do EFZ no sangue é ligado às proteínas, o que limita sua diferença extravascular e resulta em uma alta taxa de concentração intracelular/plasmática, uma característica que distingue o EFZ dos outros antirretrovirais da mesma classe (BASTOS, 2016; APOSTOLOVA, 2017).

Embora o regime da TARV de primeira linha sugira o EFZ na dose de 600 mg uma vez ao dia, a dose mais baixa recomendada do fármaco é de 400 mg também em dose única, uma vez que essa redução de dose foi estudada em um teste de otimização de dose e constatou que essa alternativa pode resultar em benefícios para indivíduos infectados pelo HIV permitindo que os programas de acesso alcancem mais pacientes investindo os mesmos gastos em saúde pública que são destinados a fabricação do EFZ 600 mg. O estudo ENCORE1, que testou a eficácia de 400 mg de EFZ versus a dose padrão de 600 mg em adultos infectados pelo HIV

que não usavam nenhum antirretroviral, não detectou nenhuma diferença negativa significativa nos resultados virológicos dos pacientes, indicando que 400 mg não é menos eficaz que a dose padrão, além de observarem significativamente menos casos de efeitos secundários relacionados ao EFZ 400 mg, principalmente relacionados ao SNC (MOHAMED, 2017). Apesar deste estudo, as formas de apresentações do fármaco disponíveis no mundo e no Brasil, registrados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), são uma única formulação de solução oral de 30 mg/mL⁻¹, as cápsulas gelatinosas duras de 50 e 200 mg e comprimidos revestidos de 300 e 600 mg (FREITAS, 2018, BRASIL, 2018; DRUGBANK, 2020).

Com relação ao metabolismo do EFZ sabe-se que depois de absorvido este sofre um efeito de primeira passagem pelo fígado onde é metabolizado em maior proporção (90%) através do sistema do citocromo P450 gerando metabólitos inativos. A isoforma CYP450 2B6 (CYP2B6) é responsável pela hidroxilação do mesmo, produzindo 8-hidroxi-efavirenz (8-OH-EFZ), o mais importante de seus metabólitos, que pode ter associação com os eventos adversos no SNC dos pacientes, além de outros metabólitos como 8,14-OH-EFZ e 7,8-OH-EFZ. Outras vias secundárias, como a 7-hidroxilação (e parcialmente a 8-hidroxilação) mediada pelo CYP2A6, canalizam apenas 8% do EFZ, mas podem ser cruciais no caso de pacientes portadores de polimorfismos do CYP2B6. Os metabólitos do EFZ oxidado são então conjugados (fase II de biotransformação hepática de xenobióticos) através da atividade da UDP-glucuronosiltransferase (UGT), ou então, o EFZ pode ser conjugado diretamente para gerar EFZ-N-glicuronídeo (N-gln-EFZ) em uma reação mediada por UGT2B7 e estes metabólitos conjugados, ou seja, produtos do metabolismo hepático de fase II como: 8-OH-EFZ-glucuronídeo, 8-OH-EFZ-sulfato, 7-OH-EFZglucuronídeo e sulfato de 7-OH-EFZ, estão em concentrações plasmáticas mais altas que o próprio EFZ, sendo os principais produtos do metabolismo do fármaco. O EFZ inalterado excretado pelo corpo representa apenas 1% do total ingerido (DOOLEY, 2015; BASTOS, 2016; APOSTOLOVA, 2017).

Devido à grande importância que a utilização do EFZ expressa na TARV contraposta a as dificuldades de propriedades físico-químicas que possui, muitos estudos já foram realizados com o intuito de otimizar as características do fármaco para que ele possa ser ainda mais utilizado no esquema terapêutico da AIDS. O EFZ já foi estudado por vários métodos capazes de melhorar a solubilidade dos fármacos, como a formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas, dispersões sólidas, uso de surfactante, co-micronização, formação de mistura eutética e de nanopartículas na tentativa de que a melhora da taxa de solubilidade e dissolução

deste afete positivamente o processo de absorção e biodisponibilidade do EFZ no corpo (FITRIANE, 2016).

2.3 SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) foi criado no ano de 1995, por Amidon e colaboradores, com o objetivo de classificar os fármacos quanto aos seus níveis de solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal, dois parâmetros que controlam diretamente a absorção dos fármacos por via oral em condições fisiológicas. Sendo assim, os fármacos são classificados em quatro categorias diferentes: classe I- fármacos que apresentam alta solubilidade e alta permeabilidade; classe II- baixa solubilidade e alta permeabilidade; classe III- alta solubilidade e baixa permeabilidade e classe IV- baixa solubilidade e baixa permeabilidade. A figura 4 demonstra de forma explicativa as classes que compõem o SCB. 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, 2009; BEDOR, 2010; KAWABATA, 2011; DEZANI, 2013; CRISTOFOLETTI, 2013; GOMES, 2015; COSTA, 2016).

Figura 4 – Classificação dos fármacos de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).



Fonte: Adaptado de COSTA, 2016.

Ao definir a classe dos fármacos, esse sistema serve como ferramenta para auxiliar nas decisões sobre estudos de bioequivalência e de biodisponibilidade dos fármacos e em etapas de formulação dos medicamentos, antes mesmo destes chegarem aos estudos clínicos. Portanto, ao avaliar o SCB, sabe-se que, para fármacos de classes I ou III, as formulações podem ser desenvolvidas a partir de estratégias mais simples por que seus níveis de solubilidade proporcionam boa biodisponibilidade ao fármaco, porém, para drogas classe II ou IV é necessário que suas formulações busquem melhorar as propriedades físico-químicas do fármaco a fim de obter uma biodisponibilidade necessária e reprodutível após sua administração oral. Os fármacos de classe II representam um número muito grande das drogas de origem sintética e 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 através de estratégias de tecnologia farmacêutica que busquem o aumento desta taxa, bem como o desempenho da dissolução de fármacos classe II (BEDOR, 2010; KAWABATA, 2011; CRISTOFOLETTI, 2013; GOMES, 2015; COSTA, 2016).

2.4 EXCIPIENTES

A palavra excipientes deriva do latim “excipiens” que significa receber, reunir, tirar, fazendo alusão a uma das funções básicas de um excipiente, que consiste em assegurar que um medicamento tenha o peso, consistência e volume necessários para a correta administração do princípio ativo ao doente. Em 1957, criou-se a primeira definição para estes materiais como "a substância utilizada como meio para dar um medicamento", tratando o excipiente como apenas um suporte inerte para o(s) princípio(s) ativo(s), corroborando com a legislação farmacêutica, em tempos passados, que definia os excipientes como “todas as substâncias contidas numa forma de dosagem diferente da substância ativa” (ROBERTSON, 1999; PIFFERI e RESTANI, 2003; TABOSA, 2020).

Entretanto, com o passar do tempo, as definições do que na verdade são excipientes foram ficando mais elaboradas, possibilitando observar que os excipientes desempenham outras funções em uma formulação, e não se tratando simplesmente de uma substância inerte. Uma definição mais elaborada cita "substâncias, diferentes da substância ativa ou da forma farmacêutica acabada, que foram adequadamente avaliadas quanto à segurança e estão incluídas num sistema de administração de fármaco para auxiliar o processamento do sistema de administração durante o seu fabrico, para proteger, apoiar, aumentar a estabilidade, biodisponibilidade ou aceitabilidade do doente, auxiliar na identificação do produto ou melhorar quaisquer outros atributos da segurança e eficácia globais do sistema de administração de fármaco durante a armazenagem ou utilização (THE INTERNATIONAL PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS COUNCIL, 1995).

Hoje sabe-se que o comportamento da forma farmacêutica é dependente de variáveis do processo produtivo, da interação entre os excipientes, e do impacto dos mesmos sobre o princípio ativo e a forma farmacêutica. Excipientes, anteriormente vistos como simples substâncias facilitadoras da administração e estabilizadoras da preparação, são considerados, hoje, constituintes essenciais que garantem o desempenho, a segurança do medicamento e a obtenção do efeito terapêutico. Além disso, o interesse constante nas formas de liberação modificada e nos novos sistemas terapêuticos, bem como nas novas tecnologias de produção, contribuiu para a investigação de novos materiais dotados de propriedades tecnológicas específicas e do seu desenvolvimento como excipientes funcionais e inteligentes, ou seja, excipientes como agentes funcionais que podem cumprir várias funções dentro da formulação (PESSANHA, 2012; GARCIA-ARIÉTA; 2014; TABOSA, 2020).

Os excipientes podem ter várias origens: animal (lactose, gelatina, ácido esteárico), vegetal (amidos, açúcares, celulose, arginatos), mineral (fosfato de cálcio, sílica) e sintético (PEGs, polissorbatos, povidona, etc.), onde considera-se que mais de mil materiais diferentes são utilizados na indústria farmacêutica para cumprir as suas diversas funções, tais como diluentes, agentes de volume, desintegrantes, lubrificantes, corantes, edulcorantes, etc. São compostos quimicamente heterogêneos que vão de moléculas simples a misturas complexas naturais, semi-sintéticas ou sintéticas (PIFFERI e RESTANI, 2003; ELDER; KUENTZ; HOLM, 2016; TABOSA, 2020).

2.4.1 Tecnologias aplicadas ao EFZ

Dentre todas essas funções que os excipientes possuem, o incremento da solubilidade e a liberação modificada dos fármacos são campos em que mais se tem aplicado excipientes funcionais na tentativa de que estes novos materiais possam acarretar em melhoras na biodisponibilidade dos fármacos a partir do melhoramento dessas duas propriedades. Para o efavirenz, muitas tentativas já foram realizadas ao se estudar a combinação dele com alguns excipientes, como os polímeros para obtenção de dispersões sólidas (DS), utilização de ciclodextrinas (CDs) e MOFs.

O trabalho de Costa (2016) obteve DS utilizando os polímeros PVP-K30, o PVPVA 64 SOLUPLUS e HPMCAS e mostrou que os polímeros empregados foram capazes de manter o EFZ em sua forma amorfa até uma concentração de 80% fármaco, estas DS quando caracterizadas se mostraram estáveis e adequadas para superar as limitações de solubilidade do EFZ. Kolhe e colaboradores (2013), obtiveram DS de EFZ utilizando Copovidona e polietilenoglicol (PEG) como polímeros e observaram melhora das taxas de liberação do fármaco. Chowdary e Enturi, no mesmo ano, avaliaram o desempenho in vivo e a farmacocinética das DS de EFZ utilizando citrato e fosfato de amido, como polímeros e estas exibiram taxas significativamente superiores de absorção e biodisponibilidade do EFZ, quando comparado ao EFZ sozinho na avaliação in vivo. Koh e colaboradores, em 2013, também aumentaram a taxa de dissolução do EFZ utilizando DS com PEG 8000 e/ou PVP K30, as formulações com apenas PVP K-30 obtiveram melhor perfil de dissolução e uma proporção fármaco:polímero 1:10 foi considerada como uma relação ideal (KOLHE, 2013; CHOWDARY & ENTURI, 2013; KOH, 2013; COSTA, 2016).

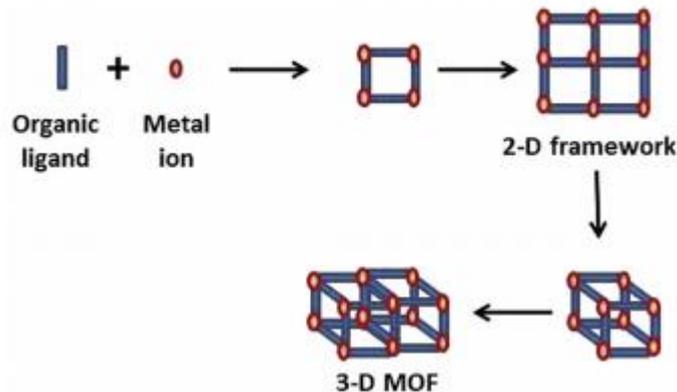
As CDs são carboidratos cíclicos de origem natural capazes de solubilizar-se em meio aquoso e ao mesmo tempo encapsular moléculas hidrofóbicas no interior da sua cavidade, por isso vem sendo amplamente usadas na indústria farmacêutica, com o intuito de aumentar a solubilidade e dissolução dos fármacos pouco solúveis, dentre outras funções desejadas. (BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008; SOARES-SOBRINHO et al, 2012). Em 2009, Sathigari e colaboradores estudaram a formação de complexo de inclusão do EFZ com alguns tipos de ciclodextrina que foram capazes de aumentar as taxas de dissolução do EFZ. As CDs foram ainda unidas a outros polímeros em diversos trabalhos, formando sistemas multicomponentes que também entregaram ao EFZ uma solubilidade muito mais aumentada (SATHIGARI, 2009; VIEIRA, 2011; COSTA, 2016).

Outros trabalhos mais recentes têm empregado as redes metal-orgânicas, material que também possui a capacidade de complexar fármacos em seu interior ou na sua superfície e melhorar sua solubilidade e sua taxa de liberação. Tabosa e colaboradores (2020), avaliou a formação de sistemas de EFZ com a ZIF-8 e observou que essa estrutura conseguia modular a sua liberação. O trabalho de Silva, em 2020 formou sistemas da MOF nano ZIF-8 com a B-lapachona e conseguiu observar uma melhora na taxa de dissolução do fármaco, dando um indicativo de melhora de sua solubilidade. São escassos os trabalhos que unem as MOFs com o efavirenz, mas devido a sua capacidade de agir como um carreador, é necessário estudar se esse tipo de excipiente inteligente pode melhorar as propriedades de dissolução desse fármaco (TABOSA, 2020; SILVA, 2020).

2.5 METAL ORGANIC FRAMEWORKS (MOFS)

As Redes metal-orgânicas, do inglês Metal Organic Frameworks, conhecidas por MOFs, representam uma classe de materiais híbridos cristalinos formados por estruturas inorgânicas-orgânicas em arranjos uni, bi ou tridimensionais. Também chamadas polímeros de coordenação ou de redes de coordenação, são formadas pela automontagem de íons metálicos ou óxidos de metais e ligantes orgânicos como fosfonatos, imidazolatos e carbonatos, com os metais formando os “nós” e a molécula orgânica formando as “hastes”, cedendo os elétrons na ligação coordenada com o centro metálico. Essa conformação metal-orgânica se repete, formando uma rede polimérica de complexos metálicos, onde é possível a presença de moléculas “visitantes” em seu interior. A figura 5 demonstra a formação de uma MOF em seus diferentes arranjos (WALTON, 2007; KESKIN, 2011; CAI, 2015; AMARANTE, 2016; GOMAR, 2019).

Figura 5 – Esquema de montagem das MOFs e sua conformações.



Fonte: KAUR, 2017.

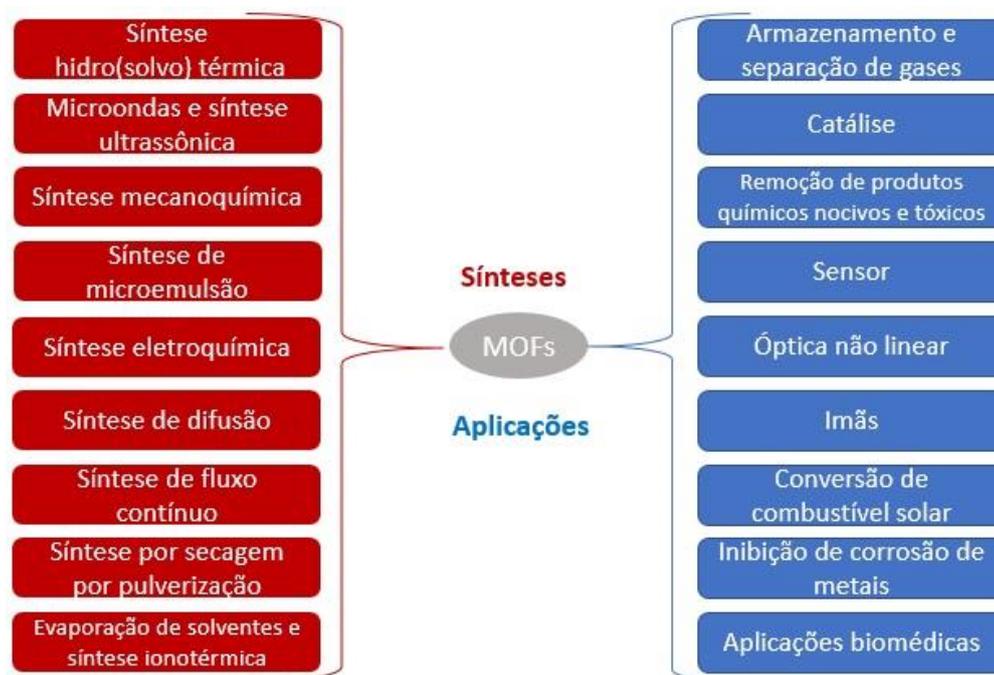
Conhecidas desde 1965 as MOFs combinam boas propriedades como, alta porosidade, áreas de superfície grandes, baixa densidade, ampla variedade e grande volume de poros com diferentes tamanhos e topologias, cristalinidade fortemente ordenada determinada por difrações de raios-X, forte interação metal-orgânica e número infinito de estruturas possíveis, que as tornaram atraentes alternativas aos materiais porosos tradicionais em muitos campos científicos e industriais e propícia para suas elucidações de estrutura-atividade. As publicações sobre MOFs se tornaram mais comuns a partir dos anos 2000, mas o trabalho de Hailian e colaboradores em 1999, pode ser considerado um marco no estudo das MOFs e o primeiro caso de sucesso de síntese de um polímero de coordenação de altíssima porosidade e estabilidade. Até a última década a maioria dessas pesquisas era de natureza experimental e direcionada à síntese de novas estruturas, o que não se alterou muito até então, sendo assim, existem várias revisões de síntese experimental e caracterização de MOFs, com um grande número de estudos de modelagem molecular especificamente na área de armazenamento, separação de gás, catálise e separação cromatográfica que são as áreas de aplicação mais antigas das MOFs (WALTON, 2007; KESKIN, 2011; SUN, 2012; AMARANTE, 2016; YAO, 2016; KOTZABASAKI, 2017; GOMAR, 2019).

Porém, também na última década as MOFs começaram a ser exploradas numa área mais recente que as aplicações de química e ciências dos materiais. As suas propriedades físicas e químicas também as tornaram candidatas promissoras em aplicações biomédicas, atuando por exemplo como sensores e materiais luminescentes úteis para diagnóstico e principalmente no armazenamento e entrega de medicamentos, isto, por que estes materiais podem ser preparados em tamanhos pequenos, capazes de se tornarem nanopartículas; por serem biocompatíveis e

biodegradáveis; por terem natureza altamente sintonizável; por possuírem uma grande área de superfície interna com alta capacidade de carga de droga; por possuírem também estabilidade térmica e mecânica razoável; e por serem capazes de promover um longo período de liberação de drogas com a capacidade de incorporar diferentes grupos funcionais (KESKIN, 2011; ZHUANG, 2014; MOHAMED, 2017; GOMAR, 2019).

Na síntese das MOFs, ao escolher cuidadosamente o ligante orgânico para a construção das redes e o método de síntese, pode-se modular tanto a estrutura porosa quanto as propriedades eletrônicas do complexo, modificando assim suas propriedades físicas e funcionalidade química. Será essa capacidade de promover uma natureza altamente porosa e de ajuste do tamanho e a forma dos poros, que permitirá as MOFs excelentes capacidades de carregamento de drogas. Entre os metais adequados para a construção de MOFs o ferro, zinco, cálcio, magnésio e manganês são os mais utilizados e a síntese pode ocorrer através de várias metodologias, listadas na Figura 6, como 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 e permitir as MOFs a possibilidade de abranger todas as escalas de dimensão possíveis (CAI, 2015; AMARANTE, 2016; TAHERZADE, 2017; WU, 2017; KOTZABASAKI 2017; HOOP, 2018).

Figura 6 – Diferentes métodos empregados na síntese das MOFs e suas aplicações.



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

Em 2006, Férey e colaboradores propuseram o primeiro estudo em que sugeriram o potencial das MOFs no carregamento de fármacos, pois já haviam observado às suas capacidades de carga consideráveis e o comportamento de liberação controlada. O trabalho resultou na criação de dois tipos de MOFs sólidas, baseadas no metal cromo (Cr) como parte inorgânica da molécula e de ácidos di ou tricarboxílicos como parte orgânica. Essas MOFs foram denominadas de MIL - 100 e MIL - 101 (MIL = Material Institut Lavoisier) e foram carregadas com o fármaco ibuprofeno (IBU), onde exibiram uma adsorção notável de 0,35 g do fármaco na MIL - 100 e 1,4 g na MIL - 101 e uma cinética de liberação do fármaco de 3 dias para a primeira MOF e de 6 dias para a segunda, a partir de condições de estudo que simulavam o fluido corporal a 37 °C, representando bons resultados em matéria de liberação controlada de medicamentos e dando início a uma série de estudos que buscaram obter essa capacidade das MOFs para tantas outras drogas (HORCAJADA, 2007; HURXFOR, 2010; WU, 2017).

Notavelmente este trabalho pioneiro desenvolveu um método de administração de fármacos baseados em MOFs e uma metodologia de encapsulamento da droga dentro dessas estruturas. No sentido de carregar as MOFs com moléculas de fármacos, duas grandes estratégias sintéticas são exploradas, uma em que o procedimento visa a impregnação do fármaco nos poros das MOFs por forças capilares, interações eletrostáticas e reações de coordenação ao mergulhar a MOF já sintetizada em uma solução contendo o fármaco e outra

que visa o encapsulamento *in situ* do fármaco pela introdução do mesmo durante a síntese da MOF, estas rotas podem ser chamadas de *ex situ* e *in situ* respectivamente. Geralmente, quando o tamanho das moléculas do fármaco é menor que o dos poros da MOF, estas são encapsuladas por meio das ligações de hidrogênio e quando o tamanho das moléculas do medicamento é maior que o dos poros ocorrem interações eletrostáticas. Sendo assim, a tecnologia farmacêutica tem desenvolvido cada vez mais trabalhos com diferentes tipos de MOFs numa tentativa de melhorar a entrega e características de fármacos se baseando nas boas propriedades destes materiais, resumidamente expostas acima (CAI, 2015; WU, 2017; KOTZABASAKI 2017; CHEN, 2018).

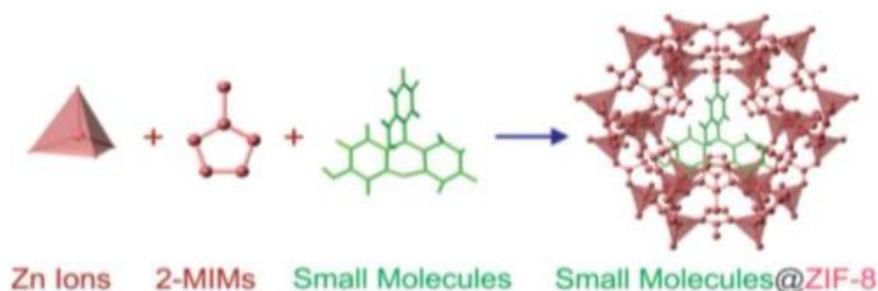
2.6 ZEOLITIC IMIDAZOLATE FRAMEWORKS (ZIFs)

Um subgrupo de MOFs são as estruturas de imidazolato de zeolita, do inglês *Zeolitic Imidazolate Framework (ZIFs)*, que se caracterizam por possuírem topologia semelhante aos zeólitos. São formados a partir de unidades de um íon bivalente de um metal de transição (geralmente Co, Cu, Fe e principalmente Zn) ligadas a unidades de ânions imidazolatos (Im^-). Sendo assim, essa classe tem adquirido interesse na pesquisa por demonstram características de MOFs convencionais como, poros e cavidades facilmente ajustáveis, baixa densidade, grande área superficial e ligantes adaptáveis, e ao mesmo tempo características de zeólitos, como alta estabilidade aquosa, térmica e química (KESKIN, 2011; LEE, 2015; AMARANTE, 2016; WU, 2017; CHEN, 2018; GOMAR, 2019; SILVA, 2019).

Porém, mesmo as ZIFs possuindo várias características atraentes em relação aos zeólitos, o potencial delas ainda precisa ser melhor descoberto, pois até 2010 só havia um pouco mais de 100 estruturas ZIF distintas em comparação com mais de 190 zeólitos conhecidos, além de que muitas dessas estruturas foram obtidas apenas na escala de alguns cristais, onde os dados experimentais sobre propriedades e potenciais aplicações industriais foram coletados para apenas um subconjunto muito pequeno de todos as ZIFs conhecidos e uma fração infinitesimal de possíveis compostos de ZIF. As ZIFs demonstraram alta estabilidade térmica e resistência química notável a solventes orgânicos, por exemplo, no estudo de Park e colaboradores, onde observaram uma estabilidade de até 550°C na atmosfera de N_2 se mostrando muito superior a outras estruturas porosas sugerindo uma potencial aplicabilidade para o armazenamento de gases, separação de solventes e administração direcionada de medicamentos (PARK, 2006; KARAGIARIDI, 2012).

Algumas subfamílias das ZIFs possuem maior atratividade, a ZIF-8 é um dos materiais mais representativos do subgrupo ZIF, por se tratar de um material com elevada estabilidade, elevada área de superfície de 1400 m²/g, alta estabilidade térmica de até 420°C e diâmetros de poros relativamente elevados e bem definidos, de cerca de 11,6 Å que são acessíveis por pequenas aberturas de poros de 3,4 Å de diâmetro. É um composto formado pela ligação do íon bivalente de zinco (Zn⁺²) ao ligante 2-metilimidazolato na estequiometria 1:2, como mostra a Figura 7, e 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 (PARK, 2006; LIÉDANA, 2012; KARAGIARIDI, 2012; COOKNEY, 2014; AMARANTE, 2016; WU, 2017).

Figura 7 – Formação da ZIF-8 e carregamento de pequenas moléculas em seu interior pelo método *in situ*.



Fonte: ZHENG, 2014.

Além disso, a ZIF-8 pode ser preparada com alta pureza através de várias rotas de síntese, sob condições fáceis, onde se pode dar uma ênfase a síntese de ZIF-8 controlada para obtenção de diferentes tamanhos que variam de nano a submicron. Os materiais de partida são baratos e facilmente disponíveis, como o metanol, onde Wiebcke e colaboradores foram os primeiros a relatarem um protocolo de síntese utilizando esse solvente. A ZIF-8 é estável em condições fisiológicas e decompõe-se em condições ácidas, que podem ser usadas para construir carreadores sensíveis ao pH que funcionem como sistemas de administração de fármacos (LEE, 2015; ZHENG, 2015; LAI, 2018; CHEN, 2018; CHENG, 2019).

Quando reduzidas ao nível da nanoescala, a ZIF-8 é considerado um veículo ideal para o carregamento e liberação controlada de pequenas moléculas, como gases, sondas fluorescentes e agentes terapêuticos, onde muitos trabalhos já vem estudando a capacidade das

ZIF-8 como nanocarreadores de medicamentos hidrodífilicos e hidrofóbicos, incluindo quimioterápicos como 5-fluorouracil, doxorrubicina e antibióticos como ciprofloxacino e ácido nalidíxico. O nanocarreador de fármacos adequado pode não melhorar só apenas o processo de liberação, absorção, metabolismo e excreção de drogas, mas também pode aumentar a taxa de utilização dos mesmos por diminuir os efeitos colaterais dos fármacos que antes eram utilizados em alta concentração (HE, 2014; SOLTANI, 2017; NABIPOUR, 2017; CHEN, 2018; CHENG, 2019).

O primeiro relatório sobre a síntese e caracterização de um material ZIF em nanoescala foi de o Cravillon e colaboradores em 2009, que comparou a nano ZIF-8 obtida com as nano MOFs a base de carboxilato obtidas sínteses anteriores. O método simples não precisou de nenhum agente estabilizador auxiliar ou ativação e produziu nanocristais de ZIF-8 bem modelados na forma de pós ou dispersões coloidais estáveis. O método se baseou em verter, à temperatura ambiente, uma solução de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ em metanol em uma solução de 2-metilimidazol também em metanol. O imidazol foi adicionado em excesso à fonte de zinco, na proporção molar de $\leq 1:2$, ao contrário dos protocolos anteriores que buscavam obter microcristais grandes. Um diâmetro médio de partícula de 46 nm foi estimado a partir do alargamento dos picos de DRX e micrografias eletrônicas secundárias revelaram que o produto consistiu em nanopartículas isométricas com bordas afiadas e uma distribuição de tamanho estreita. Na sequência, outros trabalhos foram sendo realizados baseados na utilização de estabilizadores, como o poli (cloreto de dialildimetilamônio) e empregando diversos solventes e aditivos, na tentativa de obterem nanopartículas otimizadas e cada vez mais estruturas com diferentes dimensões (CRAVILLON, 2009; NUNE, 2010; TSAI, 2016).

2.7 LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS

Sabe-se que a inovação na indústria farmacêutica é frenética e que a pesquisa e o desenvolvimento fazem surgir novos fármacos, novas tecnologias e novos processos. No entanto, o custo aplicado no desenvolvimento de novas entidades químicas é muito superior ao desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, além disso, o tempo necessário para a descoberta de moléculas candidatas a fármacos é muito elevado, geralmente em torno de uma década. Por tanto, as novas formas farmacêuticas e os sistemas de liberação de fármacos vêm tomando cada vez mais espaço, pela possibilidade de trazer inovações a fármacos já existentes que apresentam complicações físico-químicas como, baixa absorção e baixa adesão dos

pacientes, chegando a obter produtos diferenciados com melhores características (ZERBINI, 2011; ISSA, 2017).

As formas farmacêuticas podem ser sólidas, semissólidas e líquidas, sendo as sólidas o tipo mais utilizado. As formas farmacêuticas sólidas orais (FFSO), são formulações sólidas administradas por via oral, normalmente comprimidos e cápsulas, que devem conter o fármaco que após a administração será liberado e irá se dissolver nos fluidos gastrintestinais para que quando absorvido, exerça a ação farmacológica esperada. Essa liberação do fármaco pode ocorrer de diversas formas e denominam o tipo de FFSO, sendo assim, estas podem ser de liberação convencional ou modificada. As FFSO de liberação convencional ou liberação imediata são desenvolvidas para liberar o fármaco rapidamente após a administração, enquanto as FFSO de liberação modificada, modulam a liberação do fármaco retardando, prolongando ou sustentando a sua dissolução para que seu efeito possa ser conseguido com o passar do tempo, através da manutenção dos seus níveis por um período prolongado. Para que as FFSO se comportem a partir de um tipo ou outro de liberação, é necessário que a composição da formulação lance mão de excipientes e tecnologias de produção propícios, que irão ajudar a desintegrar e dissolver a forma rapidamente ou não. As diferenças entre os dois perfis de liberação são mostradas na figura 8 (PEZZINI, 2007; ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2009; NART, 2015).

