



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIA EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

YURI JOSÉ DE ALBUQUERQUE SILVA

**DESIGN DE ZIF-8-90 BIOCONJUGADA PARA DRUG DELIVERY NO
TRATAMENTO DA TUBERCULOSE PULMONAR**

Recife
2019

YURI JOSÉ DE ALBUQUERQUE SILVA

**DESIGN DE ZIF-8-90 BIOCONJUGADA PARA DRUG DELIVERY NO
TRATAMENTO DA TUBERCULOSE PULMONAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de mestre em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Nano e Biomateriais

Orientador: Prof^o. Dr. Severino Alves Júnior

Co-orientador: Dr^a. Lílian Maria Lapa Montenegro Pimentel

Recife

2019

Catálogo na fonte
Mariana de Souza Alves CRB4-2106

S586d Silva, Yuri José de Albuquerque
Design de Zif-8-90 Bioconjugada para Drug Delivery no
Tratamento da Tuberculose Pulmonar – 2019.
79 f.: il., fig., tab.

Orientador: Severino Alves Júnior
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCEN. Ciência de Materiais. Recife, 2019.
Inclui referências, apêndices e anexos..

1. Nano e Biomateriais. 2. Adsorção. 3. ZIF-90. 4. ZIF-8. I.
Alves Júnior, Severino (orientador). II. Título.

620.5 CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2019-70

YURI JOSÉ DE ALBUQUERQUE SILVA

**DESIGN DE ZIF-8-90 BIOCONJUGADA PARA DRUG DELIVERY NO
TRATAMENTO DA TUBERCULOSE PULMONAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de mestre em Ciência de Materiais.

Aprovado em: 27/02/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Severino Alves Júnior
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Eduardo Henrique Lago Falcão
Universidade Federal de Pernambuco

Dr^a Silvany de Sousa Araújo
Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus pais, avós, irmãos e tios.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Severino Alves Júnior pela orientação, apoio, confiança e paciência.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE, pela concessão da bolsa de pós-graduação, nível mestrado (IBPG-1720-3.03/16).

Aos meus colegas do Laboratório BSTR (Banheiro das Senhoras Terras Raras), pelo acolhimento, conselhos e ensinamentos. Em especial a José Yago, Leonis Lourenço e Rodrigo Viana, que contribuíram bastante para essa dissertação.

Aos Professores do programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais - PGMTR, principalmente, aqueles com quem tive o prazer de ter um pouco dos seus conhecimentos repassado. Aos funcionários da secretária do programa, Ingrid Vanessa e demais bolsistas.

Aos funcionários da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental, do Centro de Ciências Exatas e da Natureza e os demais funcionários, Dona Fátima, Sr. Adonias “Sr. Madruga”, Patricia e a todos os outros.

Ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE, pelas análises e caracterizações dos materiais.

Ao Instituto Aggeu Magalhães – IAM, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ/Pernambuco, pelos testes biológicos e preparo da amostra da Microscopia Eletrônica de Varredura. Aos alunos do Laboratório de Imunoepidemiologia do departamento de Imunologia, principalmente a Aline Peixoto, Fabiana Fulco, Leonardo Aquino, Haiana Schindler e Lílian Montenegro.

Ao Professor Manoel Adrião e a Silvana de Sousa Araújo do Laboratório de Fisiologia Animal Molecular Aplicada, da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, pela colaboração na realização dos testes citotoxicidade.

A todos os amigos que conheci durante o mestrado, foi muito bom essa troca de cultura e conhecimento, tínhamos um grupo bastante heterogêneo de diversas partes do nordeste com formações em diferentes áreas.

A Maria Eduarda, por toda sua paciência e companheirismo. Estando sempre ao meu lado compartilhando desta “loucura” chamada de pós-graduação.

Meus sinceros e profundo agradecimentos!

“minha vida, meu amor, minha motivação, eles vieram da Dor!”
(REYNOLDS et al., 2017)

RESUMO

Nos últimos anos, um grande problema de saúde pública mundial é a perda de eficácia de antibióticos e a evolução de novas *estirpes* que vem surgindo com resistência a medicamentos. Nesse sentido, progressos decorrentes de décadas de estudos no desenvolvimento de fármacos vem se perdendo devido ao uso indiscriminado de antibióticos. Para minimizar a dose administrada, aumentar a eficácia e diminuir os efeitos colaterais do tratamento, a utilização de MOFs se apresentam como excelentes candidatos, devido à sua estrutura porosa e possibilidade de bioconjugação. Desse modo, este trabalho propõe-se a explorar microcristais da MOF mista ZIF-8-90 como carreadores de fármacos utilizados no tratamento da tuberculose pulmonar e sua utilização pela via inalatória em procedimentos terapêuticos. Microcristais de ZIF-8-90 foram preparados pelo método *one-pot* sendo posteriormente funcionalizado com o aminoácido glicina. Os materiais foram caracterizados por difratometria de raios X, ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H , espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), UV-vis e luminescência, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial zeta. Os ensaios de adsorção foram conduzidos em batelada com metanol. As micrografias de MEV mostraram que foram produzidos microcristais com morfologia rômica dodecaédrica, mesmo após funcionalização com a glicina. Os padrões de raios X exibidos pelos materiais são compatíveis com os padrões calculados para as ZIF-8 e ZIF-90 e indicam a formação da MOF mista e que os processos de funcionalização e adsorção não alteram a estrutura cristalina do material nem afetam sua cristalinidade. Além disso, as propriedades fotoluminescentes da MOF ZIF-8-90 (emissão sintonizável no azul e verde) fornecem mais um indício da presença dos ligantes 2-MeIM e OHC-IM. Os espectros de FTIR forneceram evidências da presença dos aminoácido e fármacos no material final. Através de deslocamentos nos modos normais de vibração, foi possível inferir as regiões de interação dos fármacos com a MOF. Por fim, os ensaios de concentração mínima inibitória mostraram menor atividade de inibição para todos os sistemas em relação aos fármacos livres. Vale salientar que os sistemas apresentam uma baixa toxicidade.

Palavras-chave: Adsorção. Biomaterial. Carreador. ZIF-8. ZIF-90.

ABSTRACT

In the last years, a major world public health problem a world has been the loss of antibiotic efficacy and the development of new strains that are emerging with drug resistance. To minimize the dose administered, increase the efficacy and reduce the side effects of the treatment, the use of MOFs present themselves as excellent candidates due to their porous structure and possibility of bioconjugation. Thus, this work proposes to explore microcrystals of the mixed MOF ZIF-8-90 as carriers of drugs used in the treatment of pulmonary tuberculosis and its inhalation use in therapeutic procedures. Microcrystals of ZIF-8-90 were prepared by the on pot method and later functionalized with the amino acid glycine. The materials were characterized by X-ray diffractometry, ^1H nuclear magnetic resonance (NMR), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), UV-vis and luminescence, scanning electron microscopy (SEM), dynamic light scattering (DLS) and zeta potential. The adsorption tests were conducted in batch with methanol. SEM micrographs showed that microcrystals with dodecahedral rhombic morphology were produced, even after functionalization with glycine. The X-ray patterns exhibited by the materials are consistent with the ZIF-8 and ZIF-90 standards and indicate the formation of the mixed MOF and that functionalization and adsorption processes do not alter the crystalline structure of the material or affect its crystallinity. In addition, the photoluminescent properties of MOF ZIF-8-90 (tunable emission in blue and green) provide further evidence of the presence of 2-MeIM and OHC-IM binders. FTIR spectra provided evidence of the presence of amino acids and drugs in the final material. Through displacements in the normal modes of vibration, it was possible to infer the interaction regions of the drugs with the MOF. Finally, the minimum inhibitory concentration assays showed lower inhibition activity for all systems relative to the free drugs. It is worth noting that the systems have low toxicity.

Keywords: Adsorption. Biomaterial. Carrier. ZIF-8. ZIF-90.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Pulmão infectado com bacilos da Tuberculose	19
Figura 2 –	Isoniazida	22
Figura 3 –	Rifampicina.....	23
Figura 4 –	Esquema do composto de coordenação com entidades de coordenação repetidas que se estende em 1, 2 ou 3 dimensões. .	24
Figura 5 –	Redes metais-orgânicas por diferentes metais e ligantes (Estrutura: em azul – metal; em vermelho – oxigênio; roxo – nitrogênio; cinza – carbono; verde – cloro)	25
Figura 6 –	Ligantes a) ZIF-8; b) ZIF-90	28
Figura 7 –	Processo de síntese da ZIF-8	29
Figura 8 –	Processo de síntese da ZIF-90	30
Figura 9 –	Solução 1 em agitação com aquecimento.	32
Figura 10 –	Solução 2 em homogeneização com agitador magnético sob T.A.	32
Figura 11 –	Adição da Solução 2 a Solução 1 (metal no ligante)	33
Figura 12 –	Processo de síntese, passo-a-passo, da ZIF-8-90	34
Figura 13 –	Funcionalização pós-síntese em sistema fechado	35
Figura 14 –	Modelo de placa de 96 poços para teste de concentração mínima inibitória	39
Figura 15 –	Pó de ZIF-8-90-Gly Salt	41
Figura 16 –	FTIR da ZIF-8	42
Figura 17 –	FTIR da ZIF-90	43
Figura 18 –	FTIR da ZIF-8, ZIF-8-90 e ZIF-90	44
Figura 19 –	FTIR da ZIF-8-90, ZIF-8-90-Gly Salt e Sal de Glicina	45
Figura 20 –	DRX da ZIF-8, ZIF-8 (calculado), ZIF-8-90, ZIF-90 e ZIF-90 (calculado).....	46
Figura 21 –	DRX das MOF's calculadas (ZIF-8 e ZIF-90), ZIF-8-90-Gly salt e sal de glicina	47
Figura 22 –	Espectro de RMN para material híbrido, ZIF-8 _{75%} -90 _{25%} (75% ligante 2-MeIM e 25% do ligante OHC-IM)	48
Figura 23 –	Análise térmica das MOFs – ZIF-8, ZIF-90, ZIF-8-90 e ZIF-8-90-Gly Salt.....	50
Figura 24 –	Micrografia da ZIF-8-90	51

Figura 25 –	Histograma de distribuição do tamanho de partícula da ZIF-8-90..52
Figura 26 –	Micrografia da ZIF-8-90-Gly Salt53
Figura 27 –	Histograma de distribuição do tamanho de partícula da ZIF-8-90-Gly Salt54
Figura 28 –	Micrografia da ZIF-8-90 + glicina a) ZIF-8-90 + Glicina (mol:mol); b) ZIF-8-90 + Glicina 20% (1:5); e c) ZIF-8-90 + Glicina 10% (1:10)..55
Figura 29 –	Micrografia da ZIF-8-90 após secagem por Spray Drying56
Figura 30 –	a) Espectros de emissão dos materiais ZIF-8, ZIF-90 e ZIF-8-90; b) Diagrama de cromaticidade CIE exibindo as coordenadas de cor dos materiais ZIF-8, ZIF-90 e ZIF-8-9057
Figura 31 –	Pó da ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com INH58
Figura 32 –	Curva de calibração para o fármaco INH58
Figura 33 –	Espectro de absorção da solução contendo Isoniazida antes e após adsorção..... 59
Figura 34 –	FTIR da ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com INH60
Figura 35 –	Pó da ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com Rifampicina61
Figura 36 –	Curva de calibração para o fármaco Rifampicina61
Figura 37 –	Espectro de absorção da solução da Rifampicina antes e após adsorção..... 62
Figura 38 –	FTIR da ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com RMP63
Figura 39 –	Teste de concentração inibitória mínima64
Figura 40 –	Gráfico de viabilidade celular65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Esquema de tratamento para casos de TB pulmonar e extrapulmonar.....	22
-------------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

λ	Comprimento de Onda
λ_{ex}	Comprimento de Onda de Excitação
1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
2-MeIM	2-Metilimidazol
BK	Bacilo de Köck
CCDC	Centro de Dados Cristalográficos de Cambridge
CLSI	Instituto de Normas Clínicas e Laboratórias
CMI	Concentração Mínima Inibitória
CMTB	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
CYP	Citocromo P450
DDS	<i>Drug Delivery System</i>
DLS	Dispersão de Luz Dinâmica
DMEM	Meio Dulbecco MEM – Meio Essencial
DMSO	Dimetilsulfóxido ou Sulfóxido de Dimetilo
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DOX	Doxorrubicina
DRX	Difração de Raios X
E	Etambutol
EtOH	Etanol
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
g	Força g – unidade de aceleração
Gly	Glicina
H	Isoniazida
$H_{37}Rv$	Cepa Padrão de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
IAM	Instituto Aggeu Magalhães
INH	Isoniazida
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
IV	Infravermelho
MAH	Monoacetilhidrazina

MeOH	Metanol
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MNT	Micobactéria não Tuberculosa
MOF	<i>Metal Organic Framework</i>
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MTT	<i>Brometo de Metiltiazolildifenil-Tetrazólio</i>
NB3	Laboratório de Nível de Segurança Biológica 3
OADC	Ácido Oleico, Albumina, Dextrose e Catalase
OHC-IM	Imidazol-2-Carboxaldeído ou 2-Imidazolecarboxaldeído
OMS	Organização Mundial da Saúde
One-Pot	Síntese em uma única etapa
PBS	Tampão Fosfato Salino
PEGDA	Diacrilato de Polietilenoglicol
PPM	Partes por milhão
PVP	Polivinilpirrolidona
PXR	Receptores X
q.s.p.	Quantidade Suficiente Para
R	Rifampicina
RAW 264.7	Linhagem Celular
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMO	Rede Metal-Orgânica
RMP	Rifampicina
RNA	Ácido Ribonucleico
RPM	Rotação por Minuto
SM	Estreptomicina
T.A.	Temperatura Ambiente
TB	Tuberculose
TBMR	Tuberculose Multirresistente
TFA	Ácido Trifluoroacético
TG	Termogravimetria
TGA	Análise Termo Gravimétrica
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

UI	Unidades Internacionais
Z	Pirazinamida
ZIF	<i>Zeolite Imidazolate Framework</i>
ZIF-8	<i>Zeolite Imidazolate Framework-8</i>
ZIF-90	<i>Zeolite Imidazolate Framework-90</i>
ZIF-8-90	<i>Zeolite Imidazolate Framework-8-90</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
2.1	TUBERCULOSE.....	19
2.1.1	Tratamento	20
2.1.2	Isoniazida	22
2.1.1	Rifampicina	22
2.2	REDES METAIS-ORGÂNICAS.....	23
2.3	SISTEMA DE CARREAMENTO DE FÁRMACO	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	GERAL	27
3.2	ESPECÍFICO	27
4	MATERIAIS E MÉTODO	28
4.1	MATERIAIS	28
4.2	SÍNTESE DA ZIF-8	28
4.3	SÍNTESE DA ZIF-90	29
4.4	SÍNTESE DE FORMATO DE SÓDIO (NaCO_2H)	31
4.5	SÍNTESE DA MOF HÍBRIDA (ZIF-8-90)	31
4.6	SÍNTESE DO SAL DE GLICINA (GLY SALT)	34
4.7	FUNCIONALIZAÇÃO DA ZIF-8-90 COM GLICINA	34
4.8	ADSORÇÃO E LIBERAÇÃO DO FÁRMACO	35
4.9	CARACTERIZAÇÕES E ANÁLISES.....	35
4.9.1	Espectroscopia no Infravermelho (IV)	35
4.9.2	Difração de Raios X (DRX).....	36
4.9.3	Espectroscopia do Ultravioleta e Visível	36
4.9.4	Análise Termogravimétrica (TGA)	36
4.9.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	36
4.9.6	Espectroscopia de Luminescência	37
4.9.7	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	37
4.9.8	Diâmetro Hidrodinâmico Médio	37
4.9.9	Potencial Zeta	37
4.9.10	Secagem por Aspersão	38
4.9.11	Concentração Mínima Inibitória.....	38

4.9.12	Avaliação da Ação Citotóxica	39
5	RESULTADO E DISCUSSÃO	41
5.1	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (IV)	41
5.2	DIFRAÇÃO DE RAIOS X	45
5.3	ESPECTROSCOPIA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR...	47
5.4	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA.....	48
5.5	ANÁLISE MORFOLÓGICA	50
5.6	ESPECTROSCOPIA DE LUMINESCÊNCIA	56
5.7	ADSORÇÃO	57
5.7.1	Isoniazida	57
5.7.2	Rifampicina	60
5.8	CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA.....	63
5.9	AVALIAÇÃO DA AÇÃO CITOTÓXICA.....	64
6	CONCLUSÃO	66
7	PERSPECTIVAS.....	67
	REFERÊNCIAS.....	68
	APÊNDICE A – HISTÓRICO ESCOLAR	74
	APÊNDICE B – ANÁLISE TÉRMICA DA ZIF-8.....	75
	APÊNDICE C – ANÁLISE TÉRMICA DA ZIF-90.....	76
	APÊNDICE D – ANÁLISE TÉRMICA DA ZIF-8-90.....	77
	APÊNDICE E – ANÁLISE TÉRMICA DA ZIF-8-90-GLY SALT.....	78
	ANEXO A – ESPECTRO RESSONÂNCIA ZIF-8_x-90_{100-x}	79

1 INTRODUÇÃO

A Tuberculose (TB) tem sido um problema para a humanidade por muito tempo. Pesquisas mostraram evidências de TB em múmias egípcias, através dos ossos mumificados, revelaram ter DNA do *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) (OUELLET; JOHNSTON; ORTIZ DE MONTELLANO, 2010). Apesar de quase um século de vacinação e mais de meia década de terapia contra a tuberculose (TB), esta doença continua sendo a principal causa mundial de morte por um agente infeccioso (OMS 2015, 2016).

A descoberta do patógeno causador da TB, o *Mycobacterium tuberculosis*, foi anunciada por Robert Köch em uma famosa palestra em 24 de março de 1882. Por sua descoberta, Köch recebeu o Prêmio Nobel em 1905, e em seu discurso salientou que a maioria das infecções por TB, tinha uma mortalidade alta. As infecções pelo agente patogênico, se iniciam, em 90% dos casos, no pulmão, com a forma da tuberculose pulmonar, sendo a forma mais comum de transmissão da doença, através das gotículas de aerossóis contendo o bacilo, expelidas por uma pessoa infectada (MOREIRA et al., 2004; SOUZA; VASCONCELOS, 2005; ZHANG et al., 2018).

A quimioterapia, atualmente disponível, inclui quatro fármacos que compõem a primeira linha de tratamento, contudo, a descoberta desses fármacos, datam de meados do século XX. O primeiro fármaco antituberculose, o Isoniazida (INH), ainda faz parte da atual terapia contra a doença, desde 1952 (OUELLET; JOHNSTON; ORTIZ DE MONTELLANO, 2010). Diversos grupos de pesquisa no mundo, estão tentando sintetizar novos ativos contra o bacilo ou novas formas de combatê-lo. Os atuais compostos ativos utilizados em carreadores de fármaco tem apresentado vantagens sobre a forma farmacêutica convencional para combater as doenças pulmonares (DONG et al., 2019; SECRET et al., 2014).

A liberação controlada de fármacos (DDS, do inglês *Drug Delivery System*) proporciona inúmeras vantagens sobre as formas farmacêuticas convencionais, tais como aumento da biodisponibilidade, diminuição da dose e especificidade. Uma outra vantagem, pode ser atribuída a liberação farmacêutica prolongada, quando o carreador permite esse papel de controle a administração do fármaco acontece com menor frequência. E dentre os diversos materiais utilizados como protótipo carreador, as Redes Metais-Orgânicas (RMO – ou MOF, do inglês Metal-Organic Framework),

tem demonstrado nos últimos 20 anos resultados bastantes expressivos que somam a essas vantagens de formas farmacêuticas administradas por liberação controlada.

As MOFs, além das vantagens do sistema controlado de liberação, apresentam ainda, segundo Alves (2013) como diferencial, uma estrutura de fácil desenvolvimento altamente moldável e bem adaptáveis ao sistema biológico. A possibilidade de estruturar de forma desejada a MOF, as tornam um excelente carreador para uso em doenças pulmonares. Esse tratamento, por via área, aerossolterapia, consiste na administração de um medicamento pela via inalatória. E para que ocorra o depósito desses carreadores no fundo dos bronquíolos, e consiga haver a liberação do fármaco, é necessário um tamanho ideal das partículas. Essas dimensões podem ser controladas na síntese das MOFs, o que a torna bastante promissora.

