

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA BNZ-MOF VISANDO PERFIS DE LIBERAÇÃO PROLONGADA

Isabela Araujo e Amariz¹; Pedro José Rolim Neto²

¹Estudante do Curso de Ciências Farmacêuticas- CCS – UFPE; E-mail: belaamariz@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto de Ciências Farmacêuticas – CCS – UFPE. E-mail: rolim.pedro@gmail.com.

Sumário: O Benznidazol (BNZ) é o principal fármaco disponível e efetivo para o tratamento da doença de Chagas, embora apresente baixa solubilidade e alta toxicidade. Novas alternativas tecnológicas vêm sendo desenvolvidas para uma melhor adesão do paciente ao tratamento, a exemplo do sistema de liberação prolongada utilizando as redes organometálicas de coordenação (do inglês *Metal Organic Framework – MOF*). O objetivo do trabalho foi obter e caracterizar os sistemas de BNZ:MOF através de técnicas analíticas, como Espectrometria de absorção na região ultravioleta (UV-visível), Difração de Raio X, Microscopia eletrônica de Varredura (MEV), e as técnicas termoanalíticas: Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e Termogravimetria (TG). Os resultados obtidos demonstraram que o sistema obtido em acetona apresenta 38% de incorporação, e a concentração é menor no quarto dia. As caracterizações através das técnicas corroboraram a reprodutibilidade da obtenção dos sistemas em acetona e a incorporação mais eficiente do fármaco, quando comparados com a obtenção em meio aquoso.

Palavras-chave: caracterização; Sistema BNZ:MOF; técnicas analíticas.

INTRODUÇÃO

As doenças negligenciadas são um grupo de doenças que afetam grande parte da população de países da América, e tem um impacto no desenvolvimento social e econômico dos países mais pobres. A doença de chagas é uma infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, e possui tratamento escasso devido a falta de recursos. O tratamento de primeira escolha para essa doença é o uso do fármaco Benznidazol (BNZ), porém alguns estudos demonstram que este apresenta baixa solubilidade e alta toxicidade e por isso o seu uso torna-se limitado (MAXIMIANO, 2010; STRECK, 2011). Diante disso o desenvolvimento de novas tecnologias tem sido importante para a melhoria de tratamentos alternativos, a exemplo do sistema de liberação prolongada que tem por suas vantagens uma maior adesão ao paciente, maior janela terapêutica do fármaco, menor repetição de dosagens. As Redes de Coordenação Organometálicas, do inglês *Metal Organic Framework* (MOF), são moléculas híbridas que possibilitam a armazenagem e posterior liberação prolongada de fármacos (PESSANHA et. al., 2012). A ZIF-8 é um tipo de MOF que apresenta estrutura flexível e permite a entrada de moléculas maiores que sua cavidade. Possui um tamanho de poros de 3,4 Å o que permite absorver moléculas pequenas. Devido as suas propriedades, a ZIF-8 foi utilizada na obtenção do Sistema BNZ:MOF (ORDOÑEZ, 2010). O objetivo do trabalho foi a obter e caracterizar o sistema BNZ:MOF a ser utilizado nos estudos de pré-formulação de novas formas farmacêuticas para o tratamento da doença de Chagas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a obtenção do sistema BNZ:MOF foram utilizados os solventes água ultra-pura MiliQ e Acetona em agitação intermitente. Para a obtenção da varredura de 200 a 1000 nm por espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) utilizou-se espectrofotômetro de absorção na região do UV (SHIMADZU® UV-2401 PC) e cubetas de quartzo de seção