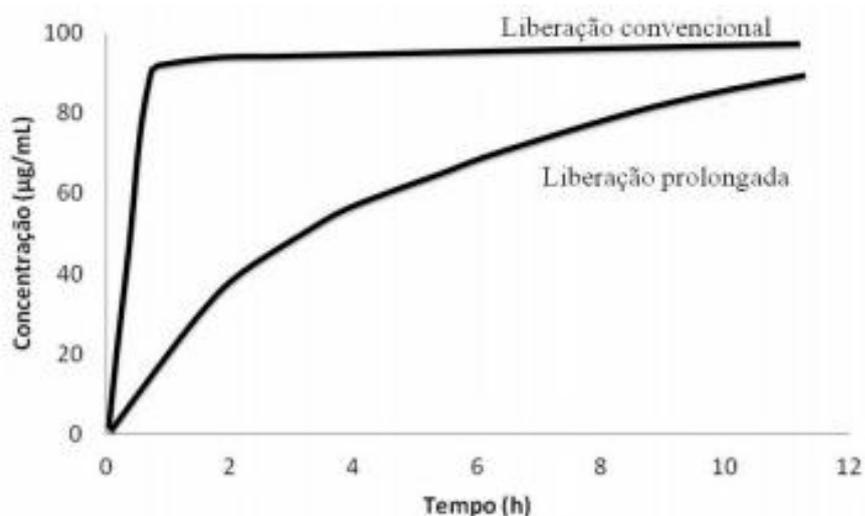
2.7.1 Liberação convencional

As FFSO de liberação convencional ou imediata liberam o fármaco rapidamente no organismo, formando um pico plasmático, onde a absorção ocorre rapidamente, sem o controle da velocidade de dissolução. Esse tipo de formulação apresenta limitações, como a impossibilidade de manter constante a concentração do fármaco nos locais de ação, ocorrendo flutuações inevitáveis das concentrações do fármaco no plasma, ou seja, para fármacos com tempo de meia-vida biológica curta há a necessidade de doses frequentes para manter as concentrações plasmáticas no estado de equilíbrio e dentro da faixa terapêutica (AULTON, 2005; ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2009; NART, 2015).

2.7.2 Liberação Prolongada

A liberação modificada possibilita a modulação da liberação do fármaco de modo que ele ocorra diferentemente da liberação convencional e a liberação prolongada é um tipo de liberação modificada que possibilita pelo menos uma redução na frequência de administração da dose, quando comparada com a liberação convencional para fármacos com meia-vida biológica insatisfatória. Sendo assim, na liberação prolongada a concentração do fármaco se manterá mais prolongadamente. Os benefícios dos efeitos terapêuticos de uma FFSO de liberação prolongada planejada corretamente são: melhora da eficácia, redução dos efeitos adversos, melhor desempenho, maior comodidade e aumento da adesão do paciente ao tratamento. O desenvolvimento de produtos farmacêuticos de liberação prolongada tem sido de grande interesse, tanto para formulações de novos fármacos, como para o desenvolvimento de produtos contendo fármacos já utilizados na terapêutica. Essa liberação será dependente do sistema utilizado na formulação e dos polímeros selecionados para o seu desenvolvimento. Quanto ao tipo de FFSO usadas para conseguir um perfil de liberação prolongada, estas podem ser formulações monolíticas ou multiparticuladas. (LYONS et al., 2007; QUI, 2009; GRUND et al., 2014; WILSON, 2011; NATARAJAN et al., 2014; NART, 2015).

Figura 8 – Demonstração do perfil de dissolução de formulações de liberação convencional e prolongada.



Fonte: NART, 2015

2.8 CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS FARMACÊUTICOS

Devido às rigorosas regulamentações dos órgãos sanitários oficiais e a conscientização do mercado acerca da qualidade dos produtos farmacêuticos, grandes esforços são feitos para comprovar sua garantia. A importante correlação entre as características físico-químicas de um medicamento com o desempenho deste no organismo humano, tornam o conhecimento da identidade dos ingredientes farmacêuticos e possíveis impurezas que compõe o medicamento, fundamental para garantia da qualidade e segurança do mesmo. Mas além disso, a caracterização das matérias-primas que irão constitui-lo poderá prever possíveis problemas na formulação farmacêutica e por isso, a caracterização destes materiais auxilia pesquisadores na escolha das melhores alternativas tecnológicas para o desenvolvimento do medicamento (ALVES, 2016; FERRAZ, 2017; CALVO, 2018).

A caracterização de sólidos farmacêuticos resulta de conjunto de diferentes metodologias adequadas, isso porque o material é heterogêneo, consistindo de partículas de tamanhos e composições variados, que necessitam ser caracterizadas a partir de diversas análises e também por que a quantidade e natureza das informações fornecidas por essas técnicas podem diferir entre si o que torna necessário o uso de uma ampla variedade de técnicas, para melhor caracterizar um material. As metodologias analíticas usadas para caracterização de materiais em estado sólido podem ser amplamente agrupadas em duas classes: a granel e molecular. Técnicas a granel, incluindo termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), dentre outros e depende de propriedades globais como, termodinâmica e morfologia de partículas que compõe o sistema, fornecendo informações sobre seus estados. Por outro lado, técnicas moleculares, como as espectroscópicas (Raman, infravermelho, ressonância magnética nuclear) e métodos de difração de raios-X, precisam de interações em nível molecular do sistema para fornecer informações (CALVO, 2018).

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

A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética com as moléculas ou átomos que compõem a matéria. Assim, a espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) é uma técnica rápida que pode dar evidências sobre a presença de grupos funcionais, se baseando na utilização da radiação eletromagnética de comprimento de onda na

região do infravermelho para avaliar a absorção da radiação pela amostra em análise. Os grupos de átomos de cada molécula irão absorver a radiação do infravermelho induzindo uma alteração do estado vibracional da molécula com o aumento da amplitude em torno das ligações químicas, associada a mudanças na rotação dos átomos sobre as ligações químicas, alterando o momento dipolar e promovendo deformações axiais ou angulares. 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 e, conseqüentemente, cada grupo funcional vai ter um pico específico num espectro de infravermelho, eventos como desaparecimento, surgimento ou deslocamento de bandas características fornece indicativos de interações entre o fármaco e outras substâncias (ALVES, 2013; PAULINO, 2013; MATOS, 2014; CALVO, 2018).

O espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), é um método que otimiza a técnica de caracterização do IV, pois elimina 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. No campo farmacêutico, a espectroscopia de infravermelho é utilizada para identificação de fármacos, caracterização de grupos funcionais típicos de determinado material, avaliação da pureza, estudos de compatibilidade fármaco-excipientes, cristalinidade e discriminação de polimorfos, sendo utilizado também para avaliar se as condições experimentais foram estabelecidas de forma adequada, uma vez que o polimorfismo exerce influência no desempenho das formulações farmacêuticas (PAULINO, 2013; GOMES, 2014; LÓPEZLORENTE & MIZAIKOF, 2016).

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

A espectroscopia na região UV-Vis do espectro eletromagnético é uma das técnicas mais utilizadas em todo o mundo, em especial em laboratórios químicos, clínicos e farmacêuticos para a identificação e determinação quantitativa de muitas espécies moleculares inorgânicas, orgânicas e bioquímicas em diferentes tipos de materiais. Dentre suas principais vantagens pode se destacar a facilidade de manuseio ou operação, o relativo baixo custo, a produção de resultados de interpretação bastante simples, além de sua boa sensibilidade, exatidão, seletividade moderada e ampla aplicabilidade. O equipamento que faz passar o feixe de luz através de uma solução em estudo é chamado de espectrofotômetro UV-Vis, este mede

de forma muito simples a intensidade de luz que foi absorvida por essa solução usando uma rede de difração, conseguindo analisar a amostra de forma qualitativa e quantitativa (ROCHA e TEIXEIRA, 2004; ALVES 2013; MACHADO, 2013).

A espectrofotometria é uma técnica que envolve a quantificação da energia absorvida de uma fonte de radiação incidente capaz de provocar transições eletrônicas com a consequente emissão de fótons. O comprimento de onda e a absorção podem ser monitorados e registrados na forma de um espectro. Em análises químicas de rotina uma substância é determinada usando-se luz monocromática dirigida através da amostra. A quantidade de luz absorvida quando um feixe de radiação monocromática atravessa o meio absorvente depende da concentração, do coeficiente de absorção molar da espécie absorvente e do percurso óptico da radiação. O comprimento de onda é selecionado para que somente um dos solutos componentes das soluções seja fortemente absorvido e a concentração do soluto é calculada pela luz absorvida e comparada com a absorvância de uma solução-padrão. 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, por isso, a espectroscopia UV-Vis é considerada uma técnica qualitativa e quantitativa. (NASCIMENTO, 2010; CHAGAS; CORRÊA; ALMEIDA, 2014; ALVES, 2016).

A lei de Lambert-Beer, serve de base matemática pra quantificar a absorção da radiação, nas regiões ultravioleta e visível, pelas amostras, através da equação $A = \log(I_0/I) = \epsilon bc$, onde A é a absorvância, I_0 é a intensidade da radiação monocromática incidente na amostra e I é a intensidade da radiação emergente da amostra. Portanto, a lei de Lambert-Beer estabelece que a absorvância possui relação de proporção direta com a absorvidade molar (ϵ), o caminho que a luz percorre na amostra (b) e a concentração da espécie absorvente (c), ou seja, depende da natureza da substância, do caminho óptico e da concentração. A principal aplicação do UV-visível é o doseamento de fármacos sendo muito útil nos testes de dissolução. O doseamento pode ser obtido através das seguintes configurações metodológicas: amostra x padrão, amostra x equação da reta, amostra x extinção específica e a titulação fotométrica (NASCIMENTO, 2017).

2.8.3 Termogravimetria (TG)

A TG é utilizada para medir a variação de massa da amostra (perda e/ou ganho da massa) em função da temperatura e do tempo em uma atmosfera controlada sob um programa de aquecimento. Os métodos termogravimétricos podem ser classificados como: dinâmico (ou não-isotérmico) em que a perda de massa é registrada continuamente à medida que a temperatura aumenta a uma razão constante ou linear; o método isotérmico, quando a variação de massa da amostra é registrada em função do tempo mantendo-se a temperatura constante; e quase-isotérmico, no momento em que a amostra começa a perder massa e a temperatura é mantida constante até que a massa se estabilize, quando isso ocorre, o aquecimento é retomado, este procedimento pode se repetir em cada etapa da decomposição térmica (OLIVEIRA, 2011; DENARI E CAVALHEIRO, 2012).

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 como degradação, oxidação, sublimação, absorção e 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 e correspondem a variações de massas, que podem ser utilizados ainda para fins quantitativos. Outro dado importante obtido através da curva TG é a curva termogravimétrica derivada (DTG) que apresenta para cada degrau, picos agudos cujas áreas são proporcionais a variação de massa da amostra, tornando a informação, visualmente, mais acessível e com melhor resolução. A DTG expressa a derivada primeira da variação de massa (m) em relação ao tempo, sendo registrada em função do tempo ou temperatura. Para fins farmacêuticos, o uso da termogravimetria é descrito na caracterização, onde utiliza-se para determinação de pureza e de umidade, identificação de pseudopolimorfismo, na avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos e em estudos de cinética de degradação. Os dados do TG sobre estes aspectos supracitados quando analisados juntos com os dados do DSC podem oferecer informações bastante completas sobre o perfil térmico de fármacos, excipientes e formulações (MATOS, 2011; WAGNER, 2017).

2.8.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise térmica de materiais é realizada a partir de técnicas como a termogravimetria (TG), a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a análise térmica diferencial (DTA). Vários estudos demonstram a importância destas análises na área farmacêutica como, na caracterização, avaliação de pureza, compatibilidade de formulação farmacêutica, identificação de polimorfismo, estabilidade e decomposição térmica de fármacos e medicamentos. A DSC é utilizada para medir a diferença de fluxo de calor ou variações de entalpia entre uma amostra e um material de referência termicamente inerte em função de um programa controlado de temperatura baseado em aquecimento ou resfriamento. Essa técnica é derivada da análise térmica diferencial (DTA), por isso, são consideradas técnicas de fundamento semelhantes e complementares. A palavra “diferencial” enfatiza as medidas que envolvem tanto a própria substância como o material de referência (OLIVEIRA, 2011; DENARI E CAVALHEIRO, 2012; FERRAZ, 2017).

A DSC possibilita acompanhar e obter dados que reflitam às alterações físico-químicas das amostras. Os principais fenômenos químicos observados nas curvas DSC são: quimiossorção, dessolvatação, desidratação, decomposição, degradação oxidativa, oxidação em atmosfera gasosa, reações de oxirredução, reações de estado sólido, polimerização, reações catalíticas, entre outras. Contudo, deve-se ressaltar que, nesta técnica, a temperatura de operação da célula não excede 725 °C. Se a amostra sofrer uma alteração em função da temperatura em que é submetida passando por uma transição de fase, um calor é aplicado na amostra para que sua temperatura permaneça na mesma faixa do material de referência. O registro dessas transformações que se relacionam com uma troca de calor e mostram fenômenos endo e exotérmicos são chamados de termograma. As curvas DSC são usualmente obtidas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL/min⁻¹, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, com aquecimento desde a temperatura ambiente até 400 °C, cadinho de alumínio parcialmente fechado e massa de amostra em torno de 0,5 mg. O equipamento deve ser previamente calibrado com índio (PF 156,6 °C; ΔH fusão = 28,54 J g⁻¹) e chumbo (PF 327,0 °C), ou outros padrões recomendados pelo fabricante. A avaliação de pureza por DSC é realizada aplicando-se a Equação de van't Hoff ao pico de fusão do fármaco (MARQUES, 2008; GALVÃO, 2009; OLIVEIRA, 2011; MATOS, 2011; STORPIRTIS, 2011; ALVES, 2016).

Na prática farmacêutica é vastamente utilizada por fornecer informações detalhadas sobre as propriedades físicas e energéticas de um material, sobre a determinação da pureza de fármacos, sobre estudos de compatibilidade entre os constituintes da formulação, sobre a solubilização de fármacos em polímeros e identificação de polimorfismo com determinação das entalpias de cada forma cristalina. Além de permitir verificar a formação de complexos que são identificados pelo desaparecimento de picos endotérmicos ou exotérmicos e variações importantes de entalpia entre o fármaco puro e ele complexado. Desde que o método seja quantitativo, o grau de cristalinidade também pode ser calculado para sistemas em que o fármaco seja em parte amorfo e em parte cristalino, entretanto, cristalinidade abaixo de 2% geralmente não pode ser detectada por DSC (OLIVEIRA, 2011; PAULINO, 2013; GOMES, 2014).

2.8.5 Difractometria de Raios- X (DRX)

Trata-se de uma técnica utilizada para estudos morfológicos de materiais sólidos, afim de determinar suas estruturas cristalinas e microestruturas, para identificação de sólidos amorfos, co-cristais, solvatos e polimorfismos. A estrutura cristalina envolve o arranjo dos átomos que compõe a matéria, enquanto que o termo microestrutura engloba desde os constituintes estruturais tais como composição presente, fases, quantidades, inclusões até contornos de grãos, trincas, vazios e maclas. O princípio da técnica está baseado na lei de Bragg, em que o padrão de difração apresenta uma série de reflexões, as quais são identificadas no difratograma pelo ângulo (2θ) ou pela distância interplanar (d) contra a sua intensidade. Ocorre que ao incidir um feixe de raios X em um sólido, originando o fenômeno da difração, o feixe interage com os átomos, caracterizando como esses átomos estão dispostos no plano cristalino do sólido (TEIXEIRA, 2014; FERRAZ, 2017).

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 cristalinidade na amostra é refletida por uma região característica denominada fingerprint (impressão digital) na difração do padrão, devido à especificidade do fingerprint, a cristalinidade no fármaco pode ser identificada separadamente pela cristalinidade do carreador. Além disso, essa técnica combina especificidade com um alto nível de exatidão para a caracterização dos fármacos sólidos e é um método especialmente útil para descrever o possível

comportamento polimórfico de fármacos. Igualmente permite a identificação simultânea de ingredientes ativos múltiplos em formulações farmacêuticas diferentes (ALBERS, 2002; MANSUR 2007; ALVES, 2016; CALVO, 2018).

2.8.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura pode fornecer rapidamente informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra sólida, além de possíveis polimorfos que apresentem formas cristalinas distintas. Sua utilização é comum em biologia, odontologia, farmácia, engenharia, química, metalurgia, física, medicina e geologia, sendo um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para a observação e análise de características microestruturais de objetos sólidos. Como um microscópio, o MEV permite a visualização de partículas muito pequenas, porém, com um aumento de até 300.000 vezes, em alta resolução, pois valores da ordem de 2 a 5 nm são geralmente apresentados por instrumentos comerciais, porém o MEV e outras técnicas de pesquisa avançada são capazes de alcançar uma resolução melhor que 1 nm. A alta resolução e aparência tridimensional das imagens geradas, são resultado direto da grande profundidade de campo que sua engenharia proporciona. O exame em pequenos aumentos e com grande profundidade de foco, é extremamente útil, pois a imagem eletrônica complementa a informação dada pela imagem óptica (ALVES, 2013; MATOS, 2014; GOMES; TIRONI; MARTINEZ, 2017; NASCIMENTO, 2017, TABOSA, 2020).

O microscópio óptico usa luz para formação de imagem, os microscópios eletrônicos por sua vez utilizam elétrons. Esses elétrons na maioria dos equipamentos eletrônicos de microscopia são gerados a partir de um filamento de tungstênio aquecido, operando numa faixa de tensões de aceleração de 1 a 50 kV. O princípio do MEV consiste em utilizar um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente. O feixe é acelerado pela alta tensão criada entre o filamento e o ânodo, em seguida, é focalizado sobre a amostra por uma série de três lentes eletromagnéticas com um spot menor que 4 nm. O feixe interagindo com a amostra produz elétrons e fótons que podem ser coletados por detectores adequados e convertidos em um sinal de vídeo. Por um sistema de bobinas de deflexão, o feixe pode ser guiado de modo a varrer a superfície da amostra segundo uma malha retangular. Outra diferença, com relação aos microscópios ópticos é na determinação da ampliação da imagem, pois no MEV a ampliação

é linear sendo o resultado da razão entre o comprimento da varredura do sinal gerado e o comprimento da varredura do feixe sobre a amostra. Logo, uma área varrida na amostra de 100 μm de comprimento e apresentada em uma imagem com 10 cm de comprimento na tela de um monitor, corresponde a uma ampliação de 1.000 vezes (CANEVAROLO-JÚNIOR, 2003; SUGA, 2014; GOMES; TIRONI; MARTINEZ, 2017).

O MEV exerce grande importância na área farmacêutica, pois através desta técnica é possível obter o conhecimento detalhado de microestruturas de produtos isolados e de seus binários, logo, permite a correlação entre a estrutura morfológica e o tamanho de partículas com os resultados obtidos das demais caracterizações. Nas misturas físicas, por exemplo, é possível distinguir as partículas de fármacos das dos excipientes, além de permitir a visualização da possível formação de um complexo, pois, este possui um resultado cristalino diferente do obtido na mistura física. As vantagens na utilização do MEV associado à facilidade na preparação e obtenção das imagens justifica o fato do microscópio eletrônico de varredura ser hoje um dos equipamentos mais utilizados na pesquisa de materiais (SOARES-SOBRINHO, 2009; ALVES, 2013; GOMES, 2014).

2.9 ESTUDOS IN SÍLICO

Os estudos *in silico* são ensaios realizados por meio de computadores a partir da utilização de modelos teóricos para descrever interações físicas entre moléculas. O *docking molecular* é um método computacional usado exatamente com esta finalidade e que, com sua análise é capaz de gerar o modelo de ligação existente entre as moléculas. Sendo assim, é um estudo de grande importância na descoberta de fármacos e no aprimoramento dos já existentes (RABELO, 2016; MARTÍNEZ et al., 2018).

As técnicas de docking molecular são capazes de fornecer estimativas da energia livre de ligação entre um fármaco e um ligante, antes mesmo que esses sejam sintetizados, por isso, os custos com esses estudos são bem menores quando comparados aos gastos laboratoriais de sintetizar e testar farmacologicamente várias substâncias. A partir da obtenção da conformação espacial entre um fármaco e um ligante, são obtidas as energias livres de ligação, e a menor energia é considerada a interação mais provável (RODRIGUES et al., 2012).

O algoritmo de procura conformacional e a função da pontuação, ou score (pontuação atribuída ao ordenamento das probabilidades das interações) são os fatores associados ao desempenho positivo do programa de *docking* e as simulações obtidas pelo programa podem

oferecer uma visão única sobre a natureza das interações receptor:ligante no nível atômico. Os receptores envolvidos nas interações com os fármacos não são as proteínas somente, mas também os carreadores que são estudados para o aprimoramento das características dos fármacos, sendo assim, o docking molecular vem sendo utilizado para estudo com MOFs, afim de obter abordagens rápidas de triagem que predizem se os fármacos e estes carreadores possuem alta ou baixa afinidade entre si e os tipos de interações químicas que ocorrem nos sistemas obtidos experimentalmente (RODRIGUES et al., 2012; RABELO, 2016)

2.10 ESTUDO DE DISSOLUÇÃO

A dissolução pode ser definida como o processo pelo qual uma substância sólida, especialmente na área farmacêutica esta substância será o fármaco, é liberada de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo a partir do momento em que entra no solvente e forma uma solução. No entanto, é mais do que simplesmente a medida da taxa de solubilidade, é um ensaio físico que prevê a liberação do fármaco em uma determinada área, numa determinada quantidade e no tempo correto, mimetizando a liberação que ocorre no organismo humano. Sendo assim, este processo é controlado pela afinidade entre o fármaco e o solvente e pelo modo como o sistema farmacêutico em que ele está contido o libera. Esta definição é mais utilizada quando o ensaio é aplicado aos estudos biofarmacêuticos e farmacocinéticos (TOMASI, 2013; SILVA, 2016; TABOSA, 2020).

Anteriormente a dissolução do fármaco no organismo e para que ele possa atuar quando administrado por via oral, ou seja, estar disponível para exercer sua ação, este precisará ser administrado através de uma forma farmacêutica sólida oral que passará pelo primeiro processo de liberação que é a desintegração, onde o fármaco é liberado da sua FF e passa a se apresentar em partículas menores, seguido por uma etapa de desagregação, onde ocorre a redução das partículas e, por fim, a dissolução, que é a solubilização do fármaco no meio. A taxa de dissolução pode ser o fator de limitação de sua absorção, principalmente se o fármaco tiver uma baixa solubilidade em água. O ensaio de dissolução *in vitro* mede a velocidade e a extensão de liberação do ativo no meio avaliado (TOMASI, 2013).

Para que possa ser quantificado, o fármaco deve estar disponível, assim esse ensaio está diretamente relacionado com a disponibilidade do fármaco no meio. A RDC 31 de 11 de agosto de 2010 da ANVISA que dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo recomenda que o estudo seja feito com meios dentro do

pH fisiológico (1,2 a 6,8), considerando a temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, para que haja maior fidedignidade com o modelo in vivo. Os ensaios de dissolução de fármacos são parte fundamental no desenvolvimento de medicamentos, sendo também empregados como uma ferramenta de controle de qualidade. 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 (FERRAZ, 2017; CABRAL, 2019).

As condições de realização do teste de dissolução in vitro com relação ao volume e a capacidade de saturação foi bastante investigada para não afetar a correlação biológica. Logo, a técnica para eliminar o efeito de saturação do solvente dividiu o método de dissolução em sink ou não-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, ou seja, ela visa evitar a saturação, dando condições favoráveis para que o fármaco solubilize com o objetivo de atingir a taxa de dissolução da maneira mais rápida. Em quanto que, as 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, utilizam um volume de 3 a 10 vezes o necessário para solubilizar todo o fármaco contido no sistema ou seja 3 a 10 vezes abaixo da solubilidade do fármaco no meio (MARCOLONGO, 2003; BRONW, 2004; SUN, 2012; NASCIMENTO, 2017; FERREIRA, 2020).

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.

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

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

Para o desenvolvimento de uma metodologia de dissolução deve-se atentar para alguns parâmetros como a característica e volume do meio de dissolução, pH, velocidade de agitação e utilização de equipamento específico, e tanto o método, quanto os aparelhos utilizados devem ser validados para se obter uma quantificação confiável. As características físico-químicas da forma farmacêutica é o que determina a aparelhagem a ser utilizada no ensaio de dissolução. O

aparelho com a pá agitadora é utilizado em todo o mundo, pois é simples, robusto e padronizado. Logo, é fundamentado em uma vasta experimentação sendo recomendado nos compêndios oficiais como a primeira escolha para as formulações com sistema de liberação imediata e modificada. E quanto aos outros parâmetros que devem ser admitidos no ensaio como, cilindros oscilantes, a velocidade ou o tempo de cada ensaio são especificados nas monografias de cada fármaco. A grande atenção dispensada à cinética de dissolução de formas farmacêuticas sólidas deve-se, principalmente, à relação deste fenômeno com a biodisponibilidade de fármacos no organismo, principalmente para aqueles pertencentes à classe II do sistema de classificação biofarmacêutica, ou seja, os que possuem baixa solubilidade em água e alta permeabilidade, de modo que a absorção é limitada pela velocidade de dissolução (SKRIPNIK, 2015; NASCIMENTO, 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

O insumo farmacêutico ativo efavirenz (EFZ) (MM: 315,67 g/mol, lote 0482/14, teor de 100,00%) foi doado pela indústria brasileira Cristália® Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, enquanto a nZIF-8 foi doada pelo laboratório de Terras Raras da UFPE.

Os solventes e reagentes utilizados na obtenção dos sistemas EFZ:nZIF-8, na revalidação do método de doseamento e no preparo dos meios do ensaio de solubilidade e dissolução, bem como suas respectivas procedências, fórmulas químicas e grau de pureza foram estão listados na tabela 1.

Tabela 1 - Solventes e reagentes utilizados obtenção dos sistemas EFZ:nZIF-8, na revalidação do método de doseamento e no preparo dos meios do ensaio de solubilidade e dissolução.

REAGENTES	FÓRMULAS	PROCEDÊNCIA	PUREZA
Acetato de sódio trihidratado PA	CH ₃ COONa.3H ₂ O	Neon [®]	99,20%
Ácido cítrico PA	C ₆ H ₈ O ₇	Química moderna [®]	99,5%
Ácido clorídrico PA	HCl	Química moderna [®]	37%
Álcool etílico absoluto PA	CH ₃ CH ₂ OH	Química moderna [®]	99,3%
Álcool metílico PA	CH ₃ OH	Química moderna [®]	99,8%
Cloreto de potássio PA	KCl	Química moderna [®]	99%
Fosfato de sódio dibásico heptahidratado PA	Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	VETEC [®]	98%
Lauril sulfato de sódio	C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	Dinâmica [®]	90%

Fonte: Autoria própria.

3.2 MÉTODOS

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

Para a obtenção da varredura do EFZ e da nZIF-8, nos comprimentos de onda 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.

3.2.2 Obtenção dos sistemas EFZ:nZIF-8

Os sistemas EFZ:nZIF-8 foram obtidos através da metodologia *ex situ*, em que o fármaco é adicionado a nZIF-8 já sintetizada para que então ocorram as ligações através incorporação/adsorção entre esses componentes. A nZIF-8 e o EFZ tiveram suas proporções variadas afim de verificar exatamente qual variação era responsável pela obtenção do sistema com maior teor de fármaco. Estas proporções foram de (1:3, 1:1 e 3:1) de EFZ e nZIF-8 e foram calculadas de acordo com os pesos moleculares que são 315,60 e 229,61 g.mol⁻¹, respectivamente.

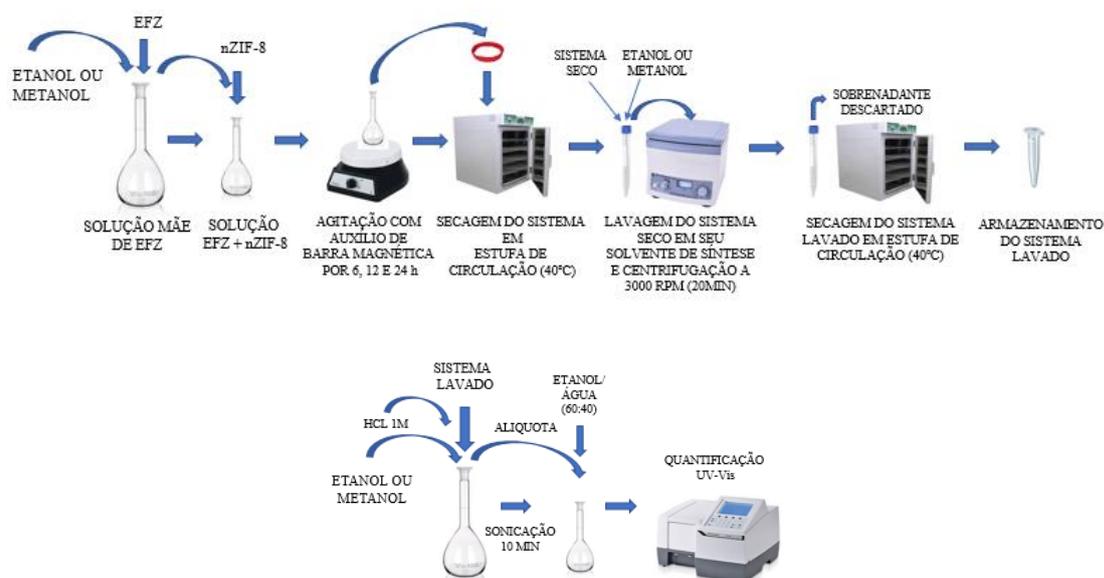
Inicialmente 250 mg do fármaco foram solubilizados em solventes adequados: etanol e metanol, em balões com capacidade para 25 mL, e o volume foi completado pelos mesmos solventes, obtendo concentrações iniciais de 10000 µg/mL, então essas soluções de estoque foram sonicadas por 15 minutos em sonicador Limp Sonic[®], a fim de garantir a completa solubilização do mesmo. Em seguida, as soluções de estoque de EFZ foram distribuídas em balões de 10 mL e a nZIF-8 foi adicionada nestes mesmos balões com solução estoque de EFZ de acordo com a proporção 1:1, 1:3 e 3:1 que utilizava respectivamente 72 mg, 216 mg e 26 mg. As misturas contendo estes dois componentes foram submetidas à agitação intermitente com auxílio de barra magnética e agitador magnético M752A/6[®] por períodos previamente determinados de 6 h, 12 h e 24 h. Ao final desses tempos, as misturas eram vertidas em formas de silicone e seguiam para secagem por meio estufa de circulação Ethiktechnology M420/5D em temperatura constante de 40 °C durante um período de aproximadamente 2h para completa evaporação dos solventes. Após a raspagem do material das formas de silicone foram obtidos os sistemas EFZ:nZIF-8 em sua forma não lavada.