O presente trabalho visa desenvolver carreadores híbridos incorporados com os fármacos de primeira linha de combate a TB. Esta escolha foi baseada em estudos publicados por Secret et al., (2014), o qual relata a estrutura polimérica a base de diacrilato de polietilenoglicol (PEGDA) funcionalizada com aminoácidos, tornando assim, este biomaterial um promissor carreador para doenças pulmonares, em virtude de seu tamanho de partícula e sua boa especificidade. Por sua vez, a nossa escolha por MOFs híbridas como carreadores, advém de sua área superficial, porosidade, biocompatibilidade, possibilidade de funcionalização de sua superfície conferindo um caráter específico e com a possibilidade de uma liberação lenta, conforme é apresentado no artigo de Vasconcelos et al., (2012).

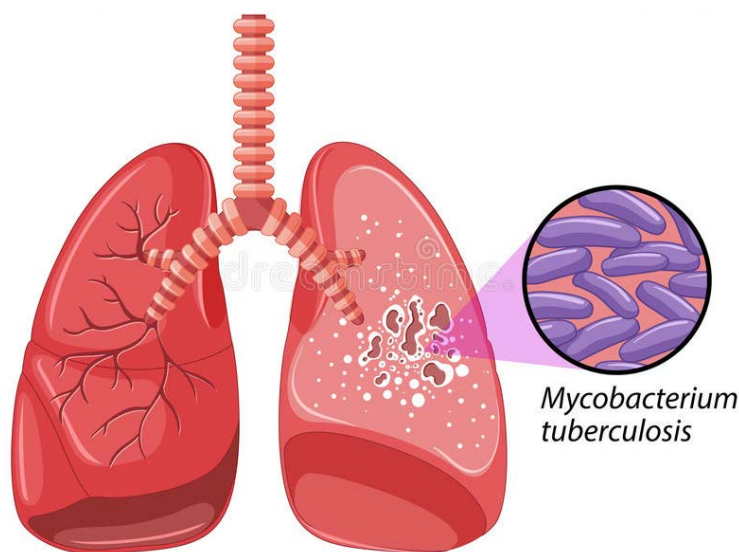
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 TUBERCULOSE

A tuberculose é uma doença bacteriana infectocontagiosa das dez principais causas de morte no mundo. Atinge principalmente os pulmões – lesão primária, no entanto, pode atingir qualquer outra parte do corpo, a TB extrapulmonar – lesões secundárias. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (2017), o agente infectante e o principal causador da patologia, é o *Mycobacterium tuberculosis* ou Bacilo de Köch (BK), identificado em 1882 por Robert Köch, entretanto, essa patologia existe a milênios. Trata-se de uma bactéria, da família *Mycobacterium*, composta por 198 espécies e 14 subespécies (RIOJAS et al., 2018; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1994).

O complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) é composto pelas principais cepas de importância clínica ao homem. As espécies de maior significado são o próprio *Mycobacterium tuberculosis*, o *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis-BCG*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium caprae* e *Mycobacterium pinnipetti*. Ademais espécies de *Mycobacterium* são consideradas não causadora da TB, as micobactérias não tuberculosas (MNT) (POROCA et al., 2009; ROSEMBERG, 2001).

Figura 1 – Pulmão infectado com bacilos da Tuberculose



Sendo considerada uma das maiores causas de morbimortalidade no mundo é, atualmente, é classificada pela OMS como uma epidemia mundial (RENS et al., 2018; SWATKO-OSSOR et al., 2018). Em 2017, foram registrados 10 milhões de novos casos de TB no mundo, e desses, quase meio milhão de pessoas, 490.000 mil, desenvolveram TB multirresistente (TBMR) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Neste mesmo período, o Brasil teve 4.426 óbitos causados pela TB. No ano de 2018, o Ministério da Saúde do Brasil, divulgou o boletim epidemiológico com os dados de novos casos de TB, os quais foram notificados 69.569 novos casos (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). E, o estado de Pernambuco, apresentou a terceira maior taxa de incidência, com 46,0 novos casos para cada 100 mil habitantes, sua capital concentrou um índice ainda maior, permanecendo na mesma posição, entre as capitais com maior incidência, com 85,5 novos casos para cada 100 mil habitantes (SAÚDE, 2017).

Com uma redução média anual, em apenas 2% para novos casos, a forma de contágio e a resistência da bactéria às intempéries do ambiente, associado à falta de diagnóstico ou à falha na adesão ao tratamento, tornam-se os fatores preponderantes para a alta taxa de contaminação (RAHEVAR et al., 2018). Assim como a resistência devido à estrutura da parede do BK, no qual dificulta o tratamento, diagnosticar esta doença também é um problema eminente. A investigação da patologia pode ser realizada através de exame radiológico para casos pulmonares, sinais e sintomas associados com a prova tuberculínica, baciloscopia de escarro e o padrão-ouro, a cultura, o qual demora entre 6 a 8 semanas (POROCA et al., 2009).

2.1.1 Tratamento

A OMS definiu a Tuberculose como um problema de emergência global e adotou algumas diretrizes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1994). As diretrizes propostas formaram um conjunto de cinco componentes-resposta que fazem parte da estratégia de boas práticas para o controle, são elas: compromisso de gestores públicos para disponibilização de recursos financeiros e humanos que adequem em atividades, tempo e compromisso dos responsáveis para uma mobilização social; diagnóstico; acompanhamento do paciente; tratamento supervisionado; e fornecimento sem interrupção dos medicamentos (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE;

SVS, 2011). A partir dessas diretrizes, o Brasil através de um comitê gestor técnico e por dados epidemiológicos apresentou um novo esquema de tratamento.

A partir de 2009, o tratamento da Tuberculose no Brasil passou a ser realizado em esquema de um único comprimido contendo um conjunto de fármacos. A adoção desse método de dose fixa combinada, foi aprovada após análise de aumento na resistência bacteriana, do bacilo da TB contra terapia medicamentosa anterior (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE; SVS, 2011). O novo esquema preconizado foi apresentado pelo Programa Nacional de Controle da TB, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Esquema de tratamento para casos de TB pulmonar e extrapulmonar.

Esquema^b	Fármacos (mg/comprimido)^c	Peso, kg	Dose
2RHZE	RHZE	≤20	10/10/35/25 mg / kg / dia
Fase intensiva	(150/75/400/275)	20-35	2 comprimidos
		36-50	3 comprimidos
		>50	4 comprimidos
4RH	RH	≤20	10/10 mg / kg / dia
Fase manutenção	(150/75)	20-35	2 comprimidos
		36-50	3 comprimidos
		>50	4 comprimidos

Legenda: rifampicina (R); isoniazid (H); Pirazinamida (Z); Etambutol (E); 2 e 4, número de meses administrado, no total de 6 meses.

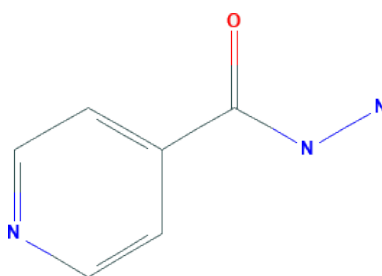
Fonte: (RABAHI et al., 2017)

2.1.2 Isoniazida

A isoniazida ou hidrazida do ácido 4-piridinocarboxílico ou hidrazida do ácido isonicotínico ou hidrazida isonicotínica (INH ou H) (Figura 2). É um fármaco de referência contra a TB, utilizado desde 1954 (BADRINATH; JOHN, 2018) sendo metabolizada, principalmente, em monoacetilhidrazina (MAH) e na diacetilhidrazina como acetilisoniazida, mediada pela enzima n-acetiltransferase e diacetilhidrazina, as quais são muito hidrossolúveis e de fácil eliminação, pelo fígado (SAUKKONEN et al., 2006). Apesar da fácil excreção, o período de exposição prolongado ao radicais livres do metabolito da MAH, torna-se hepatotóxico, independente da dose (MITCHELL et al., 1975). Contudo, a hepatotoxicidade e seu agravamento podem ser evitados com uso de vitamina B6, com uso simultaneamente à terapia contra a TB.

A concentração mínima inibitória padrão do fármaco INH contra a cepa padrão do *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*, a qual representa o Complexo Mycobacterium Tuberculose, é realizada pelo método de microplaca. As concentrações de $\geq 0,25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ são consideradas resistente e concentrações $\leq 0,12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ suscetíveis (WOODS et al., 2018). O fármaco atua sobre a síntese da parede celular das bactérias inibindo a replicação bacteriana.

Figura 2 – Isoniazida



Fonte: Pubchem, cod. 37271-10-6.

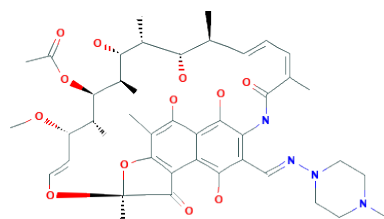
2.1.3 Rifampicina

A rifampicina ou 3-(4-metil-1-piperazinil-iminometil) rifamicina SV (RMP ou R) (Figura 3) é um dos antibacterianos mais ativos e utilizado em várias terapias, não só apenas bacteriana (BRÓLIO, 1975). Desenvolvida em 1960, o fármaco inibe o RNA polimerase (NIEMI et al., 2003), a qual é responsável por transcrever a síntese do

RNA a partir do DNA. Deste modo, o fármaco induz várias enzimas metabolizadoras, mas a principal, é o citocromo P450 (CYP) (NIEMI et al., 2003) o qual é ativado pelos receptores X (PXR), responsável por transcrever enzimas relacionadas ao metabolismo do fármaco (SAUKKONEN et al., 2006).

De acordo com o Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, do inglês – Clinical & Laboratory Standards Institute) a concentração para matar, *in vitro*, as unidades formadoras de colônia (UFC) do *Mycobacterium tuberculosis*, realizada a partir da escala nefelométrica (Escala de McFarland), com aproximadamente 3×10^8 UFC * mL⁻¹ é de $\leq 1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, define cepa sensível e $\geq 2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, cepa resistente.

Figura 3 – Rifampicina

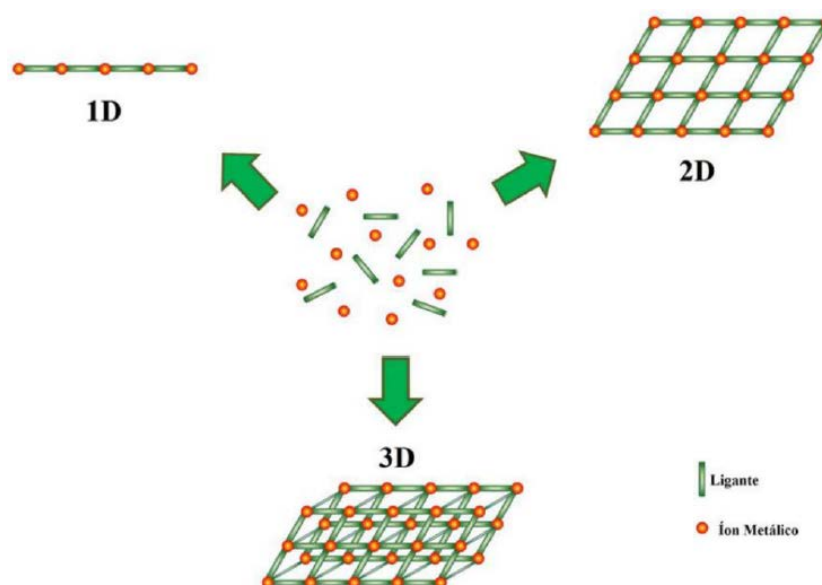


Fonte: Pubchem, cod. 13292-46-1.

2.2 REDES METALORGÂNICAS

Redes Metalorgânicas são estruturas que tem características porosas, altamente versáteis e de grande área superficial (JAYACHANDRABABU; SHOLL; NAIR, 2017). Pertencem a classe de polímeros de coordenação formada por íons metálicos, atuando como nós, ligados entre si por espaçadores orgânicos (*spacers*). Nas últimas três décadas, estes materiais evoluíram, assim como seus conceitos, desde 2013, a IUPAC definiu as MOFs (do inglês, Metal Organic-Framework) como sendo subclasses de polímeros de coordenação (BATTEN et al., 2013). Basicamente, as MOFs consistem em átomos de metais interligado por moléculas orgânicas (ligantes), ao longo de uma, duas ou três direções, conferindo as MOFs a classificação 2D ou 3D (Figura 4).

Figura 4 – Esquema do composto de coordenação com entidades de coordenação repetidas que se estende em 1, 2 ou 3 dimensões.



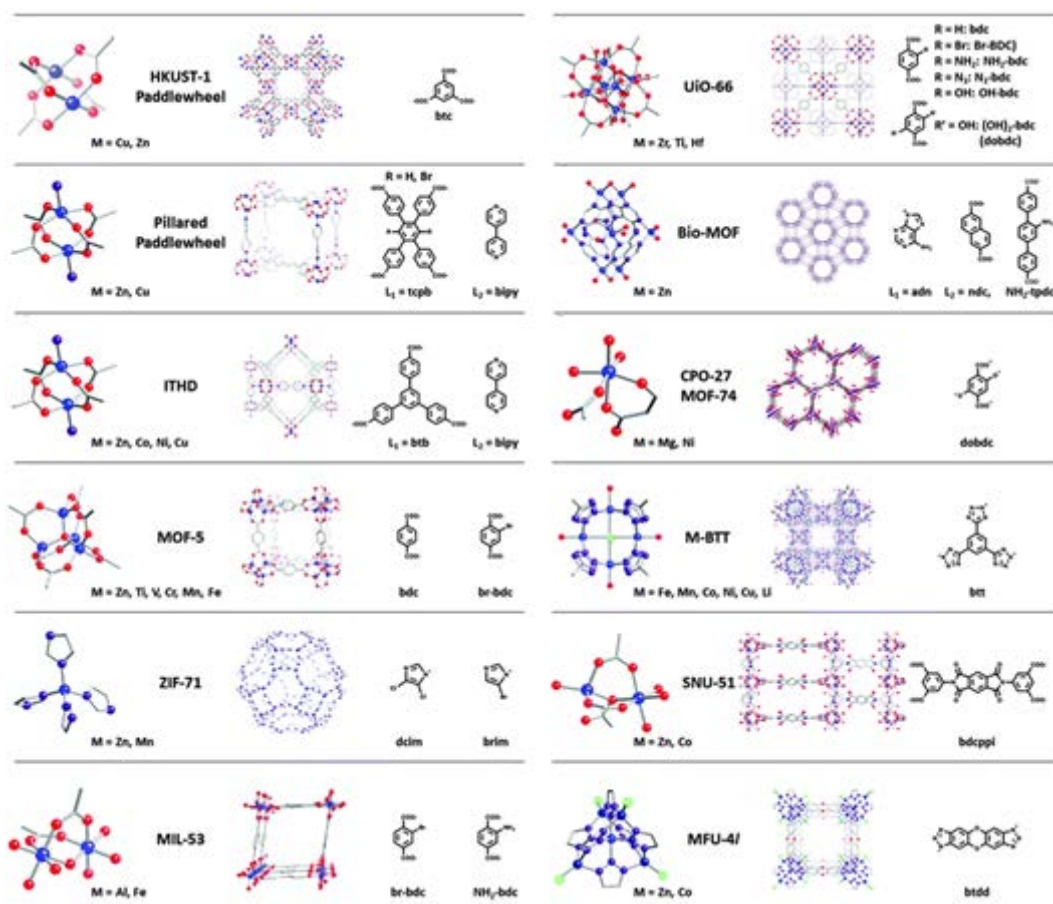
Fonte: (LUZ, 2018)

Baseando-se na química dos ligantes e os constituintes metálicos, cada rede metal-orgânica terá propriedades únicas. Pois, as propriedades físico-química dos reagentes, ligantes e metais, exercem funções sobre a estrutura da MOF (LUZ, 2018). A versatilidade das redes metais orgânicas são inúmeras e suas aplicações podem ocorrer em diversas áreas, como em energia (JAYACHANDRABABU; SHOLL; NAIR, 2017), *drug delivery system*, separação e armazenamento de gases, membranas filtrantes e adsorventes, entre outras (FERRAZ, 2017).

A introdução do uso em aplicação das MOFs na área biomédica vem mostrando seus benefícios. Segundo (VASCONCELOS et al., 2012), a ZIF-8, proposta como carreador do fármaco, doxirrubicina (DOX), demonstrou uma melhor eficiência na entrega “permitindo a liberação contínua da droga no ambiente plasmático dentro da faixa terapêutica, aumentando assim a eficácia da droga”, isso demonstra que a aplicação das estrutura metais-orgânicas são promissoras para uso no uso da terapia e/ou diagnóstico. A ZIF-90, possibilita a funcionalização na superfície da estrutura, devido aos seus grupos funcionais aldeído (R-CHO), o ‘R’ é o radical, a qual pode ser um alquila ou arila. Para uso em bioaplicação, a ZIF-90, pode ser funcionalizada para obter um melhor resposta imune, com menor toxicidade e maior especificidade do seu alvo (FANG et al., 2016a). A mistura dos ligantes de ambas MOFs, ZIFs 8 e 90, criando uma estrutura híbrida, promove uma melhor estrutura, em diversas áreas para

distintas aplicações (DAI; WEI; LEI, 2015; FANG et al., 2016a; JAYACHANDRABABU; SHOLL; NAIR, 2017; VERPLOEGH et al., 2018). A Figura 5 ilustra a versatilidade na síntese de MOFs, por diferentes ligantes e metais.

Figura 5 – Redes metalorgânicas por diferentes metais e ligantes. (Estrutura: em azul – metal; em vermelho – oxigênio; roxo – nitrogênio; cinza – carbono; verde – cloro)



Fonte: (DERIA et al., 2014)

2.3 SISTEMA DE CARREAMENTO DE FÁRMACO

O sistema de entrega de fármaco de forma controlada, surgiu com Paul Ehrlich, com o modelo de “Bala Mágica de Ehrlich”, nome esse devido a sua ideia de especificidade, onde, ao ser administrada, iria matar apenas germes específicos (FERRAZ, 2017). As doses o qual o paciente é exposto em uma terapia ou diagnóstico ou profilaxia, são altas. Essa necessidade, se dar pelo fato de que o composto apresente uma boa biodisponibilidade e consiga chegar ao local com uma

concentração desejada permitindo a ação farmacêutica no alvo e continue agindo por um período ideal (ALVAREZ-LORENZO; CONCHEIRO, 2014).

Diversas pesquisas sobre DDS estão sendo desenvolvidas, em busca de uma melhor estratégia a ser utilizada, pois esses sistemas apresentam alguns benefícios sobre a forma normal. Esses estudos tentam minimizar as doses dos ativos farmacêuticos, atuar por um período ideal (curto, médio ou a longo prazo) conforme necessidade, com menor toxicidade, melhor biodisponibilidade e especificidade, seja ela qual for a via de administração (DONG et al., 2019).

Atualmente, alguns materiais têm tido maiores destaques na literatura, como os lipossomas, ciclodextrinas, nanocápsulas, microcápsulas, esponjas, polímeros e partículas inorgânicas (FERRAZ, 2017). Grande parte das pesquisas, nas quais estão atualmente na fase clínica, próxima de virar um produto comercial, utilizam em sua grande maioria os lipossomas para o uso em liberação seletiva (COSTA et al., 2014). Contudo, as partículas inorgânicas em especial, as redes metais orgânicas são bastantes promissoras para uso como carreadores, pois podem, de certa forma, se moldar com a especificidade do problema em questão (DONG et al., 2019; VASCONCELOS et al., 2012).

A terapia por inalação é bastante utilizada para doenças respiratórias. A via de entrada, pulmonar, é bastante favorável, pois, temos uma via altamente vascularizada e uma grande área de superfície para absorção do fármaco (MARTIN; MOORE; FINLAY, 2018). Segundo Secret et al., (2014) o tamanho ideal para este tipo de terapia, deve estar na faixa de $\geq 0,5 \mu\text{m}$ a $\leq 5 \mu\text{m}$, abaixo disso as partículas tendem a ser exaladas e acima as partículas não conseguem atingir os bronquíolos e os alvéolos. Atualmente estão disponíveis alguns tipos de inaladores: inaladores pressurizados de dose calibrada, inaladores de pó seco, inaladores de névoa suave e nebulizadores.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Síntese de rede metal-orgânica híbrida (ZIF-8-90) funcionalizada com aminoácido para uso como carreador de fármacos no tratamento da Tuberculose pulmonar por via respiratória.