transversal de 1 cm. As curvas Termogravimétricas (TG) foram realizadas por meio de termobalança Shimadzu[®], modelo TGA Q60, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa da amostra cerca de 3 mg ($\pm 0,05$) para o BNZ e a ZIF-8 isolados e 6 mg ($\pm 0,05$) para as misturas físicas (MF) e sistemas acondicionadas em cadinho de platina na faixa de temperatura de 25 a 900 °C na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. As curvas DSC do BNZ e das MF e sistemas foram obtidas utilizando Calorímetro Shimadzu[®] DSC-60 interligado ao software Shimadzu[®] TA-60WS com atmosfera de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, na faixa de temperatura de 25-300 °C. As amostras foram colocadas em porta-amostra de alumina hermeticamente fechada com massa de 2 mg ($\pm 0,2$) para BNZ e ZIF-8 e 4 mg ($\pm 0,2$) das MF. As determinações foram realizadas em triplicata. A análise de Difração de Raios-X (DRX) das amostras foi realizada em difratômetro D5000 da SIEMENS[®], equipado com ânodo de cobre a uma velocidade de varredura de 1,2°.min⁻¹, na faixa do ângulo 2 θ de 5° - 45°. Para análise da Microscopia Eletrônica de Varredura preparou a amostra sobre dupla fita de carbono contida em suporte (*stub*) de cobre e metalizada sob vácuo com a deposição de uma fina camada de ouro em equipamento BAL-TEC[®] modelo SCD 050. As análises de MEV da associação BNZ:ZIF-8 foram obtidas por microscópio eletrônico de varredura da JOEL[®], modelo JSM-5900, utilizando aumentos de 300 e 750 vezes.

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Através da espectroscopia por absorção na região do UV-Vis determinou-se o comprimento de onda de leitura ser utilizado para a quantificação da incorporação do BNZ. O BNZ teve máxima absorção em 323 nm, enquanto a ZIF-8, em 243 nm. Foram construídas curvas de calibração diárias, tomando como base o método desenvolvido por Soares-Sobrinho e colaboradores (2006), possibilitando o cálculo da incorporação aparente do BNZ à rede da ZIF-8. A partir das curvas de incorporação foi possível observar que, passados quatro dias de agitação, o valor de incorporação do BNZ à ZIF-8 foi nulo para o sistema obtido em meio aquoso. O sistema obtido em acetona também apresentou menor ponto de concentração no dia 4, totalizando, aproximadamente, 38% de incorporação. A curva TG do BNZ evidenciou uma perda de massa de 1,62%, entre 30-105 °C referente ao teor de água presente na amostra. A degradação térmica do fármaco isolado foi observada em apenas um único evento (257,15-297,13 °C) (DTG_{pico}=287,43 °C). Foi verificada uma perda de massa de 45,66%. A curva TG do ZIF-8 demonstrou a boa estabilidade térmica da molécula. Evidenciou a perda de massa de até 2,16% na faixa de temperatura entre 30 e 125 °C. Até 460,40 °C há degradação de apenas 7% da massa inicial, o que evidencia a alta estabilidade térmica da ZIF-8. No intervalo de 535,69-578,16 °C foi possível observar uma perda de massa significativa – melhor evidenciada pela curva DTA – de 24,32%, relativo a degradação da porção orgânica da molécula, o imidazolato. Estes resultados estão em consonância com trabalhos anteriores de pesquisadores importantes na área (ORDOÑES, et al., 2010). Na curva TG da MF BNZ:ZIF-8 1:1 foi possível evidenciar a antecipação da degradação térmica do fármaco isolado, ocorrendo no intervalo entre 229,89-247,23 °C (DTG_{pico}=238,04 °C), subsequente a fusão do fármaco. Observou uma redução significativa da perda de massa (24,49%), sugerindo um incremento da estabilidade térmica do fármaco quando este é submetido à simples mistura física com a ZIF-8. Em relação a degradação da ZIF-8, o primeiro evento de degradação térmica – referente à degradação do imidazolato – foi observado em um intervalo bastante diferente do evidenciado para a ZIF-8 isolada (entre 410,89-448,54 °C), também apresentando a redução da perda de massa (11,55%). Este fato sugere que a interação física entre fármaco e ZIF-8 pode desestabilizar a porção orgânica desta última. A curva TG do sistema BNZ:ZIF-8 obtido em meio aquoso evidenciou uma perda de massa de 4,17% entre 38,18-