Estes sistemas que foram obtidos passaram ainda por um processo de lavagem para retirada do excesso de fármaco livre que pudesse não ter reagido com a nZIF-8. Para isso, os pós referentes aos sistemas sintetizados eram transferidos para tubos Falcon de 10 mL e uma quantidade de solvente (solvente correspondente ao utilizado na obtenção do sistema) era adicionado sobre cada sistema, onde ocorria a agitação dos tubos para homogeneização e a centrifugação dos mesmos a 3000 RPM por um período de 20 min. O sobrenadante era descartado e o precipitado levado para secagem em estufa de circulação Ethiktechnology M420/5D pelas mesmas 2h para obtenção dos sistemas lavados que são o produto final dessas obtenções.

Para doseamento das quantidades de fármaco presentes em cada um dos sistemas, era pesado o referente a 5 mg de cada sistema lavado e transferido para balões de 10 mL, onde adicionava-se 0,6 mL de HCl 1M, para quebrar a nZIF-8 e liberar o EFZ do sistema, e o volume era completado com o respectivo solvente em que o sistema foi sintetizado. Os balões eram levados para sonicação durante 10 minutos e posteriormente uma alíquota de 0,2 mL referente ao ponto médio da curva de calibração era retirada e transferida para outro balão de 10 mL que era completado com a solução diluente etanol:água (60:40 V/V) e levada para quantificação em espectroscopia por absorção na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) . As absorbâncias eram plotadas em equações da reta obtidas através de curvas de calibração previamente realizadas (Equação da reta para o sistema etanol: $y = 0,0563x - 0,0476$; $R^2 = 0,9999$; Equação da reta para o sistema metanol: $y = 0,0544x + 0,003$; $R^2 = 0,9999$) – para a construção de uma curva de incorporação do EFZ a rede de nZIF-8. O Conteúdo de Carga de Droga (DLC) ainda foi calculado conforme metodologia de Silva e colaboradores (2018), onde se correlacionou a massa de fármaco nos sistemas e a massa de sistema obtido. A Figura 9 demonstra o processo de produção e doseamento dos sistemas.

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. E todo o procedimento se deu em triplicata com vidrarias vedadas, a fim de reduzir a volatilização dos solventes.

Figura 9 – Processo de produção e doseamento dos sistemas EFZ:nZIF-8.

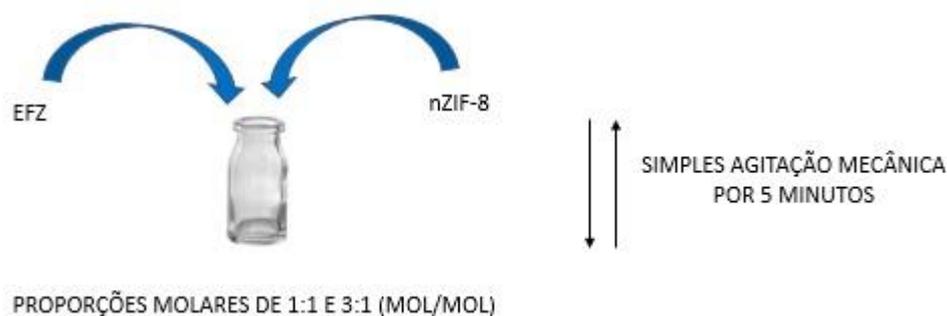


Fonte: Autoria própria.

3.2.3 Obtenção das Misturas Físicas (MFs)

Através do doseamento dos sistemas, para aqueles que obtiveram uma maior quantidade de EFZ incorporado a nZIF-8, estes foram escolhidos para serem comparados as Misturas Físicas (MFs) de mesma proporção, com a finalidade de observar as diferenças entre o método de obtenção das MFs, que é uma simples agitação mecânica dos dois componentes e o método de obtenção dos sistemas, que é mais complexo. As MFs foram obtidas na proporção molar 1:1 e 3:1 (mol/mol) mediante simples agitação de uma quantidade previamente calculada de EFZ e de nZIF-8, durante 5 minutos, em frascos de penicilina fechados, como pode ser observado na Figura 10.

Figura 10 – Processo de obtenção das Misturas Físicas EFZ:nZIF-8.



Fonte: Autoria própria.

3.2.4 Revalidação do método analítico para quantificação do EFZ presente nas misturas físicas e sistemas por espectrofotometria no UV-Vis.

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

3.2.4.1 Equipamentos

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

3.2.4.2 Revalidação do método analítico

O propósito da revalidação do método se dá devido a uma pequena alteração na preparação da amostra. O método desenvolvido por Alves e colaboradores (2010) requer apenas diluição do efavirenz em álcool etílico absoluto ou metanol, já o método desenvolvido para o sistema EFZ: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.

3.2.4.3 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 a regressão linear de duas curvas, uma obtendo etanol e outra metanol, utilizando ajuste dos dados pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios.

Preparo das soluções mãe:

Método de Alves (2010)

Foi preparada uma triplicata de soluções mãe com 50 mg de EFZ para balão volumétrico de 100 mL (concentração de 500 µg/mL de EFZ), onde o fármaco foi solubilizado em álcool etílico e feita outra triplicata na mesma concentração onde o fármaco foi solubilizado em metanol. Estes foram os dois solventes empregados em todo o estudo.

Método de Alves (2010) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

Foi preparada uma triplicata de soluções mãe com 50 mg de EFZ para balão volumétrico de 100 mL (concentração de 500 µg/mL de EFZ), onde o fármaco foi solubilizado em álcool etílico e feita outra triplicata na mesma concentração onde o fármaco foi solubilizado em metanol, posteriormente foi adicionado em todas as soluções (tanto solubilizadas em álcool etílico quanto metanol) 0,6 mL de HCl 1M completando o balão com o respectivo solvente e sonicando por 10 minutos. Em seguida, de cada triplicata foram obtidos seis níveis de concentrações diferentes: 8, 9, 10, 11 e 12 µg/mL.

3.2.4.4 Efeito Matriz

O efeito matriz tem como finalidade investigar possíveis interferências causadas pelas substâncias que compõem a matriz da amostra.

Preparo das soluções mãe:

Método de Alves (2010)

Foram realizadas curvas da mesma forma que no método de linearidade, utilizando os mesmos níveis de concentração 8, 9, 10, 11 e 12 µg/mL, obtidos através das triplicatas das soluções mãe com o fármaco solubilizado nos dois solventes de trabalho.

Método de Alves (2010) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

Foi preparada uma triplicata de soluções mãe com 50 mg de EFZ para balão volumétrico de 100 mL (concentração de 500 µg/mL de EFZ), onde o fármaco foi solubilizado em álcool etílico e feita outra triplicata na mesma concentração onde o fármaco foi solubilizado em metanol. Posteriormente foi adicionado em todas as soluções (tanto solubilizadas em álcool etílico quanto metanol) 0,6 mL de HCl 1M e o referente a 75 mg de nZIF-8 nos balões contendo álcool etílico e 36 mg de nZIF-8 nos balões contendo metanol. Os balões foram completados com os respectivos solventes e sonicados por 10 minutos. Posteriormente, de cada triplicata foram obtidos seis níveis de concentrações diferentes: 8, 9, 10, 11 e 12 µg/mL.

3.2.4.5 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 a adição de HCl 1M.

Preparo das soluções mãe:

Método de Alves (2010)

Foram preparadas duas soluções mãe com 50 mg de EFZ para balão volumétrico de 100 mL (concentração de 500 µg/mL de EFZ), uma solubilizada em etanol e outra em metanol, apresentando um valor de pH de 6,6 e 7,6 respectivamente.

Método de Alves (2010) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

Foi realizado o mesmo método de Alves (2010), sonificado por 10 minutos e com adição de 2 mL HCl 1M na solução contendo etanol e 1,25 mL na solução com metanol, apresentando valor de pH de 1,2 e 0,72.

As concentrações de EFZ utilizadas para as soluções filhas foram: 8, 10 e 12 µg.mL, representando um ponto baixo, médio e alto da curva. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

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

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

3.2.4.6 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, da precisão intermediária ou da reprodutibilidade (BRASIL, 2017).

Método de Alves (2010) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

A precisão do método foi avaliada através da 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 triplicatas das soluções mãe com concentração de 500 µg/mL de EFZ, onde em uma das triplicatas o EFZ era solubilizado em álcool etílico e na outra em metanol, sendo adicionado 0,6 mL de HCl 1M em todas as soluções. Posteriormente seis réplicas da concentração correspondente a concentração de trabalho (10 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:

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

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

3.2.4.7 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 (ALVES, 2010).

Preparo das soluções mãe:

Método de Alves (2010)

Foi preparada uma triplicata de soluções mãe com 50 mg de EFZ para balão volumétrico de 100 mL (concentração de 500 µg/mL de EFZ), onde o fármaco foi solubilizado em álcool etílico e feita outra triplicata na mesma concentração onde o fármaco foi solubilizado em metanol.

Método de Alves (2010) com adição de ácido clorídrico (método ajustado)

Foi realizado o mesmo método de Alves (2010), sonificado por 10 minutos e com adição de 0,6 mL de HCl 1 M em todas as soluções. As concentrações de EFZ utilizadas para as soluções filhas foram: 8, 10 e 12 µg/mL, onde de cada triplicata se retirou esses três pontos que representaram 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.

3.2.4.8 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 (72 e 36mg) em etanol e metanol respectivamente, com e sem a adição de HCl 1M e solução estoque, contendo apenas o EFZ em etanol e metanol, também com a adição de HCl 1M (método ajustado) e sem (método de Alves).

3.2.5 Caracterização do Efavirenz, 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.

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

Os espectros de infravermelho do EFZ, 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 Termogravimetria (TG)

As curvas TG foram realizadas por meio de termobalança Shimadzu®, modelo DTG 60-H, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 100 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, sendo a massa da amostra cerca de 5 mg ($\pm 0,05$) para todas as amostras, as amostras foram acondicionadas em cadinho de platina na faixa de temperatura de 30 a 600°C na razão de aquecimento de 10°C. min^{-1} . Antes dos ensaios, a termobalança foi verificada com oxalato de zinco.

3.2.5.3 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 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ e razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}^{-1}$, na faixa de temperatura de 25-250 $^{\circ}\text{C}$. 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.

3.2.5.4 Difractometria 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 2θ de 3° - 45° .

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 a 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):

$$2 \cdot d \cdot \sin \theta = n \cdot \lambda \quad (\text{Equação 4})$$

Onde: d - espaçamento basal; $\sin \Theta$ - seno do ângulo Theta; n - constante; λ - comprimento de onda do cobre.

3.2.5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras foram preparadas sobre dupla fita de carbono contida em suporte (stub) de cobre e metalizada sob vácuo com a deposição de uma fina camada de ouro. 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). Para representar a molécula Efavirenz foram criados diferentes modelos, com o objetivo de avaliar a influência do pH no processo de adsorção a superfície da nZIF-8. O *software* MarvinSketch (“MarvinSketch”, 2017) foi utilizado para identificar as microespécies majoritárias em função do pH, ou seja, o estado de protonação em maior quantidade nas diferentes faixas de pH. As coordenadas dos modelos do Efavirenz, 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 o Efavirenz e a ZIF-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, os modelos para tratar os diferentes estados de protonação do Efavirenz foram tratados como flexíveis.

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* dos Sistemas EFZ:nZIF-8 e Misturas Físicas

3.2.7.1 Ensaio de Solubilidade do EFZ

O ensaio de solubilidade do fármaco é um teste importante para definir as condições *sink*, dados importantes para a realização do ensaio de dissolução *in vitro*. Para isso, foram previamente pesadas amostras em triplicata de uma quantidade excessiva de EFZ (aproximadamente 30 mg) e adicionadas a béqueres com 10 mL de soluções tampões preparadas conforme a USP 41, ideais para a realização da solubilidade do EFZ: tampão de ácido clorídrico 0,2M (pH 1,2), tampão acetato de sódio 2N (pH 4,5), tampão fosfato 0,05M (pH 6,8) e água, todos estes adicionados de lauril sulfato de sódio (LSS) a 1,0%, com exceção da água onde o teste também foi realizado sem o LSS.

Posteriormente cada amostra foram submetidas à agitação constante (aproximadamente 50 rpm) em Banho-Maria DUBNOFF 304-D®, por 24h à 25°C. Ao final do tempo as amostras foram retiradas e centrifugadas a 3500 rpm por 30 minutos, onde o sobrenadante foi filtrado utilizando membranas de 0,45 µm e submetido à leitura por espectroscopia UV-Vis (Espectrofotômetro Shimadzu® UV 1240 PC) a fim de quantificar a concentração máxima dissolvida, visando evidenciar a concentração de saturação do EFZ nos respectivos meios. Para cada tampão utilizado no teste, foi obtida uma curva de calibração do fármaco, nas concentrações de 8 a 12 µg/mL (PINTO; CABRAL; SOUSA, 2014).

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 do EFZ em 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) como meios de dissolução, aparato 2 (pá) e velocidade de rotação 50 rpm, utilizando dissolutor Varian® (Modelo VK 7010).

Foram pesadas em balança Bioprecisa® modelo FA2104N, 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; 7; 8; 24 e 48h ou até que houvesse uma

liberação do fármaco superior a 80%, 3 mL das amostras foram coletadas, filtradas em filtro de membrana 0,20 μm e, quando preciso diluídas, para quantificação do teor de EFZ por espectroscopia no UV-Vis (Modelo 1240, Shimadzu® UVmini 1240 PC) a 247 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 percentagem da área do retângulo em $y^{100\%}$ no mesmo tempo t (KHAN, 1975; KHAN e RHODES 1972). O cálculo de área sob a curva (AUC) e ED% foi realizado com auxílio do *software* Origin® 9 da Origin Lab Solutions e Microsoft Excel® 2010.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

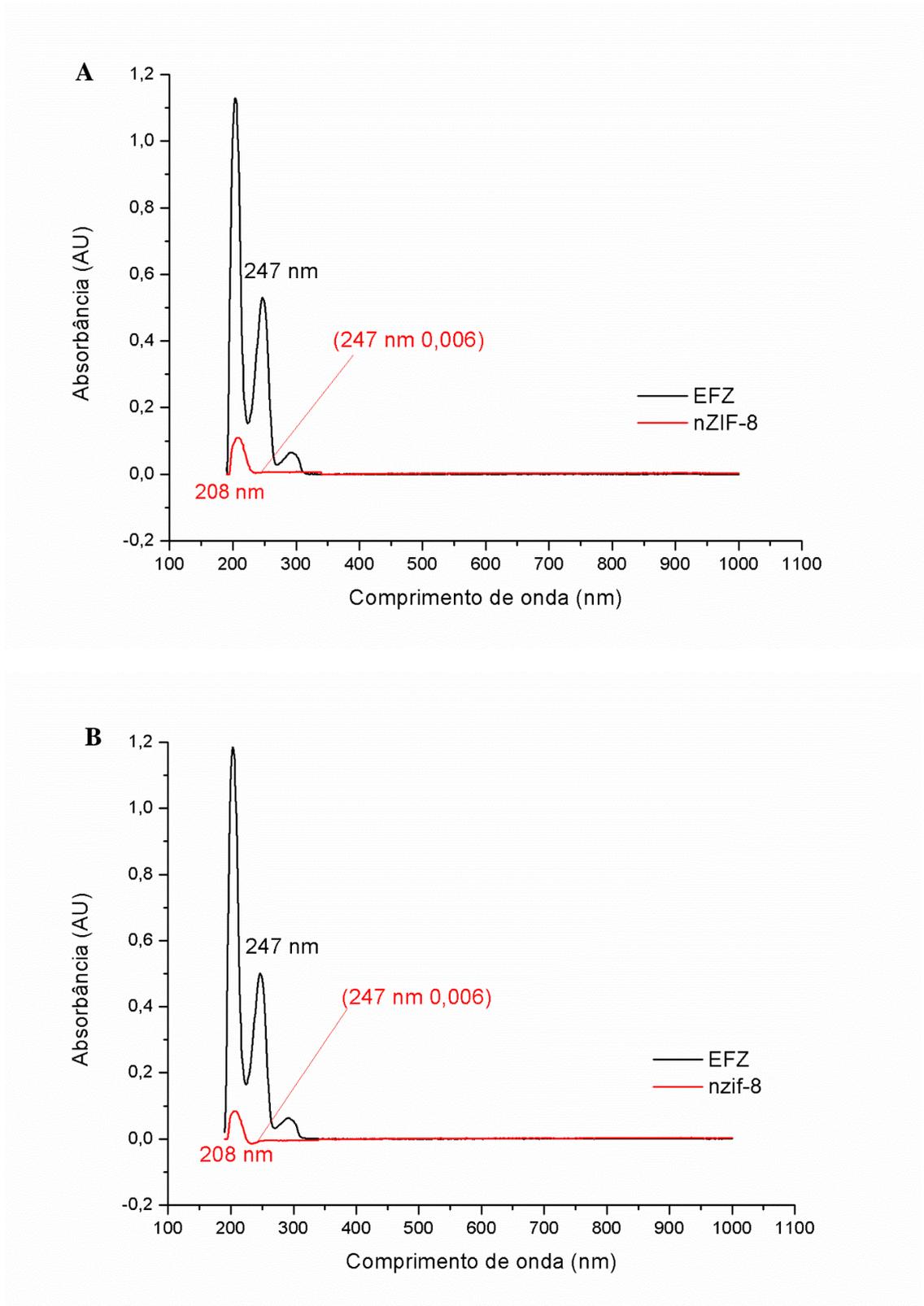
4.1 ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISIVEL (UV-VIS)

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 do EFZ nos sistemas EFZ:nZIF-8 e Misturas físicas obtidas. Com base na varredura (190-1000 nm), pode-se observar na Figura 11, que a solução de EFZ (10 µg/mL) primeiro apresenta um pico de absorção referente aos solventes (álcool etílico e metílicos) utilizados para o preparo da mesma e posteriormente apresenta seu pico característico de absorção máxima do EFZ em 247 nm conforme visto no trabalho de Alves e colaboradores (2010), enquanto a nZIF-8 a apresentou máxima absorção em 208 nm e álcool etílico e em metanol.

A fim de provar que a nZIF-8 não iria interferir na seletividade do método de quantificação do EFZ, uma quantidade de 3,6 mg de nZIF-8 foi suspensa em 10 mL dos solventes (etanol e metanol) utilizados para obtenção dos sistemas, seguido de filtração (poro do filtro: 0,22 µm) e quantificação através de UV-Vis.

Embora a nZIF-8 também apresente pico de absorção na região do UV-Vis, o método não apresentou problemas na seletividade, pois a mesma não absorve no mesmo comprimento de onda do EFZ, em 247 nm a nZIF-8 apresenta um valor de apenas 0,006 de absorbância nos solventes etanol e metanol.

Figura 11 – Varredura do espectro de absorção na região do UV-Vis do EFZ e da nZIF-8 em álcool etílico (A) e metanol (B).



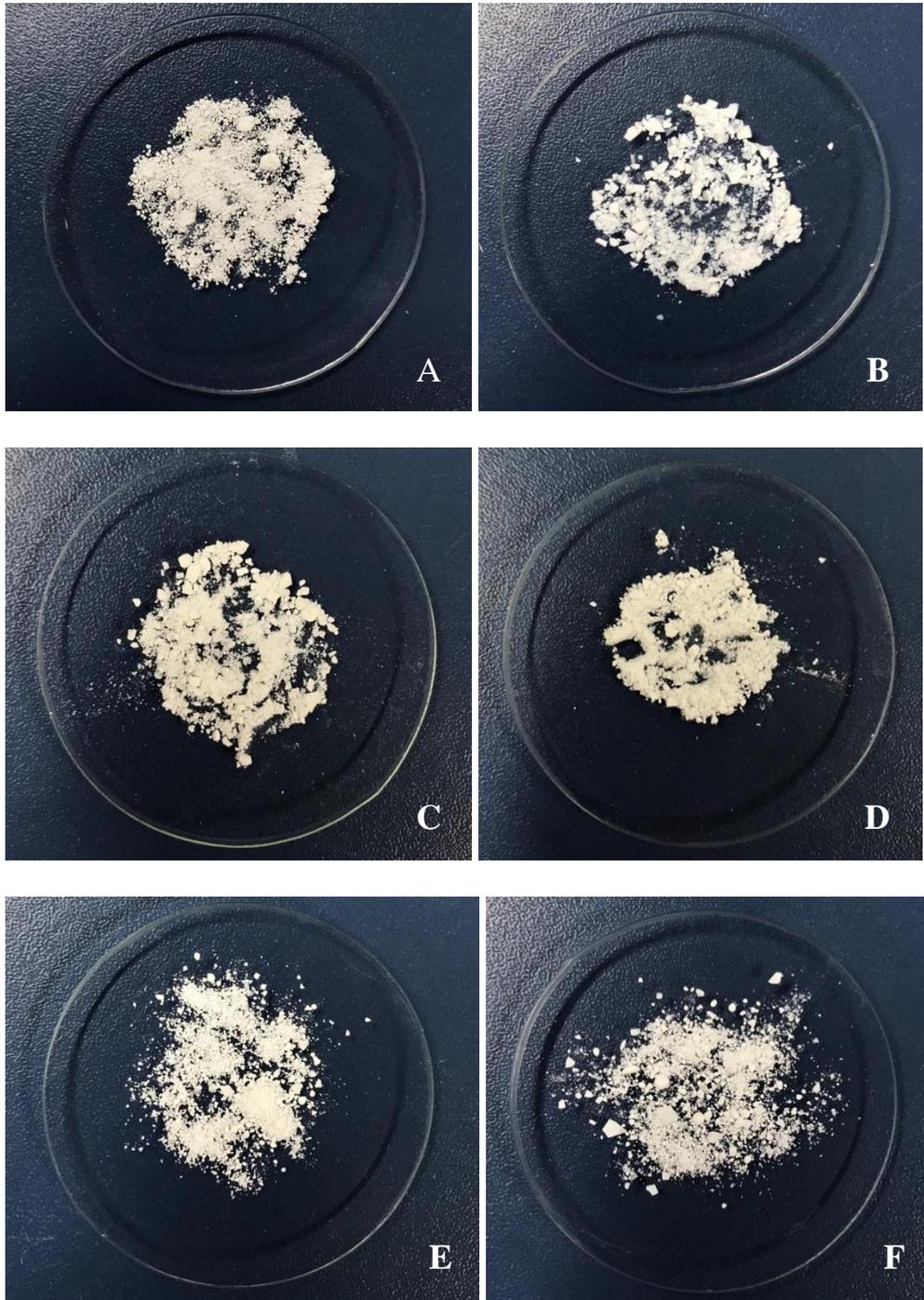
Fonte: Autoria própria

4.2 OBTENÇÃO DOS SISTEMAS EFZ:nZIF-8

4.2.1 Aspecto macroscópico

Os aspectos macroscópicos das amostras estudadas neste trabalho podem ser visualizadas na Figura 12 a seguir. O EFZ se apresenta como um pó fino, de coloração branca, textura pegajosa e com capacidade de formar grumos (Figura 12A). A nZIF-8 por sua vez, embora possua coloração branca e seja um pó fino, possui um aspecto mais cristalino e textura bem solta que o fármaco em questão (Figura 12B). Nos sistemas e MFs obtidos, não foram observadas mudança de coloração e ambos se apresentam quase que como iguais. Entretanto, os sistemas (Figuras 12C e 12D) perderam a característica cristalina à olho nu e as MFs (Figuras 12E e 12F) ainda preservaram alguma cristalinidade. Em relação à morfologia macroscópica do pó, os sistemas apresentaram características mais semelhantes a nZIF-8, adquirindo uma estrutura de pó mais fino e solto, enquanto que nas MFs é possível se observar as partículas provenientes da nZIF-8 e do EFZ bem definidos.

Figura 12- Aspecto Macroscópico: A) EFZ; B) ZIF-8; C) Sistema obtido em etanol 1.1; D) Sistema obtido em metanol 3.1; E) Mistura física do sistema etanol 1.1; F) Mistura física dos sistemas metanol 3.1.

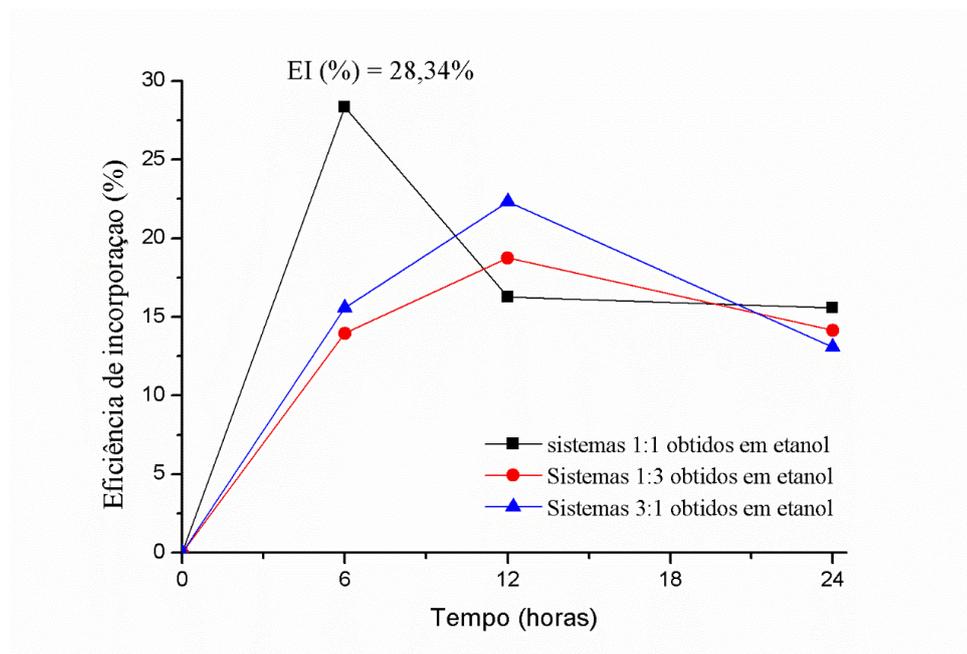


Fonte: Autoria própria

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

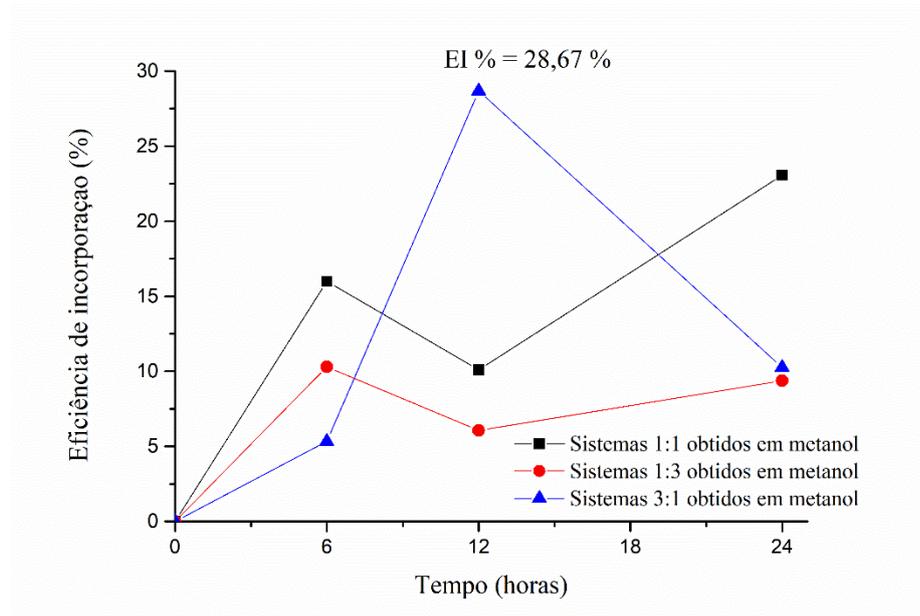
Foi possível construir curvas de calibração, baseadas no método desenvolvido por Alves e colaboradores (2010), possibilitando o cálculo de incorporação aparente do EFZ a rede da nZIF-8. O experimento visou à máxima eficiência de incorporação através do doseamento utilizando HCl 1M, dos sistemas lavados obtidos em intervalos de tempo de 6, 12 e 24h. Onde o percentual de EFZ incorporado foi mensurado a partir concentração real de sistema utilizado para o doseamento e da concentração dissolvida encontrada de EFZ, representada em termo de porcentagem (EI%). As curvas de eficiência de incorporação estão demonstradas nas Figuras 13 e 14.

Figura 13 - Curvas de eficiência de incorporação (EI%) dos sistemas EFZ-nZIF-8 obtidos em etanol nas proporções molares 1:1, 1:3 e 3:1 (mol/mol) nos intervalos de 6, 12 e 24 horas.



Fonte: Autoria própria.

Figura 14 - Curvas de eficiência de incorporação (EI%) dos sistemas EFZ-nZIF-8 obtidos em metanol nas proporções molares 1:1, 1:3 e 3:1 (mol/mol) nos intervalos de 6, 12 e 24 horas.



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% do EFZ à nZIF-8 foi o de proporção molar 1:1 após 6 h de agitação, com 28,34% de EFZ no sistema. Com relação aos sistemas obtidos em metanol o de proporção molar 3:1 após 12 h de agitação foi o que obteve maior EI% apresentando 28,67% de EFZ no sistema. Ainda foram calculados os Conteúdos de Carga de Droga (DLC) para os sistemas que obtiveram os maiores percentuais de EI%. Esses resultados por sua vez mostraram uma carga de 5,66 mg e 5,73 mg de EFZ por 100 mg de nZIF-8, para os sistemas em etanol e metanol respectivamente. Apesar de se esperar cargas muito maiores de EFZ no sistema de proporção 3:1, pode-se observar que os valores de EI% e de DLC mostraram-se praticamente iguais ao sistema de proporção 1:1, e tais resultados podem ter sido equivalentes devido ao processo de lavagem pelo qual os sistemas passaram, de modo que a quantidade de fármaco arrastado no sistema de proporção 3:1 foi maior. Tal conclusão pôde ser sugerida pois os sistemas não lavados também foram doseados e tanto para o sistema etanol quanto para o sistema em metanol, inicialmente, a proporção que mais continha fármaco era a 3:1, porém o processo de lavagem pode ter igualado tais cargas de droga e coincidentemente os mesmos percentuais de fármaco foram obtidos.

Estas mesmas proporções molares (1:1 no solvente etanol e 3:1 em metanol) também foram identificadas no trabalho de Tabosa (2020) como as que apresentaram uma maior

incorporação do EFZ nos sistemas obtidos utilizando a ZIF-8 na escala micrométrica, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho presente.