3.2 ESPECÍFICO

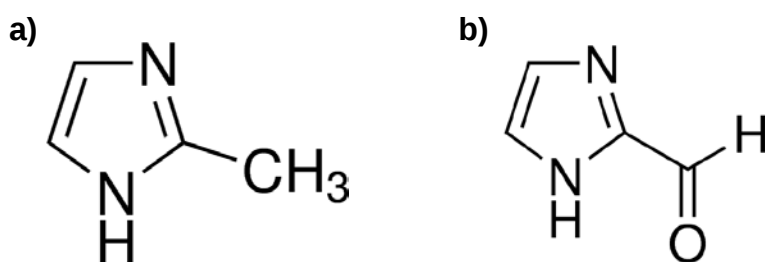
- Síntese one-pot da ZIF-8-90 (híbrida) com tamanho apropriado para uso em inalação.
- Funcionalização da ZIF-8-90 com aminoácido.
- Adsorção *ex situ* de fármacos utilizados no tratamento da Tuberculose pulmonar de primeira linha.
- Caracterização dos sistemas.
- Avaliar o potencial antimicobacteriano *in vitro* dos sistemas frente à cepa de referência sensível H₃₇Rv do *Mycobacterium tuberculosis*.
- Avaliar a ação citotóxica *in vitro* em linhagem celular – macrófago (RAW 264.7).

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 MATERIAIS

Foram utilizados os seguintes reagentes nas sínteses dos materiais. 2-metilimidazol ou 2-metilglioxalamina (2-MeIM, $C_4H_6N_2$, MM = 82,10 $g \cdot mol^{-1}$) (Figura 5.a), imidazol-2-carboxaldeído ou 2-imidazolecarboxaldeído (OHC-IM, $C_4H_4N_2O$, MM = 96,09 $g \cdot mol^{-1}$) (Figura 5.b), nitrato de zinco hexahidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, MM = 297,49 $g \cdot mol^{-1}$), glicina ou ácido aminoacético ou ácido aminoetanóico ou glicocolina (Gly) ($C_2H_5O_2N$, MM = 75,07 $g \cdot mol^{-1}$), isoniazida ou hidrazida do ácido 4-piridinocarboxílico ou hidrazida do ácido isonicotínico ou hidrazida isonicotínica (INH) ($C_6H_7N_3O$, MM = 137,14 $g \cdot mol^{-1}$), rifamicina ou 3-(4-metil piperazine liminometil) ou rifamicina SV (RMP) ($C_{43}H_{58}N_4O_{12}$) (822,94 $g \cdot mol^{-1}$), hidróxido de sódio (NaOH) (40,00 $g \cdot mol^{-1}$) e polivinilpirrolidona ou polividona ou povidona (PVP) [$(C_6H_9NO)_n$] (~55.000 $g \cdot mol^{-1}$) – todos os reagentes eram de grau analítico ou pureza comparável e procedência da Sigma-Aldrich®. Ácido Fórmico (CH_2O_2) (46,03 $g \cdot mol^{-1}$), Álcool Metílico ou Metanol (MeOH) (CH_3OH) (32,04 $g \cdot mol^{-1}$) e Álcool Etílico ou Etanol (C_2H_6O) (46,07 $g \cdot mol^{-1}$), procedência Anidrol e grau analítico.

Figura 6 – Ligantes a) ZIF-8; b) ZIF-90

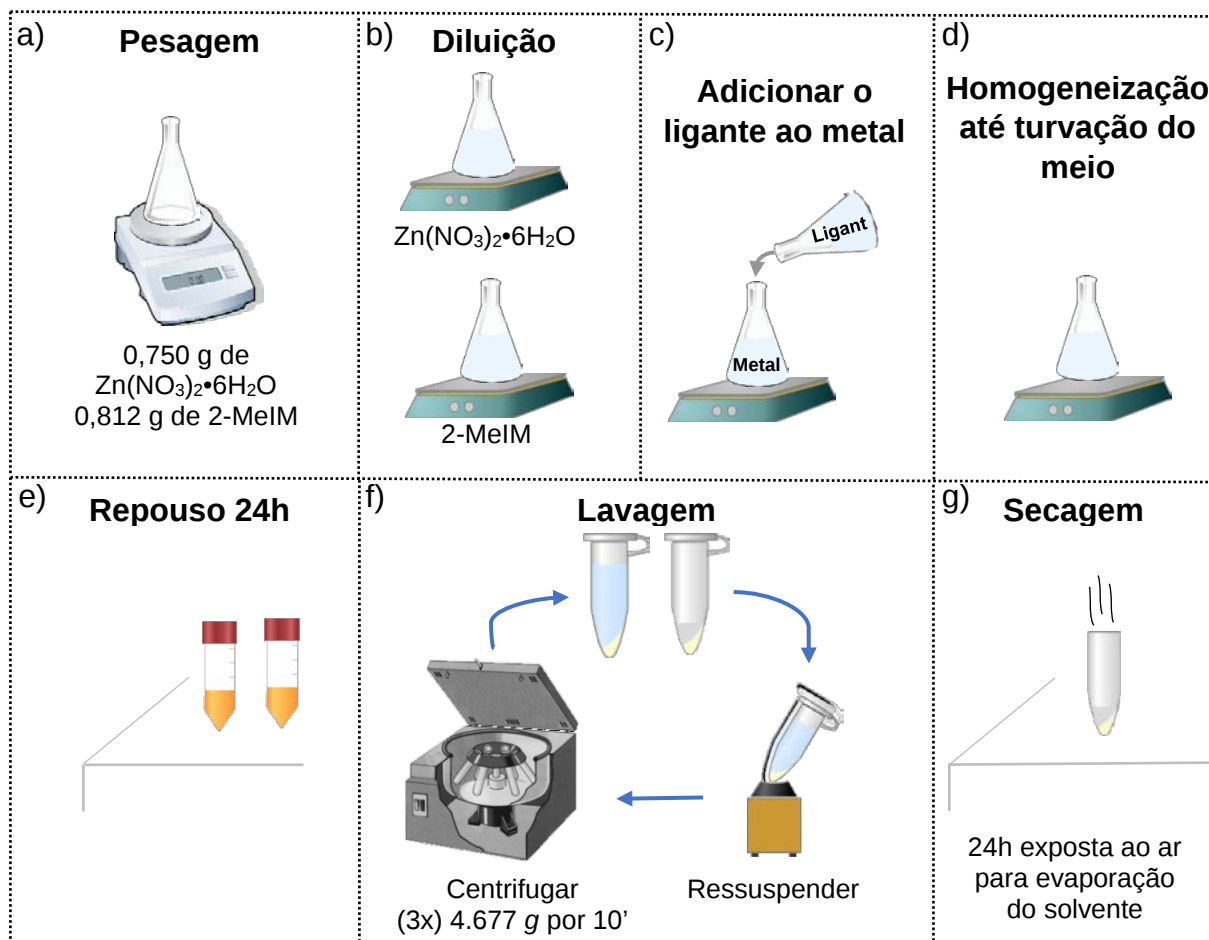


4.2 SÍNTESE DA ZIF-8

A síntese da ZIF-8 foi baseado na metodologia descrita por Cravillon e colaboradores, (2012). Foram pesados 0,750 g (2,5211 mmol) de nitrato de zinco hexahidratado e 0,812 g (9,8904 mmol) de 2-methylimidazole e diluído, cada um, em um Erlenmeyer com 50 mL de álcool metílico. Após diluição, o ligante foi adicionado ao metal e ficou sob agitação em agitador magnético por 10 minutos, apresentando

uma solução com turbidez esbranquiçada. Posteriormente, a solução ficou sob repouso por 24h. Após o período de repouso, a solução foi lavada. Foram feitas três centrifugações a 4.677 g (6.000 RPM) por 10 minutos com álcool metílico, o qual foi desprezado o sobrenadante e ressuspensionado o *pellet* com o metanol. Em seguida, a amostra foi seca a T.A. por 24h. A figura 6 demonstra passo-a-passo a síntese da ZIF-8.

Figura 7 – Processo de síntese da ZIF-8

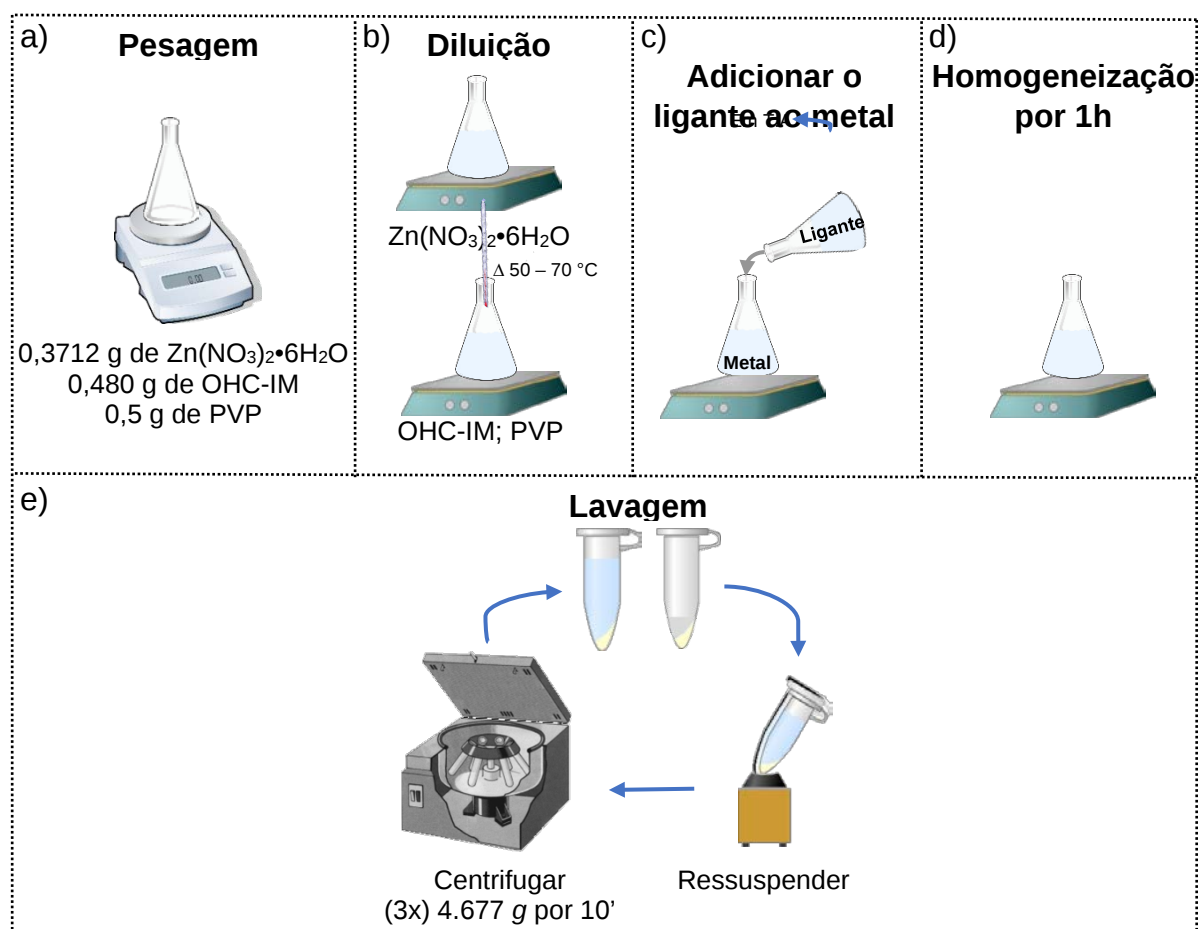


4.3 SÍNTESE DA ZIF-90

A síntese da ZIF-90, sucedeu fundamentado na metodologia adaptada de Fang e colaboradores (2016) apud Shieh e colaboradores (2013). Duas soluções foram preparadas de formas distintas antes de serem misturadas. A primeira solução contendo 0,3712 g (1,248 mmol) de nitrato de zinco hexahidratado em 25 mL de água destilada e a segunda solução, contendo 0,480 g (4,995 mmol) de OHC-IM e 0,5 g

(0,009 mmol) de PVP em 12,5 mL de água destilada e 12,5 mL de metanol. A solução contendo OHC-IM mais PVP, foi diluída aquecendo-a, entre uma temperatura de 50-70 °C em ambiente fechado para que não houvesse evaporação do solvente no aquecimento da reação. A solução contendo Zn^{2+} , também foi diluído sob agitação, porém, em T.A. Após completa diluição da solução contendo o ligante e o polímero, foi colocada em repouso até atingir a T.A. antes de ser adicionado o metal. Após adição da solução contendo o ligante e o PVP na solução contendo o metal, a nova solução, resultante da mistura, foi deixado em agitação por 1 hora, onde, neste período, a reação turvou-se obtendo uma coloração bege claro. Foi realizada a lavagem do material com água, três centrifugações de 4.677 *g* (6.000 RPM) por 10 minutos, onde o sobrenadante foi desprezado e o *pellet* ressuspensionado para remoção residual da síntese. A figura 7 demonstra passo-a-passo a síntese da ZIF-90.

Figura 8 – Processo de síntese da ZIF-90



4.4 SÍNTESE DE FORMATO DE SÓDIO (NaCO_2H)

Para obtenção do sal de formato de sódio (formiato de sódio ou metanoato de sódio), foi preparado uma solução de $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ de NaOH e foi gotejado na solução no ácido fórmico até atingir o pH 7 garantido a desprotonação do ácido carboxílico presente. O formato de sódio foi seco sob agitação e aquecimento a uma temperatura $\geq 100^\circ\text{C}$, até total evaporação da fase aquosa (BUJACZ; WRZESNIEWSKA; BUJACZ, 2010).

4.5 SÍNTESE DA MOF HÍBRIDA (ZIF-8-90)

A síntese da ZIF-8-90 híbrida, foi baseada e adaptada do método descrito por Thompson e colaboradores (2012). Foi utilizado, apenas, 25% do ligante da ZIF-90 no híbrido, pois, conforme demonstrado pelos autores as propriedades físicas e químicas apresentadas pelas MOF híbrida com essa concentração de OHC-IM já eram satisfatórios para realizar a funcionalização para melhor especificidade imunológica e obter um tamanho ideal de partícula que estivesse entre $0,5 \mu\text{m}$ a $5 \mu\text{m}$ (SECRET et al., 2014b). Foram preparadas duas soluções distintas. A solução 1, contendo 1,3602 g (20 mmol) de NaCO_2H , e 1,7091 g (20 mmol) no total da soma dos ligantes, sendo 15,2 mmol de 2-MeIM, ligante da ZIF-8 e 4,8 mmol de OHC-IM, ligante da ZIF-90. Os reagentes foram diluídos, sob agitação em agitador magnético, com 50 mL de MeOH a uma temperatura entre $50-70^\circ\text{C}$, até completa e total dissolução dos reagentes no solvente. Conquanto, a reação foi colocada de forma que não evaporasse o solvente. A elevada temperatura não degrada os nenhum dos solutos. A partir da homogeneidade da solução 1, foi deixada sobre a bancada para resfriamento, até atingir a T.A.

Figura 9 – Solução 1 em agitação com aquecimento.



A solução 2 foi preparada, diluindo 5 mmol de nitrato de zinco hexahidratado em 50 mL de água destilada. A solução 2 foi colocada em agitação, no agitador magnético até completa homogeneização. Para a solução 2, não é necessário aquecimento e/ou qualquer outro método para dissolução do soluto a não ser o descrito.

Figura 10 – Solução 2 em homogeneização com agitador magnético sob T.A.



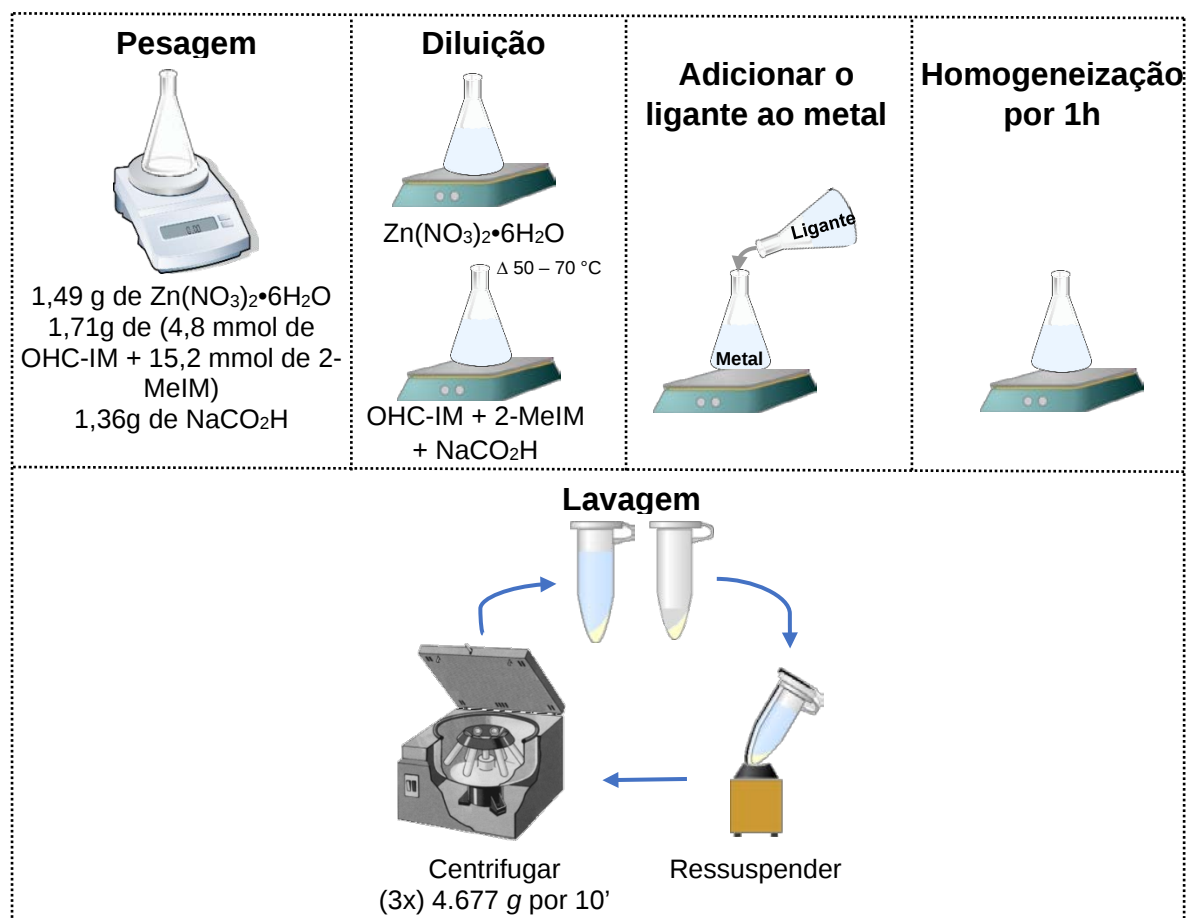
Com as duas soluções prontas, o próximo passo foi misturar ambas. A solução contendo $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foi vertida na solução contendo os reagentes NaCO_2H + 2-MeIM + OHC-IM, onde encontrava-se em agitação à T.A., antes de ser adicionado à solução 1.

Figura 11 – Adição da Solução 2 a Solução 1 (metal no ligante)



Com a mistura das soluções, a nova solução permaneceu em agitação por uma hora, para formação da rede metal-orgânica híbrida, ZIF-8-90. Após esse período, esta reação, contendo o produto ZIF-8-90, apresentou uma coloração bege opaco. Por fim, o produto foi lavado por três vezes, através do método de centrifugação a dez minutos por 4.677g (6.000 RPM), com aceleração de 20s e frenagem de 120s. O sobrenadante foi desprezado e ressuspendido com 45 mL de MeOH. O precipitado, obtido no final do processo da lavagem, foi seco, expondo-o em T.A. sobre a bancada por 24h.