136,32 °C, referente a perda de água adsorvida e presente no interior da ZIF-8. Observou-se que a formação do sistema antecipa os principais eventos de degradação da molécula, porém, reduz a porcentagem de massa decomposta exceto ao se tratar da porção imidazolato. Na análise do sistema BNZ:ZIF-8 1:1 obtido em meio de acetona, foi evidenciado um novo evento de perda de massa, entre 50,13-87,94 °C, com uma perda de massa de 1,97%. Foi observada uma antecipação da degradação térmica do fármaco em relação ao BNZ isolado (223,39-245,34 °C). Entretanto, foi observada uma redução ainda mais significativa da perda de massa (26,49%). Tal resultado corrobora o fato de que o sistema pode influenciar positivamente na estabilidade térmica do fármaco em relação ao mesmo isolado. A degradação da porção inorgânica da ZIF-8 ocorreu no intervalo entre 321,02-434,88 °C, com uma perda de massa de 16,15%; seguida da decomposição térmica até óxido de zinco (568,51-613,31 °C e 32,78% de perda de massa). A diferença entre este perfil térmico e o evidenciado pela MF, pode ser um grande indicativo da real formação de sistemas onde o fármaco está presente nas cavidades da ZIF-8. A curva DSC do BNZ apresentou pico endotérmico referente à fusão do fármaco bastante intenso e definido, na faixa de temperatura entre 190,04-194,36 °C ($T_{pico}=191,44$ °C) ($\Delta H=195,52$ mJ). Em seguida, foi observado o pico exotérmico relacionado à degradação do fármaco no intervalo entre 272,57-292,79 °C ($T_{pico}=286,90$ °C), o qual apresentou grande desprendimento de energia ($\Delta H=1,8$ J). A curva DSC da ZIF-8 demonstra a ausência de picos, característica inerente a natureza híbrida da molécula. Através da curva DTA foi possível observar dois eventos endotérmicos referentes à transição de fase: o primeiro entre 535,69-578,16 °C; e o segundo, entre 620,35-720,11 °C. Estes valores e respectivas perdas de massa estão descritas na discussão da curva TG da ZIF-8. Tal comportamento pode ser observado em materiais contendo zinco. A partir da curva DSC da MF BNZ:ZIF-8 1:1 foi possível evidenciar a antecipação do evento de fusão do fármaco (187,82-194,28 °C). Embora este fato pode identificar interações entre os componentes de uma formulação, a curva também evidenciou a redução da energia de entalpia referente ao evento ($\Delta H=195,52$ mJ). A curva DSC do sistema BNZ:ZIF-8 1:1 obtido em meio aquoso demonstrou a antecipação do evento de fusão (178,52-188,76 °C) ($T_{pico}=184,38$ °C), além da intensa redução da variação de entalpia ($\Delta H=472,73$ mJ), o que pode identificar o incremento da solubilidade do fármaco. Assim como na MF, o comportamento da grande antecipação da degradação do fármaco se repetiu, agora ocorrendo na faixa entre 212,57-231,28 °C ($T_{pico}=223,16$ °C), além de um aumento significativo da variação de energia desprendida ($\Delta H=2,14$ J). Na curva DSC do sistema BNZ:ZIF-8 1:1 obtido em acetona, foi possível observar um evento endotérmico entre 54,17-62,85 °C, referente à volatilização da acetona. Esse comportamento, diferente do apresentado na MF e no sistema obtido com água, pode caracterizar a formação do sistema. Na fusão do fármaco foi observado uma antecipação bem mais discreta (184,44-192,91 °C) ($T_{pico}=189,97$ °C). Esta variação – de aproximadamente 2% – é descrita por muitos autores como uma faixa aceitável da compatibilidade entre componentes de uma mesma formulação (FERRAZ, 2014). Logo, este comportamento pode identificar que o sistema obtido em acetona é, de fato, mais eficiente no que tange a incorporação do fármaco. Em relação à degradação do fármaco, o evento exotérmico foi antecipado (216,72-244,86 °C) ($T_{pico}=234,14$ °C), liberando uma energia de 1,8 J, exatamente idêntica ao apresentado pelo fármaco isolado. O perfil difratométrico do BNZ confirmou a natureza cristalina da amostra. Evidenciou-se numerosos picos de difração de alta intensidade. O DRX do ZIF-8 também determinou a característica cristalina da amostra, devido a presença de picos bastante intensos (7,44°) e outros de média intensidade (10,46 e 12,78°). A mistura física (MF) entre BNZ e ZIF-8 na proporção 1:1 (p/p) evidenciou um somatório dos perfis de ambos os componentes isolados, apresentando alguns dos seus picos característicos. O comportamento cristalino