Entretanto, ao se estabelecer uma comparação entre os percentuais de EFZ que foram incorporados nos sistemas obtidos neste presente trabalho com os percentuais de EFZ incorporados nos sistemas EFZ:ZIF-8 obtidos por Tabosa (2020), é possível observar uma discreta otimização da eficiência de incorporação do fármaco nos respectivos carreadores, visto que para o sistema de Tabosa (2020) obtido em etanol e na mesma proporção molar (1:1), o percentual de incorporação foi de apenas 15% e para o sistema obtido em metanol do mesmo trabalho e na mesma proporção molar (3:1) a incorporação foi de 27%, sendo esta mais próxima ao resultado aqui obtido. Vale salientar que, na metodologia de obtenção dos sistemas de Tabosa (2020), a lavagem não era realizada.

Além disso, outros resultados de incorporação a nZIF-8 se demonstraram semelhantes aos dos sistemas com EFZ incorporado, e foram relatados por Soltani e colaboradores (2017), com um carregamento de 19% de gentamicina na nanoestrutura, por Nabippur e colaboradores (2017), com um carregamento de 21% de ciprofloxacino e Ferreira (2020), com uma eficiência de incorporação de 15,88% de β -lapachona. Concluindo a real capacidade da nZIF-8 em incorporar diferentes fármacos e em percentuais significativos.

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, 24h). Contudo os valores de EI% foram todos abaixo dos apresentados nos sistemas 1:1 obtido em etanol por 6 h e 3:1 obtido em metanol por 12 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 1:1 obtido em etanol por 6 h e sistema 3:1 obtido em metanol por 12 h. Esses sistemas foram denominados respectivamente de SIS EFZ:nZIF-8 1:1 ET e SIS EFZ:nZIF-8 3:1 MET, sendo eles o objetivo das técnicas de caracterização. A partir deste pressuposto as misturas físicas (MFs), correspondentes a esses sistemas foram obtidas com massa de EFZ calculada a partir dos mesmos percentuais de incorporação dos sistemas e foram utilizadas para fins comparativos. Foram denominadas de MF EFZ:nZIF-8 ET correspondente ao sistema obtido em etanol selecionado e MF EFZ:nZIF-8 MET correspondente ao sistema obtido em metanol selecionado.

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

A seguir serão demonstrados os resultados obtidos através da revalidação dos métodos analíticos que ocorreram nos 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.

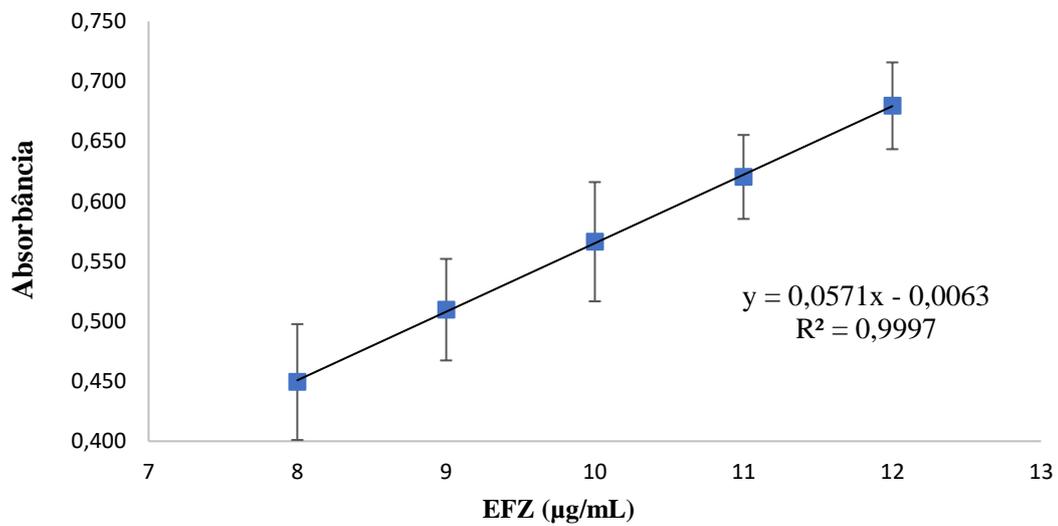
4.3.1 Revalidação do Método Analítico com Álcool Etilico

4.3.1.1 Linearidade

As linearidades das curvas dos métodos sem e com HCl foram comprovadas nas concentrações propostas por meio da análise de regressão linear através do método dos mínimos quadrados.

No ensaio sem HCl (Método de Alves), foi possível determinar o valor do coeficiente de correlação $R = 0,9998$ e o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9997$, como mostra a Figura 15. O valor de R^2 indica que 99,97% da variação total relacionado à média são explicadas pela regressão. A obtenção desses resultados confirma que há uma correlação linear entre a absorvância e a concentração das amostras, uma vez que os parâmetros encontram-se dentro dos limites preconizados pela ANVISA, superiores a 0,990.

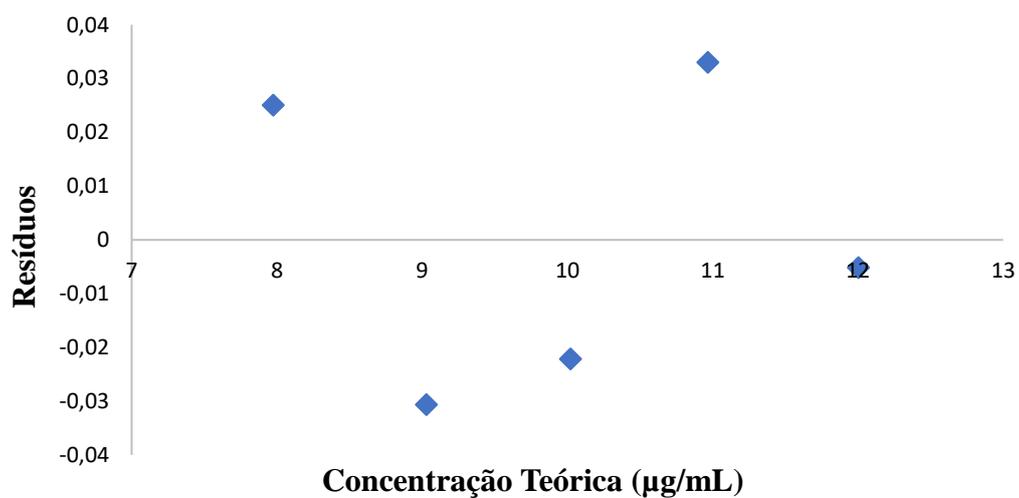
Figura 15 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método de Alves (2010) em álcool etílico.



Fonte: Autoria própria.

O cálculo dos resíduos da linearidade do método Alves (2010) foi obtido por meio da 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 mostrado na Figura 16.

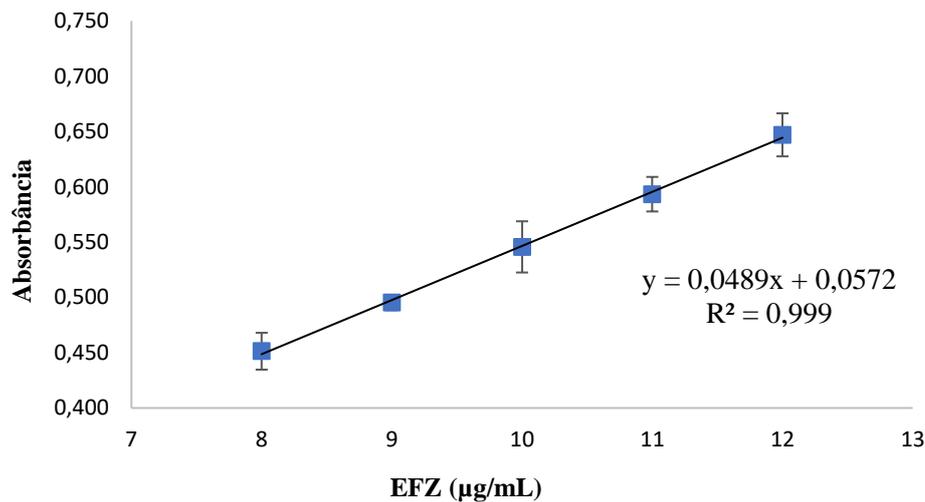
Figura 16 - Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao método Alves (2010) em álcool etílico.



Fonte: Autoria própria.

No método ajustado, contendo HCl 1M, foi possível determinar o coeficiente de correlação $R = 0,9995$ e o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9990$, confirmando que há uma correlação linear entre a absorbância e a concentração das amostras, como mostrado na Figura 17.

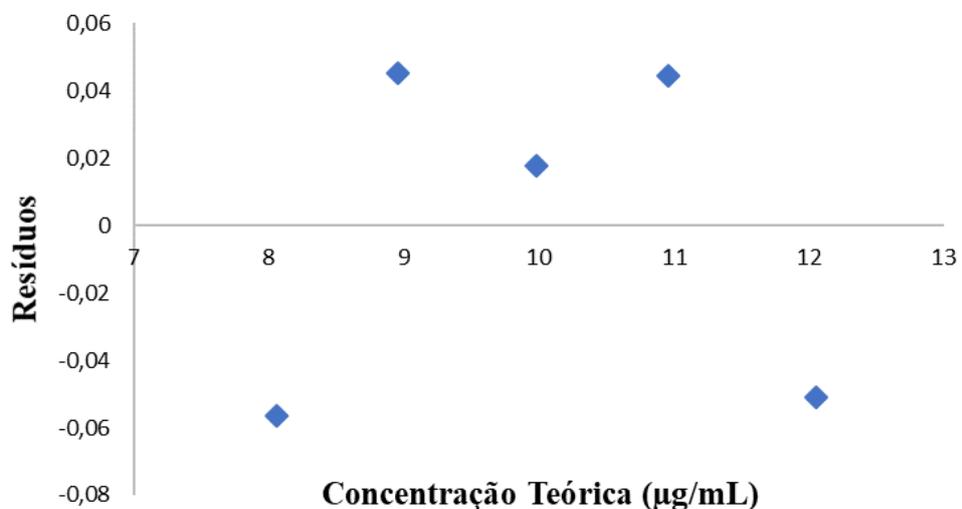
Figura 17 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método ajustado (com HCl 1M) em álcool etílico.



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 mostrado na Figura 18.

Figura 18 - Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao método Ajustado (com HCl 1M) em álcool etílico.

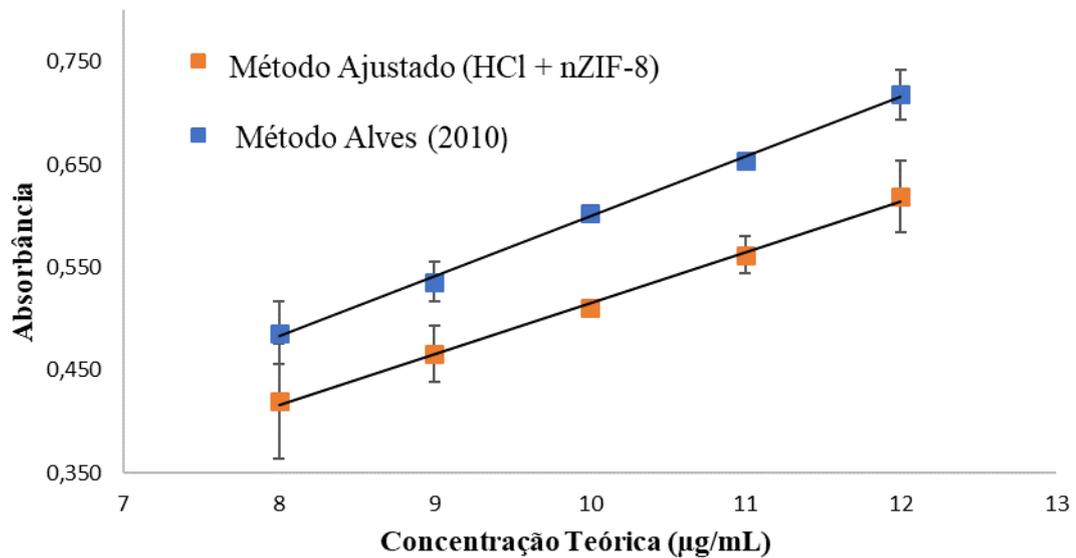


Fonte: Autoria própria.

4.3.1.2 Efeito Matriz

Através do resultado das inclinações do método de Alves (2010) e do método ajustado (com HCl 1M e nZIF-8) pôde-se obter o resultado do efeito matriz, onde foi obtido um valor próximo de 1 (1,178138), resultado este, considerado satisfatório em relação ao paralelismo das retas das duas curvas, indicando ausência de interferência dos constituintes da matriz. Ou seja, satisfeita as premissas e confirmada a linearidade do analito em matriz. Os dados também foram analisados estatisticamente por ANOVA fator único tendo o $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$, 2,40 e 5,31. Na Figura 19 pode-se observar o paralelismo entre as retas das duas curvas.

Figura 19- Paralelismo entre retas das curvas com álcool etílico no efeito matriz.



Fonte: Autoria própria.

4.3.1.3 Robustez

A robustez foi realizada através da análise do fármaco em diferentes concentrações (concentração baixa, média e alta da curva) sem e com adição de HCl. Os resultados foram expressos pela Equação 2 e estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados da robustez do método com etanol através da variação intencional de pH com HCl 1M.

Método	Robustez			
	[] Teórica de EFZ ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	[] Calculada de EFZ (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Método Alves (2010)	8	8,377	0,706	104,712
Método Alves (2010)	10	10,435	3,520	102,3490
Método Alves (2010)	12	12,438	2,940	103,6556
Método Ajustado	8	8,173	1,290	102,1701
Método Ajustado	10	10,294	1,028	102,9482
Método Ajustado	12	12,365	0,918	102,0461

Onde: [] = concentração e DPR = Desvio Padrão Relativo. Fonte: Autoria própria.

De acordo com o artigo 61 da RDC 166/17 da ANVISA, os resultados da robustez devem apresentar capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. Como visto nos DPR das amostras contendo HCl, todas possuem baixa variabilidade intrínseca, onde o método encontra-se com um % de recuperação próximo de 100% nas amostras em geral, não inviabilizando a revalidação do método, visto que a RDC 166 não determina valores para os resultados, mas sim uma justificativa para os mesmos. Sendo assim, esse método mostra-se como robusto.

4.3.1.4 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 ajustado em etanol.

Amostras	Repetibilidade						Média	DP	DPR (%)
	1	2	3	4	5	6			
Absorbância	0,530	0,544	0,532	0,544	0,545	0,556	0,541	0,0095	1,76

Onde: DP = Desvio Padrão e DPR = Desvio Padrão Relativo. Fonte: Autoria própria.

Sendo assim, pode-se concluir que o método apresenta uma boa repetibilidade já que os resultados apresentam um valor de DPR abaixo do especificado que é de 5%.

4.3.1.5 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 ajustado com etanol.

Método	Exatidão			
	[] Teórica de EFZ ($\mu\text{g/mL}$)	[] Calculada de EFZ (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Método Alves (2010)	8	7,90 \pm 0,03	0,4307	98,57
Método Alves (2010)	10	9,80 \pm 0,03	0,3340	97,95
Método Alves (2010)	12	11,77 \pm 0,02	0,1878	98,11
Método Ajustado	8	7,77 \pm 0,02	0,2785	97,08
Método Ajustado	10	10,04 \pm 0,0	0,9656	100,36
Método Ajustado	12	12,31 \pm 0,01	1,5842	102,55

Onde: [] = concentração e DPR = Desvio Padrão Relativo. Fonte: Autoria própria.

O método demonstrou-se exato, pois quando se comparou a concentração obtida de EFZ com a concentração teórica os resultados ficaram próximos como recomendado pela RDC 166 de 2017 da ANVISA. Os DPR obtidos foram baixos, e por análise estatística pelo ANOVA fator único tendo o $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$, 0,02 e 4,49 não existindo variação estatisticamente significativa. O método também apresentou percentuais de recuperação próximos de 100% nas amostras em geral. Vale ressaltar que o método mostrou-se linear e preciso como demonstrado anteriormente.

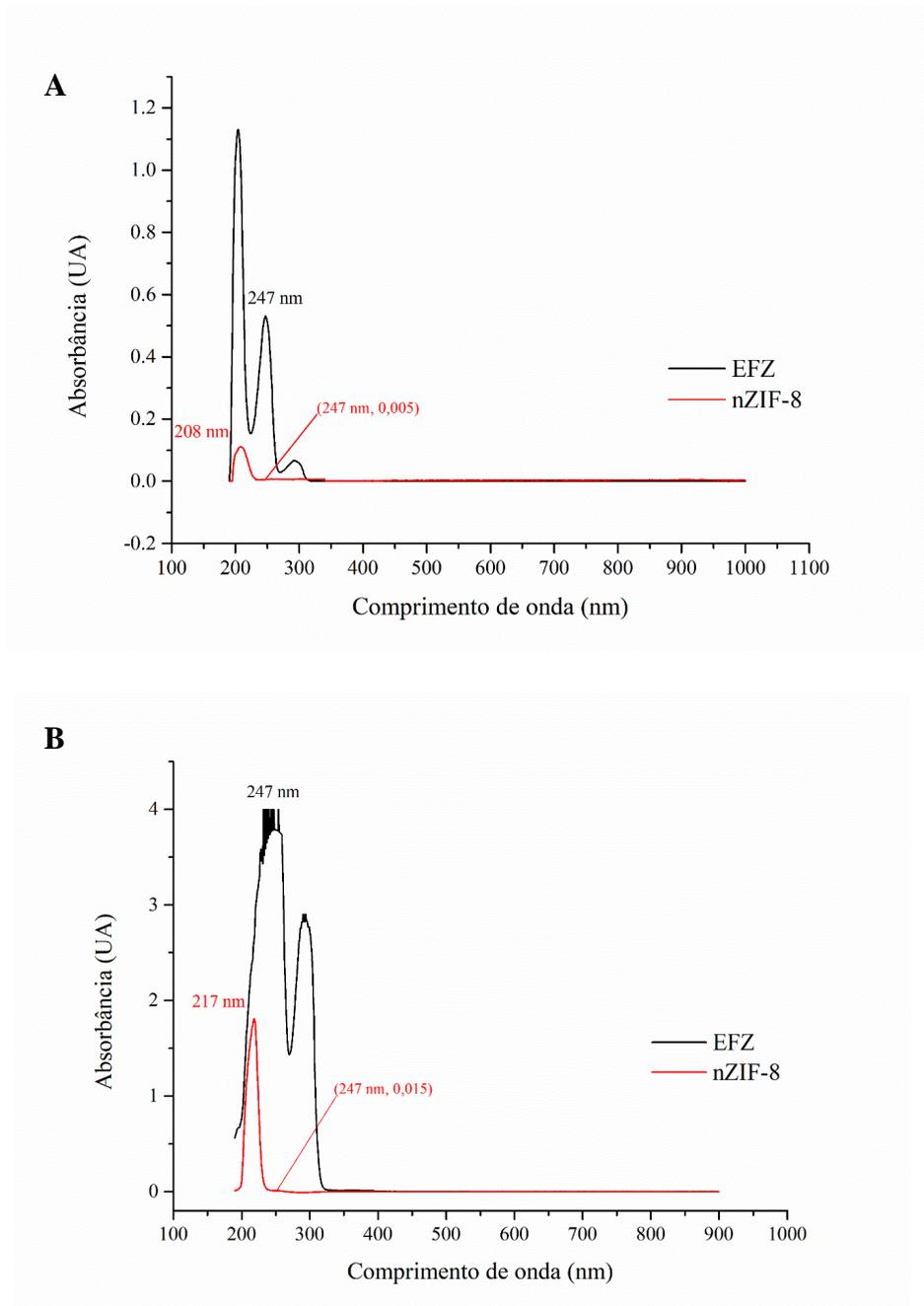
4.3.1.6 Seletividade

O objetivo da seletividade na revalidação é observar, comparativamente, se a utilização do método ajustado interfere no comprimento de onda para leitura do analito e se o método continua sendo seletivo apenas para o fármaco, não havendo interferência da matriz.

Sendo assim, foi avaliado se o método ajustado é seletivo para a substância química de referência caracterizada, sendo obtidos os espectros de absorção na região do ultravioleta visível (UV-Vis), por varredura, do EFZ e da nZIF-8, tanto para o método de Alves (2010) (Figura 20A), quanto para o método ajustado em etanol (Figura 20B).

A Figura 20 apresenta os espectros UV-Vis demonstrando que o uso do HCl no método ajustado (Figura 20B) quando comparado ao método de Alves (2010A) (sem HCl) (Figura 20A) não interferem no comprimento de leitura do fármaco (247 nm). Não foram também observadas sobreposições dos picos correspondentes a EFZ e a nZIF-8, isso significa que a leitura da matriz não ocorre no mesmo ponto em que há máxima absorção do EFZ. Sendo justificado o uso do HCl para a desorganização da estrutura da matriz. Não interferindo, portanto, na leitura para quantificação do fármaco.

Figura 20- Espectro de absorção na região do UV-Vis do parâmetro seletividade referente ao método com etanol: A) Alves (2010) e B) Método Ajustado.



Fonte: Autoria própria.

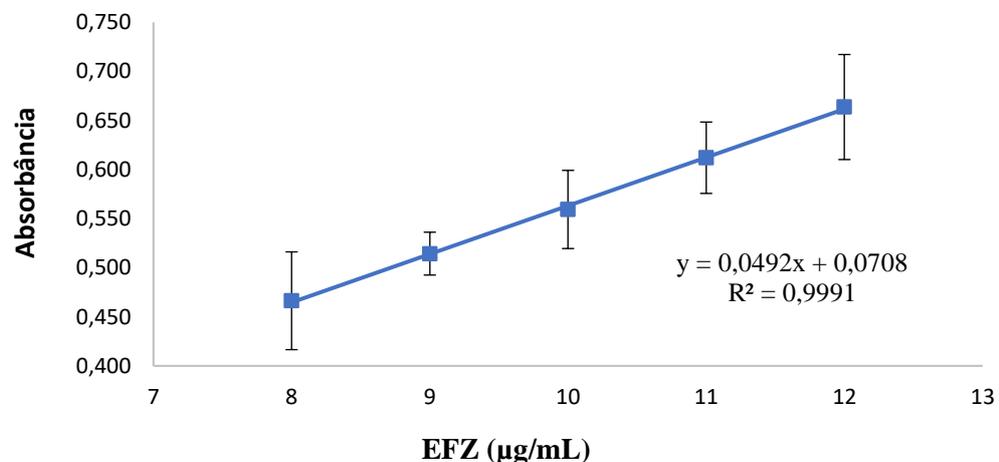
4.3.2 Revalidação do Método Analítico com Metanol

4.3.2.1 Linearidade

As linearidades das curvas obtidas pelo método de Alves (2010) e pelo método ajustado com a adição de HCl foram comprovadas nas concentrações propostas por meio da análise de regressão linear através do método dos mínimos quadrados.

No ensaio sem HCl (Método de Alves), foi possível determinar o valor de coeficiente de correlação $R = 0,9996$ e o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9991$, como mostra a Figura 21. O valor de R^2 indica que 99,91% 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 as 0,99.

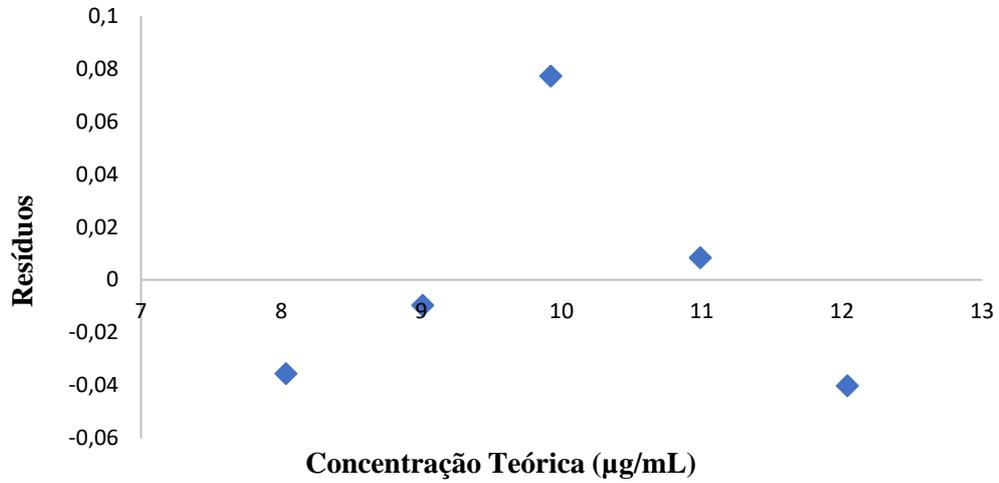
Figura 21 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método de Alves (2010) com metanol.



Fonte: Autoria própria.

O cálculo dos resíduos da linearidade do método Alves (2010) foi obtido por meio de regressão linear, onde demonstra os valores estimados e os dados observado. Os resíduos distribuíram-se em torno do zero, mostrado que a dispersão é aleatória e sem tendência, indicativo de um bom resultado como o exposto na Figura 22.

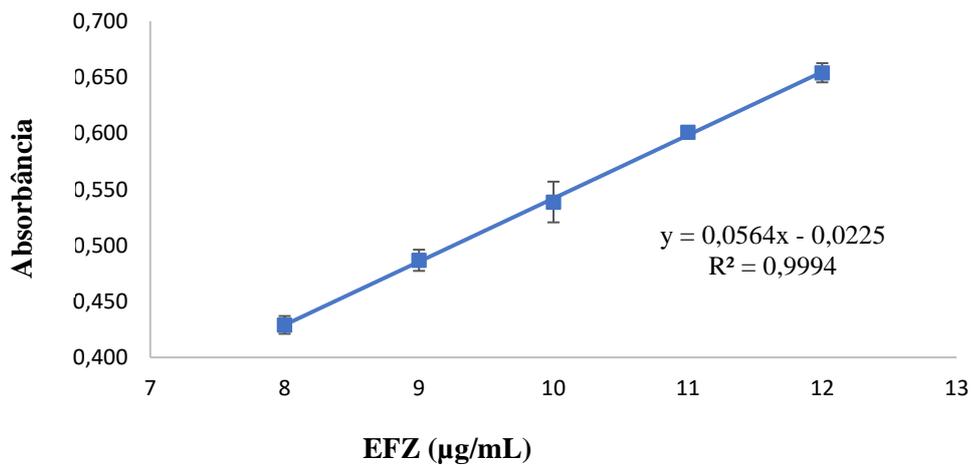
Figura 22 - Gráfico dos resíduos da linearidade por meio do cálculo de regressão linear referente ao método de Alves (2010) com metanol.



Fonte: Autoria própria.

No método ajustado, contendo HCl 1M, determinou-se o coeficiente de correlação $R = 0,9997$ e o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9994$, confirmando que há uma correção linear entre as absorbâncias e as concentrações das amostras, como pode ser visto na Figura 23.

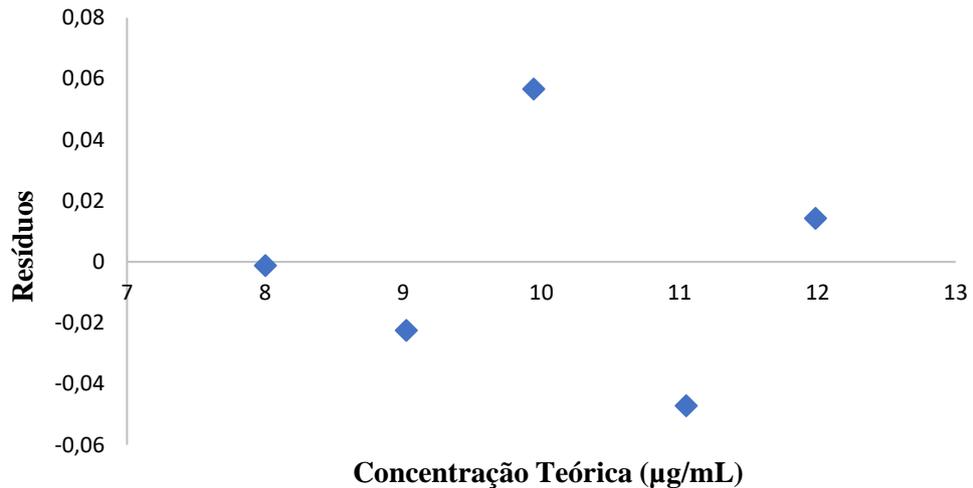
Figura 23 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao método ajustado (com HCl 1M) com metanol.



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 24.

Figura 24 - Gráfico dos resíduos da linearidade por meio do cálculo de regressão linear referente ao método de Alves (2010) com metanol.

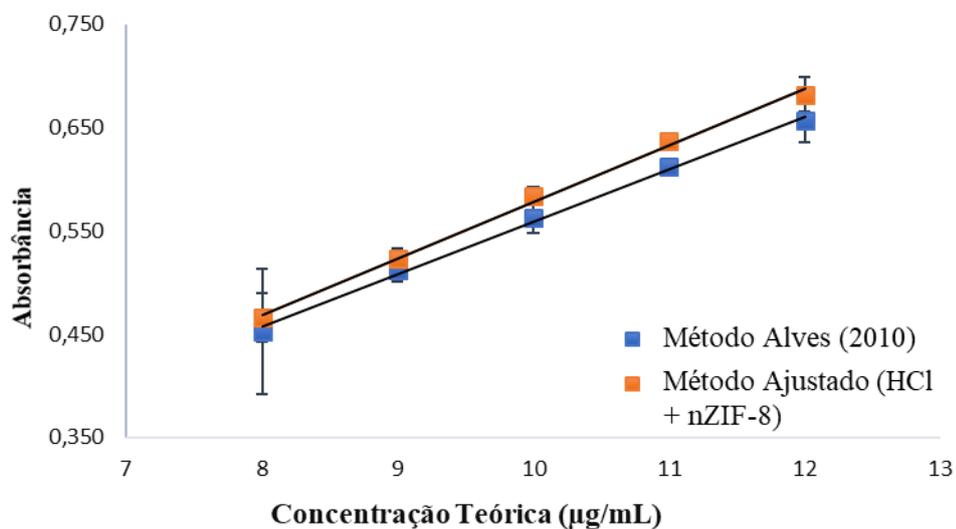


Fonte: Autoria própria.

4.3.2.2 Efeito Matriz

Através do resultado das inclinações do método de Alves (2010) e do método ajustado (com HCl 1M e nZIF-8) pôde-se obter o resultado do efeito matriz, onde foi obtido um valor próximo de 1 (1,067717), resultado este, considerado satisfatório em relação ao paralelismo das retas das duas curvas, indicando ausência de interferência dos constituintes da matriz. Ou seja, satisfeita as premissas e confirmada a linearidade do analito em matriz. Além disso, os dados também foram analisados estatisticamente por ANOVA fator único tendo o $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$, 0,12 e 5,31. Na Figura 25, pode-se observar o paralelismo entre as retas das duas curvas.

Figura 25 - Paralelismo entre retas das curvas com metanol no efeito matriz.



Fonte: Autoria própria.