Figura 12 – Processo de síntese, passo-a-passo, da ZIF-8-90



4.6 SÍNTESE DO SAL DE GLICINA (GLY SALT)

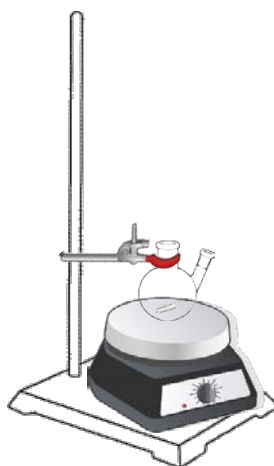
Para obtenção do sal de glicina, foram dissolvidos 300 mg (4 mmols) de glicina, em 10 mL de NaOH na concentração de $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. Os reagentes foram colocados sob agitação até sua total dissolução. Em seguida, foram adicionados, 50 mL q.s.p. de álcool etílico promovendo a precipitação do sal de glicina. A solução foi lavada por centrifugação a 4.677 g (6.000 RPM) por 20 minutos para remoção completa dos solventes.

4.7 FUNCIONALIZAÇÃO DA ZIF-8-90 COM GLICINA

A modificação pós-síntese, foi baseada e adaptada do estudo de Morris e colaboradores (2008). A reação de funcionalização ocorreu em sistema fechado com 10 mL de metanol em T.A.. Foram realizadas as seguintes funcionalizações: ZIF-8-90 + glicina (mol:mol; mol:0,1mol; mol:0,2mol); e ZIF-8-90 + sal de glicina (mol:mol).

Depois de 24h de homogeneização a reação foi colocada em tubo cônico e lavado três vezes por centrifugação, a 4.677 g por 10 minutos e ressuspendido com metanol. Por fim a amostra ficou sobre a bancada por 24h para secagem e evaporação do solvente remanescente.

Figura 13 – Funcionalização pós-síntese em sistema fechado



Agitação por 24h

4.8 ADSORÇÃO E LIBERAÇÃO DO FÁRMACO

A adsorção e a liberação do fármaco foi baseado e a adaptado conforme estudo publicado por Sun e colaboradores (2012). Para adsorção foram utilização proporções (2:3) em massa, da ZIF-8-90 e do fármaco, contudo o tempo para incorporação foi realizado em 180 minutos. A liberação do fármaco adsorvido pela ZIF híbrida, foi realizado em meio aquoso com solução tampão fosfato-salino (PBS) pH 7,4, sob agitação e temperatura de $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 dias.

4.9 CARACTERIZAÇÕES E ANÁLISES

4.9.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os espectros de transmitância no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), foram obtidos pelo equipamento da PerkinElmer, modelo Spectrum 400 IR, analisada na região $4.000\text{-}650 \text{ cm}^{-1}$, em T.A.

4.9.2 Difração de Raios X (DRX)

Os padrões de difração de raios X de pó, foram obtidos em um difratômetro de raios X de marca Rigaku, modelo SmartLab fonte de radiação de cobre, no intervalo de 5-60°, utilizado um passo angular de 0,02° e tempo de obtenção de 1 s por ponto.

4.9.3 Espectroscopia do Ultravioleta e Visível

Os espectros de absorção para os ensaios de adsorção e liberação foram obtidos em solução aquosa em um UV-VIS da PerkinElmer modelo Lambda650.

4.9.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas (TGA), foram realizadas utilizando uma termobalança de marca Shimadzu, modelo DTG-60H, com porta amostra de platina, em atmosfera de ar sintético e fluxo de 100 mL * min⁻¹, e taxa de aquecimento de 10 °C * min⁻¹ da temperatura ambiente até 900 °C.

4.9.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Para a análise de acoplamento dos ligantes da ZIF-8 e ZIF-90 foi realizado a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). A amostra da MOF híbrida, ZIF-8-90, com massa de 5 mg foi solubilizada com 600 µL de D₂O em tubo de RMN de 5 mm de diâmetro. Os sinais do espectro foram referenciados a partir do sinal atribuído aos hidrogênios da água (δ 4,70 ppm). Foram obtidos espectros utilizando espectrômetro Varian Unity Plus 300, operando a 299,95 MHz, para o núcleo de ¹H. As sequências de pulsos de RF utilizadas foram a PRESAT, para o material, com janela espectral 4,8 kHz, tempo de pressaturação igual a 2 s, tempo de aquisição igual a 1,704 s, pulso de RF de 45°, 32 repetições e temperatura de 25°C. Os espectros foram processados usando line broadening igual a 0,3 Hz.

4.9.6 Espectroscopia de Luminescência

As análises de luminescência foram adquiridas em um espectrofluorímetro Horiba Jobin-Yvon Fluorolog-3 com fontes de excitação de lâmpadas de xenônio (450 W) contínua. Os dados foram coletados em um ângulo de 90°, em relação ao feixe de emissão. A medida de emissão foi realizada em amostras sólidas em temperatura/pressão ambiente.

4.9.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico de varredura, marca TESCAN, modelo MIRA3, com filamento de W e voltagem de 10 kV. Para preparo das amostras, foi utilizado fita dupla face de carbono, onde uma face é fixada na porta amostra (*stub*) e outra face recebe a amostra, e posteriormente metalizada, com uma fina camada de ouro de aproximadamente ± 10 nm de espessura.

4.9.8 Diâmetro Hidrodinâmico Médio

A determinação do tamanho do diâmetro hidrodinâmico médio e a distribuição do tamanho dos complexos binários e pseudo-ternários foi realizada pelo espalhamento de luz dinâmico, utilizando-se, de um laser Ne-He e as medidas do ângulo de espalhamento de 173° - retroespalhamento, a partir do equipamento da marca Malvern modelo Zetasizer Nano ZS.

4.9.9 Potencial Zeta

A determinação da diferença de potencial entre o meio de dispersão móvel e a camada estacionária do meio de dispersão ligado à partícula dispersa (do inglês, Zeta Potential – ζ potential), foi realizada em um equipamento de marca Malvern modelo Zetasizer Nano ZS com cubetas apropriadas marca Altman modelo DTS1061

4.9.10 Secagem por Aspersão

A secagem por aspersão foi realizada em um equipamento da Buchi modelo B-290. A amostra da MOF híbrida foi suspensa em água ultrapura e seca por um ciclone/vórtex de ar a 180 °C.

4.9.11 Concentração Mínima Inibitória

A determinação da concentração mínima inibitória (CMI), foi realizada a partir da técnica de ensaio em microplaca Alamar Blue™ (MABA), indicando a atividade antimicobacteriana contra o bacilo da Tuberculose ATCC® 27294™ H₃₇Rv (MISSIO et al., 2009). O experimento foi realizado na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Instituto Aggeu Magalhães (IAM) – Pernambuco, no laboratório de Imunoepidemiologia e no laboratório de nível de segurança biológica – nível 3 (NB3).

A atividade antimicobacteriana contra o bacilo foi determinada através da menor concentração do agente capaz de inibir o crescimento bacteriano. Este teste foi realizado através da técnica de ensaio em microplaca, na qual foi utilizada a resazurina, oxirredutor, como indicador de crescimento bacteriano. Realizou-se o preparo da solução mãe dos compostos, no qual foi dissolvido em Dimetilsufóxido (DMSO), ficando com a concentração de 1024 µg * mL⁻¹, que, posteriormente, foram diluídas para uma concentração menor, a solução de trabalho. O meio de cultivo líquido Middlebrook 7H9 Broth Base (Sigma-Aldrich®) foi preparado conforme protocolo contido no rótulo do produto e enriquecida com caldo Middlebrook OADC (BD BBL™). A cepa de referência H37Rv (ATCC 27294) foi posta em meio líquido por 7 dias a 37 °C, onde favorece o crescimento bacteriano, tornando mais rápido, no qual foi removido uma alíquota para preparo do inóculo, contendo a concentração de 3 x 10⁸ bactérias/mL, equivalente a escala nº 1 de McFarland.

O ensaio em microplaca de 96 poços em “U” continha água ultrapura na primeira e última linhas e primeira e última colunas, para conservar o ambiente estéril do experimento assim que for posta em incubação e não ocorra evaporação do conteúdo. Os poços de teste foram preenchidos com 100 µL de meio líquido. A partir da solução de trabalho, foi removido uma alíquota de 100 µL e diluída em série na microplaca, desprezando 100 µL do último poço para que ao término os poços permaneçam com o mesmo volume inicial.

As concentrações dos carreadores testes variaram de 50 a 0,78 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, com 1% de DMSO no primeiro poço. Os fármacos Estreptomicina (SM) e Rifampicina (RMP) foram utilizados como drogas de referência. A concentração dos fármacos padrão foram de $> 0,5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ e $> 0,062 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para SM e RMP, respectivamente. Foi adicionado 100 μL do inóculo nos poços testes. Porém, não ultrapassando o volume final do meio líquido mais composto teste e inóculo bacteriano, totalizando 200 μL . Mantendo na estufa por 7 a 10 dias, a 37 °C. Após esse período, foi adicionado 30 μL de resazurina a 0,01% como indicador de crescimento. A resazurina é um corante azul, o próprio é, fracamente fluorescente até que seja irreversivelmente reduzido para o colorido e altamente vermelho fluorescente rosa resorufina. Posteriormente a adição da resazurina, as microplacas foram postas em estufa novamente, onde permaneceram por mais 24 horas a 37 °C. A leitura do resultado é realizada visualmente a olho “nú”, verificando onde houve a mudança de coloração para rosa resorufina, o que indica que houve uma redução da oxidação.

Figura 14 – Modelo de placa de 96 poços para teste de concentração mínima inibitória

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		H ₂ O											
Composto 1	B	H ₂ O	50 µg/mL	25 µg/mL	12,5 µg/mL	6,25 µg/mL	3,12 µg/mL	1,56 µg/mL	0,78 µg/mL	16	16	C+	H ₂ O
	C									8	8	C+	
	D									4	4	C+	
Composto 2	E		50 µg/mL	25 µg/mL	12,5 µg/mL	6,25 µg/mL	3,12 µg/mL	1,56 µg/mL	0,78 µg/mL	2	2	C-	
	F		50 µg/mL	25 µg/mL	12,5 µg/mL	6,25 µg/mL	3,12 µg/mL	1,56 µg/mL	0,78 µg/mL	1	1	C-	
	G									0,5	0,5	C-	
H			H ₂ O										
										SM	RMP		

4.9.12 Avaliação da Ação Citotóxica

Avaliação da ação citotóxica através análise da viabilidade celular *in vitro* das amostras sobre células da linhagem celular de macrófagos murinos RAW 264.7 foi realizada pela metodologia proposta por Mosmann, (1983), com modificações. O experimento foi realizado na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no Laboratório de Fisiologia Animal e Molecular Aplicada.

As células foram semeadas (1×10^4 células por poço) em placa de 96 poços de fundo chato e cultivadas em meio DMEM, suplementado com 10% de soro bovino fetal e 1% de antimicótico/antibiótico (25 $\mu\text{g/mL}$ de anfotericina B, 100 UI $\cdot \text{mL}^{-1}$ de Penicilina e 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ de Estreptomicina) em atmosfera úmida com 5% de CO_2 a 37 °C; após 24h para adesão das células a placa, as mesmas foram expostas aos carreadores e suas respectivas variações de sistema.

As placas foram incubadas por 24h e em seguida, foi adicionado 20 μL de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolio – MTT) ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), incubado por 3h, nas mesmas condições. Após incubação com o MTT toda a solução foi aspirada e adicionado 100 μL de DMSO a cada poço. Em seguida, a absorbância (470 nm) foi medida em um leitor de microplacas. Para verificação da viabilidade dos tratamentos nas diferentes concentrações do material foi adotado como controle negativo apenas por células cultivadas em meio de cultura. Para verificação da citotoxicidade as médias de absorbância foram analisadas por meio da ANOVA (análise de variância) e posteriormente foi realizado o teste de Tukey para comparação entre as diferentes concentrações testadas e o controle negativo.

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

Os materiais obtidos ZIF-8, ZIF-90, ZIF-8-90 e ZIF-8-90-Gly Salt, pode observar as seguintes características macroscópicas: material esbranquiçado e seco. E, a partir desse aspecto, foram realizadas as caracterizações (FTIR, DRX, TGA, MEV, DLS, potencial Zeta, secagem por aspersão, adsorção, luminescência, CMI e citotoxicidade) e preparação dos sistemas ZIF-8-90-Gly Salt + Fármacos (adsorvidos) e análises dos sistemas.

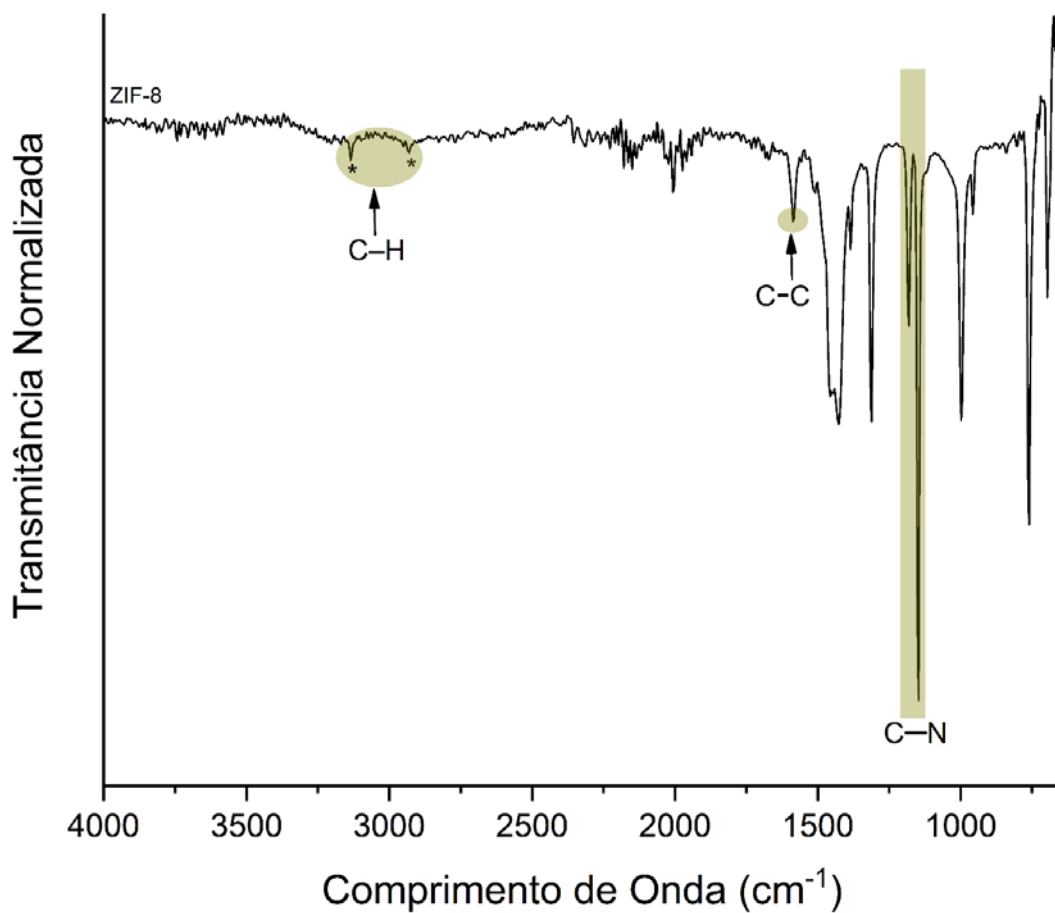
Figura 15 – Pó de ZIF-8-90-Gly Salt



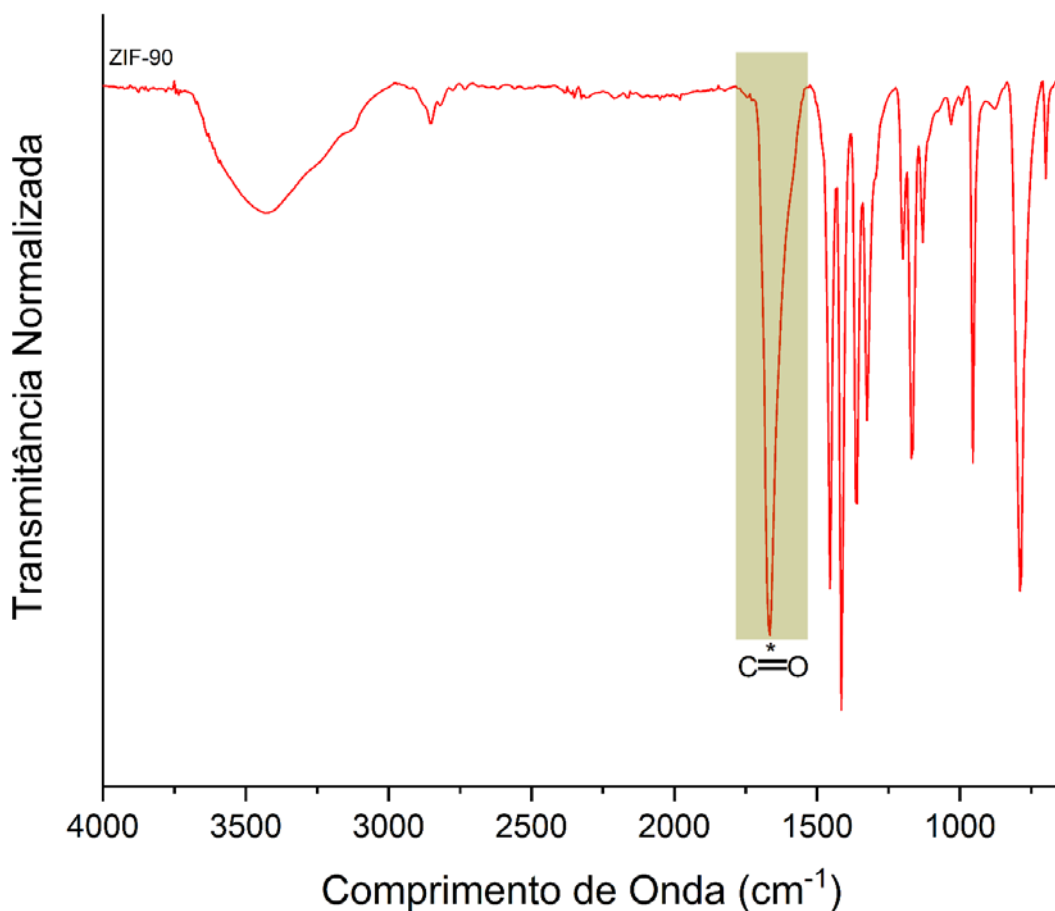
Fonte: autoria própria.

5.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (IV)

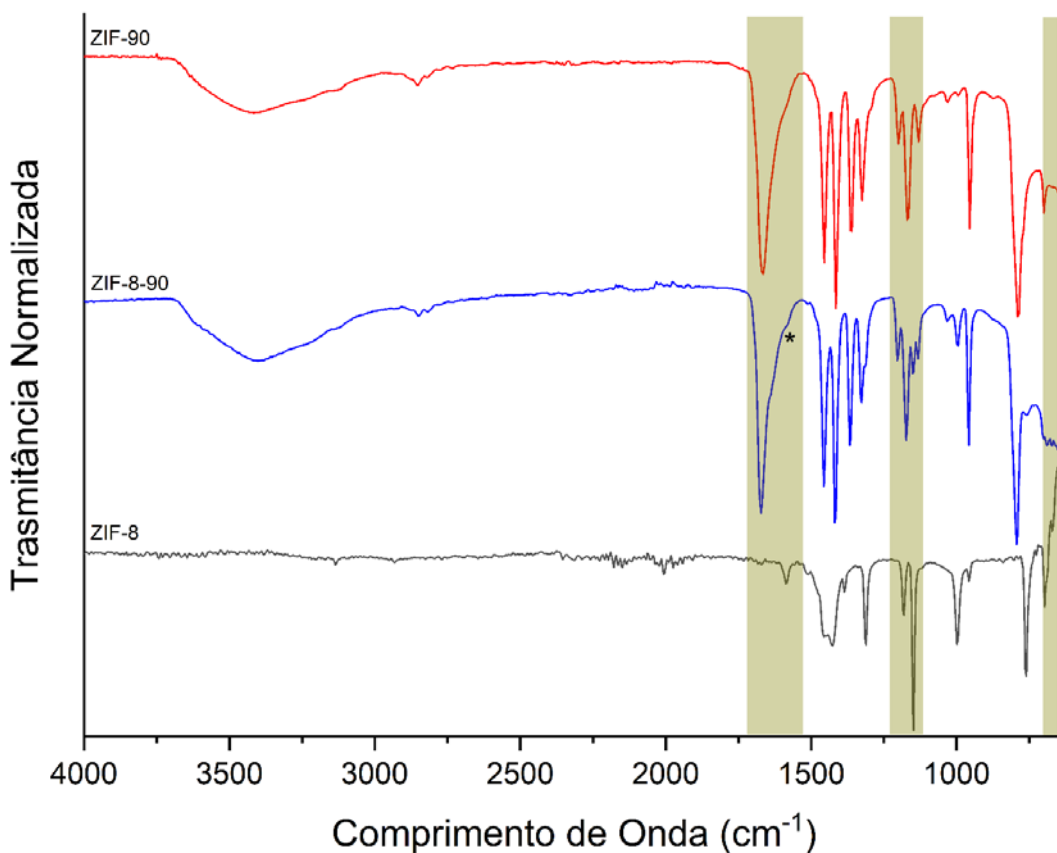
A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), elucidou os modos vibracionais moleculares – deformações axiais e deformações angulares dos materiais produzidos e suas variações. A figura 15 representa o espectro de FTIR da ZIF-8 sintetizada. As bandas em 3135 e 2930 cm^{-1} estão relacionadas ao estiramento C–H dos compostos aromáticos do anel imidazol. Em 1586 cm^{-1} uma banda relacionada ao alongamento C=C. E, as bandas estreitas em 1180 e 1147 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento C–N do ligante, concordando com os dados da literatura, conforme demonstrado por JING et al., (2014) e SUN et al., (2012).