do ZIF-8 demonstrou-se mais evidente devido ao intenso pico em $7,44^\circ$, seguido de outros, relevantes no BNZ, porém apresentando-se com menor intensidade em relação ao fármaco isolado ($16,76$ e $21,84^\circ$). O sistema BNZ:ZIF-8 na proporção de 1:1 (p/p) obtido pelo método de obtenção por solvente aquoso também apresentou comportamento cristalino, resultando em somatório dos perfis difratométricos das substâncias isoladas. O sistema apresentou os picos mais característicos do BNZ ($7,36$; $10,88$; $16,82$ e $21,88^\circ$), embora com uma intensidade média, em comparação com os perfis de DRX isolados. Apesar de não se demonstrar amorfo, o DRX é diferente do visto para a MF, o que corrobora a formação do sistema, mesmo que este seja apenas caracterizado pela adsorção física do BNZ à superfície da ZIF-8. O MEV do BNZ demonstrou aspecto cristalino regular confirmando o resultado do DRX do fármaco. A ZIF-8, também cristalina, demonstrou um aspecto quase esférico. A MF BNZ:ZIF-8 (1:1 p/p) confirmou a informação sugerida pelo DRX acerca da adsorção física entre o fármaco e o excipiente. Em contrapartida, os sistemas oriundos do método de obtenção com solvente aquoso (BNZ:ZIF-8 1:1 p/p) – e com acetona (BNZ:ZIF-8 1:1 p/p), evidenciaram a redução do tamanho e alteração da morfologia dos regulares cristais de BNZ. A redução do tamanho do cristal corrobora os resultados do DRX no que tange a formação do sistema *drug delivery*.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir das técnicas analíticas utilizadas demonstraram que a incorporação do fármaco do sistema obtido em acetona foi mais eficiente quando comparado ao sistema aquoso. O UV-visível, com auxílio de curvas de calibração diárias demonstra que a taxa de incorporação em meio acetona foi bem maior. O perfil térmico obtido através das curvas TG e DSC demonstrou que a incorporação do sistema obtido em acetona foi mais efetivo, tanto pela mudança de perfil térmico como compatibilidade entre os componentes usados. O DRX e MEV também demonstraram a incorporação mais eficiente, a partir da natureza cristalina do sistema.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Tecnologia de Medicamentos – LTM da UFPE e ao CNPq.

REFERÊNCIAS

- FERRAZ, L. R. M. **Aplicação de *quality by design* no estudo de pré-formulação farmacêutica do sulfato de hidroxiquina**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014, 201p.
- MAXIMIANO, F. P. et al. Caracterização físico-química do fármaco antichagásico Benznidazol. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p.1714-1719, 2010.
- PESSANHA A.F.V. et al. Influence of functional excipients on the performance of drugs in dosage forms. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n.2, p. 136-145, 2012.
- ORDOÑEZ, M. J. C. et al. Molecular sieving realized with ZIF-8/Matrimid® mixed-matrix membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 361, n. 1-2, p. 28-37. 2010.
- STREK, L. et al. Validação de método analítico por espectrofotometria UV para sistema emulsionado lipídico contendo Benznidazol. **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1459-1463, 2011.