4.3.2.3 Robustez

A robustez foi dada através da análise em diferentes concentrações do fármaco (concentração baixa, média e alta da curva) sem e com adição de HCl. Os resultados da robustez foram expressos pela Equação 2 e podem ser verificados na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados da robustez do método com metanol através da variação intencional de pH com HCl 1M.

Robustez				
Método	[] Teórica de EFZ (µg/mL⁻¹)	[] Calculada de EFZ (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Método Alves (2010)	8	8,077	1,893	100,9656
Método Alves (2010)	10	10,236	1,741	102,3662
Método Alves (2010)	12	12,365	0,900	103,0464
Método Ajustado	8	8,084	0,519	101,0576
Método Ajustado	10	10,209	0,881	102,0929
Método Ajustado	12	12,302	1,290	102,518

Onde: [] = concentração e DPR = Desvio Padrão Relativo. Fonte: Autoria própria.

De acordo com o artigo 61 da RDC 166/17 da ANVISA, os resultados da robustez devem apresentar capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. Como visto nos DPR das amostras contendo HCl, estas possuem baixa variabilidade intrínseca. Em ambos os métodos encontra-se um % de recuperação próximo de 100% nas amostras em geral, viabilizando a revalidação do método, visto que a RDC 166 não determina valores para os resultados. Sendo assim, o método demonstrou-se robusto.

4.3.2.4 Precisão (Repetibilidade)

A repetibilidade foi realizada apenas com o método ajustado contendo HCl, em sextuplicata, os resultados estão dispostos na Tabela 6 e demonstram que o método apresenta uma boa repetibilidade visto que produz um resultado com baixo valor de DPR.

Tabela 6 – Precisão do método ajustado em metanol.

Amostras	Repetibilidade						Média	DP	DPR (%)
	1	2	3	4	5	6			
Absorbância	0,635	0,631	0,633	0,638	0,640	0,625	0,633	0,0053	0,84494

Onde: DP = Desvio Padrão e DPR = Desvio Padrão Relativo. Fonte: Autoria própria.

4.3.2.5 Exatidão

Esse parâmetro foi realizado através 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 expressos pela Equação 3, podendo ser analisados na Tabela 7.

Tabela 7 – Exatidão do método ajustado em metanol.

Método	Exatidão			
	[] Teórica de EFZ ($\mu\text{g/mL}$)	[] Calculada de EFZ (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Método de Alves (2010)	8	$7,82 \pm 0,06$	0,7803	97,78
Método de Alves (2010)	10	$10,22 \pm 0,07$	0,7133	102,27
Método de Alves (2010)	12	$12,56 \pm 0,09$	0,7730	104,70
Método Ajustado	8	$8,05 \pm 0,06$	0,7489	100,63
Método Ajustado	10	$9,91 \pm 0,05$	0,5305	99,13
Método Ajustado	12	$102,88 \pm 0,04$	0,3835	102,88

Onde: [] = concentração e DPR = Desvio Padrão Relativo. Fonte: Autoria própria.

Quando comparada a concentração obtida de EFZ com a concentração teórica os resultados obtidos se mostraram próximos, assim como valores de DPR baixos e percentuais de recuperação próximos a 100%. Sendo assim, de acordo com a RDC 166/17 da ANVISA o método define-se como exato, corroborando com todos os parâmetros realizados anteriormente. Por análise estatística pelo ANOVA fator único os valores do $F_{\text{calculado}}$ (0,006) foram inferiores ao F_{tabelado} (4,49) não existindo variação estatisticamente significativa.

4.3.2.6 Seletividade

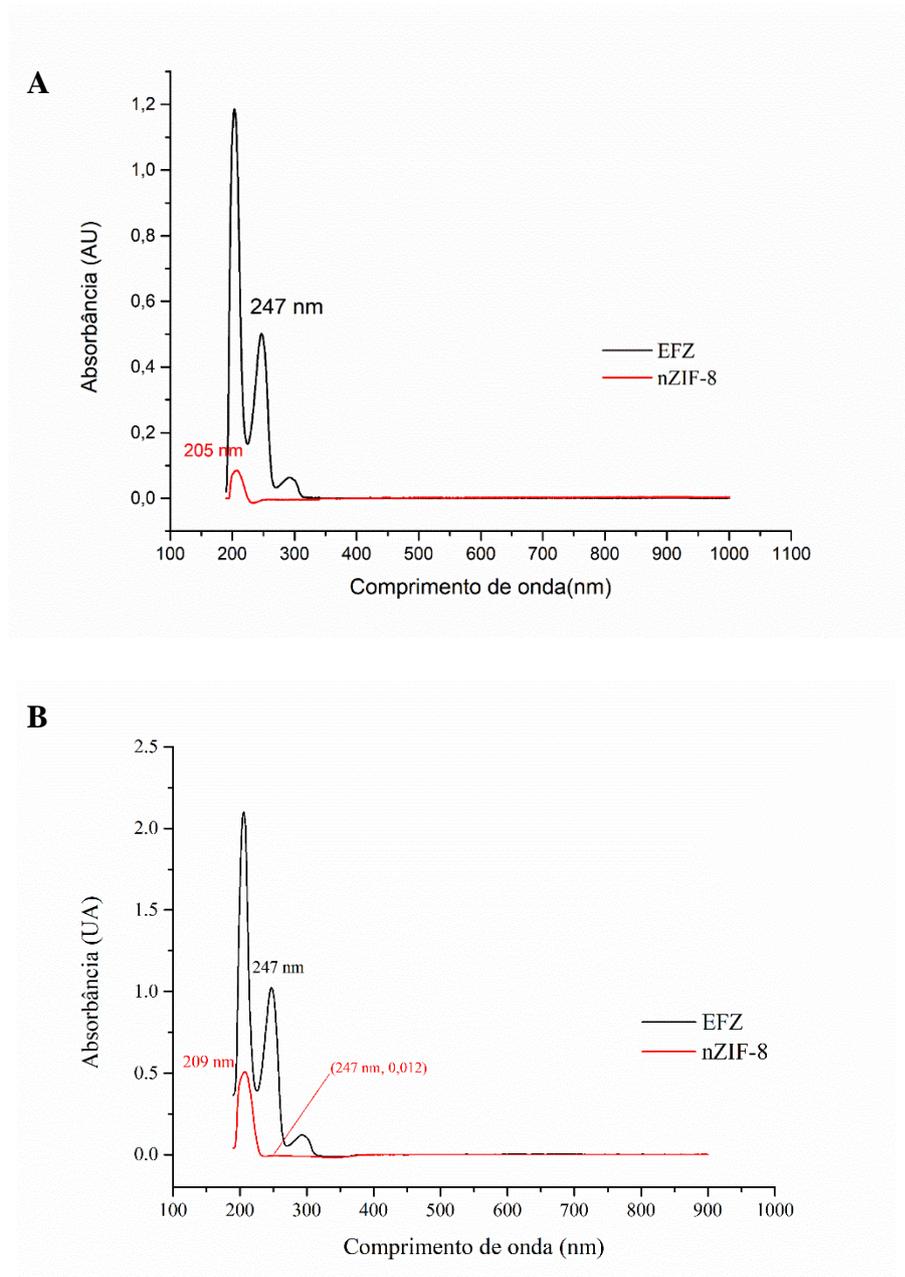
Com o objetivo de avaliar se o método é seletivo para a substância química de referência caracterizada, foram obtidos os espectros de absorção na região do UV-Vis, por varredura das soluções mãe do EFZ e da nZIF-8, sem HCl (Método Alves) e como HCl (Método Ajustado em etanol).

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 26 apresenta os espectros UV-Vis demonstrando que o uso do HCl no método ajustado (Figura 26B) quando comparado ao método de Alves (2010) (sem HCl) (Figura 26A) não interferem no comprimento de leitura do fármaco (247 nm). Não foram também observadas

sobreposições dos picos correspondentes ao EFZ e a nZIF-8, isso significa que a leitura da matriz não ocorre no mesmo ponto em que há máxima absorção do EFZ. Sendo justificado o uso do HCl para a desorganização da estrutura da matriz. Não interferindo, portanto na leitura para quantificação do fármaco.

Figura 26 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do parâmetro seletividade referente ao método com metanol: A) Alves (2010) e B) Método Ajustado.



Fonte: Autoria própria.

4.4 DOSEAMENTO DO EFZ NOS SISTEMAS E MISTURAS FÍSICAS

A partir dos dados de concentrações obtidos através da curva analítica proposta, foi possível dosear o percentual de EFZ que de fato estava contido nos sistemas e misturas físicas nas proporções que apresentaram maior EI% do EFZ a rede nZIF-8. Os resultados adquiridos estão elencados na Tabela 8.

Tabela 8 - Doseamento do EFZ nos sistemas e MFs por espectrofotometria

Amostra	[] Teórica de EFZ (µg/mL)	[] Calculada de EFZ (µg/mL)	% Percentual de EFZ nos sistemas
SIS EFZ:nZIF-8 1.1 ET	10	3,53	35,3%
SIS EFZ:nZIF-8 3.1 MET	10	3,21	32,1%
MF EFZ:nZIF-8 1.1 ET	10	4,50	45%
MF EFZ:nZIF-8 3.1 MET	10	4,37	43,7%

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 DO EFZ, nZIF-8, SISTEMAS E MISTURAS FÍSICAS

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

A análise de FTIR é utilizada 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. Além disso, a técnica é capaz de detectar diferenças sutis na energia vibracional entre estado amorfo e cristalino. No estudo das interações entre fármaco e carreadores, principalmente as ligações de hidrogênio são de extrema importância, uma vez que estão relacionadas com a estabilidade

dos sistemas e com a compatibilidade entre o fármaco e o material utilizado (SHAH et al., 2013; TEJA et al., 2013; COSTA, 2016; TABOSA, 2020).

Os espectros infravermelho do EFZ bem como da nZIF-8 apresentam excelente concordância com os relatados na literatura, confirmando a identidade química das amostras e podem ser visualizados na Figura 27, juntamente com os espectros das MFs e dos sistemas obtidos.

O espectro de absorção do EFZ (Figura 27 - EFZ 1-5) as bandas referentes aos possíveis grupos doadores e aceptores de hidrogênio do EFZ podem ser observadas: deformação axial de N-H em $3313,99\text{ cm}^{-1}$ (Figura 27 - EFZ 1), além das bandas em $1743,34\text{ cm}^{-1}$ (Figura 27 - EFZ 3) e $1240,69\text{ cm}^{-1}$ (Figura 27 - EFZ 5), característicos da função carbamato presente na estrutura do fármaco e que seriam referentes à deformação axial da ligação C=O e C(C=O)-O, respectivamente. Adicionalmente, as seguintes bandas típicas também foram visualizadas: estiramento C≡C ($2249,72\text{ cm}^{-1}$) (Figura 27 - EFZ 2), estiramento C-F ($1183,54\text{ cm}^{-1}$) e deformação angular de C-H em grupamentos cíclicos tensionados ($1494,72\text{ cm}^{-1}$) (Figura 27 - EFZ 4), evidenciando a presença do radical ciclopropil na molécula do EFZ (GOMES, 2014; FREITAS-NETO, 2018; TABOSA, 2020).

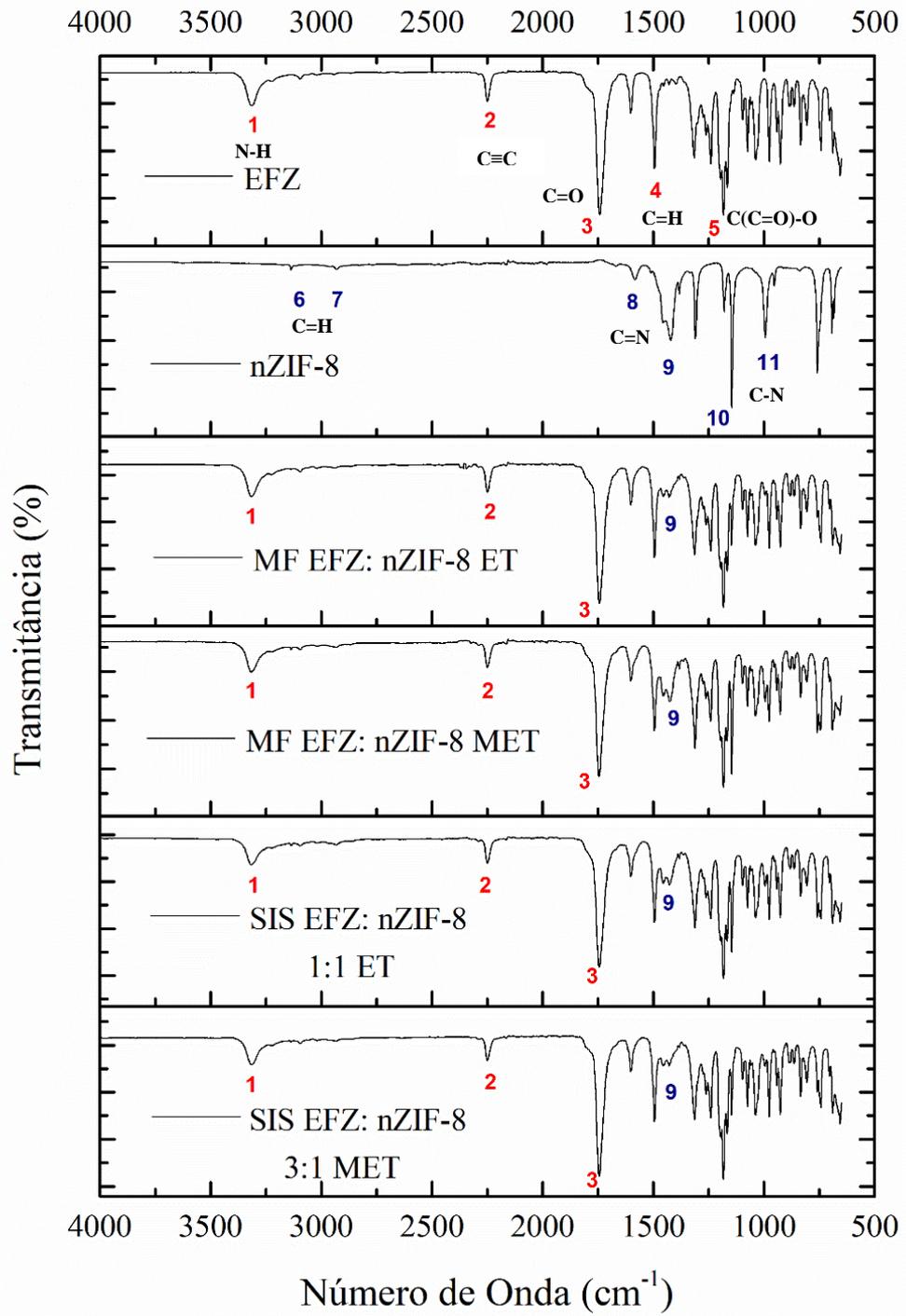
No espectro de absorção da nZIF-8 em $3139,92$ e $2938,22\text{ cm}^{-1}$ (Figura 27 - nZIF-8 6 e 7) são exibidas duas bandas discretas relacionadas ao estiramento de C-H de compostos aromáticos e alifáticos referentes ao anel imidazol, respectivamente. A vibração de estiramento de C=N do anel imidazol apareceu em $1584,37\text{ cm}^{-1}$ (Figura 27 - nZIF-8 8). As bandas de forte intensidade em $1418,16\text{ cm}^{-1}$, $1147,07$ e $992,16\text{ cm}^{-1}$ (Figura 27 - nZIF-8 9, 10 e 11) foram atribuídas ao estiramento 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).

Analisando os espectros das MFs e dos sistemas (Figura 27 - MF EFZ:nZIF-8 ET; MF EFZ:nZIF-8 MET; SIS EFZ:nZIF-8 ET e SIS EFZ:nZIF-8 MET) foi possível observar que correspondem a sobreposição das bandas do EFZ e da nZIF-8. A presença do fármaco em questão é evidenciada nos espectros dessas amostras, em 3313 cm^{-1} (1), 2249 cm^{-1} (2) e 1743 cm^{-1} (3), a deformação axial da ligação N-H, C=O e o estiramento C≡C respectivamente. Essas bandas características do EFZ foram mantidas sem praticamente nenhuma alteração de intensidade. Com relação a presença da nZIF-8, foi possível notar a diminuição da intensidade da banda de absorção referente ao grupamento C-N $1418,16\text{ cm}^{-1}$ (Figura 27 - MF EFZ:nZIF-8 ET; MF EFZ:nZIF-8 MET; SIS EFZ:nZIF-8 ET e SIS EFZ:nZIF-8 MET – 9), em maior

intensidade na MF EFZ:nZIF-8 ET e no sistema EFZ:nZIF-8 MET, confirmando que a mesma interage de maneira efetiva com o EFZ.

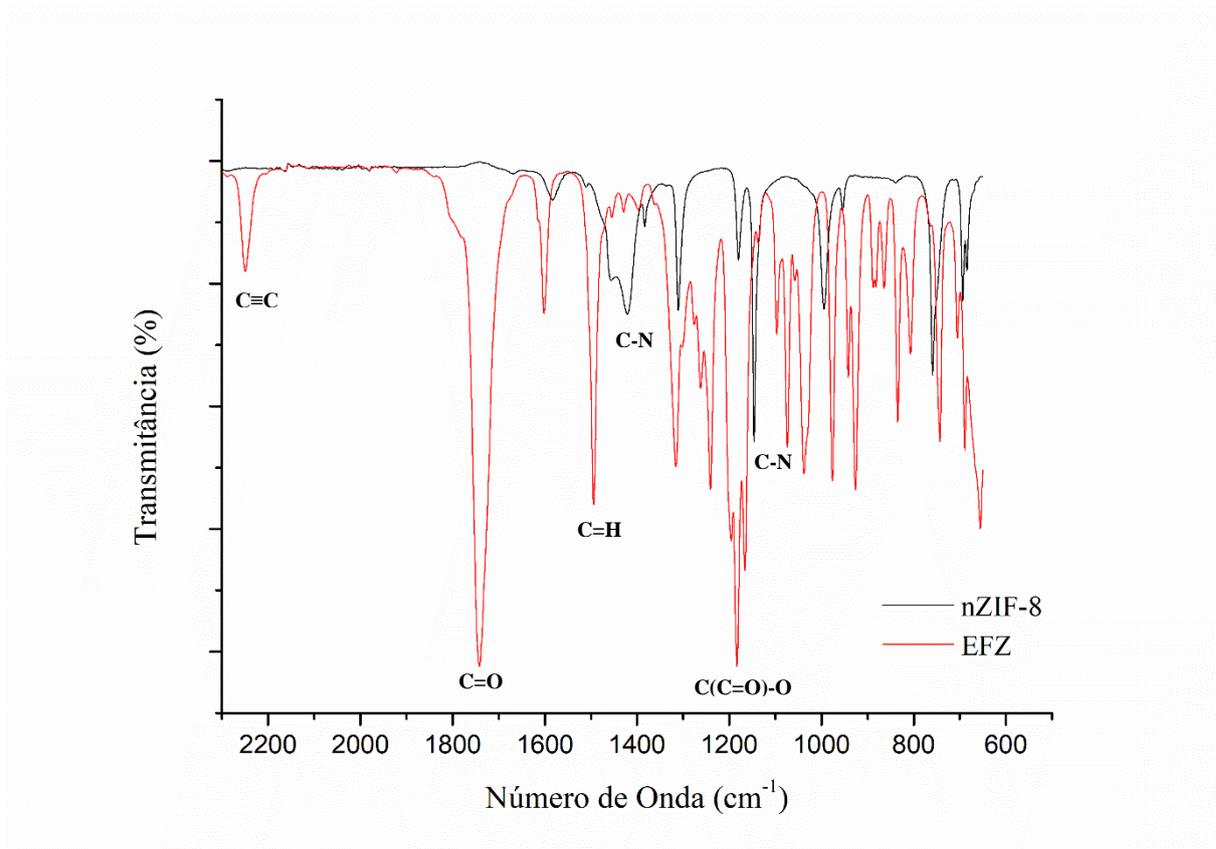
Assim, ao comparar os espectros de infravermelho dos sistemas, das MFs e das substâncias isoladas, é notável que algumas bandas do EFZ e da nZIF-8 isolados não são bem evidenciados, devido a sobreposição das mesmas. Entretanto, observou-se que tanto os sistemas como as MFs apresentaram as principais bandas em menor intensidade, indicando, desta forma, indícios de interação entre o EFZ e a nZIF-8. Além disso, os espectros infravermelho do EFZ e da nZIF-8 isolados foram sobrepostos em um gráfico (Figura 28), a partir do comprimento de onda 2000 cm^{-1} , enfatizando que nas MFs e nos sistemas não houveram o aparecimento de novas bandas que não as características do EFZ e da nZIF-8, indicando que as possíveis interações entre esses dois componentes nos sistemas se deu a partir da adsorção ou interação física e não por reações químicas.

Figura 27 – Espectros de infravermelho do EFZ, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.



Fonte: Autoria própria.

Figura 28 – Espectros de infravermelho do EFZ e nZIF-8 sobrepostos.



Fonte: Autoria própria.

4.5.2 Termogravimetria (TG)

Parte da caracterização térmica do EFZ, nZIF-8, Misturas físicas e Sistemas realizada nesse estudo foi baseada na análise termogravimétrica. Uma vez que, esta fornece dados importantes sobre a estabilidade térmica das amostras, evidenciando eventos de degradação frente à temperatura, informações que podem corroborar a formação dos sistemas (Figura 29).

A curva termogravimétrica do EFZ apresentou que ele é termicamente estável até 173,71°C, com uma decomposição térmica em apenas uma etapa entre 173,71 e 290,29 °C ($DTG_{pico} = 242,66^{\circ}C$) com uma perda de massa de 87,86%. Resultados similares foram encontrados nos trabalhos de Freitas-Neto (2018) e Costa (2016) onde também só foi observado um único evento de decomposição entre 180 e 300 °C com perda de massa de 86,16% e 84,9% respectivamente.

Já a curva TG da nZIF-8 demonstra que ela possui elevada estabilidade térmica, até 390,47°C que pode ser corroborada pela baixa perda de massa até essa temperatura, 4%. Iniciando com uma discreta perda de massa de 0,2% entre 27,79 e 89,66°C ($DTG_{pico} = 51,21^\circ\text{C}$) onde geralmente as perdas de massa até 100°C são associadas à perda de umidade ou resquícios de metanol presentes nos poros da MOF de acordo com Chowdhuri e Colaboradores (2017). E o evento de decomposição térmica da nZIF-8 ocorreu em única etapa, entre 390,47 e 793,4°C ($DTG_{pico} = 661,84^\circ\text{C}$), com significativa perda de massa de 58,6%, relacionada de acordo com Silva e Colaboradores (2018), com a perda da parte orgânica da nZIF-8, o imidazolato. Esses achados estão de acordo com os descritos por Ferreira (2020) e Silva e Colaboradores (2018).

A partir da análise das MFs são observados dois eventos térmicos bem definidos. Na curva TG da MF EFZ:nZIF-8 ET o primeiro evento acontece entre 190,89 e 286,75°C ($DTG_{pico} = 241,66^\circ\text{C}$) com perda de massa de 29,39%, que se assemelha ao evento de degradação térmica do fármaco quando comparada com a curva TG do fármaco isolado, ocorrendo praticamente dentro da mesma faixa de temperatura. E o segundo evento ocorre entre 400,52 e 672,44°C ($DTG_{pico} = 519,22^\circ\text{C}$) com perda de massa de 45,66% que parece o evento de decomposição térmica do imidazolato da nZIF-8 (SILVA et al., 2018), quando confrontada com o termograma da nZIF-8 isolada, porém em uma faixa diferente, sugerindo que a interação física que ocorre entre o EFZ e a nZIF-8 pode provocar alguma alteração na parte orgânica da nZIF-8.

A curva TG da MF EFZ:nZIF-8 MET iniciou com um evento entre 188,83 e 280,64°C ($DTG_{pico} = 239,71^\circ\text{C}$) com perda de massa de 25,65%, também similar ao de degradação térmica do fármaco, como pode ser observado na curva TG do fármaco isolado. E um outro evento entre 409,78 e 748,67°C ($DTG_{pico} = 552,35^\circ\text{C}$) com perda de massa de 43,98% que parece ter relação com a decomposição térmica da porção orgânica da nZIF-8 (SILVA et al., 2018), porém com uma discreta antecipação quando comparado com a curva TG da nZIF-8 isolada, também indicando que a interação física que aconteceu entre o EFZ e a nZIF-8 conseguiu alterar algo na porção orgânica da nZIF-8.

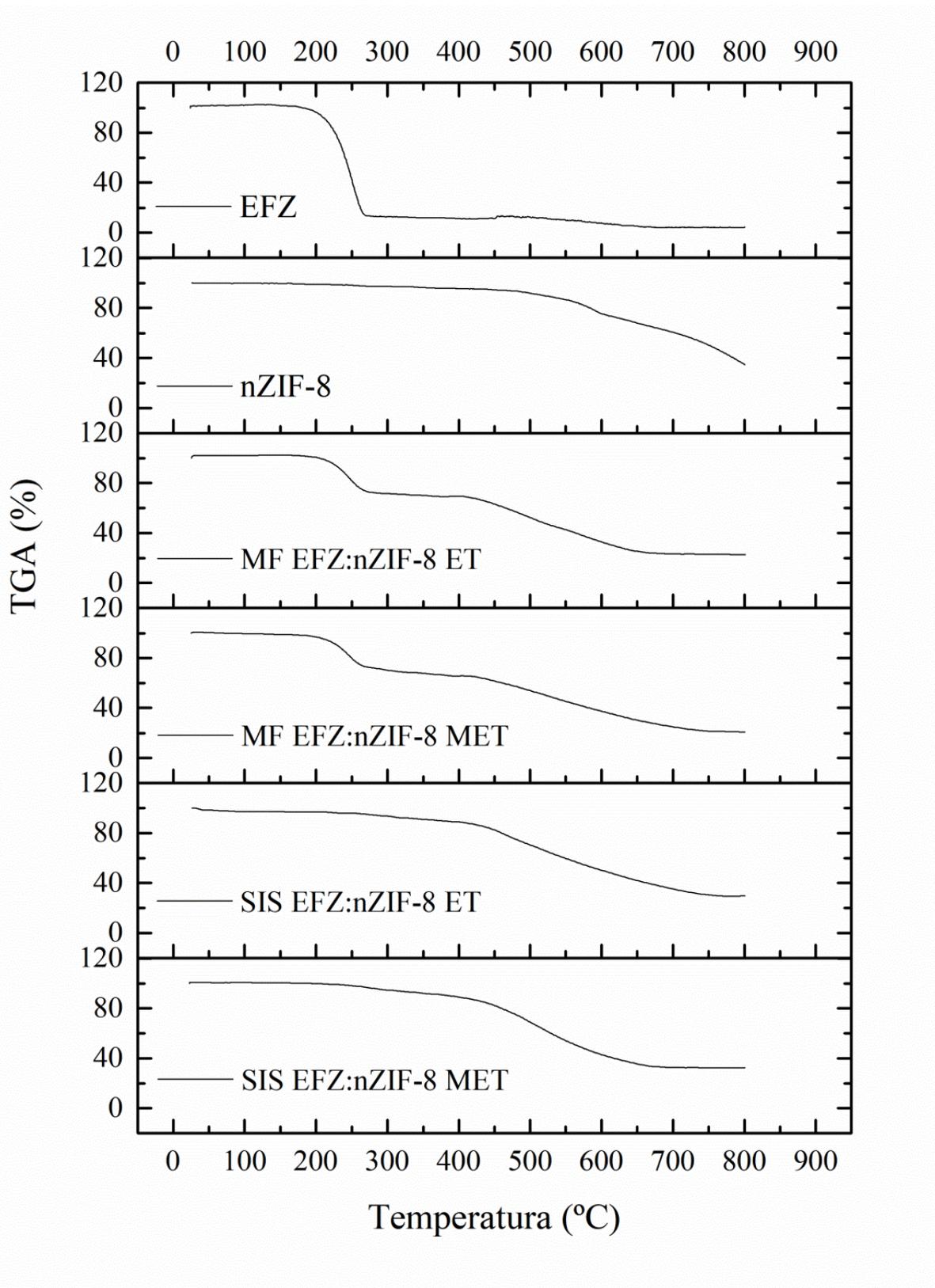
Enquanto que na análise dos termogramas dos sistemas encontram-se três eventos, dois deles pouco definidos e um bem definido. No termograma do SIS EFZ:nZIF-8 ET o primeiro evento está entre 26,09 e 80,47°C ($DTG_{pico} = 35,44^\circ\text{C}$) com perda de massa de 2,42%, que pode ser devido a perda de umidade e resquício de etanol do processo de obtenção dos sistemas. Um segundo evento bastante discreto entre 213,88 e 389,77°C ($DTG_{pico} = 272,48^\circ\text{C}$) com perda de massa de 7,42% provavelmente de degradação do EFZ, evento este adiado quando comparado com a curva TG do EFZ isolado, o que sugere uma certa proteção térmica do fármaco pela

nZIF-8. E por último o evento indicativo de degradação da porção imidazolato na nZIF-8 (SILVA et al., 2018) entre 400,21 e 757,21°C ($DTG_{pico} = 535,9^{\circ}C$) com perda de massa de 58,75%, que foi antecipado quando confrontado com a nZIF-8 isolada, sugerindo que a interação que aconteceu entre o EFZ e a nZIF-8 foi capaz de desestabilizar a porção orgânica da nZIF-8 (FERRAZ, 2017).

E no termograma do sistema SIS EFZ:nZIF-8 MET também foi identificado um evento inicial entre 23,31 e 39,77°C ($DTG_{pico} = 31,23^{\circ}C$) com perda de massa de 0,14% indicativa de perda umidade e resquício de metanol do processo de obtenção dos sistemas. Um outro evento entre 190,94 e 350,33°C ($DTG_{pico} = 250,34^{\circ}C$) com perda de massa de 8,01%, com leve adiamento desse evento quando observado junto a curva TG do EFZ isolado, que provavelmente está relacionado a degradação do fármaco. E por fim, outro evento entre 368,67 e 685,60°C ($DTG_{pico} = 518,06^{\circ}C$) com perda de massa de 58,48%, parecido com o de degradação da nZIF-8 isolada (SILVA et al., 2018), que foi antecipado, também indicando que a interação ocorrida foi capaz de desestabilizar a porção orgânica da nZIF-8 (FERRAZ, 2017).