Figura 16 – FTIR da ZIF-8

A figura 16 representa o espectro de FTIR da ZIF-90 sintetizada. É observado a banda centrada em 1665 cm⁻¹ referente a frequência de estiramento da dupla ligação C=O correspondente ao aldeído. Esta atribuição está de acordo com os dados apresentados na literatura (HUANG et al., 2012; JOSE et al., 2015; SHIEH et al., 2013).

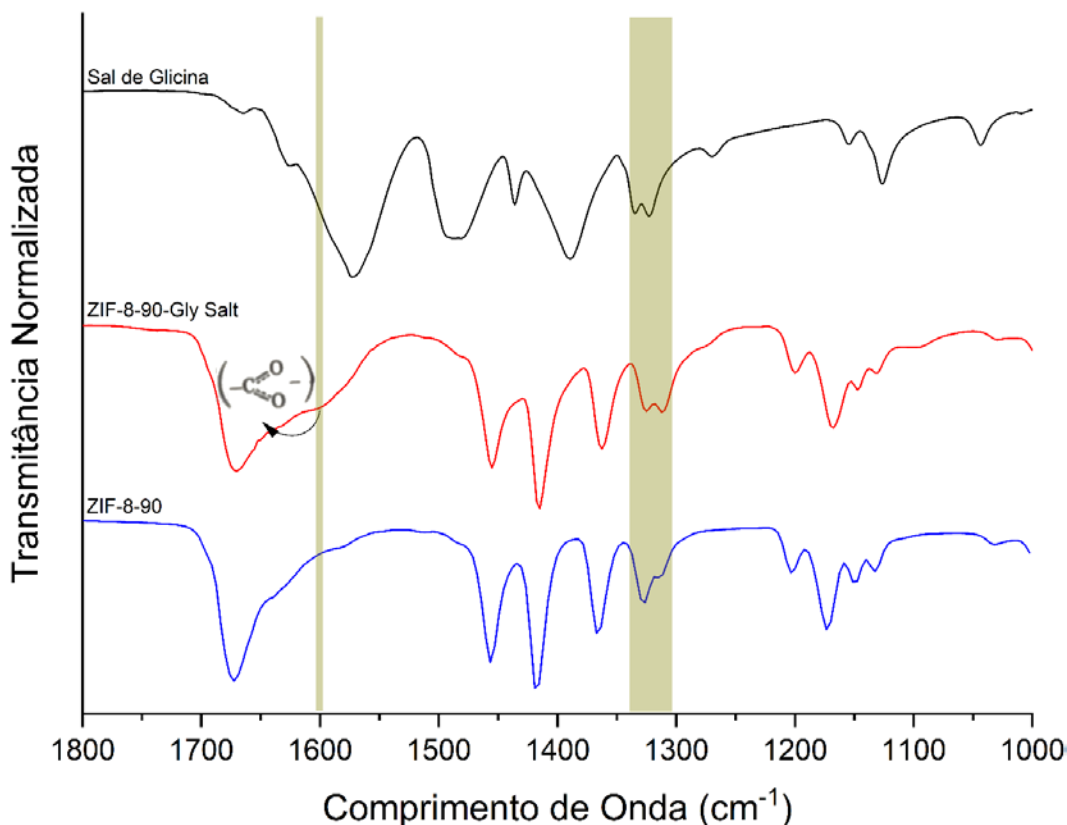
Figura 17 – FTIR da ZIF-90

A figura abaixo evidência, de forma conclusiva, a formação dos cristais híbridos de ZIF-8-90. Na figura 17 são visualizados os espectros de infravermelho com transformada de Fourier relacionados a ZIF-8 (parte inferior do gráfico), ZIF-8-90 (no meio do gráfico) e ZIF-90 (parte superior do gráfico). Observamos que na híbrida é possível observar as bandas dos ligantes das duas ZIF's, contudo a uma predominância maior pelas bandas da ZIF-90. A primeira observação a ser reportada, é na região da banda 1680 cm⁻¹ correspondente à C=O, no qual, observou-se um alongamento de vibração devido a assinatura dos ligantes da ZIF-8 e ZIF-90. A faixa, que compreende 1200 cm⁻¹ a 1130 cm⁻¹, foram verificados bandas relativas a ZIF-8 em 1147 cm⁻¹ e da ZIF-90 em 1200, 1170 e 1130 cm⁻¹. E na banda em 700 cm⁻¹ uma deformação do anel 2-MeIM. Estas atribuições estão de acordo com Jayachandrababu, Sholl e Nair (2017).

Figura 18 – FTIR da ZIF-8, ZIF-8-90 e ZIF-90

Não serão apresentados dados de FTIR da ZIF-8-90 + Glicina (mol:mol, glicina/ZIF-8-90, 1/5 e 1/10), devido os testes de funcionalização com a mesma, terem levado a decomposição da MOF (ZIF-8-90), demonstrado através das micrografias eletrônica de varredura, apresentado na seção 5.5. Por esse motivo os testes de funcionalização foram realizados com o sal de glicina e os resultados apresentados para a mesma. Para a MOF híbrida funcionalizada (linha vermelha correspondente a ZIF-8-90-Gly Salt da figura 18, observa-se em 1600 cm^{-1} um ombro caracterizado pelo carboxilato C–O–O, estas bandas provêm das deformações axiais assimétricas e simétricas de C–O. Na região 1325 cm^{-1} a 1310 cm^{-1} duas bandas características provenientes da deformação axial C–O aparecem no espectro, estas bandas envolvem alguma interação entre a deformação axial e a deformação angular no plano de O–C–O. As energias com que ocorrem as vibrações e deformações relacionadas ao grupo carboxilato da glicina na ZIF-8-90-Gly Salt estão deslocadas para números de onda de maior energia em relação ao sal de glicina, indicando que há interação da glicina com a MOF e que está ocorre por meio do grupo carboxilato da glicina,

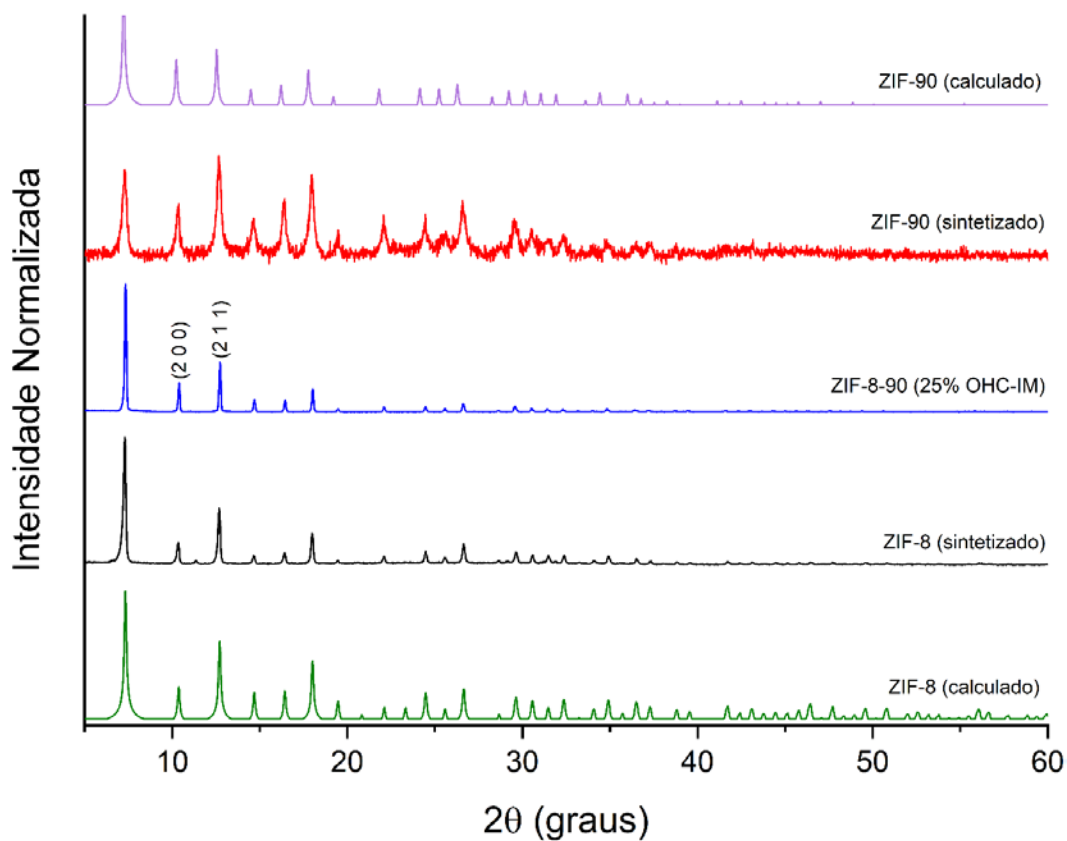
Figura 19 – FTIR da ZIF-8-90, ZIF-8-90-Gly Salt e Sal de Glicina



5.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A figura 19 representa o difratograma de Raios X de pó das amostras de ZIF-8, ZIF-8 calculado (centro de dados cristalográficos de Cambridge – CCDC, código: CCDC 602542) (CCDC, 2018; PARK et al., 2006), ZIF-8-90 (25% de OHC-IM), ZIF-90 e ZIF-90 calculado (base de dados aberto de cristalografia – COD, código: 4108377) (COD, 2018; MORRIS et al., 2008). Podemos verificar o padrão das células unitárias cúbicas da ZIF-8 e ZIF-90, são semelhantes, apresentando mudanças sutis, quase não perceptíveis pelo difratograma, devido à estrutura eletrônica semelhante da constituição dos ligantes. A dificuldade de verificar as variações dos cristais é analisada e justificada por Thompson e colaboradores, (2012), em que é observado a mudança na célula unitária da MOF híbrida não se difere mais do que 3%, da ZIF-8 e da ZIF-90. Sendo assim, a ZIF-8-90 mantém a mesma topologia com picos, posições e intensidades semelhantes, não possibilitando distinguir a heterogeneidade de distribuição dos ligantes a partir de padrões de DRX.

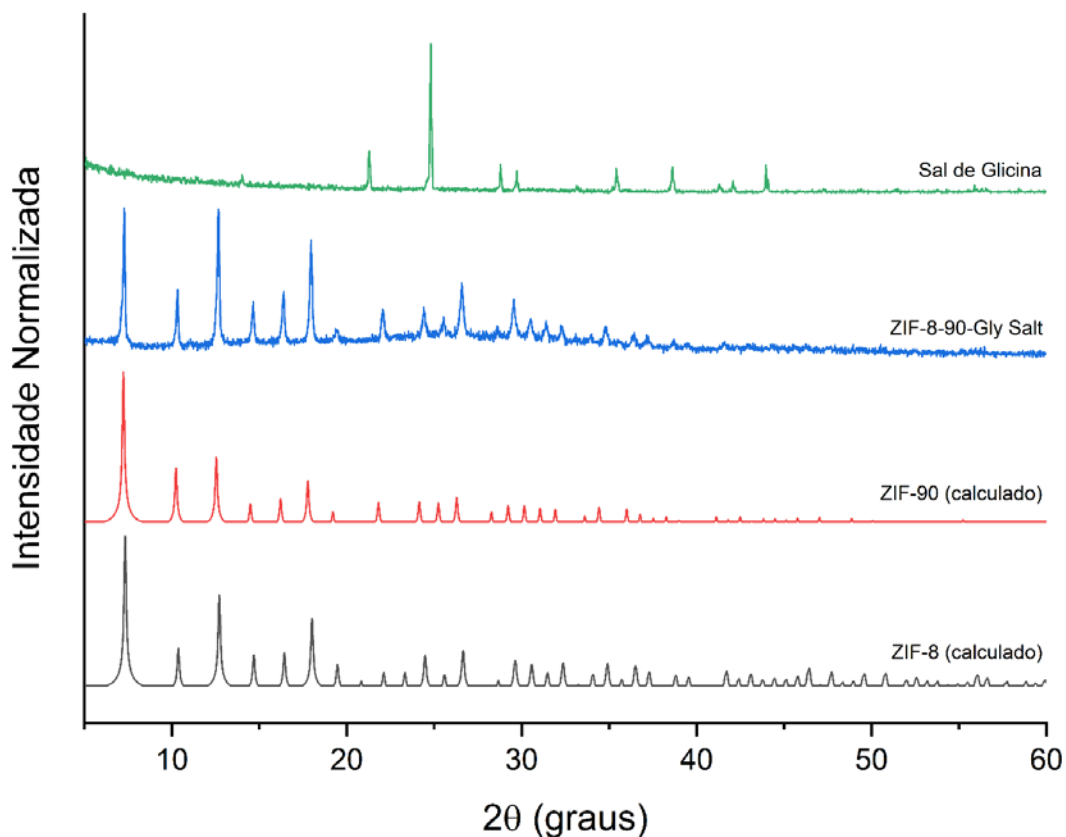
Figura 20 – DRX da ZIF-8, ZIF-8 (calculado), ZIF-8-90, ZIF-90 e ZIF-90 (calculado)



Devido à grande semelhança dos parâmetros de rede das MOF's ZIF-8 e ZIF-90 não foi possível identificar através das posições angulares dos picos de difração de Raios X de pó da MOF híbrida, ZIF-8-90, a presença das duas fases. Contudo, pôde-se verificar por meio da mudança nas intensidades relativas dos picos de difração em $10,4^\circ$ (200) e $12,7^\circ$ (211) a formação ZIF-8-90.

A MOF funcionalizada mantém o perfil de difração, indicando que não há perda de cristalinidade após a conjugação. O padrão de difração exibido pela ZIF-8-90-Gly Salt (figura 20).

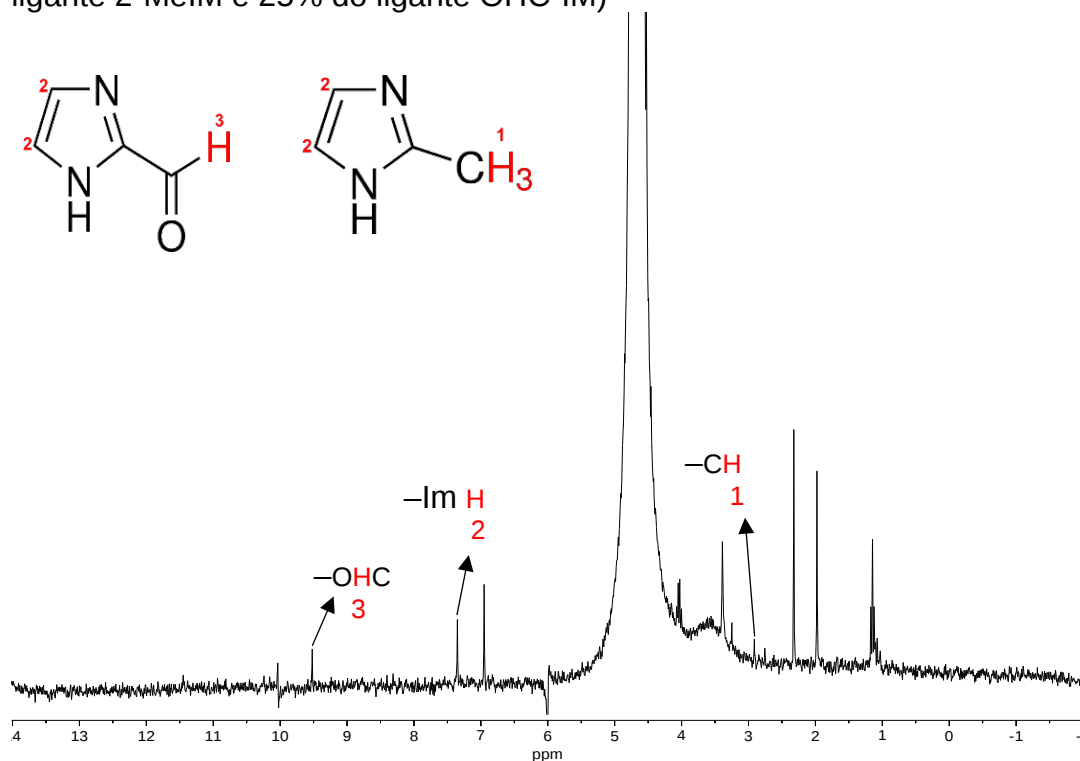
Figura 21 – DRX das MOF's calculadas (ZIF-8 e ZIF-90), ZIF-8-90-Gly salt e sal de glicina



5.3 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

O espectro de RMN de ^1H obtido da síntese do híbrido, ZIF-8-90, demonstram as assinaturas químicas do grupo metila – CH_3 (2,6 ppm), prótons nas posições 4 e 5 dos anéis de imidazol de ambos ligantes da ZIF-8 (2-MeIM) e ZIF-90 (OHC-IM) (7,4 ppm) e o próton do grupo aldeído, 2-imidazolecarboxaldeído (9,6 ppm), confirmando a presença de ambos os ligantes da ZIF-8 e ZIF-90 na estrutura do híbrido, ZIF-8-90, corroborando com Jayachandrababu e colaboradores, (2016) (Anexo A). Diferenças de picos com a literatura e não listados com os rotulados podem estar relacionados ao solvente de digestão e preparação do híbrido. O sinal negativo ao centro, em 6 ppm, está relacionado com o material que não foi diluído por completo.

Figura 22 – Espectro de RMN para material híbrido, ZIF-8_{75%}-90_{25%} (75% ligante 2-MeIM e 25% do ligante OHC-IM)



5.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

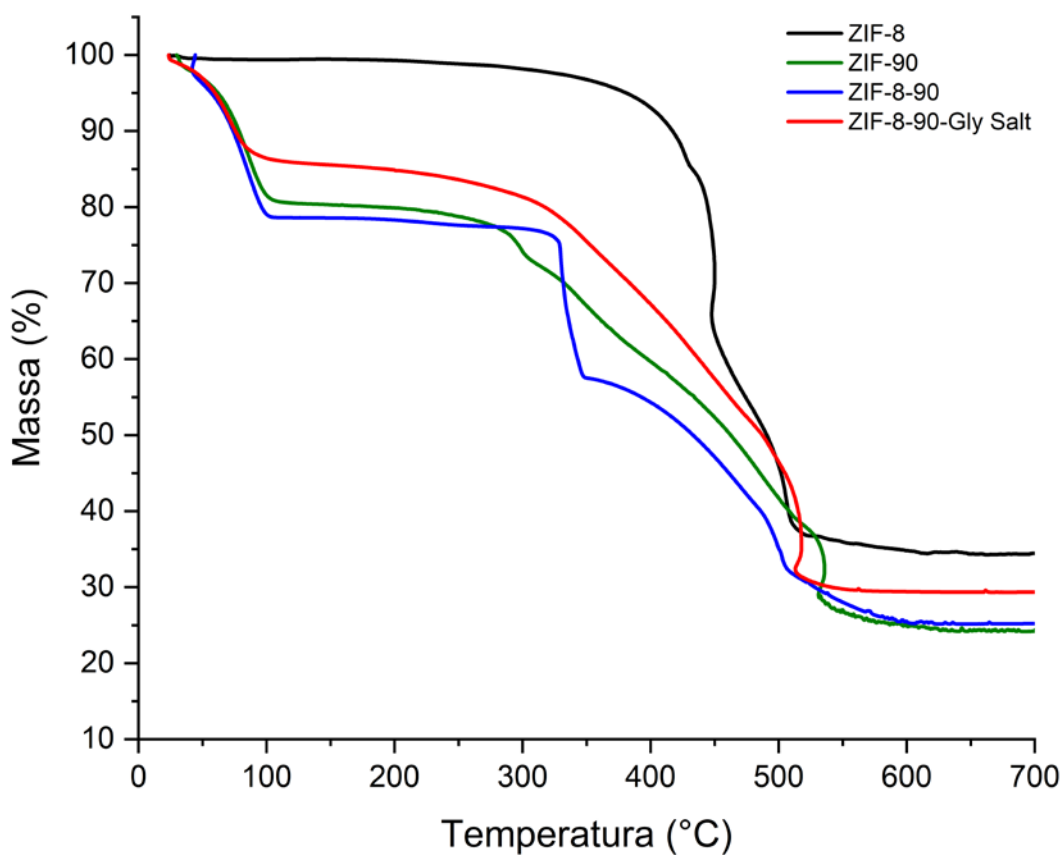
Foi realizada a análise termogravimétrica nas sínteses de ZIF-8, ZIF-90, ZIF-8-90 e ZIF-8-90-Gly Salt, com intuito de investigar suas estabilidades térmicas dos materiais sintetizados. Conforme pode ser observado na figura 22 (ou no apêndice B) a ZIF-8 demonstrou uma boa estabilidade térmica, exibindo dois eventos exotérmicos relacionados com a decomposição do imidazol (65,4%), parte orgânica deste material entre 460 °C a 610 °C. A massa residual de 33,64% está relacionada a formação de óxido de zinco. A MOF ZIF-8 apresentou uma melhor estabilidade térmica do que a apresentada na literatura por Amirilargani e Sadatnia, (2014) que se inicia em 300 °C.