Com isso é possível observar que pelas simples interações físicas dos compostos nas misturas físicas houve um somatório dos termogramas dos compostos isolados, EFZ e nZIF-8, com dois eventos bem definidos de degradação, um possivelmente relacionado a degradação térmica do EFZ e outro da porção orgânica nZIF-8, sem grandes alterações e antecipações das temperaturas desses eventos de degradação, ambas as MFs demonstraram comportamento parecido. Enquanto que os sistemas apresentaram curvas TG também bem semelhantes entre si, mas similares a curva da nZIF-8 isolada, sendo possível observar os eventos sugestivos de degradação do fármaco aconteceram de maneira bem discreta e adiada, esse adiamento foi ainda mais significativo no SIS EFZ:nZIF-8 ET indicando certa proteção térmica do EFZ pela nZIF-8 e outro evento definido semelhante a degradação da porção orgânica da nMOF, que foram antecipados principalmente no SIS EFZ:nZIF-8 MET, indicativo de uma desestabilização dessa porção orgânica, dados que corroboram para a formação dos sistemas. Além disso, as perdas de massa correspondentes a degradação do EFZ em ambos os sistemas foram muito semelhantes aos conteúdos de carga de EFZ calculados para cada um dos sistemas, sugerindo que tais amostras possuíam massas de fármaco significativas interagindo com a nZIF-8.

Figura 29 - Curvas TG do EFZ, da nZIF-8, das Misturas Físicas e dos Sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.



Fonte: Autoria própria.

4.5.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A caracterização térmica do EFZ, nZIF-8, Misturas físicas e Sistemas obtidos neste trabalho também foi realizada através da técnica de DSC. A calorimetria é útil para avaliar a forma do fármaco (amorfa ou cristalina) nas MFs e sistemas com nZIF-8, bem como para verificar o comportamento entre o EFZ e o carreador. As curvas de DSC dos compostos encontram-se representadas na Figura 30.

Na curva DSC do EFZ (Figura 30) pôde ser evidenciado um pico endotérmico bem intenso e definido na faixa de temperatura entre 134,38°C – 139,12°C ($T_{pico} = 137,01$ °C) ($\Delta H = 99,65$ mJ), característico do processo de fusão da sua estrutura cristalina, visto que esse evento é comum em materiais com a mesma característica de arranjo organizado. Resultados semelhantes foram descritos por Costa (2016) e Tabosa (2020).

Na curva DSC da nZIF-8 (Figura 30) houveram eventos com pouca definição, explicados por sua natureza orgânica e inorgânica e que demonstra sua boa estabilidade térmica (CRAVILLON et al., 2009). Pode-se observar a ocorrência de eventos exotérmicos ($T_{pico} = 35,57$ °C; $T_{pico} = 90,39$ °C; $\Delta H_1 = 33$ mJ; $\Delta H_2 = 66,33$ mJ) e endotérmico ($T_{pico} = 134,90$ °C) ($\Delta H = 103,26$ mJ) discretos semelhantes aos sugeridos por Kaur e colaboradores (2017) e explicados pela remoção de moléculas não reagidas (metil-imidazol) que ficam nos poros do nanomaterial após seu processo de síntese. Além disso, por se tratar de uma molécula híbrida (orgânica-inorgânica) como dito anteriormente e por não apresentar processos de degradação consideráveis até em torno de 400 °C, foi analisada a curva DTA da nZIF-8 (Apêndice A). Nesta, foi possível observar a ocorrência de três eventos térmicos na faixa entre 434,88 °C e 704,45 °C ($T_{pico} = 490,89$ °C; $T_{pico} = 621,23$ °C e $T_{pico} = 664,70$ °C) indicando liberações de energia sugestivas de clivagens das ligações químicas, por se tratar de uma faixa onde a nZIF-8 exibe o processo de decomposição da sua porção orgânica, de acordo com o relatado na análise de TG dessa mesma amostra e corroborando com os resultados encontrados por pesquisadores anteriores (FERRAZ, 2017; TABOSA, 2020; FERREIRA 2020).

Na mistura física EFZ:nZIF-8 ET pôde-se observar que o evento endotérmico referente ao pico de fusão do EFZ esteve presente ($T_{pico} = 136,20$ °C) mas não se apresentou como uma antecipação significativa do evento térmico. A curva evidenciou uma redução da energia de entalpia do evento ($\Delta H = 24,11$ mJ). Este fenômeno é característico de materiais poliméricos, tais como: PEG, PVP, HPMC; que possibilitam o incremento da solubilidade do material, uma vez que há necessidade de uma menor quantidade de energia para solubilizar o fármaco. Tal

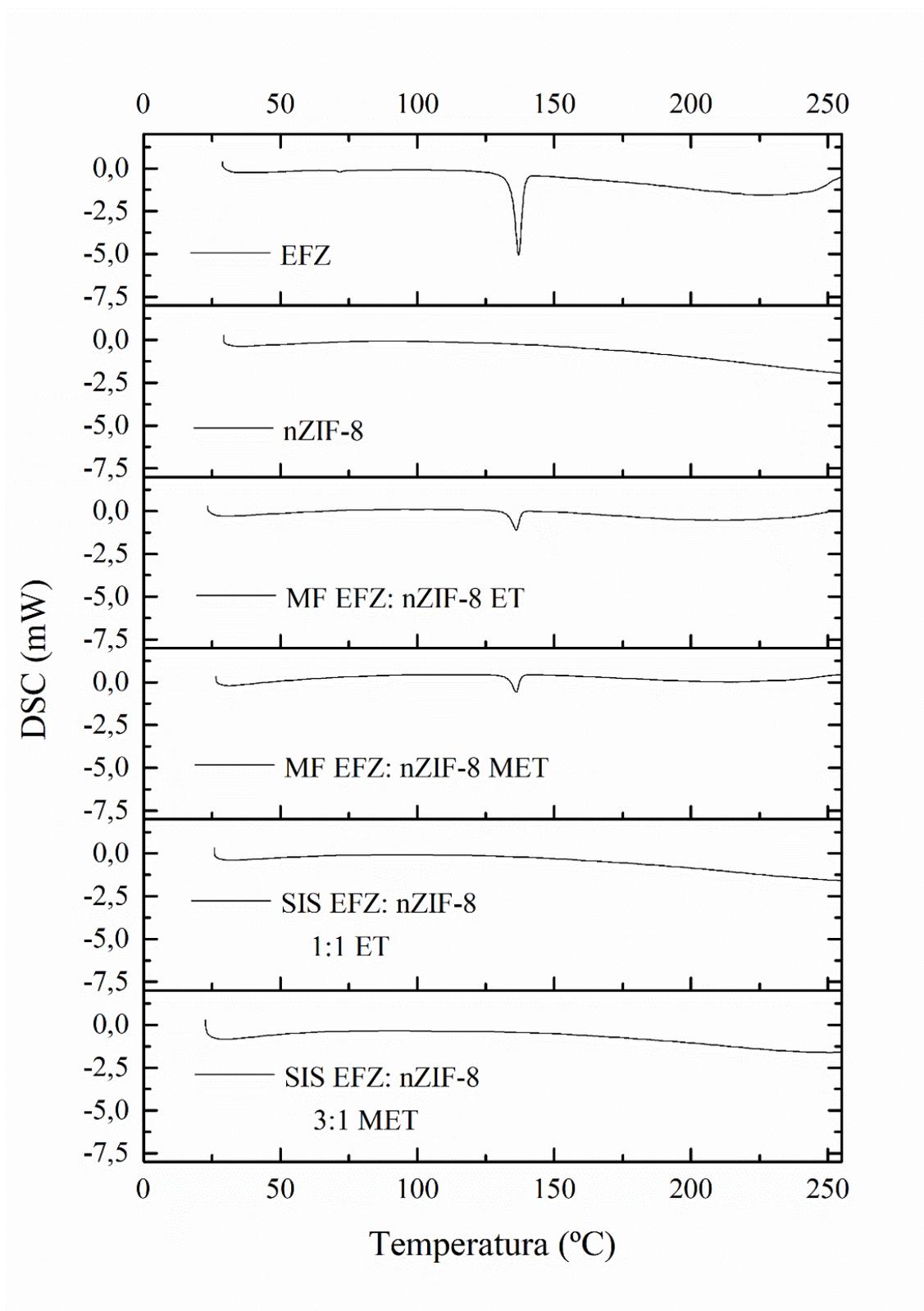
comportamento já foi amplamente discutido por trabalhos anteriores do grupo (COSTA et al., 2013; LIMA et al., 2011).

A curva DSC da MF EFZ:nZIF-8 MET (Figura 30) demonstrou-se muito parecida com a anterior, onde também foi possível observar que o evento referente a fusão do fármaco ocorre na mesma faixa de temperatura ($T_{pico} = 136,13 \text{ }^\circ\text{C}$), e que houve redução da energia de entalpia quando comparado ao fármaco isolado ($\Delta H = 21,52 \text{ mJ}$), sendo que uma redução maior em relação a MF EFZ:nZIF-8 ET. Dessa forma, estas curvas sugerem que a simples mistura física do EFZ com a nZIF-8 promove a formação de uma importante interação fármaco-excipiente.

Na curva DSC do SIS EFZ:nZIF-8 MET (Figura 30), embora não seja praticamente possível observar na imagem, foi detectado um evento extremamente discreto que pode ser correlacionado com o evento de fusão do fármaco ($T_{pico} = 111,17 \text{ }^\circ\text{C}$), significando assim uma importante antecipação do evento e em adição uma redução drástica da energia de entalpia ($\Delta H = 1,38 \text{ mJ}$), que juntos sugerem que esta característica térmica do EFZ logo iria desaparecer e que o processo de obtenção do sistema foi mais eficiente no sentido de alterar o comportamento térmico do fármaco. Entretanto, não completamente eficaz quando comparado ao SIS EFZ:nZIF-8 ET (Figura 30), pois, ao analisar sua respectiva curva DSC, foi possível observar que diferentemente do sistema obtido em metanol, o pico de fusão do EFZ não foi observado, tornando a curva desse sistema bem mais similar à curva da nZIF-8.

A completa ausência do pico de fusão do EFZ no SIS EFZ:nZIF-8 é sugestivo de uma amorfização mais eficiente da estrutura, visto que o fármaco pode se encontrar tão solvatado no sistema que teve seu evento endotérmico completamente inibido pela interação com o material nZIF-8 no processo de formação do sistema, representando uma forma de obtenção de sistema mais eficiente em termos de modificação da forma cristalina do EFZ do que simplesmente a mistura física dos dois materiais, uma vez que envolve a solubilização dos componentes, ou seja, desorganização cristalina e consequente solvatação pelas moléculas do solvente, favorecendo interações que após retirado o solvente mantenham o material com cristalinidade reduzida ou amorfo (DANDA, 2018; TIMÓTEO, 2018). Os resultados das caracterizações por DRX e por MEV podem corroborar com a confirmação da natureza cristalina ou amorfa das MFs e dos sistemas.

Figura 30 - Curvas DSC do EFZ, da nZIF-8, das Misturas Físicas e dos Sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.



Fonte: Autoria própria.

4.5.4 Difractometria de Raios- X (DRX)

A caracterização por DRX possui grande importância no campo farmacêutico por ser capaz de estudar e caracterizar a cristalinidade ou o processo de amorfização dos fármacos pela interação com excipientes que compõem um sistema (BAIRD e TAYLOR, 2012). Neste sentido, os difratogramas das amostras isoladas de EFZ e nZIF-8, das misturas físicas e dos sistemas obtidos estão representados na Figura 31 e foram interpretados para observar possíveis interações que possam ter ocorrido entre os insumos.

O perfil de difração de raios-x do EFZ apresenta pico principal a 2θ em torno de $6,17^\circ$, além de outros picos secundários em $14,21^\circ$, $16,97^\circ$, $21,26^\circ$ e $24,93^\circ$, evidenciando o seu caráter cristalino. O trabalho de Gomes (2014) e Tabosa (2020) descreve picos de intensidade bastante similares para o EFZ, revelando a autenticidade do insumo farmacêutico ativo adquirido.

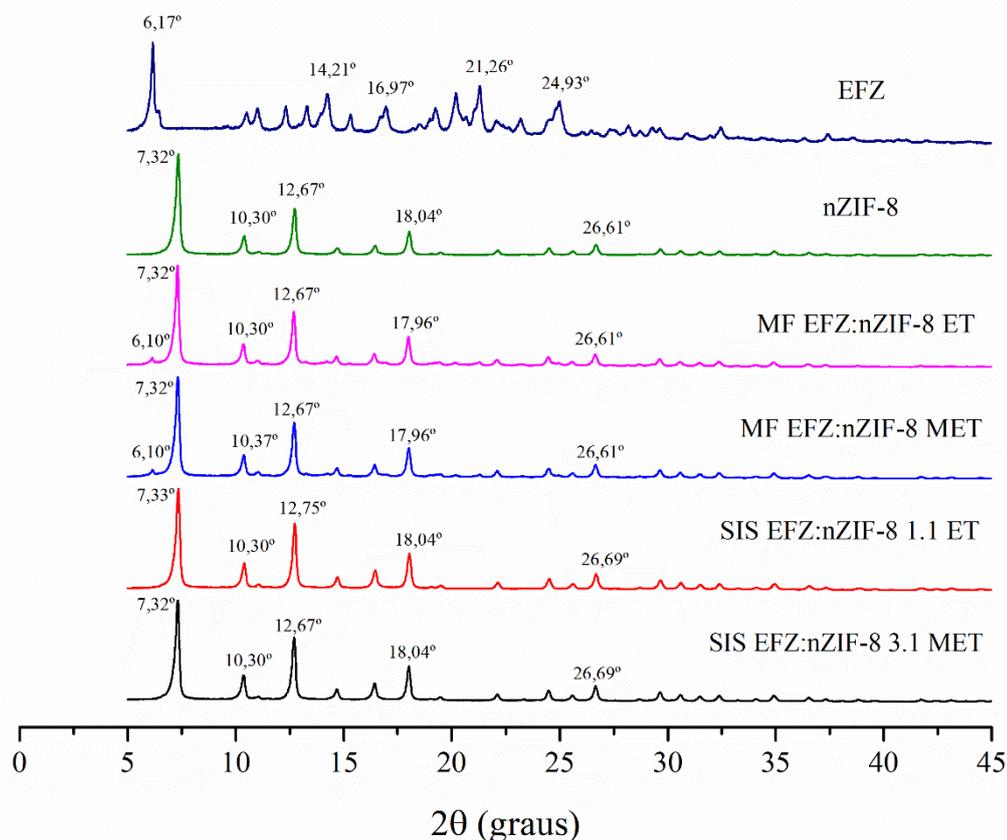
O difratograma da nZIF-8 revelou sua natureza cristalina a partir dos picos de alta intensidade em torno de $7,32^\circ$ e de média intensidade em torno de $10,30^\circ$, $12,67^\circ$, $18,04^\circ$, $26,61^\circ$ que estão de acordo com os apresentados por Nune e colaboradores (2010), confirmando que a amostra possui fase pura de nZIF-8. Os picos $7,32^\circ$, $10,30^\circ$ e $12,67^\circ$ 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 EFZ 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).

Os difratogramas das MFs evidenciaram um perfil de cristalinidade muito semelhante ao da nZIF-8 isolada entretanto foi possível observar em ambos, a ocorrência de um pico de pequena intensidade que provavelmente é o pico cristalino principal do EFZ ($6,10^\circ$), representando portanto, um somatório dos perfis de ambos os insumos por demonstrarem possuir os seus picos característicos. Entretanto, nitidamente, o comportamento cristalino da nZIF-8 demonstrou-se mais evidente devido ao intenso pico em $7,32^\circ$.

Diferentemente das MFs, os sistemas apresentaram difratogramas sem a ocorrência do pico principal do EFZ, ou seja, quase que totalmente idênticos ao difratograma da nZIF-8 isolada. Quase que totalmente por que pode ter ocorrido o aparecimento de algum pico de cristalinidade pertencente ao EFZ nessas amostras, mas que podem ter sido sobrepostos pelos picos da nZIF-8. Fica evidente que os sistemas apresentam comportamento cristalino igual ao da nZIF-8 sugerindo que o EFZ está incorporado ou adsorvido à essa nanoestrutura, o que confirma a formação do sistema.

Apesar da análise de DRX não evidenciar sistemas amorfos, pois a nZIF-8 é um material cristalino, a mesma demonstrou desaparecimento do pico característico da cristalinidade do EFZ, o que determina alteração ou desestruturação da natureza cristalina do fármaco em específico.

Figura 31 - Difratomogramas de Raios-X do EFZ, nZIF-8, Misturas Físicas e Sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.



Fonte: Autoria própria.

Pelo fato da nZIF-8 ser um material lamelar, o cálculo do espaçamento basal (d) pode ser uma ótima ferramenta para comprovar a formação dos sistemas, pois, o espaço entre as lamelas pode mudar com o aporte do fármaco, ora de forma física, ora com presença de cargas elétricas e está intimamente ligado à liberação modificada de fármacos (XIONG et al., 2015). Além disso, este cálculo permite descrever qual possível interação ocorreu entre o fármaco e o carreador, se adsorção ou incorporação, e é realizado utilizando a equação de Bragg.

Os valores do espaçamento basal (d) foram utilizados como parâmetro para identificar a inserção do EFZ à molécula da nZIF-8. Quando estes valores são maiores que o basal indicam

que o fármaco foi inserido à molécula e, por isso, dilatam os espaços interlamelares. Entretanto, pôde-se observar ao comparar os picos de reflexão característicos da cristalinidade da nZIF-8 isolada (011, 002 e 112) com os picos das demais amostras (Tabela 9), que os valores obtidos foram bem próximos. O fato não exclui a formação do sistema, mas é sugestivo de uma adsorção do fármaco à superfície da nZIF-8, caracterizando uma interação física, corroborando com os resultados obtidos na caracterização físico-química de FTIR (HE et al., 2014; ZHU et al., 2016).

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

Amostra	Pico ($^{\circ}2\theta$)	Reflexão (%)	Espaçamento Basal (Å)
nZIF-8	7,32	011	12,08
	10,30	002	8,59
	12,67	112	6,99
MF EFZ:nZIF-8	7,32	011	12,08
	10,30	002	8,59
	12,67	112	6,99
ET	7,32	011	12,08
	10,37	002	8,54
	12,67	112	6,99
MF EFZ:nZIF-8	7,33	011	12,06
	10,30	002	8,59
	12,75	112	6,95
SIS EFZ:nZIF-8	7,32	011	12,08
	10,30	002	8,59
	12,67	112	6,99
1.1 ET	7,32	011	12,08
	10,30	002	8,59
	12,67	112	6,99
SIS EFZ:nZIF-8	7,32	011	12,08
	10,30	002	8,59
	12,67	112	6,99
3.1 MET	7,32	011	12,08
	10,30	002	8,59
	12,67	112	6,99

Fonte: Autoria própria.

4.5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise por MEV possui uma grande importância na área farmacêutica já que pode ser utilizada para o conhecimento detalhado da microestrutura dos produtos isolados e seus binários que, desta forma, permite realizar uma correlação entre a estrutura morfológica e o tamanho das partículas com os resultados obtidos por meio das demais análises realizadas na

investigação da formação dos sistemas. As eletromicrografias do EFZ e da nZIF-8 isolados, MF e dos sistemas obtidos estão ilustrados na Figura 32.

A eletromicrografia do EFZ (Figura 32.A) demonstrou seu aspecto cristalino irregular bastante característico, com formato ortorrômbico de tamanho regular, que já foi identificado em trabalhos prévios do grupo (VIERA, 2011; COSTA, 2016; TABOSA, 2020).

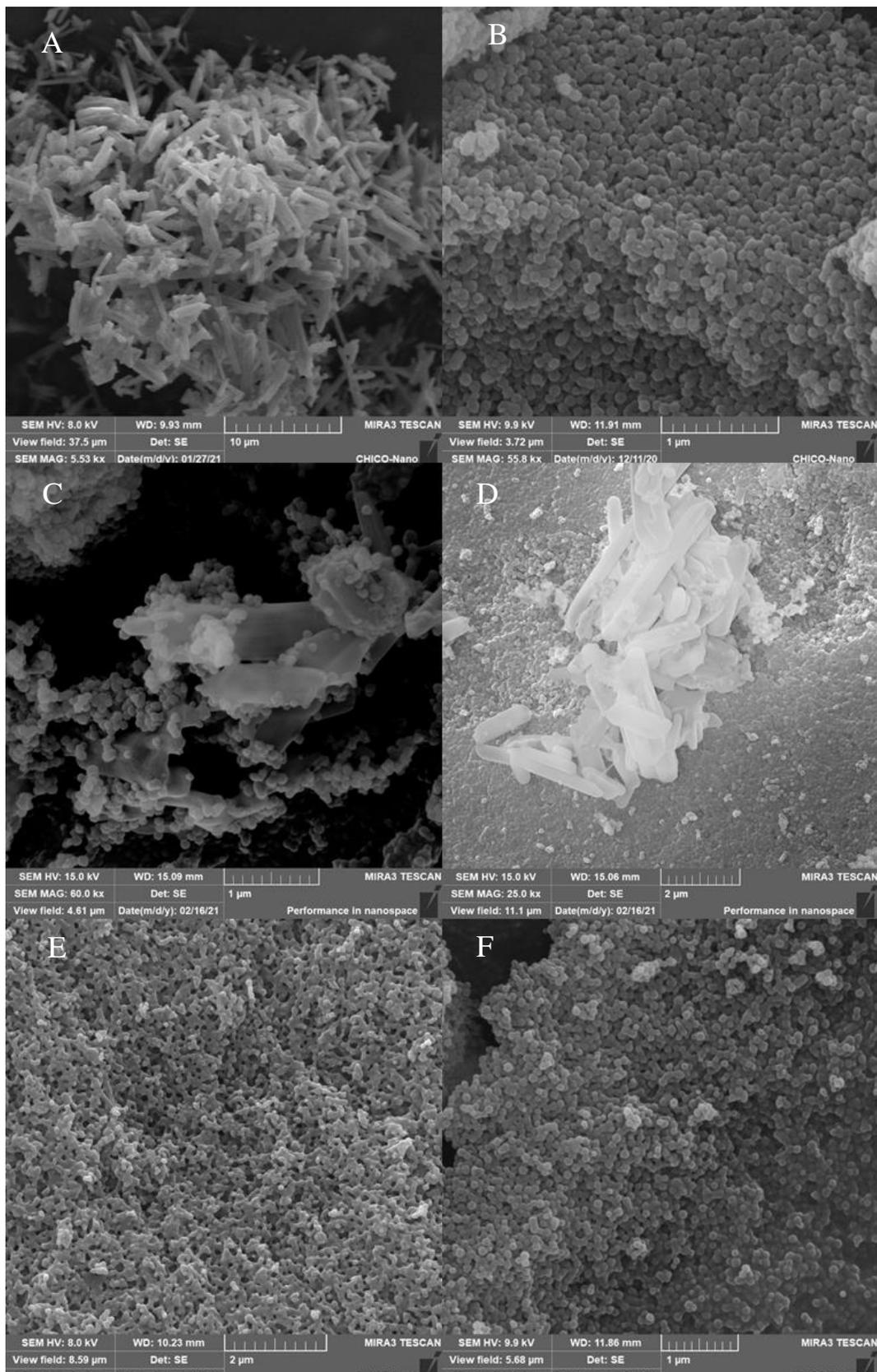
A eletromicrografia da nZIF-8 (Figura 32.B) demonstrou cristais aglomerados de formato hexagonal (quase esférico) característicos da nZIF-8, com tamanhos regulares em torno de 100 nm, evidenciando dessa forma a natureza manométrica do material, confirmando os dados obtidos no DRX da mesma no que tange 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 $Zn(NO_3)_2$, que foi o precursor da nZIF-8 utilizada nesse trabalho (CRAVILLON et al., 2009; ZHENG et al., 2015; ZHENG et al., 2016).

Com relação ao MEV das MFs (Figuras 32. C e D) este confirmou claramente a adsorção física entre o EFZ e a nZIF-8, pois foi possível observar a deposição dos cristais esféricos da nZIF-8 sobre a superfície dos irregulares cristais de EFZ. As estruturas dos componentes dessas MFs permaneceram com a mesma morfologia, indicando, desta forma, que possivelmente não houveram ligações químicas entre estes, ou qualquer alteração quanto suas cristalinidades, resultado este que corrobora com os encontrados nas caracterizações por DRX e DSC.

Diferentemente da eletromicrografia da MF, nos MEVs correspondentes aos sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol (Figura 32. E e F) foram notadas alterações quanto as estruturas dos insumos, visto que, os cristais do fármaco não foram mais visualizados, levando a acreditar que este pode estar disperso nos poros da nZIF-8, enquanto esta, apresenta agora partículas um pouco mais coesas, porém de mesma morfologia hexagonal. Sendo assim, os sistemas apresentaram aspecto homogêneo, muito mais semelhante ao da nZIF-8, evidenciando que o método de obtenção pode ter sido capaz de proporcionar interações químicas entre o EFZ e a nZIF-8. O tamanho das partículas dos sistemas ficaram em torno de 100 nm assim como na nZIF-8 isolada caracterizando-os como nanoparticulados.

Os resultados do MEV dos sistemas corroboram com o DRX dessas amostras, onde os picos característicos do fármaco não apareceram e os da nZIF-8 foram vistos com alta intensidade. No DSC dos sistemas, o pico de fusão do fármaco não foi detectado para o SIS EFZ:nZIF-8 ET e foi discretamente visível no SIS EFZ:nZIF-8, confirmado que estrutura cristalina do fármaco foi desorganizada e que os sistemas foram formados.

Figura 32 - Microscopia Eletrônica de Varredura A) EFZ; B) nZIF-8; C) MF EFZ:nZIF-8 1:1 ET; D) MF EFZ:nZIF-8 3:1 MET; E) SIS EFZ:nZIF-8 1:1 ET e F) SIS EFZ:nZIF-8 3:1 MET.

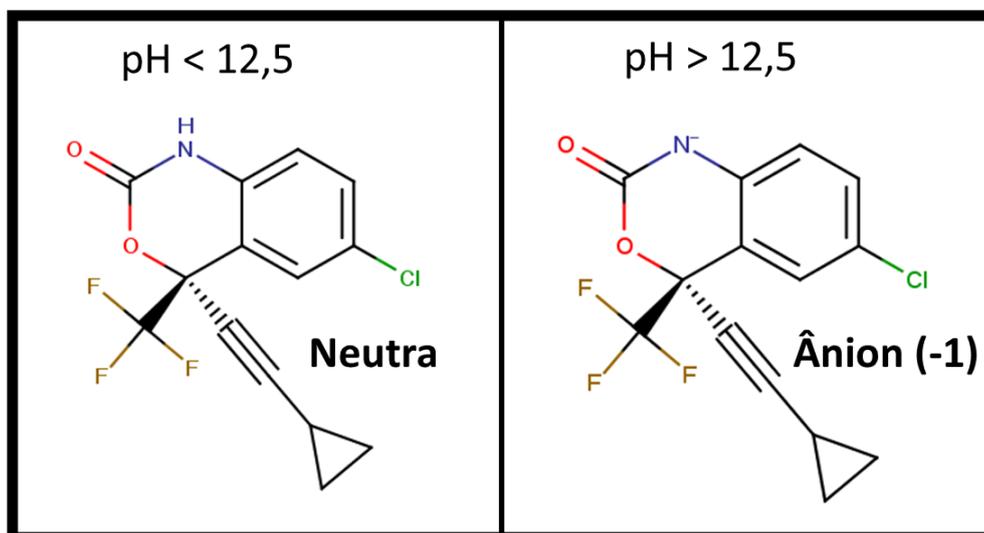


Fonte: Autoria própria.

4.6 ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR

O *software* MarvinSketch identificou 2 microespécies do fármaco Efavirenz considerando uma faixa de pH entre 0 e 14. Para valores de pH inferiores a 12,5 a microespécie neutra é a mais abundante, já para valores acima de 12,5 a microespécie aniônica se torna majoritária. À medida que ocorre o incremento do pH, o equilíbrio é deslocado para a formação da base conjugada do grupo benzoxazin-2-ona. Desta forma, a microespécie majoritária em valores de pH acima de 12,5, apresenta carga formal -1. As estruturas das duas microespécies identificadas podem ser visualizadas na Figura 33.

Figura 33 – Microespécies majoritárias do EFZ em função do pH.



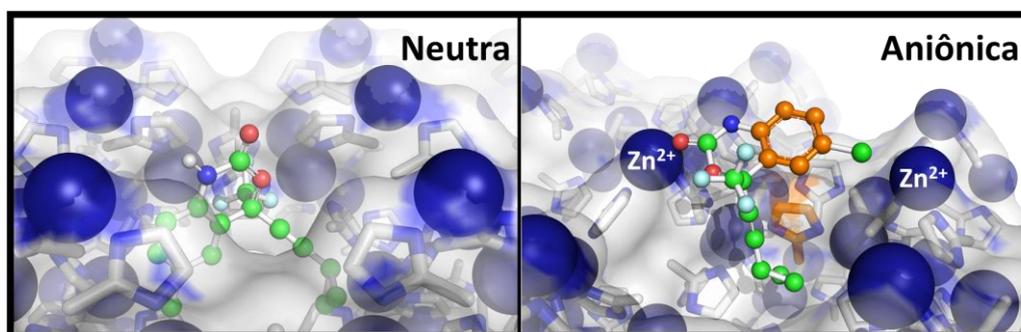
Fonte: Autoria própria.

Para cada microespécie foram realizados 300 cálculos de *docking*, agrupados em *clusters* com variação de RMS (*root mean square*) menor que 1,0 Å entre as estruturas, totalizando 600 cálculos de *docking*. A solução de *docking* mais favorável para cada microespécie foi definida como sendo a melhor solução dentro do *cluster* de menor energia e maior representatividade. A Figura 34 mostra as melhores soluções de *docking* para as duas microespécies analisadas. Para a microespécie neutra a solução mais favorável apresentou energia no valor de -1,85 kcal.mol⁻¹, enquanto a solução para a microespécie aniônica apresentou energia no valor de -2,19 kcal.mol⁻¹. A microespécie neutra foi acomodada dentro da cavidade da nZIF-8, principalmente por interações hidrofóbicas. Já a microespécie aniônica, apresenta a porção ciclopropil dentro da cavidade e a porção benzoxazin-2-ona posicionada na superfície, devido as interações eletrostáticas entre os cátions Zn²⁺ da nZIF-8 e a carbonila e o

átomo de cloro do EFZ. Ainda é possível observar uma interação do tipo “empilhamento em T” entre os elétrons π do anel benzênico do EFZ e do anel metilimidazol da nZIF-8, destacados em laranja na Figura 34.

Desta forma, os resultados de *docking* sugerem a ocorrência da incorporação do Efavirenz na cavidade da ZIF-8 dentro da faixa de pH avaliada, corroborando com os resultados das caracterizações que também indicam a obtenção do sistema EFZ:ZIF-8.

Figura 34 – Soluções de docking molecular mais favoráveis entre nZIF-8 e as microespécies do EFZ, destaque para o anel metilimidazol que interage por meio de interações do tipo “empilhamento em T” (laranja).



Fonte: Autoria própria.

4.7 ESTUDOS DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DOS SISTEMAS EFZ:NZIF-8 E MISTURAS FÍSICAS

4.7.1 Ensaio de solubilidade do EFZ

A solubilidade de um fármaco é uma propriedade de grande influência sob os diferentes aspectos relativos à absorção, pois apenas o fármaco solúvel e dissolvido sob condições fisiológicas é capaz de ser absorvido (TABOSA, 2020; FERREIRA, 2020). Sendo assim, o ensaio de solubilidade do EFZ foi realizado a fim de identificar as condições *sinks* para execução do ensaio de dissolução *in vitro*.

Solubilidade do EFZ foi avaliada em diferentes meios: tampão ácido clorídrico pH 1,2; tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato de sódio pH 6,8, todos com a presença do surfactante LSS, de forma a satisfazer as normas preconizadas pela Farmacopeia Brasileira. A tabela 10 mostra os resultados obtidos e os mesmos se assemelham aos resultados obtidos por Pinto e

colaboradores (2014), onde o maior valor de solubilidade do EFZ foi de 2,12 mg/mL em tampão acetato pH 4,5 e o menor valor foi de 0,49 mg/mL em tampão ácido clorídrico pH 1,2.

Tabela 10 – Solubilidade do EFZ (mg/mL) em diferentes meios.

Meios	Solubilidade (mg/mL)
Tampão ácido clorídrico pH 1,2 + 1,0% LSS	0.4985
Tampão acetato de sódio pH 4,5 + 1,0% LSS	2.1267
Tampão fosfato de sódio pH 6,8 +1,0% LSS	2.0312

Fonte: Autoria própria.

4.7.2 Estudos dos perfis de dissolução *in vitro*

Os estudos de dissolução são uma importante ferramenta de controle de qualidade nas várias etapas dos processos de desenvolvimento de fármacos, com o intuito de avaliar o quanto estes se dissolvem no meio, visto que, o processo de absorção no organismo depende deste fator. Estes estudos são realizados geralmente em condições *sink*, que preconizam a utilização de um volume do meio de dissolução com no mínimo três vezes o necessário para formar uma solução saturada do fármaco (TOMASI, 2013; GRADY et al., 2018).

Para realização do estudo de dissolução neste trabalho, foram utilizadas amostras que apresentavam quantidades equivalentes a 12,45 mg (pH 1,2), 53,15 mg (pH 4,5) e 45,52 mg (pH 6,8) de EFZ, significando que, se completamente dissolvido num volume de 250 mL apresentariam concentrações abaixo do ponto de saturação, estabelecendo desta forma, a condição *sink*. Além disso, as amostras foram avaliadas sempre em triplicata e em diferentes pHs visando identificar o comportamento de liberação do EFZ pela nZIF-8 frente a valores de pHs que simulam as diferentes condições que compõem o trato gastrointestinal do organismo.

Os perfis de dissolução sob condição *sink* do EFZ, das MFs e dos sistemas EFZ:nZIF-8 3.1 obtidos em metanol e EFZ:nZIF-8 1.1 obtidos em etanol, estão exibidos nas Figuras 35 (pH 1,2), 36 (pH 4,5) e 37 (pH 6,8).

Em meio ácido (pH 1,2), simulando o fluido gástrico (Figura 35), é possível observar que nos primeiros minutos de análise, antes de completada 1h de experimento, todas as amostras, ou seja, o EFZ isolado, as MFs e os sistemas, exibiram um comportamento semelhante, liberando ainda em 5 minutos, cerca de 40% do total de fármaco. Entretanto, esse comportamento logo muda e pode-se observar que o EFZ isolado vai exibindo um aumento

gradativo e rápido do teor liberado, atingindo 84,39% de liberação quando se completa 1h de análise e um teor máximo liberado, ou seja 100%, em torno de 3h. Quanto as MFs, estas liberaram um teor de 60% do fármaco na primeira hora de análise e após isto, se mantêm com uma porcentagem de liberação praticamente constante até as 7 horas de estudo, aumentando seu percentual para 89,18% no caso da MF EFZ:nZIF-8 MET em 8h e liberando aproximadamente 100% do fármaco só após as 48h de ensaio. A MF EFZ:nZIF-8 ET apresenta um comportamento ainda mais constante, liberando em torno de 73,35% do fármaco até as 24h de estudo e somente liberando 100% do fármaco, quando o estudo se encerra.

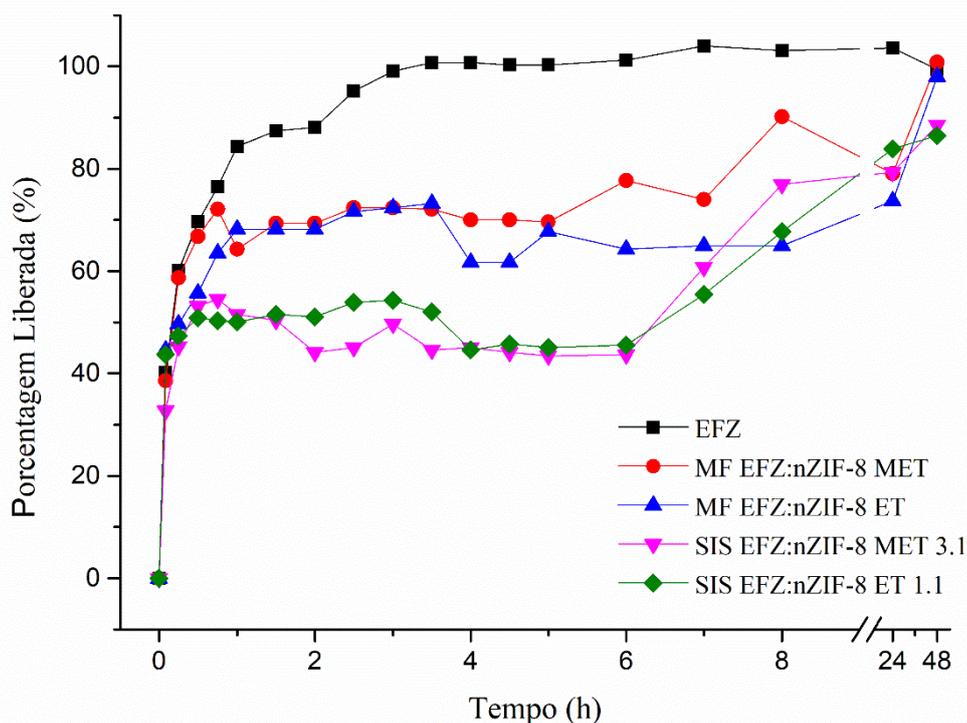
Os sistemas SIS EFZ:nZIF-8 MET 3.1 e SIS EFZ:nZIF-8 ET 1.1 apresentaram um perfil de liberação do EFZ muito semelhante entre si, exibindo nitidamente uma modulação da mesma, visto que, após liberarem um percentual de 32,71% e 43,70% de EFZ respectivamente, após 1h de estudo, esta liberação segue aumentando porém de forma mais lenta. Os teores máximos de EFZ que são liberados após as 48h de estudo são de 88,56% e 86,47%. Esses resultados sugerem que os sistemas formas capazes de prolongar a liberação do fármaco, pois o mesmo percentual de 80% foi liberado ainda na primeira hora de estudo pelo EFZ isolado. A partir disso, observa-se que o fármaco apresenta um perfil mais linear, enquanto que as MFs e os sistemas demonstram um perfil modulado de liberação do EFZ.

Embora saiba-se que em pH ácido a nZIF-8 é desintegrada, resultado proveniente da dissociação das redes de coordenações da nZIF-8, fazendo com que o fármaco seja liberado rapidamente como sugerido por Zhuang e colaboradores (2014), estes achados, demonstram que a interação entre o EFZ e a nZIF-8 pode ter sido tão intensa que tenha dificultado o processo de quebra do carreador, ou que mesmo a quebra da nZIF-8 tenha ocorrido de forma mais organizada e não imediata, se opondo, por tanto, aos resultados encontrados também, por Tabosa (2020) e Ferreira (2020) que observaram em seu trabalhos, percentuais altos de liberação dos fármacos EFZ (90% para sistema obtido em etanol e 93% para sistema obtido em metanol) após 2 horas de estudo e β -lapachona (55,07% para sistema obtido em etanol e 41,86% para sistema obtido em metanol) após 3 horas de estudo. Vale salientar que a comparação entre esses dois estudos já sugere que a nZIF-8 (nanoestrutura que foi utilizada como carreador da β -lapachona), já segura muito mais o fármaco nos sistemas do que a ZIF-8 em escala micrométrica utilizada nos sistemas de Tabosa (2020), visto que o percentual de 41,86% foi o máximo liberado no estudo em questão.

Com isso, é possível concluir que mesmo em pH ácido, a simples mistura física do EFZ e da nZIF-8 e de forma muito mais expressiva os sistemas obtidos, conseguiram resistir muito

mais a liberação imediata do fármaco, conhecida como efeito *burst* do que o fármaco isolado, sugerindo então, que o mesmo ganhou um evidente perfil de liberação modificada.

Figura 35 - Perfil de dissolução do EFZ, MFs e Sistemas EFZ:nZIF-8 em pH 1,2.



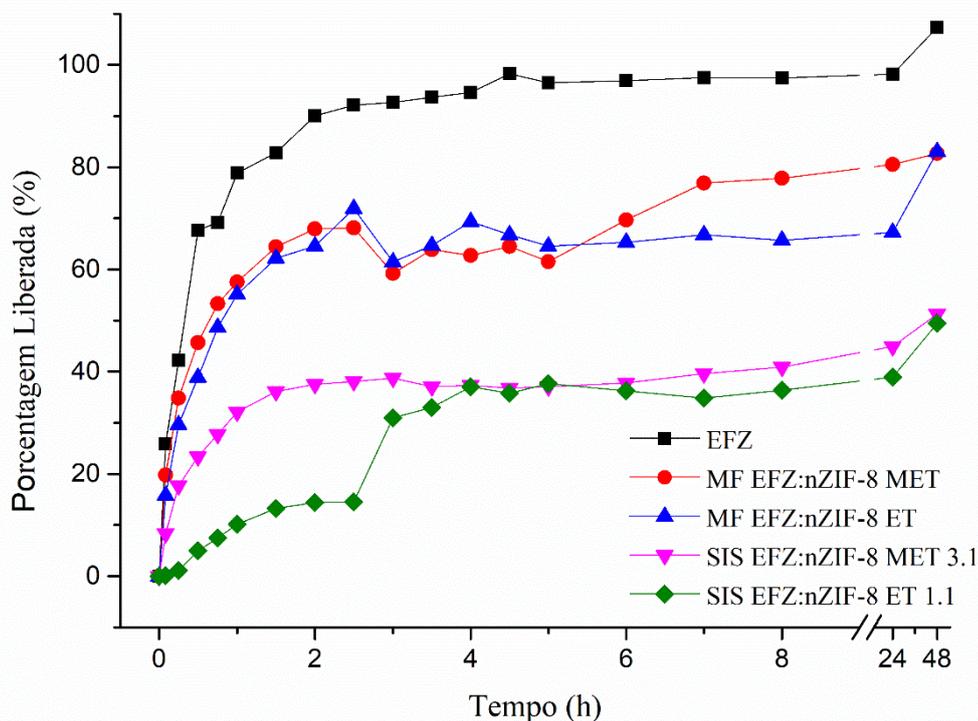
Fonte: Autoria própria.

Em pH 4,5 (Figura 36), o EFZ isolado, mais uma vez, mostrou uma rápida liberação em efeito *burst*, onde após 1h de estudo, 82,86% do total de massa foi inserida no meio. Esse percentual quase completo de liberação se manteve, até que no final do estudo, o EFZ conseguiu liberar 100% do seu percentual. As misturas físicas (MF EFZ:nZIF-8 MET 3.1 e a MF EFZ:nZIF-8 ET 1.1) apresentaram após 1h, 64,43% e 62,23% de EFZ liberado respectivamente e seguiram modulando a liberação do fármaco sempre em teores abaixo de 80% até se completar as 24h de estudo no caso da MF MET, que liberou 80,53% de EFZ nesse tempo de estudo e em 48h no caso da MF ET, quando liberou 83,04% do fármaco.

Os sistemas em compensação, apresentaram um perfil de liberação ainda mais modulado que as MFs, visto que, até a primeira hora de estudo, o SIS EFZ:nZIF-8 MET 3.1 só liberou 32,12% do seu percentual de EFZ e o SIS EFZ:nZIF-8 ET 1.1 liberou apenas 10,16% do fármaco. Nessa primeira hora é possível observar que em comparação ao EFZ isolado, os

sistemas são capazes de segurar o efeito burst de liberação imediata que o fármaco possui e o perfil de liberação prolongada fica ainda mais claro ao observar que passado as 48h de estudo, os teores máximos de liberação do EFZ pelos sistemas foi de 51,25% para o SIS MET 3.1 e de 49,44% para o SIS ET 1.1.

Figura 36 - Perfil de dissolução do EFZ, MFs e Sistema EFZ:nZIF-8 em pH 4,5.

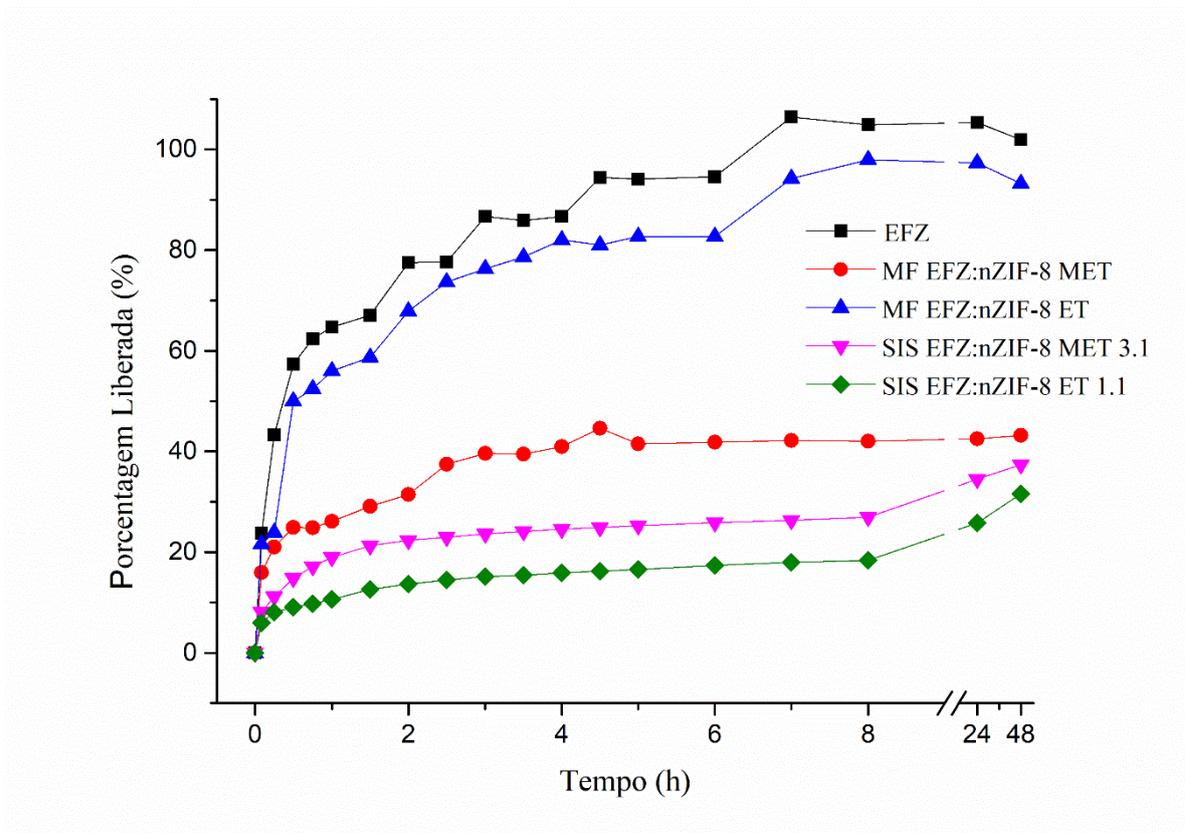


Fonte: Autoria própria.

Os resultados do perfil de liberação das amostras estudadas no pH 6,8 (meio que reproduz o pH intestinal, representando o pH das porções do duodeno e jejuno, nas quais o fármaco é absorvido em maior intensidade) estão expressos na Figura 37 e é onde pode-se observar com maior clareza a capacidade de modulação da liberação do EFZ pelos sistemas obtidos. O EFZ isolado apresenta um comportamento que demonstra o aumento gradativo do percentual liberado, onde, 86,70% do total de massa é inserida no meio passada 3h do estudo e o teor máximo de liberação, ou seja, 100%, é alcançado nas primeiras 7h do ensaio. A MF EFZ:nZIF-8 ET foi a amostra que teve o perfil mais semelhante ao do fármaco isolado, liberando 76,32% do fármaco em 3h e 93,23% nas 48h de estudo.

A MF EFZ:nZIF-8 MET diferentemente da MF ET demonstrou um comportamento de modulação semelhante aos sistemas, onde passados 5 minutos de estudo o percentual de fármaco liberado era de 15,95% e esse percentual aumentou de forma quase constante atingindo 43,18% apenas de fármaco liberado mesmo após as 48h de estudo. Entretanto, os sistemas SIS EFZ:nZIF-8 MET 3.1 e SIS EFZ:nZIF-8 ET 1.1 ainda demonstraram uma maior capacidade de modular a liberação do fármaco. Nos mesmos tempos de estudo, o SIS MET liberou apenas 8,09% e 37,38% do fármaco e o SIS ET liberou apenas 6% e 31,61% do fármaco. Ao final da comparação dos perfis é possível sugerir que os sistemas foram capazes de proporcionar ao fármaco um comportamento de liberação prolongada e que as 48h de estudo não foram suficientes para observar a completa liberação do percentual de fármaco pelos sistemas, visto que, as concentrações estavam apresentando um aumento gradativo após as 24h de estudo e possivelmente estas poderiam vir a aumentar com o passar do tempo.

Figura 37 - Perfil de dissolução do EFZ, MFs e Sistema EFZ:nZIF-8 em pH 6,8.



Fonte: Autoria própria.

O potencial que a ZIF-8 possui de sustentar a liberação de um fármaco pode ser observado no trabalho de Alves (2013), que após obter sistemas de ZIF-8 e doxorrubicina observou apenas a liberação de 13% do fármaco incorporado a ZIF-8 após 48h de estudo e com isso estendeu o tempo de observação da liberação por 30 dias, onde após o final observou uma liberação de apenas 66% do fármaco.

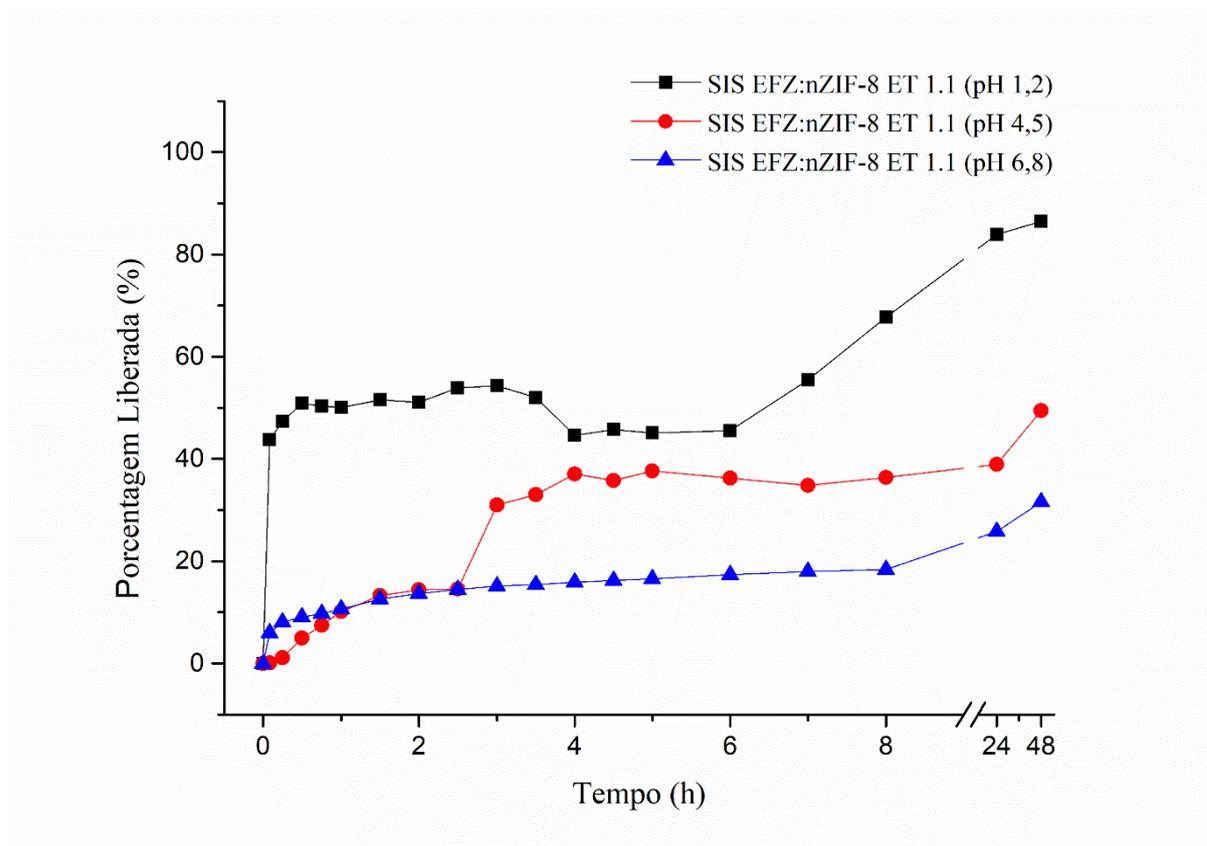
Os achados do presente trabalho corroboram com a maioria dos trabalhos encontrados na literatura que foram realizados com a ZIF-8 e a nZIF-8 com a finalidade de alcançar a liberação prolonga de diferentes fármacos. Como o trabalho de Soltani e Colaboradores (2017), que desenvolveram um sistema de nZIF-8 carregados de gentamicina e observaram taxas de 84% de fármaco isolado liberados em pH 5,0 e de 61% de gentamicina liberada pelos sistemas após 120h. 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. Nabipour e Colaboradores (2017) obtiveram sistemas de nZIF-8 com Ciprofloxacino com liberação de 83% em pH 7,4 após 72h de estudo.

Em um trabalho anterior (TABOSA, 2020), o EFZ foi incorporado na ZIF-8 obtendo através do método *ex situ* e também empregando os solventes etanol e metanol, sistemas com a capacidade de prolongar a liberação do fármaco. Entretanto, a partir da utilização da ZIF-8 em escala nanométrica e da obtenção dos sistemas nanoparticulados com o mesmo fármaco é possível observar que a nZIF-8 foi capaz de intensificar o prolongamento da liberação do EFZ. Pois, em pH 6,8 (condição em que melhor pode-se observar a capacidade modulante do carreador) os sistemas EFZ:ZIF-8 ainda atingiram um percentual de fármaco liberado muito alto para o tempo de 48h, cerca de 85%, enquanto em os sistemas EFZ:nZIF-8 MET e ET aqui obtidos, no mesmo tempo de estudo alcançaram apenas um teor de aproximadamente 30%, sugerindo que a nZIF-8 pode possuir uma capacidade de formar sistemas com o fármaco com interações mais fortes, dificultando a liberação do mesmo. Além disso, no pH 1,2 do trabalho anterior, os sistemas liberaram 90% do fármaco em apenas 2h do estudo, enquanto que neste trabalho foram necessárias 48h de ensaio para se obter um teor de mais de 80% de fármaco liberado, sugerindo que a nZIF-8 oferece uma capacidade gastro-resistente aos sistemas SIS EFZ:nZIF-8 MET 3.1 e SIS EFZ:nZIF-8 1.1.

Com relação ao desempenho dos sistemas, é possível concluir que no pH 6,8 e de forma mais discreta nos outros dois pHs o sistema obtido em etanol apresentou uma capacidade um pouco maior de modular a liberação do fármaco do que os sistemas obtidos em metanol. Ambos possuíram uma taxa de eficiência de incorporação do fármaco muito semelhante e também características físico-químicas estáveis e similares, entretanto, ao se observar os perfis de

liberação do EFZ, o SIS EFZ:nZIF-8 ET 1.1 sobressai (a comparação dos perfis de liberação do SIS EFZ:nZIF-8 ET 1.1 nos diferentes pHs pode ser observada na figura 38). Tal resultado corrobora com o encontrado por Tabosa (2020), que também concluiu o melhor desempenho para o sistema obtido em etanol (SIS EFZ:ZIF-8 ET 1.1 - a eficiência de incorporação do fármaco também se deu na mesma proporção de fármaco: carreador). Os perfis de liberação do EFZ nesse sistema são animadores, uma vez que em pH ácido o sistema libera um maior percentual do fármaco, por ser esta condição mais agressiva à nZIF-8, porém, ainda mantendo o comportamento de liberação prolongada e em pH entérico o sistema claramente segura a liberação do EFZ.

Figura 38 - Perfil de dissolução do Sistema EFZ:nZIF-8 1:1 obtido em etanol em pH 1,2, 4,5 e 6,8.



Fonte: Autoria própria.

Ainda é importante mencionar que as condições de dissolução ideais preconizadas pela USP 41 para formas farmacêuticas finais visam uma liberação igual ou superior a 85% do fármaco. Entretanto, apenas para o pH 1,2, houveram liberações de EFZ iguais a esse teor no período de tempo avaliado, enquanto que as amostras das MFs e dos sistemas nos pHs 4,5 e 6,8 não liberaram esse percentual de fármaco durante todo o tempo de estudo, porém, esse

parâmetro de liberação é utilizado para formas farmacêuticas acabadas 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 as futuras formulações a possibilidade de alterar a dose de EFZ veiculada, visto que, com um controle maior da porcentagem de fármaco a ser liberada em função do tempo pode-se obter características melhores de biodisponibilidade do EFZ e conseqüentemente menores complicações em sua utilização (USP, 2018).

Vale salientar também, que o estudo de dissolução dos sistemas foi realizado em meios sem a adição do tensoativo LSS, visando observar um possível incremento de solubilidade por parte da nZIF-8 ao fármaco, porém, nenhuma solubilização dos sistemas foi obtida, impossibilitando a observação dos perfis de dissolução das amostras. Sendo assim, tal metodologia foi considerada ineficiente para o estudo e todos os testes passaram a ser realizados com a presença do tensoativo.

Por fim, 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 baixos de AUC e ED% que o fármaco isolado e as misturas físicas independente do tempo. Os dados exibidos na Tabela 11 constataam a eficácia dos sistemas desenvolvidos em modular a liberação do EFZ.

Tabela 11 - Valores de AUC [EFZ (%) x h] e ED (%) obtidos a partir dos perfis de dissolução do EFZ, MFs e sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos em etanol e metanol.

pH	Tempo (h)	EFZ		MF EFZ:nZIF-8		MF EFZ:nZIF-8		SIS EFZ:nZIF-8		SIS EFZ:nZIF-8	
				MET		ET		MET		ET	
		AUC	ED (%)	AUC	ED (%)	AUC	ED (%)	AUC	ED (%)	AUC	ED (%)
1,2	1	64,63	0,646	59,83	0,598	54,28	0,542	46,9	0,469	46,9	0,469
	8	753,6	0,942	572,6	0,715	522,4	0,653	396,8	0,496	404,7	0,505
	48	4843	1,009	4085	0,8511	3693	0,7694	3661	0,762	3662	0,763
4,5	1	56,10	0,561	41,67	0,416	36,92	0,369	21,51	0,215	4,619	0,046
	8	713,4	0,891	518,1	0,647	494,5	0,618	285,9	0,357	214,2	0,267
	48	4745	0,988	3744	0,780	3362	0,700	2126	0,443	1878	0,391
6,8	1	50,01	0,500	22,10	0,221	40,29	0,402	13,70	0,137	8,457	0,084
	8	678,1	0,847	296,1	0,370	601,2	0,751	185,0	0,231	119,8	0,145
	48	4848	1,010	2000	0,416	4449	0,927	1538	0,320	1162	0,242

Fonte: Autoria própria.

5 CONCLUSÃO

Diante do exposto neste presente trabalho, foi possível concluir que, o estudo de obtenção dos sistemas empregando o EFZ e a nZIF-8, variando os solventes de obtenção, as proporções dos materiais e as horas de agitação através do método de obtenção *ex situ*, visou otimizar a eficiência de incorporação (EI%) do EFZ nos sistemas. Este estudo possibilitou obter ao final dois sistemas com bons percentuais de incorporação, estes foram: SIS EFZ:nZIF-8 ET 1.1 = 28,34% após 6 horas de agitação e SIS EFZ:nZIF-8 3.1 = 28,67% após 12 horas de agitação.

O método de quantificação do EFZ, foi revalidado de acordo com a RDC 166 de 2017 da ANVISA e demonstrou-se linear, preciso, exato e seletivo para os parâmetros avaliados. O efeito matriz demonstrou ainda que a metodologia empregada na revalidação foi adequada para substituir o método já validado, pois não houveram diferenças significativas entre os resultados obtidos com a adição do ácido.

A técnica de caracterização físico-química, FTIR, utilizada sob as amostras evidenciaram a formação dos sistemas, principalmente devido as comparações realizadas com os materiais isolados e suas misturas físicas correspondentes.

As análises térmicas, TG e DSC, avaliaram a influência que a nZIF-8 exerce sobre o EFZ, caracterizada pelas alterações sobre seu comportamento térmico, visto que, nas curvas DSC das MFs foram notados picos de fusão do fármaco bastante reduzidos e nas curvas dos sistemas o desaparecimento destes e uma maior similaridade com a nZIF-8 que por sua vez apresenta uma melhor estabilidade térmica, sugerindo que os sistemas podem ter possibilitado a solvatação do EFZ e a amorfização do mesmo.

Os difratogramas obtidos para as amostras apontaram para a formação dos sistemas e para manutenção do padrão de cristalinidade dos mesmos. Através do cálculo do espaçamento basal foi possível observar que o tipo de ligação que ocorre nos sistemas entre o EFZ e a nZIF-8 é sugestiva de uma adsorção do fármaco à superfície do nanocarreador, caracterizando uma interação física. As eletromicrografias corroboraram com todas as caracterizações realizadas no trabalho, pois apontaram para modificação das morfologias dos insumos isolados nos sistemas, indicando que o EFZ encontra-se solvatado nos poros da nZIF-8.