Ainda, de acordo com os dados de análise termogravimétrica para a ZIF-90 apresentados na figura 22 (ou no apêndice C), é possível observar que a estabilidade térmica da mesma é menor que da ZIF-8. A curva de TG exhibe um primeiro evento, endotérmico, na faixa de temperatura ambiente até 120 °C com perda de massa de 19,5% o qual está relacionada a perda de moléculas de solvente aprisionadas na estrutura ou nos poros da MOF. E, mais três eventos exotérmicos entre 250 °C e 610 °C, totalizando uma perda de massa de 55,8%, ambos relacionados a decomposição

do ligante da ZIF-90. A porcentagem de massa residual, 24,7%, está relacionada a formação de óxido de zinco. A estabilidade térmica da MOF está em concordância com relatos na literatura (SHIEH et al., 2013).

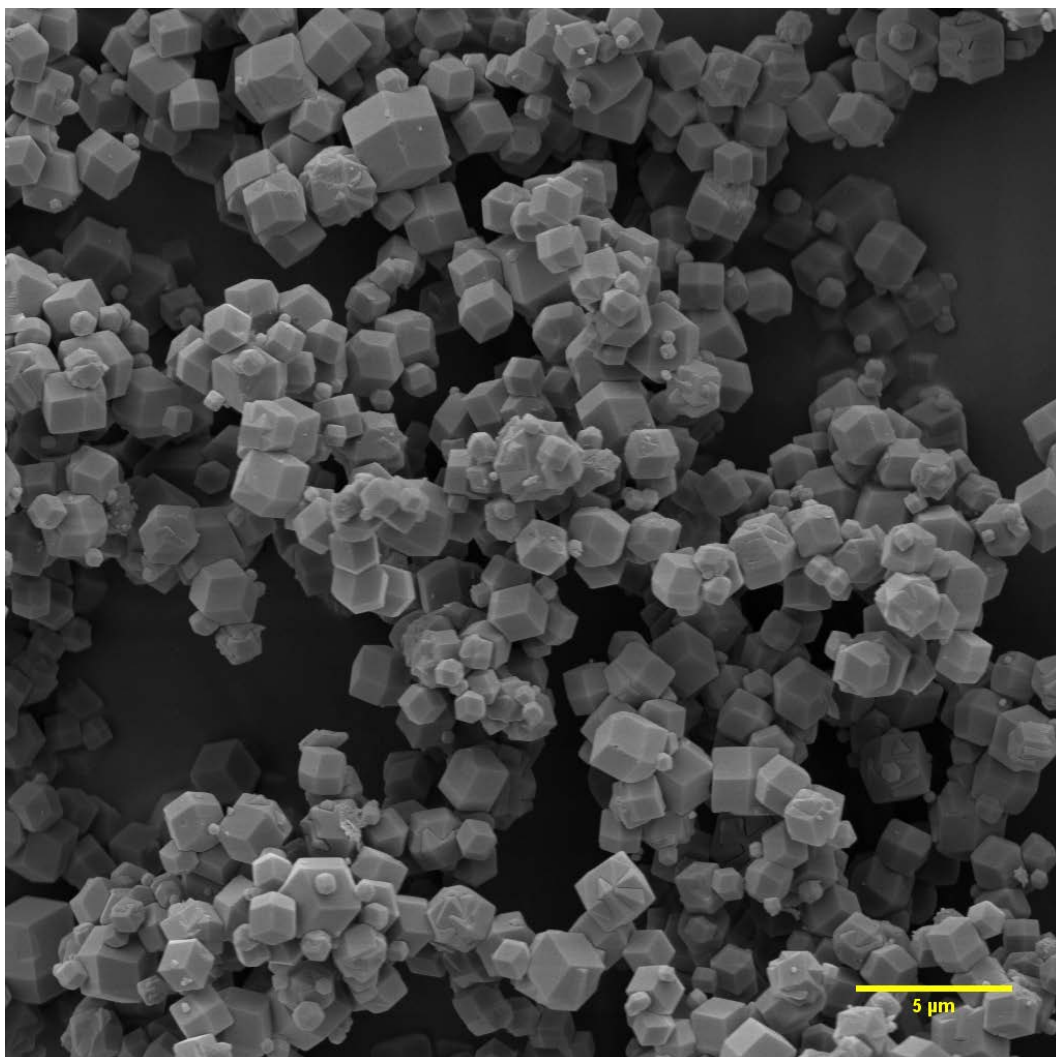
O TGA da MOF ZIF-8-90, híbrida, mostra um perfil de decomposição correspondente a sobreposição das curvas de TG da ZIF-90 e ZIF-8, conforme esperado. Podemos verificar um evento endotérmico entre a temperatura ambiente até 120 °C com perda de massa de 19,72% ao qual está relacionada a perda de moléculas de solvente aprisionadas na estrutura ou nos poros da MOF. Observamos que esse primeiro evento ocorre na mesma faixa de temperatura que o correspondente evento da ZIF-90. Na sequência, dois eventos exotérmicos entre 120 °C até 360 °C (perda de massa de 21,33%) e 360 °C e 610 °C (perda de massa de 31,67%) relacionados a decomposição dos ligantes OHC-IM e 2-MeIM, respectivamente. Estes valores estão de acordo com os resultados reportados na literatura (LIAO et al., 2015; THOMPSON et al., 2012).

Os dados da análise termogravimétrica da MOF híbrida, ZIF-8-90, funcionalizada com sal de glicina, ZIF-8-90-Gly Salt, exibe o primeiro evento endotérmico entre a temperatura ambiente até 120 °C com perda de massa de 13,67%, relacionados a perda de moléculas de solvente aprisionadas na estrutura ou nos poros da MOF, e dois eventos exotérmicos entre 275 °C a 610 °C relacionados a decomposição dos ligantes OHC-IM e 2-MeIM, respectivamente. Além disso, verifica-se que a perda de definição entre os eventos de decomposição térmica associados aos ligantes OHC-IM e 2-MeIM como observado para a MOF híbrida ZIF-8-90. No apêndice se encontra as imagens com as análises térmicas com o gráfico da derivada das ZIF-8, ZIF-90, ZIF-8-90, ZIF-8-90-Gly Salt.

Figura 23 – Análise térmica das MOFs – ZIF-8, ZIF-90, ZIF-8-90 e ZIF-8-90-Gly Salt

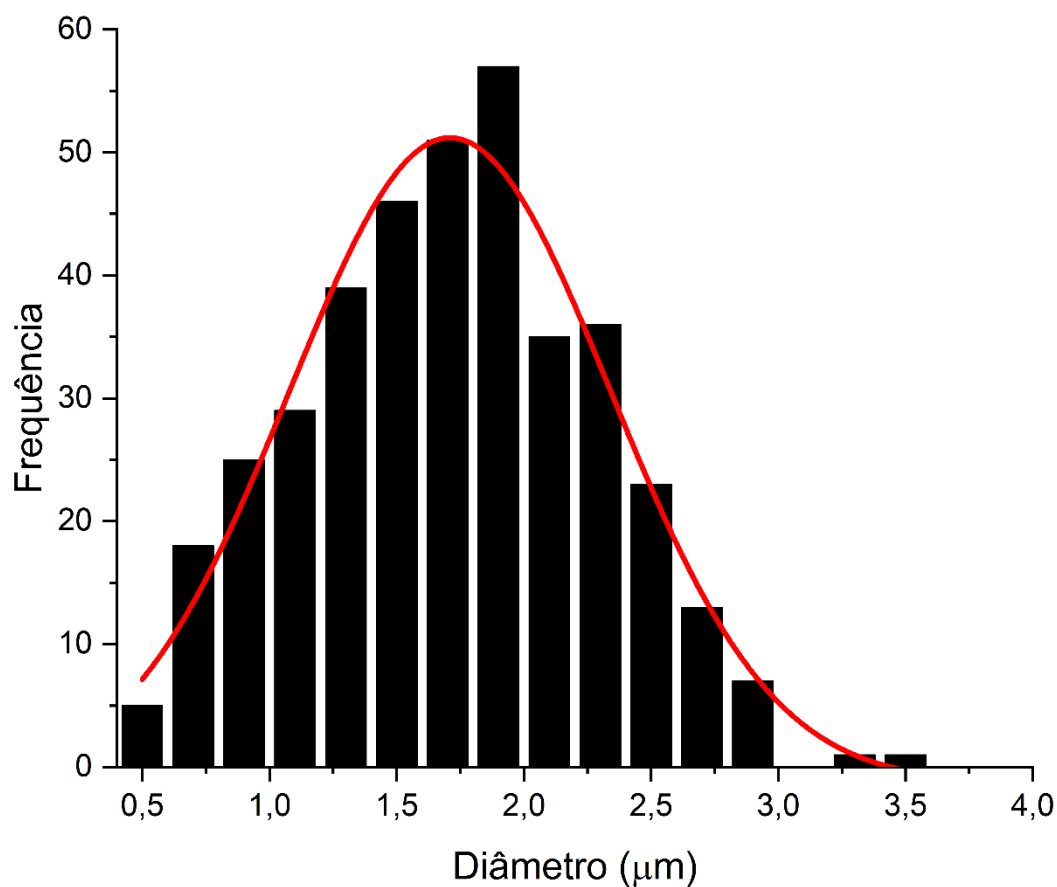
5.5 ANÁLISE MORFOLÓGICA

As análises abaixo foram utilizadas para evidenciar a estrutura morfológica das partículas, tamanho, carga e estabilidade física à secagem por aspersão. A figura 23 representa a imagem de MEV para a ZIF-8-90, o qual demonstrou uma estrutura cristalina dispersa com a morfologia rômica dodecaédrico da ZIF-8.

Figura 24 – Micrografia da ZIF-8-90

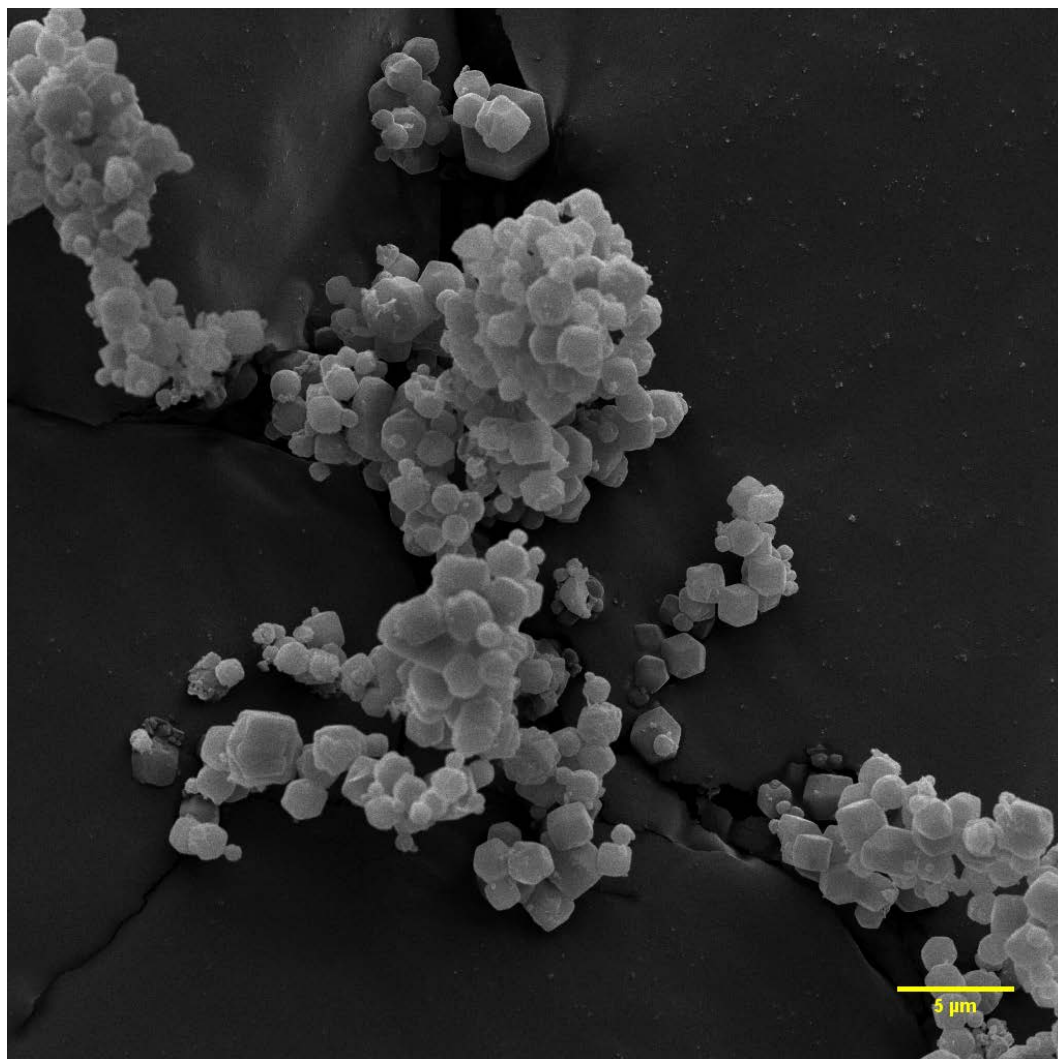
O tamanho ideal das partículas ideal para o tratamento de doenças pulmonares por via inalatória deve estar entre $\geq 0,5 \mu\text{m}$ e $\leq 5 \mu\text{m}$. Este é o tamanho em que ocorre uma deposição eficiente das partículas nos bronquíolos (SECRET et al., 2014). A partir da micrografia de MEV (figura 23), pode-se calcular a distribuição de tamanho das partículas (figura 24), em que os dados demonstraram um tamanho médio de partícula de $1,7 \mu\text{m} \pm 1,4 \mu\text{m}$. Esses resultados corroboram com os resultados do diâmetro hidrodinâmico médio, em que a análise demonstrou um tamanho médio de $2,2 \mu\text{m}$ e seu potencial zeta com $-4,28 \text{ mV}$.

Figura 25 – Histograma de distribuição do tamanho de partícula da ZIF-8-90

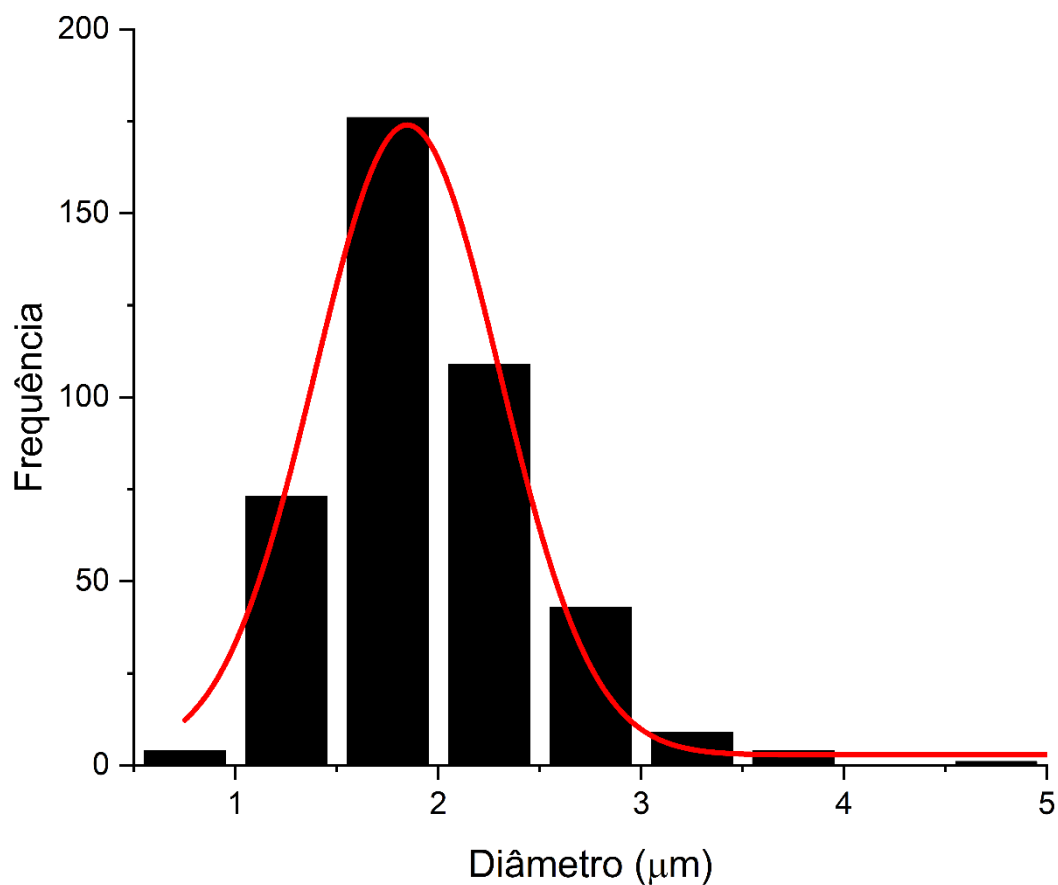


A figura 25 representa a micrografia de microscopia eletrônica de varredura para a MOF híbrida funcionalizada, ZIF-8-90-Gly Salt, o qual demonstrou, também, uma estrutura cristalina polidispersa com a morfologia rômica dodecaédrico da ZIF-8.

Figura 26 – Micrografia da ZIF-8-90-Gly Salt

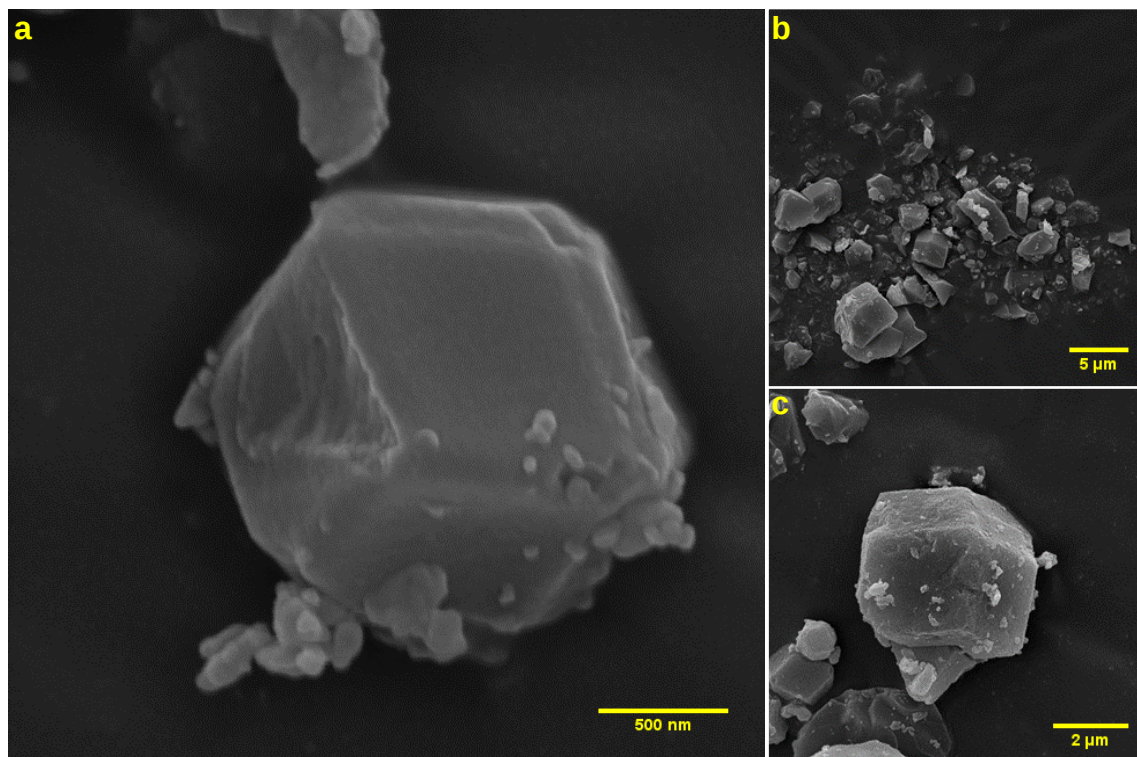


A partir da imagem (figura 25), foi possível calcular a frequência da distribuição das partículas por seu tamanho médio e demonstrado no histograma (figura 26). Foi observado que o material funcionalizado separa o tamanho das partículas a um tamanho ideal. O resultado obtido foi de $1,85 \mu\text{m} \pm 0,91 \mu\text{m}$. Esses dados estão em concordância com os resultados do tamanho do diâmetro hidrodinâmico médio ($2,06 \mu\text{m}$) e seu potencial zeta com $-2,47 \text{ mV}$.

Figura 27 – Histograma de distribuição do tamanho de partícula da ZIF-8-90-Gly Salt

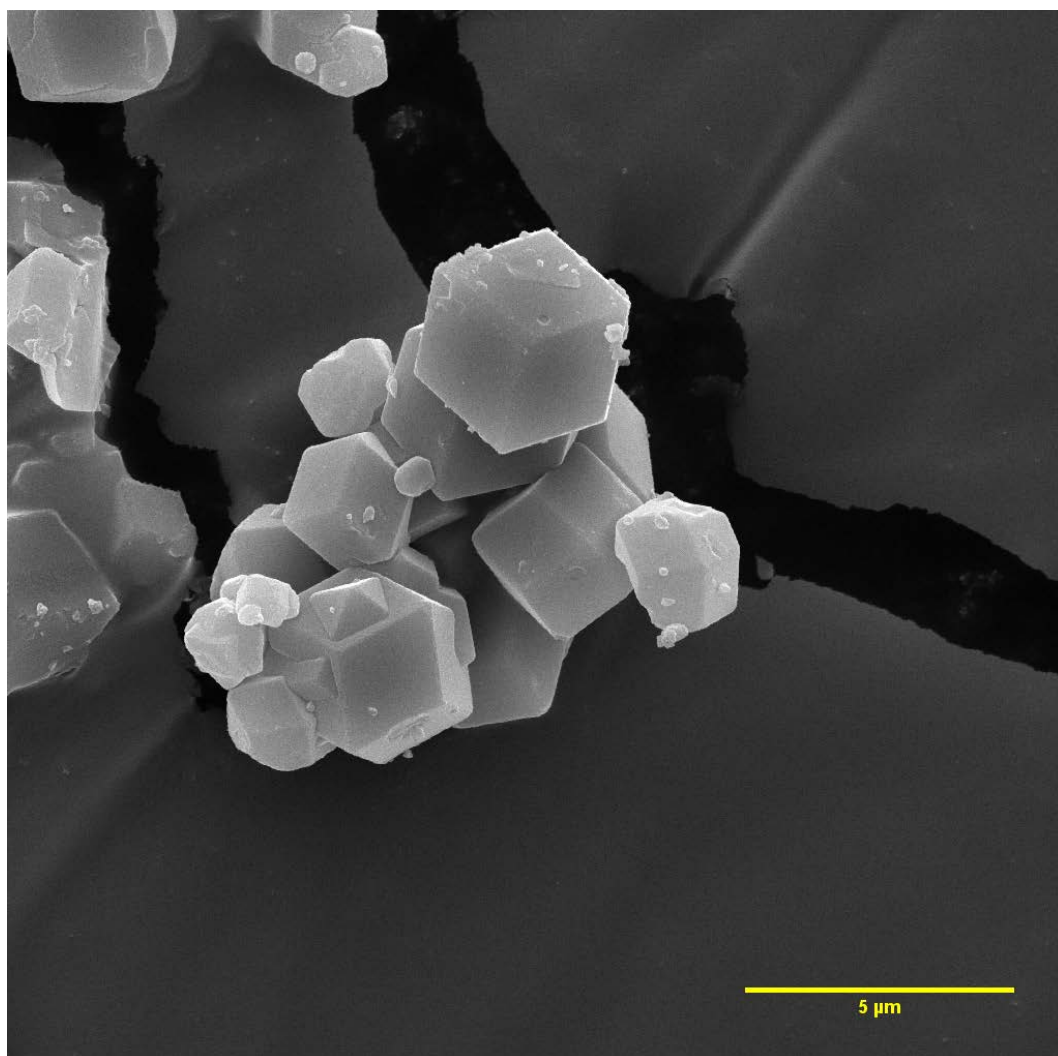
Ainda em relação a funcionalização da MOF, foram realizadas três funcionalizações anteriores à acima citada (figura 25). A figura 27 representa a funcionalização da ZIF-8-90 mais glicina (mol:mol, glicina/ZIF-8-90, 1/5 e 1/10). Pode-se observar a degradação da estrutura cristalina da MOF pela glicina em diferentes concentrações.

Figura 28 – Micrografia da ZIF-8-90 + glicina a) ZIF-8-90 + Glicina (mol:mol); b) ZIF-8-90 + Glicina 20% (1:5); e c) ZIF-8-90 + Glicina 10% (1:10)



A figura abaixo (figura 28) representa a imagem da micrografia de microscopia eletrônica de varredura para a MOF híbrida, ZIF-8-90 após método de secagem por aspersão. Uma amostra de ZIF-8-90, contendo, 200 mg, foi suspensa em água ultrapura e depois seca, por um vórtex/ciclone de ar há temperatura de 180 °C. Podemos verificar que não houve degradação da morfologia da MOF.

Figura 29 – Micrografia da ZIF-8-90 após secagem por Spray Drying

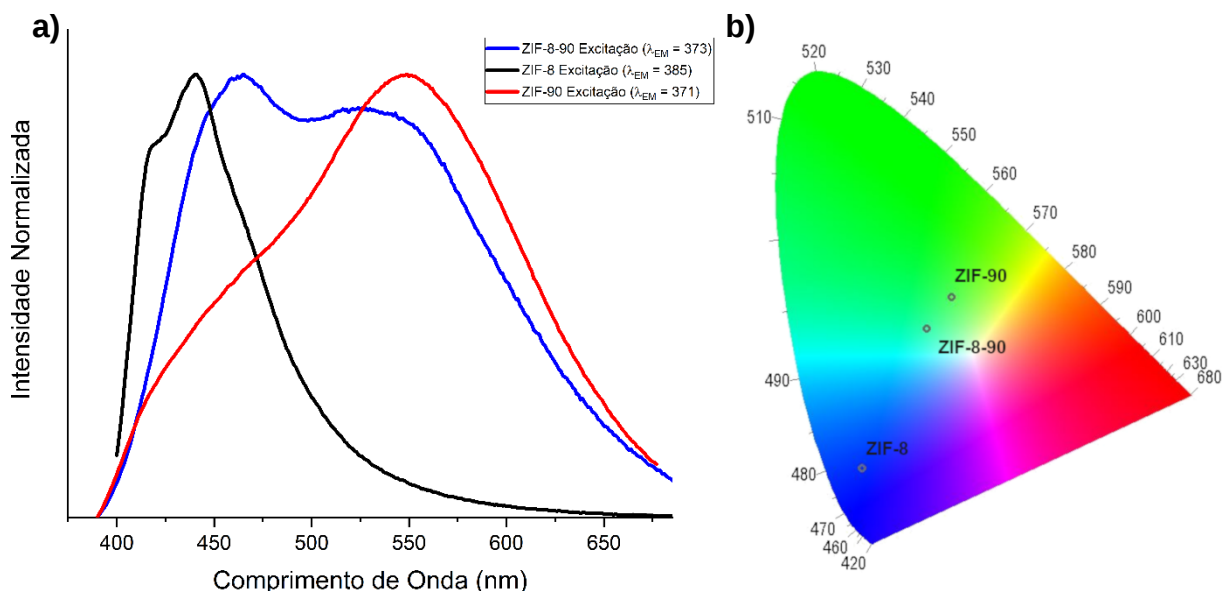


5.6 ESPECTROSCOPIA DE LUMINESCÊNCIA

A medida de fotoluminescência das MOFs ZIF-8, ZIF-90, ZIF-8-90 e ZIF-8-90-Gly Salt, foram obtidas em T.A. A partir dos espectros de emissão apresentados na Figura 29 para as ZIF-8 ($\lambda_{\text{EX}} = 385$), ZIF-90 ($\lambda_{\text{EX}} = 371$) e ZIF-8-90 ($\lambda_{\text{EX}} = 373$), é possível observar que estes materiais apresentam emissão no azul (coordenada de cor $x = 0,155$ e $y = 0,136$), verde (coordenada de cor $x = 0,312$ e $y = 0,436$) e ciano (coordenada de cor $x = 0,269$ e $y = 0,381$), respectivamente. A fluorescência no azul exibida pela ZIF-8 pode ser atribuída à transição $\pi^*-\pi$ do ligante 2-MeIM (LIN et al., 2015; ZHAO et al., 2018), enquanto que a fluorescência no verde apresentada pela ZIF-90 pode ser atribuída ao ligante OHC-IM (JAYACHANDRABABU; SHOLL; NAIR, 2017). O perfil espectral de emissão apresentado pela MOF híbrida, ZIF-8-90, é

resultado da cofluorescência de ambos os ligantes 2-MeIM e OHC-IM presentes no material. Esta pode ser considerado mais uma evidência da formação da MOF híbrida.

Figura 30 – a) Espectros de emissão dos materiais ZIF-8, ZIF-90 e ZIF-8-90; b) Diagrama de cromaticidade CIE exibindo as coordenadas de cor dos materiais ZIF-8, ZIF-90 e ZIF-8-90



5.7 ADSORÇÃO

5.7.1 Isoniazida

A cinética de adsorção da Isoniazida adsorvida pela MOF híbrida funcionalizada, foi realizada a partir da solução “mãe” durante três horas. A está incorporação, ZIF-8-90-Gly Salt + INH, pôde-se realizar observações macroscópicas, relativo a coloração do pó. A ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com o fármaco INH (Figura 30) evidencia uma coloração amarelada.

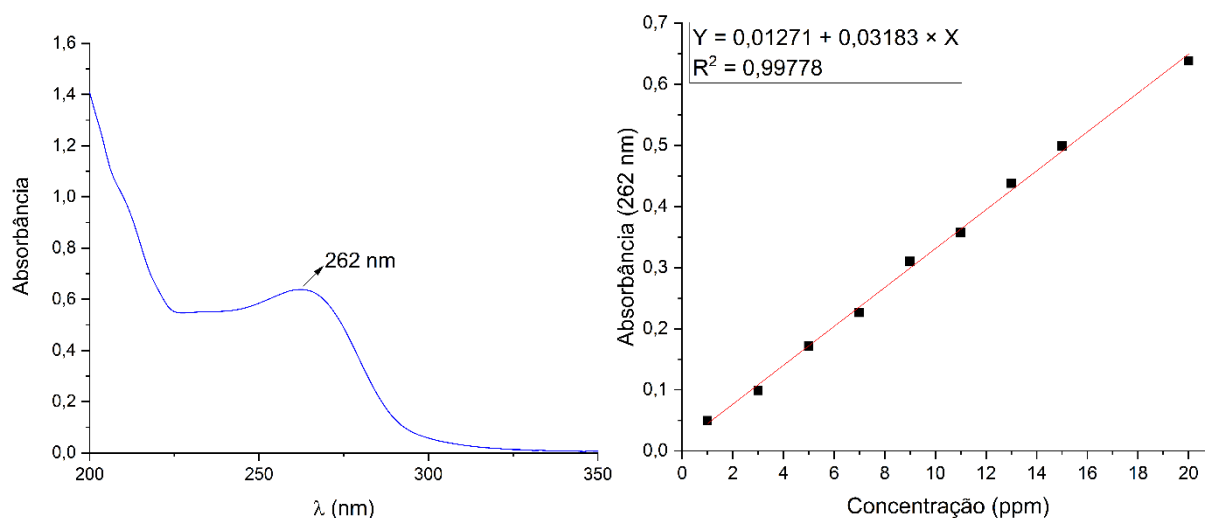
Figura 31 – Pó da ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com INH



Fonte: Autoria própria.

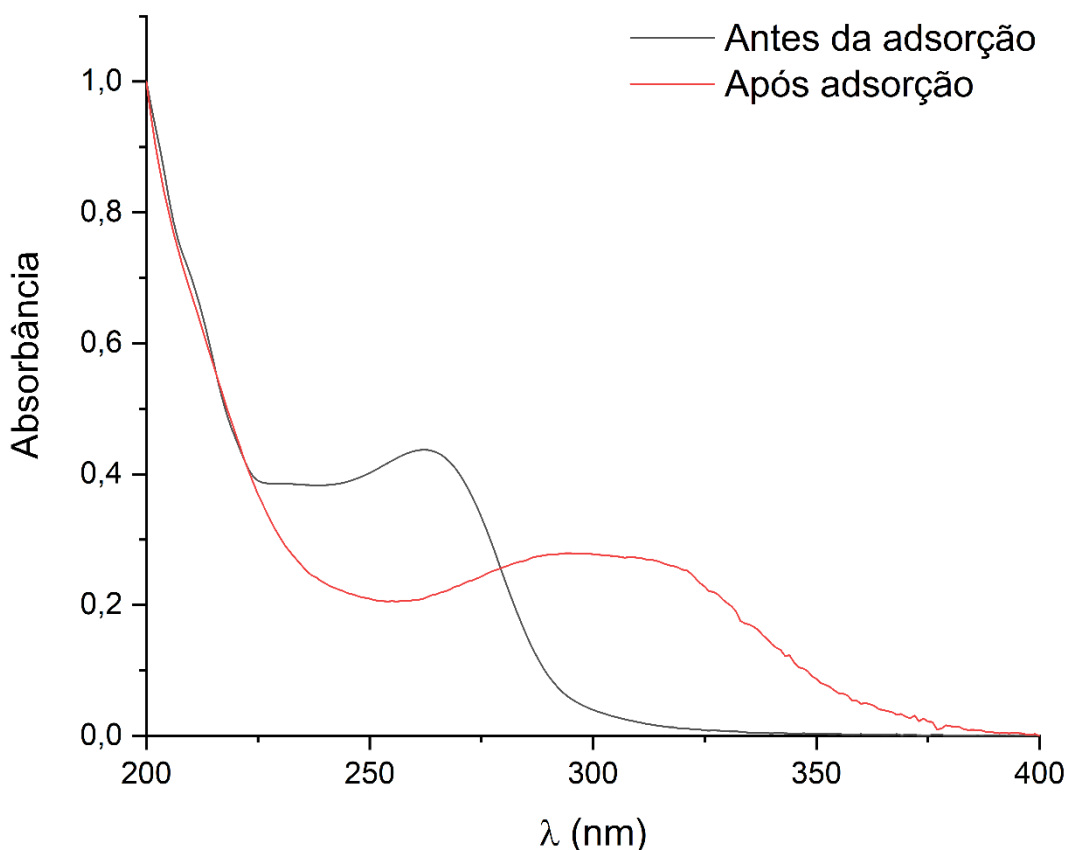
A curva de calibração para o fármaco, Isoniazida, obteve a equação da reta $Y = 0,01271 + 0,03183 \times X$ e coeficiente de correlação, $R^2 = 0,99778$, conforme figura 31, o qual é necessário para quantificar a Isoniazida ao híbrido.

Figura 32 – Curva de calibração para o fármaco INH



Contudo, não foi possível quantificar a adsorção da Isoniazida pela ZIF-8-90-Gly Salt, pois, houve um deslocamento de banda após à adsorção, o que pode estar relacionado a mudanças conformacionais da molécula induzida pelos componentes do híbrido.

Figura 33 – Espectro de absorção da solução contendo Isoniazida antes e após adsorção

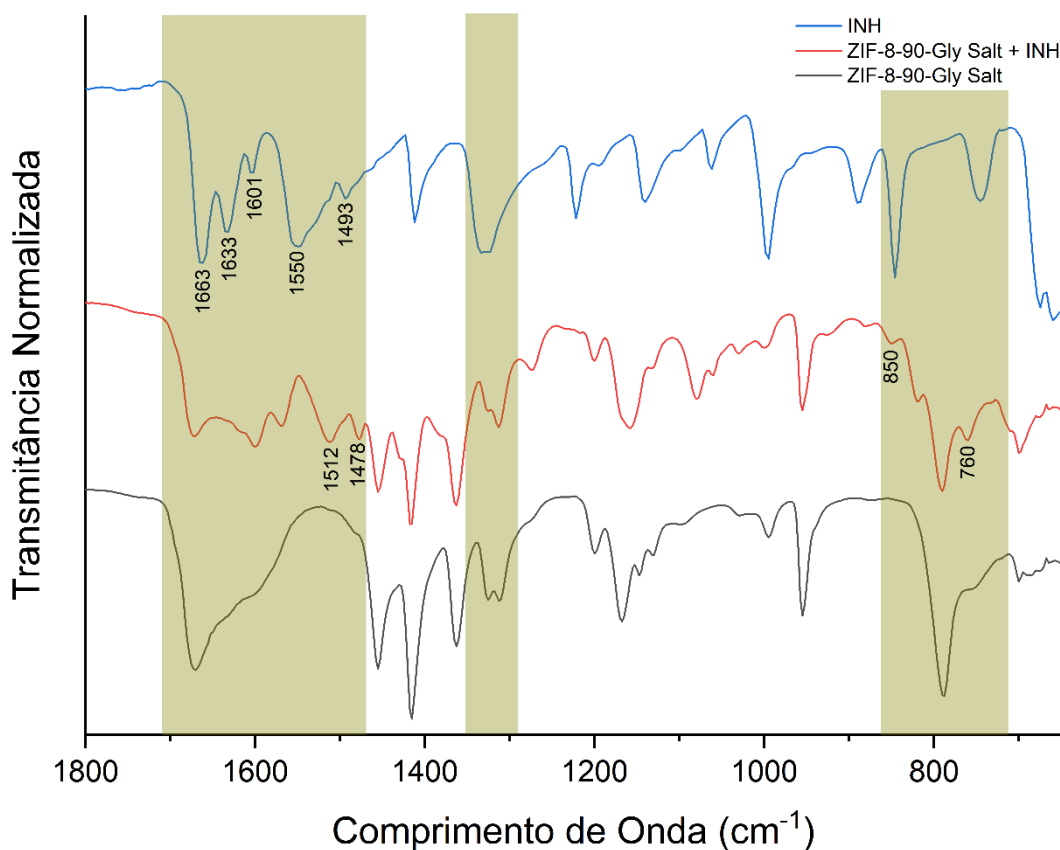


Foi observado no espectro de infravermelho do sistema híbrido funcionalizado mais o fármaco isoniazida (ZIF-8-90-Gly Salt + INH) mudanças em diversas bandas do espectro depois de adsorve-lo. Uma banda larga ($1712\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$) presente no sistema híbrido com máxima em 1670 cm^{-1} e um ombro em 1600 cm^{-1} descritos na seção 5.1 (ZIF-8-90-Gly Salt), modificou a estrutura após adsorção na ZIF-8-90-Gly Salt + INH, o qual pode estar relacionado com as bandas do fármaco, 1663 cm^{-1} relativo ao modo de estiramento vibracional simétrico da C=O , 1633 cm^{-1} é atribuído a dobra assimétrica de H-N-N , 1601 cm^{-1} estiramento simétrico C=N do anel piridínico, 1550 cm^{-1} relacionado ao grupo funcional amida (1512 cm^{-1}) e um deslocamento em 1492 cm^{-1} da N-N-H para menor energia (1478 cm^{-1}) na MOF, sugerindo interações entre o adsorbato e o adsorvente por esta via.