Nos ensaios de dissolução *in vitro*, sob condições *sink* foi possível observar que, nas três variações de pH (1,2; 4,5 e 6,8) os sistemas SIS EFZ:nZIF-8 MET 3.1 e SIS EFZ:nZIF-8 ET 1.1 modularam a liberação do EFZ, em comparação com o perfil de liberação do fármaco

isolado e com as MFs, de modo que, os percentuais de EFZ liberados nos meios por esses sistemas foram de: (88,56% e 86,47%), (51,25% e 49,44%) e (37,38% e 31,61%), respectivamente, após 48h de estudos para os meios pH 1,2; 4,5 e 6,8. Assim, nota-se que quanto mais ácido o pH maior será o percentual de fármaco liberado pela nZIF-8 e quanto menor o pH, menor o percentual de fármaco liberado. Porém, em ambas as condições, os sistemas prolongaram a liberação do mesmo.

Ainda no estudo de dissolução, o sistema SIS EFZ:nZIF-8 ET 1.1 apresentou menores valores de AUC que o EFZ e a MF, evidenciando melhor resposta quanto ao controle da liberação do fármaco. Além disso, devido ao menor tempo gasto para obtenção desse sistema, torna-se uma melhor opção de escolha, que o SIS EFZ:nZIF-8 MET 3.1, ou seja, possui melhor desempenho.

Dessa forma, obtiveram-se sistemas nanoparticulados adequados, capazes prolongar a liberação do EFZ, de forma a contribuir com a superação de limitações de biodisponibilidade que o fármaco possui.

5.1 PERSPECTIVAS

- Realizar análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e tamanho de partícula (volume e tamanho de poro das amostras), para melhor elucidar a formação dos sistemas EFZ:nZIF-8;
- Avaliar a biodisponibilidade do sistema obtido à base de EFZ:nZIF-8 através de ensaios farmacocinéticos;
- Desenvolver formulação farmacêutica a partir do melhor sistema de liberação, seguido dos controles de qualidade pertinentes;
- Realizar depósito de pedido de patente no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) dos sistemas EFZ:nZIF-8 obtidos;

REFERÊNCIAS

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.

ALLEN, L. V. J.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. 9 ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2009.

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.

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-PE.

ALVES, I. B. V. **Metal-Organic Frameworks (MOFs): alternativa inteligente para carregamento de fármacos anti-inflamatório e antineoplásico**. 2013. 83f. Tese (Doutorado em Ciências de Materiais) - Programa de Pós-Graduação em Ciências de Materiais, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2013.

AMARANTE, S. F. Síntese e Caracterização de redes metalorgânicas, ZIF-8 e ZIF-67. **Scientia Plena**, v. 12, n. 5, p. 1-9, 2016.

APOSTOLOVA, N, et al. Efavirenz: what is known about the cellular mechanisms responsible for its adverse effects. **European journal of pharmacology**, v. 812, p. 163-173, 2017.

ASHFORD, M. Biodisponibilidade - fatores físico-químicos e relacionados à forma farmacêutica. In: AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap.17, p.245-263.

AULTON, M. E; ORTEGA, G. G. Delineamento de formas farmacêuticas. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo de de infecção pelo HIV em adultos**. Brasília, DF, 2018.

BARRETO L. C. L. S.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 629- 636, 2008.

BASTOS, M.M, et al. Efavirenz a nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor of first-generation: Approaches based on its medicinal chemistry. **European journal of medicinal chemistry**, v. 108, p. 455-465, 2016.

BEDOR, D. C. G. **Avaliação Biofarmacotécnica do Efavirenz um fármaco classe II (SCB)**. 2011. 184 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2011.

- BROWN, C. K. et al. Acceptable analytical practices for dissolution testing of poorly soluble compounds. *Pharmaceutical Technology*, n. December 2004, p. 56–65, 2004.
- CABRAL, C. R. N. S. et al. Desenvolvimento do método de Dissolução da forma farmacêutica comprimido do Benznidazol 12, 5 mg Lafepe/Development method of dissolution of the tablet pharmaceutical form of Benznidazole 12.5 mg Lafepe. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 3, p. 2185-2194, 2019.
- CAI, Wen, et al. Metal–organic framework-based nanomedicine platforms for drug delivery and molecular imaging. *Small*, 2015, 11.37: 4806-4822.
- 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.
- CANEVAROLO-JÚNIOR, S. V. et al. Técnicas de Caracterização de Polímeros. São Paulo: Artliber Editora, p. 448, 2003.
- CHADHA, R; BHANDARI, S. Drug–excipient compatibility screening—role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 87, p. 82-97, 2014.
- CHAGAS, J. O.; CORRÊA, S.; ALMEIDA, A. M. Uso de sistema ternário homogêneo de solventes e espectrofotometria UV-VIS no desenvolvimento de método para a determinação de cobre em amostras de açúcar. *Conexão ci.: r. cient.*, v. 9, n. 1, p. 59-73, 2014.
- 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.
- CHEN, X, et al. MOF nanoparticles with encapsulated autophagy inhibitor in controlled drug delivery system for antitumor. **ACS applied materials & interfaces**, v. 10, n. 3, p. 2328-2337, 2018.
- CHENG, C, et al. Doxorubicin-loaded Fe₃O₄-ZIF-8 nano-composites for hepatocellular carcinoma therapy. *Journal of biomaterials applications*, v. 33, n. 10, p. 1373-1381, 2019.
- CHOWDARY, K. P. R.; ENTURI, V. Preclinical Pharmacokinetic Evaluation of Efavirenz Solid Dispersions in Two New Modified Starches. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 3, n. 4, p. 89-92, 2013.
- CHOWDHURI, Angshuman Ray 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.
- COOKNEY, J, et al. Dynamic response of ultrathin highly dense ZIF-8 nanofilms. *Chemical communications*, 2014, 50.79: 11698-11700.
- COSTA, C.C.P et al. O Efavirenz: Relação estrutura-atividade e métodos de síntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1347-1370, 2015.

COSTA, S. P. M. **Obtenção de sistemas poliméricos microparticulados para o aumento da velocidade de dissolução do efavirenz na terapia anti-HIV**. 2016. 152 f. Tese (Doutorado em Inovação Terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2016.

CRAVILLON, J, et al. Rapid room-temperature synthesis and characterization of nanocrystals of a prototypical zeolitic imidazolate framework. *Chemistry of Materials*, 2009, 21.8: 1410-1412.

CRISTOFOLETTI, R.; CHIANN, C.; DRESSMAN, J. B.; STORPIRTIS, S. A. comparative analysis of biopharmaceutics classification system and biopharmaceutics drug disposition classification system: a cross-sectional survey with 500 bioequivalence studies. *J Pharm Sci*. 2013;102(9):3136-44.

CUNHA, D. P da. **Redes de Coordenação: Novos Sistemas Carreadores de Fármacos**. 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Materiais) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

DA SILVA, J.Rocha, et al. Ensaio de Dissolução do Medicamento Metildopa Produzido pela Indústria Farmacêutica. **UNICIÊNCIAS**, v. 20, n. 1, p. 50-57, 2016.

DAUMESNIEL R. Marketing considerations for multiparticulate drug delivery systems. In: Ghebre-Sellassie I, editor. *Multiparticulate oral drug delivery*. New York: Marcel Dekker; 1994. cap.16, p.457-74.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Princípios e aplicações de análises térmicas. São Carlos 2012. 40 p.

DE SOUZA, M.V.N. Fármacos inibidores de fusão: uma nova estratégia no combate à replicação do vírus VIH. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 24, n. 2, p. 291, 2005.

DEZZANI, A. B. et al. Determination of lamivudine and zidovudine permeability using a different ex vivo method in Franz cells. *J Pharmacol Toxicol Method*. 2013;64(3):194-202.

DOOLEY, Kelly E. et al. Pharmacokinetics of efavirenz and treatment of HIV-1 among pregnant women with and without tuberculosis coinfection. **The Journal of infectious diseases**, v. 211, n. 2, p. 197-205, 2015.

DRUGBANK ONLINE. 2020. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00625>. Acesso em: 22 de janeiro de 2021.

DURO, M. HIV/AIDS, A Brief History of a new/old infection. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, V.5, n.1, p. 24-35, 2016.

ELDER, D. P.; KUENTZ, M.; HOLM, R. Pharmaceutical excipients — quality, regulatory and biopharmaceutical considerations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 87, p. 88-99, 2016.

FERRARI, P.C. Sistemas multiparticulados revestidos para liberação colônica de metronidazol. 2011.

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. 185p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE.

FERREIRA, A.S. **Obtenção, caracterização e avaliação da liberação do sistema nanoparticulado β -lapachona (nZIF-8).** 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE.

FITRIANI, L; HAQI, A; ZAINI, E. Preparation and characterization of solid dispersion freeze-dried efavirenz–polyvinylpyrrolidone K-30. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**, v. 7, n. 3, p. 105, 2016.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. 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, Rockville, 2000.

FORESTO, J. S, et al. Adesão à terapêutica antirretroviral de pessoas vivendo com HIV/aids em um município do interior paulista. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 38, n. 1, 2017.

FREITAS NETO, J.L. et al. **Avaliação da estabilidade e desenvolvimento de comprimidos orodispersíveis pediátricos à base de efavirenz.** 2018. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE.

GALVÃO, W. G. **Carbamazepina no estado sólido e sua susceptibilidade polimórfica.** 2009. Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário de Anápolis/ Universidade Católica de Goiás/ Universidade Estadual de Goiás, Goiânia, 2009.

GARCÍA-ARIETA, A. Interactions between active pharmaceutical ingredients and excipients affecting bioavailability: Impact on bioequivalence. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 65, p. 89–97, 2014.

GESIDA Guias clínicas. Disponível em: <http://www.gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2017/gesida-guiasclinicas-2017-TAR.pdf>. Acesso em: 12 de dezembro de 2020.

GIBSON M. Introduction and perspective. In: Gibson M, editor. *Pharmaceutical preformulation and formulation: a practical guide from candidate drug selection to commercial dosage form*. New York: Informa Healthcare; 2009. p.1-10.

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*, 2019, 97: 461-466.

GOMES, D. S.; TIRONI, S. M. T.; MARTINEZ, A. C. Uso da microscopia eletrônica de varredura na medicina veterinária. Trabalho apresentado no II simpósio de produção sustentável e saúde animal, UEM, Paraná 2017.

GOMES, T. A, et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antirretroviral classe II: Efavirenz. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 2, 2015.

GOMES, T. A. **Obtenção e caracterização de dispersões sólidas para o incremento da solubilidade do Efavirenz na terapia anti-HIV**. 2014. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2014.

GRUND, J.; KOERBER, M.; WALTHER, M. BODMEIER, R. The effect of polymer properties on direct compression and drug release from water-insoluble controlled release matrix tablet. *Int. J. Pharm.*, v. 469, p. 94-101, 2014.

HARI, B.N.V, et al. Engineered polymeric nanoparticles of Efavirenz: Dissolution enhancement through particle size reduction. **Chemical Engineering Science**, v. 155, p. 366-375, 2016.

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*, 2014, 136.14: 5181-5184.

HOOP, M, et al. Biocompatibility characteristics of the metal organic framework ZIF-8 for therapeutical applications. **Applied Materials Today**, v. 11, p. 13-21, 2018.

HORCAJADA, P, et al. Metal–organic frameworks as efficient materials for drug delivery. *Angewandte Chemie International Edition*, 2006, 45.36: 5974-5978.

HORCAJADA, P, et al. Flexible porous metal-organic frameworks for a controlled drug delivery. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130.21: 6774-6780.

HUXFORD, R.C.; DELLA ROCCA, J; LIN, W. Metal–organic frameworks as potential drug carriers. *Current opinion in chemical biology*, 2010, 14.2: 262-268.

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*, 2012, 134.45: 18790-18796.

ISSA, M.G, et al. Caracterização física de sistemas multiparticulados. **Braz. J. Pharm. Sci.** São Paulo, v. 53, n. 4, e00216, 2017. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502017000400403&lng=en&nrm=iso>. acesso em 18 de março de 2020.

KAUR H.; MOHANTA G. C.; GUPTA V.; KUKKAR D.; TYAGI S. 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.

KAWABATA, Y.; WADA, K.; NAKATANI, M.; YAMADA, S.; ONOUE, S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. *Int J Pharm.* 2011; 420:1-10.

KESKIN, S; KIZILEL, S. Biomedical applications of metal organic frameworks. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 50, n. 4, p. 1799-1812, 2011.

KOH, P. T. et al. Formulation development and dissolution rate enhancement of efavirenz by solid dispersion systems. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 75, n. 3, p. 291-301, 2013.

KOLHE, S.; CHAUDHARI, P.; MORE, D. Dissolution Enhancement of Poorly Water Soluble Efavirenz by Hot Melt Extrusion Technique. *International Journal of Drug Development and Research*, v. 5, n. 2, p. 368-381, 2013.

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

LAI, Z, et al. Development of ZIF-8 membranes: opportunities and challenges for commercial applications. **Current opinion in chemical engineering**, v. 20, p. 78-85, 2018.

LIÉDANA, N, et al. CAF@ ZIF-8: one-step encapsulation of caffeine in MOF. *ACS applied materials & interfaces*, 2012, 4.9: 5016-5021.

LIMA, B. A. S.; CECILIO, J. F. L.; BONAFÉ, S. M. AIDS: Uma visão geral. In: VIII ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 2013, Maringá. Anais Eletrônico. Paraná: Centro Universitário CESUMAR, 2013.

LEE, Yu-Ri et al. ZIF-8: A comparison of synthesis methods. **Chemical Engineering Journal**, v. 271, p. 276-280, 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.

LYONS, J. G.; HALLINAN, M.; KENNEDY, J. E.; DEVINE, D. M.; GEEVER, L. M.; BLACKIE, P.; HIGGINBOTHAM, C. L. Preparation of monolithic matrices for oral drug delivery using a supercritical fluid assisted hot melt extrusion process. *Int. J. Pharm.*, v. 329, p. 62–71, 2007.

MACHADO, C. C. **Validação de metodologia analítica de matéria-prima de meloxicam por espectrofotometria UV-VIS**. 2013. 34f. Monografia (Graduação em Tecnologia em Processos Químicos) – Universidade Federal Tecnológica do Paraná, Paraná-PA, 2013.

MANSUR, H. S. Técnicas de caracterização de Materiais. *Biomateriais: Fundamentos e Aplicações*, p. 552, 2007.

MATOS, A. P. S. **Estudo de Pré-Formulação e Desenvolvimento de Comprimidos de Liberação Imediata contendo Diazepam**. 2014. 213 f Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

MATOS, J.R. et al. Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Medicamentos. In: STORPIRTIS, S. *Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 4, p. 32-65, 2011.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. 2003. 117p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

MARSDEN, M.D.; ZACK, J.A. HIV/AIDS eradication. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 23, n. 14, p. 4003-4010, 2013.

- MARQUES, O. C. P. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas orais de Uncaria tomentosa com actividade antioxidante**. 2008. 210f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2008.
- MELHUIISH, Anne; LEWTHWAITE, Penny. Natural history of HIV and AIDS. **Medicine**, v. 46, n. 6, p. 356-361, 2018.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos / Ministério da Saúde. – Brasília, 2018. Acesso em: 20 de março de 2020.
- 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*, 2017, 7.3: 643-653.
- NABIPOUR, H; SADR, M.H; BARDAJEE, G.R. Synthesis and characterization of nanoscale zeolitic imidazolate frameworks with ciprofloxacin and their applications as antimicrobial agents. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 15, p. 7364-7370, 2017.
- NART, V. **Desenvolvimento e avaliação de sistemas multiparticulados na forma de mini comprimidos de liberação prolongada visando a administração simultânea dos fármacos captopril e cloridrato de metformina**. 2015. 127 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
- NASCIMENTO, D.D.S.S. **Obtenção de drug delivery system carbamazepina-zif-8 visando liberação prolongada**. 2017. 130p. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE.
- 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.
- NATARAJAN, J. V.; NUGRAHA, C.; NG, W. H.; VENKATRAMAN, S. Sustained-release from nanocarriers: a review. *J. Control. Release*, v. 193, p. 122–138, 2014.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. Efavirenz, CID=64139, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Efavirenz> (accessed on Mar. 19, 2020).
- NEVES, J, et al. Nanotechnology-based systems for the treatment and prevention of HIV/AIDS. **Advanced drug delivery reviews**, v. 62, n. 4-5, p. 458-477, 2010.
- NUNE, S. K., et al. Synthesis and properties of nano zeolitic imidazolate frameworks. *Chemical Communications*, 2010, 46.27: 4878-4880.
- OLIVEIRA, M.A; YOSHIDA, M.I; LIMA GOMES, E.I. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

- ORSEGA, C. Adult HIV Infection Treatment Update 2014: An Approach to HIV Infection Management and Antiretroviral Treatment. *The Journal for Nurse Practitioners*, v. 11, n. 1, p. 95-102, 2015.
- PARK, K.S, et al. Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103.27: 10186-10191.
- PAULINO, A.S. **Cristais Ocos como Estratégia para Incrementar a Velocidade de Dissolução de Fármacos Pouco Solúveis**. 2013, 204 f. (Tese Doutorado em Farmácia) – Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.
- PESSANHA, A.F.V, et al. Influência dos excipientes multifuncionais no desempenho dos fármacos em formas farmacêuticas. **Rev. Bras. Farm**, v. 93, n. 2, p. 136-145, 2012.
- PRIETO-MARTÍNEZ, F.D.; ARCINIEGA, M; MEDINA-FRANCO, J.L. Molecular docking: current advances and challenges. **TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas**, v. 21, 2018.
- QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, G. G. Z.; LIU, L.; PORTER, W. R. Developing solid oral dosage forms. 1 ed. Burlington: Academic Press, 2009.
- 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.
- RACHID, M; SCHECHTER, M. **Manual de HIV / aids**. Thieme Revinter Publicações LTDA, 2017.
- ROBERTSON, M. I. Regulatory issues with excipients. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 187, p. 273-276, 1999.
- ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-Vis. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004.
- RODRIGUES, M. O. et al. Organic metal structures for drug delivery and environmental remediation: a molecular anchoring approach. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 112, p. 3346-3355, 2012.
- SANDNER, P.; ZIEGELBAUER, K. Product-related research: how research can contribute to successful life-cycle management. *Drug Discov Today*. 2008; 13(9/10):457-63.
- SANTANA, J.C; DA SILVA, C; PEREIRA, C.A. Principais Doenças Oportunistas Em Indivíduos Com HIV. **Humanidades E Tecnologia (Finom)**, v. 1, n. 16, p. 405-422, 2019.
- SANTOS, M.L.A.; ALBUQUERQUE, M.G.; BRITO, M.A. Integrase: Um Alvo Terapêutico Importante no Combate à Infecção HIV/AIDS. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 4, p. 937-954, 2014.
- SILVA, A. F. A. **Validação de métodos analíticos para controle de qualidade de um medicamento, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)**. 2016. 73 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química e Bioquímica) – Pós-Graduação em Engenharia Química e Bioquímica, Faculdade de Ciência e Tecnologia, Lisboa, 2016.

- SILVA, J.S.F, et al. Multifunctional system polyaniline-decorated ZIF-8 nanoparticles as a new chemo-photothermal platform for cancer therapy. *ACS omega*, 2018, 3.9: 12147-12157.
- SILVA, J.Y.R. et al. A thermo-responsive adsorbent-heater-thermometer nanomaterial for controlled drug release:(ZIF-8, EuxTby)@ AuNP core-shell. **Materials Science and Engineering: C**, v. 102, p. 578-588, 2019.
- SKRIPNIK, K. K. S. **Investigação e comparação de perfis de dissolução de comprimidos de liberação modificada contendo fármacos com diferentes classificações biofarmacêuticas utilizando diferentes aparatos de dissolução.** 2015. 147 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2015.
- SOARES-SOBRINHO, J. L. et al. Benzimidazole drug delivery by binary and multicomponent inclusion complexes using cyclodextrins and polymers. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, p. 323– 330, 2012.
- SOLTANI, B; NABIPOUR, H; NASAB, N.A. Efficient storage of gentamicin in nanoscale zeolitic imidazolate framework-8 nanocarrier for pH-responsive drug release. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 2018, 28.3: 1090-1097.
- STORPIRTIS, S. et al. Ciências Farmacêuticas - Biofarmacotécnica. Estado: Guanabara Koogan, p. 321, 2011.
- SUN, Chun-Yi, et al. Zeolitic imidazolate framework-8 as efficient pH-sensitive drug delivery vehicle. *Dalton Transactions*, 2012, 41.23: 6906-6909.
- TABOSA, A.E.G.A. et al. **Obtenção de sistema para liberação prolongada do efavirenz a partir de inovadores excipientes organometálicos: Metal Organic Framework (MOF's).** 2020. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.
- TABOSA, A.E.G.A. et al. Prolonged Release of Anti-Retroviral Efavirenz From System Using ZIF-8 as Carrier. **Current HIV Research**, v. 18, n. 6, p. 396-404, 2020.
- TAHERZADE, S; SOLEIMANNEJAD, J; TARLANI, A. Application of metal-organic framework nano-MIL-100 (Fe) for sustainable release of doxycycline and tetracycline. *Nanomaterials*, 2017, 7.8: 215.
- 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.
- TEXEIRA, C. E. **Sobre a teoria de difração de raios-x em estruturas tridimensionais.** 2014. 145f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas) – Programa de Pós-graduação em Metalúrgica, Materiais e Minas, Universidade de Minas Gerais, Minas Gerais, 2014.
- THE INTERNATIONAL PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS COUNCIL. Good Manufacturing Practices Guide for Bulk Pharmaceutical Excipients. Wayne, New Jersey, p. 103, 1995.

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.

TOULOUMI, G; HATZAKIS, A. Natural history of HIV-1 infection. **Clinics in dermatology**, v. 18, n. 4, p. 389-399, 2000.

TOMASI, J. W. **Avaliação do perfil de dissolução de um medicamento genérico bioisento**. 2013. 29 f. Monografia (Graduação em Farmácia) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma – SC, 2013.

UNAIDS. Estatística, 2020. Disponível em: <https://unids.org.br/estatisticas>. Acesso em: 02 de janeiro de 2021.

UNAIDS. Estatística, 2019. Disponível em: https://unids.org.br/estatisticas/?gclid=EAIaIQobChMfIKz7oy_4wIVwweRCh2eDAooEAA YASABEgLpg_D_BwE. Acesso em: 24 de março de 2020.

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

VIEIRA, A. A. C. **Obtenção e caracterização de complexo de inclusão e sistema multicomponentes no incremento da solubilidade do efavirenz na terapia anti-HIV**. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

WAGNER, M. *Thermal Analysis in Practice*. Elsevier, 2017.

WALTON, K.S.; SNURR, R.Q. 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.

WILSON, C. G.; CROWLEY, P. J. *Controlled Release in Oral Drug Delivery*. New York: Springer, 2011.

WU, Ming-Xue; YANG, Ying-Wei. Metal–organic framework (MOF)-based drug/cargo delivery and cancer therapy. *Advanced Materials*, 2017, 29.23: 1606134.

XU, Hong et al. DFT study of nanotubes as the drug delivery vehicles of Efavirenz. **Computational and Theoretical Chemistry**, v. 1131, p. 57-68, 2018.

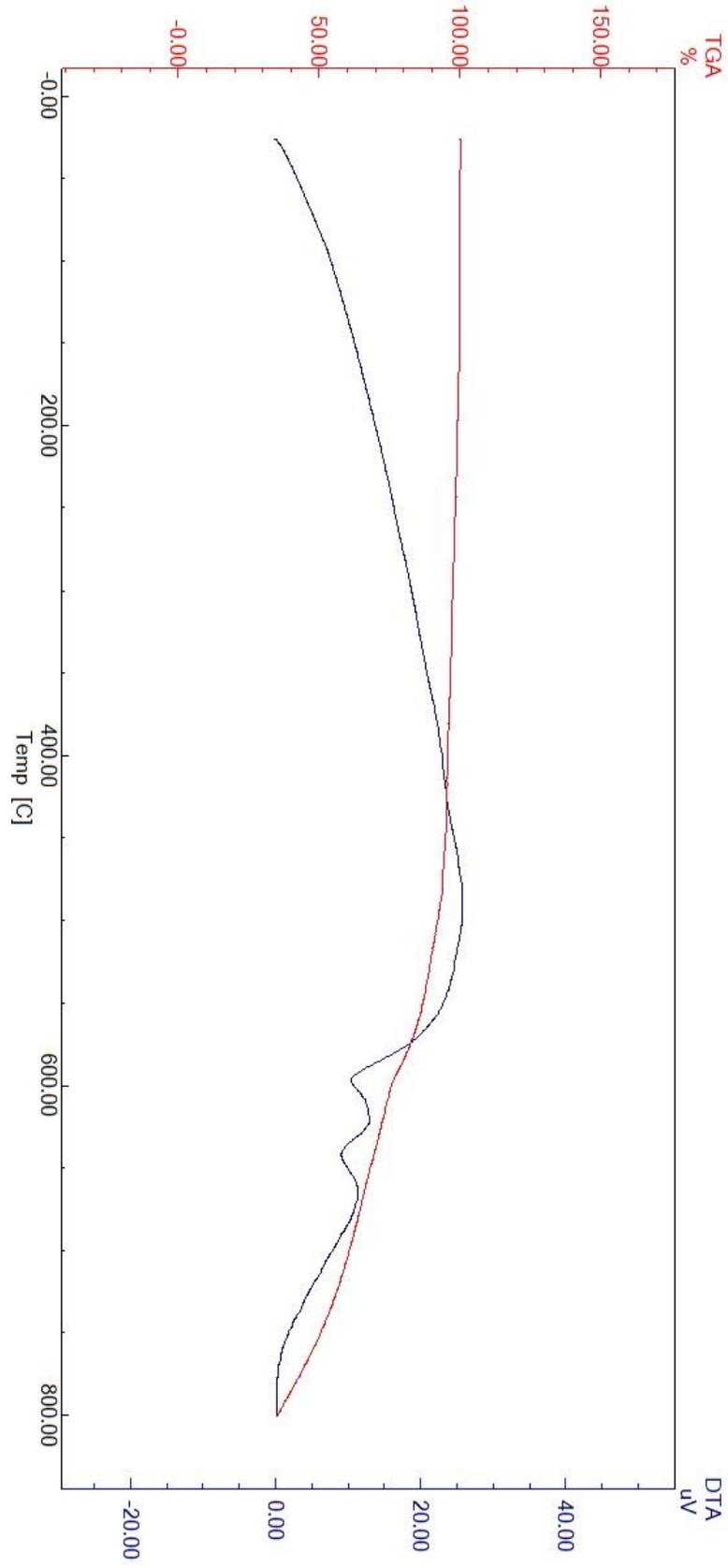
YOUNG, C. J. Updates on the Pharmacologic Treatment of Individuals with Human Immunodeficiency Virus. *Nursing Clinics of North America*, v. 51, n. 1, p. 45-56, 2016.

ZERBINI, A.P.N.Almeida; FERRAZ, H.G. Sistemas multiparticulados: minicomprimidos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 2, p. 149-158, 2011.

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.

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.

APÊNDICE A – CURVAS DE TG E DTA DA nZIF-8

ANEXO A - ARTIGO ORIGINAL ACEITO PELA REVISTA CURRENT HIV RESEARCH, INTITULADO: “PROLONGED RELEASE OF ANTI-RETROVIRAL EFAVIRENZ FROM SYSTEM USING ZIF-8 AS CARRIER”.



RESEARCH ARTICLE

Prolonged Release of Anti-Retroviral Efavirenz From System Using ZIF-8 as Carrier



Alinne Élide Gonçalves Alves Tabosa^{1,*}, Aline Silva Ferreira¹, Natália Millena da Silva¹, Débora Dolores Souza da Silva Nascimento¹, Leslie Raphael de Moura Ferraz¹, José Yago Rodrigues Silva², Severino Alves Junior², Rosali Maria Ferreira da Silva¹, Larissa Araújo Rolim³ and Pedro Jose Rolim-Neto¹

¹Laboratory of Medication Technology, Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50740-521, Recife-PE, Brazil; ²Laboratory Rare Earths BSTR, Fundamental Department of Chemistry, Federal University of Pernambuco, Av. Jornalista Aníbal Fernandes, s/n - Cidade Universitária, 50740-560, Recife-PE, Brazil; ³Central Analytical of Drugs, Medicines and Food, Federal University of Vale do São Francisco, Av. José de Sá Maniçoba, s/n, Centro, 56304-917, Petrolina-PE, Brazil

Abstract: Background: Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) is a major public health problem in the world. One of the highly effective drugs in anti-HIV therapy is efavirenz (EFZ), which is classified as Class II according to the Classification System of Biopharmaceuticals, presenting low solubility and high permeability, this being an obstacle related to the drug.

Objective: This study aimed to obtain an innovative system based on EFZ and the Zeolitic Imidazolate Framework (ZIF-8) to use in the development of prolonged-release pharmaceutical forms that can circumvent this problem.

Methods: The EFZ: ZIF-8 system was obtained by a selected ex-situ method due to its higher incorporation efficiency. Different characterization techniques corroborated the obtainment of the system, and drug release was analyzed by dissolution testing under sink conditions, the profiles being adjusted to some kinetic models.

Results: At pH 1.2, the structure of ZIF-8 breaks down rapidly, releasing a large amount of drug within either 3h or short time. In the pH 4.5 and 6.8 medium, the EFZ release from the EFZ: ZIF-8 system obtained in ethanol was prolonged, releasing 95% of the drug in 24h at pH 4.5 and 75% medium at pH 6.8.

Conclusion: It is evident that a promising pH-sensitive system was obtained using ZIF-8 as a novel carrier of EFZ intended for the alternative treatment of AIDS.

ARTICLE HISTORY

Received: May 07, 2020
Revised: July 09, 2020
Accepted: July 09, 2020

DOI:
10.2174/1570162X18666200804130734



CrossMark

Keywords: HIV, AIDS, anti-HIV agents, dissolution, metal-organic frameworks, drug release.

ANEXO B – 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”.



CERTIFICADO
Apresentação de Trabalhos

I COLÓQUIO REGIONAL EM MORFOTEC

Certificamos que o trabalho, intitulado “**NMOFS COMOPOTENCIAL ALTERNATIVA PARA DESENVOLVIMENTO DE DRUG DELIVERY SYSTEM ANTICÂNCER**” de autoria de Aline Silva Ferreira; Natália Milena da Silva; Alinne Éilda Gonçalves Alves; Alessandra Cristina Silva Barros; Pedro José Rolim Neto foi apresentado, modalidade pôster, durante o I Colóquio Regional em Morfotecnologia – UFPE, Promovido Pelo Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia – UFPE, realizado no Centro de Biotecnologias da UFPE em 27 de novembro de 2019, com carga horária de 8 horas, SigProj Protocolo 339143.1818.154004.25092019.

Juliana Pinto de Medeiros
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia

André de Lima Alves
Coordenador do I Colóquio Regional em Morfotecnologia

Alexsandro Azevedo da Costa
Coordenador discente do I Colóquio Regional em Morfotecnologia