Outras mudanças, não menos importantes, são observadas ao longo no espectro. Na região de “impressão digital”, entre 1352 cm^{-1} e 1290 cm^{-1} mudanças sutis nas bandas relacionadas ao estiramento da ligação C-N devido a sobreposição espectral entre os modos vibracionais presentes no fármaco e na MOF. Em conjunto

com as bandas entre 860 cm^{-1} e 712 cm^{-1} no espectro do sistema adsorvido as mudanças observadas em relação ao espectro de FTIR da MOF fornecem evidências diretas da presença do fármaco na MOF (GUNASEKARAN et al., 2009).

Figura 34 – FTIR da ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com INH



5.7.2 Rifampicina

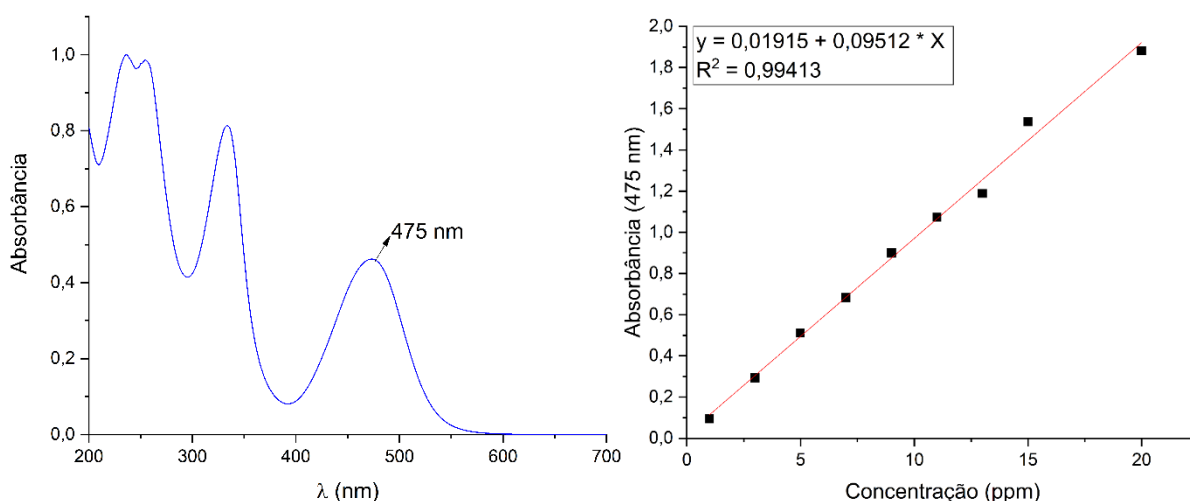
A cinética de adsorção da Rifampicina adsorvida pela MOF híbrida funcionalizada, foi realizada a partir da solução “mãe” durante três horas. A esta incorporação, ZIF-8-90-Gly Salt + RMP, pôde-se realizar observações macroscópicas, relativo a coloração do pó. A ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com RMP (Figura 34) evidencia uma coloração vermelha.

Figura 35 – Pó da ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com Rifampicina



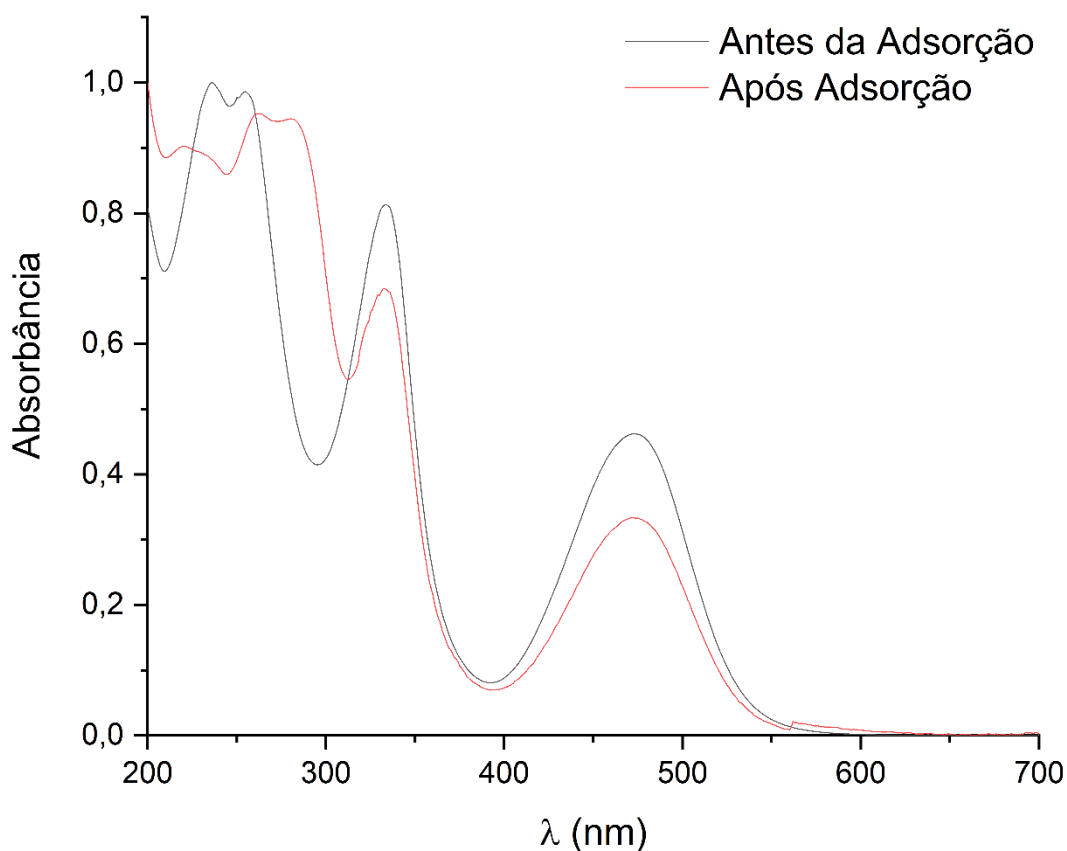
A curva de calibração para o fármaco, Rifampicina, obteve uma equação da reta $Y = 0,01915 + 0,09512 \times X$ e coeficiente de correlação, $R^2 = 0,99413$, conforme figura 35, o qual é necessário para quantificar a Rifampicina ao híbrido.

Figura 36 – Curva de calibração para o fármaco Rifampicina

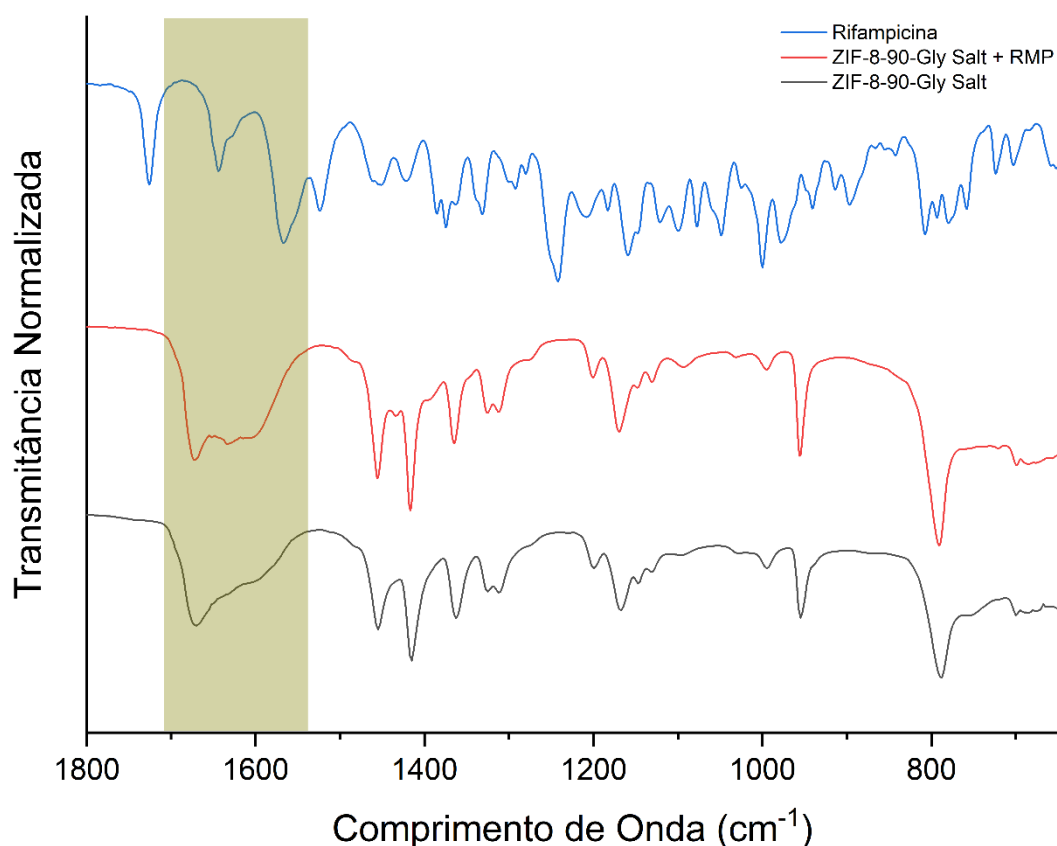


No entanto, não foi possível quantificar a adsorção da Rifampicina pela ZIF-8-90-Gly Salt, durante o contato do fármaco com o híbrido houveram mudanças no perfil de absorção (figura 36) possivelmente relacionados a mudanças estruturais, fazendo com que não seja possível correlacionar os dados da curva de calibração com a concentração da espécie molecular, em solução, após a adsorção.

Figura 37 – Espectro de absorção da solução da Rifampicina antes e após adsorção



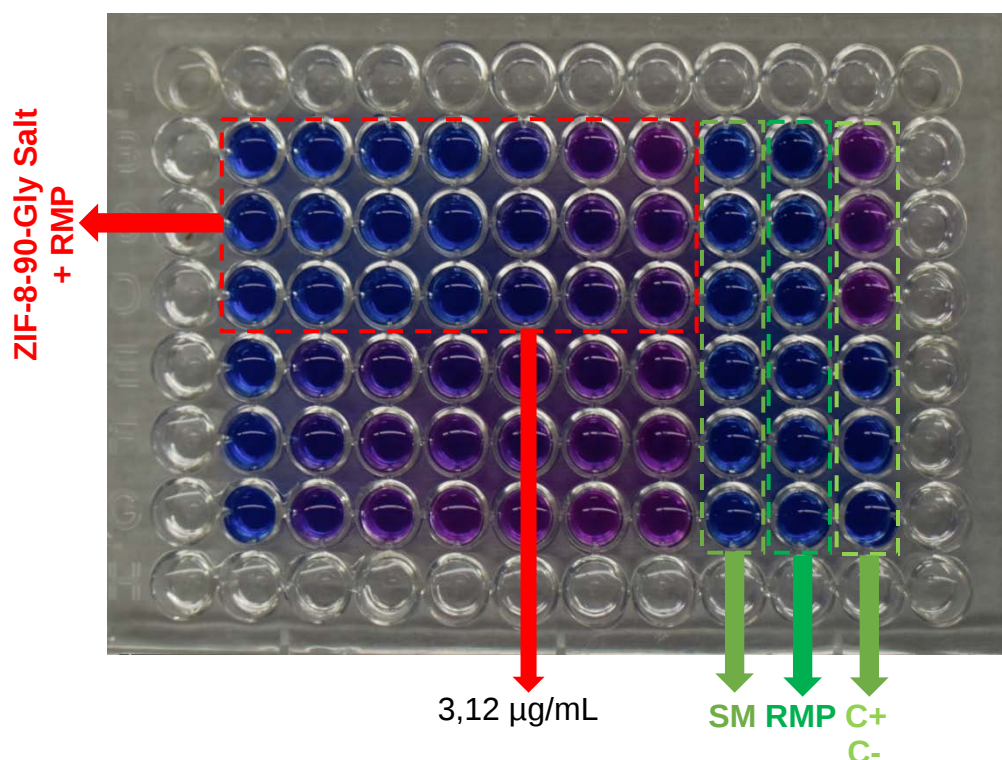
Ao caracterizarmos a ZIF-8-90-Gly Salt + RMP pela espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, conseguimos visualizar mudanças em bandas da MOF híbrida, ZIF-8-90-Gly Salt, o que aponta para possíveis interações estruturais do fármaco com a MOF. Visualizamos, no espectro de FTIR, figura 37, que evidencia essas interações, mesmo com sobreposição de algumas bandas. Na região, compreendida entre 1710 cm^{-1} e 1540 cm^{-1} , observamos uma banda do híbrido, com máxima em 1670 cm^{-1} , comentada na seção 5.1 (ZIF-8-90-Gly Salt), a qual sofre uma mudança na direção a ondas curtas, que podem estar relacionadas com as bandas (1644 cm^{-1} e 1567 cm^{-1}) do fármaco devido aos estiramentos da N–C e do anel benzênico O–H. Tais mudanças são evidências do estado de tensão das moléculas de rifampicina (FAVILA; GALLO; GLOSSMAN-MITNIK, 2007).

Figura 38 – FTIR da ZIF-8-90-Gly Salt funcionalizada com RMP

5.8 CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA

O carreador apresentou a concentração mínima inibitória contra a cepa de referência *H₃₇Rv* da Tuberculose na concentração de 3,12 µg/mL para a ZIF-8-90-Gly Salt + RMP. Os fármacos, utilizados como referência apresentaram um CMI de ≥ 0,5 µg/mL para ambos, estando em concordância com a literatura (CDC, 2012; SCHÖN; CHRYSSANTHOU, 2017). O teste não apresentou contaminação e os controles positivo e negativo estão em concordância com metodologia. Apesar da concentração mais um pouco maior que o padrão, pode estar relacionado com a velocidade de liberação do fármaco ou com a nova conformação devido a mudança molecular na sua estrutura ao ser adsorvido. Para isso são necessários outros testes para validar esta teoria.

Figura 39 – Teste de concentração inibitória mínima



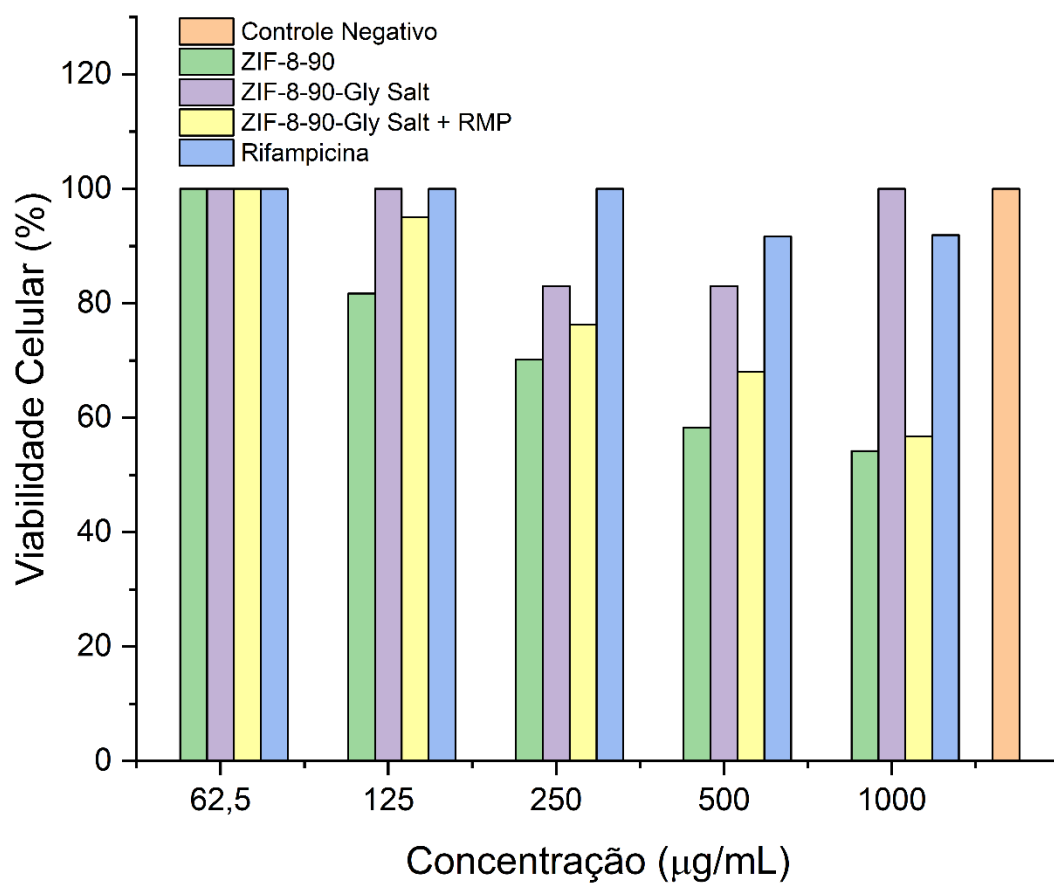
5.9 AVALIAÇÃO DA AÇÃO CITOTÓXICA

A avaliação da citotoxicidade foi realizada para as MOF's ZIF-8-90 e ZIF-8-90-Gly Salt, para o sistema ZIF-8-90-Gly Salt + RMP e para o fármaco Rifampicina. As concentrações testadas foram de 1000 µg/mL até 62,5 µg/mL. De acordo com os resultados obtidos na concentração mínima inibitória, a escolha do sistema ZIF-8-90-Gly Salt + RMP, foi baseado no melhor resultado. Em virtude disso, os ensaios de citotoxicidade foram realizados com esse sistema. Os resultados apresentados são bastantes promissores, pois a ZIF-8 apresenta toxicidade alta (TAMAMES-TABAR et al., 2014), se comparada com a MOF híbrida sintetizada e suas variações.

A ZIF-8-90 apresentou toxicidade a partir de 250 µg/mL, pois apresentou menos de 80% de células viáveis; a ZIF-8-90-Gly Salt melhorou consideravelmente a toxicidade, pois, a mesma, não apresentou toxicidade para as concentrações testada. Isso demonstra que a funcionalização é bastante promissora não só com relação a toxicidade aqui provada, mas pode induzir a uma especificidade da MOF; o mesmo ocorre para o fármaco (RMP) e o sistema (ZIF-8-90-Gly Salt + RMP), onde não foi verificado ação tóxica dos compostos para as concentrações avaliadas. Além disso

verificou-se que a concentração 62,5 $\mu\text{g/mL}$ induziu o crescimento celular quando comparadas ao controle negativo para todas as amostras.

Figura 40 – Gráfico de viabilidade celular



6 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados e discussão, podemos concluir que o presente trabalho, desenvolveu uma MOF híbrida, a partir da ZIF-8 e ZIF-90, pela metodologia *one-pot*, com possibilidade de modificação química, ajustável em pós-síntese. Com essa propriedade, relativa a um grupo funcional do ligante, foi possível funcionalizá-la com o aminoácido glicina, atribuindo, especificidade, ou seja, uma resposta imunológica mais específica. As caracterizações demonstraram que a síntese é reproduzível e de fácil obtenção. Confirmando a presença dos ligantes na estrutura do híbrido e após funcionalização. As análises térmicas, também contribuíram para corroborar a obtenção do híbrido e do sistema funcionalizado, bem como, demonstrou que o material tem uma boa estabilidade térmica, o que dá suporte a secagem por aspersão para uso em sistemas de terapêutica inalatória. Os cristais vistos na microscopia mostraram-se bem estruturados e tamanhos ideais para a utilização pela via inalatória. Embora o processo de adsorção não tenha conseguido determinar a quantidade de fármaco adsorvido, indicando uma possível mudança conformacional da droga. O sistema, carregado com o fármaco Rifampicina, demonstrou atividade antimicobacteriana. As MOFs híbridas e funcionalizadas demonstraram terem baixa toxicidade.

7 PERSPECTIVAS

Com a elaboração deste trabalho, foi gerado algumas premissas que para total elucidação do sistema *drug delivery*, deverão ser realizados mais algumas análises. Essas análises deverão inferir e elucidar os seguintes objetivos: quantificar o adsorvido e liberação dos fármacos, isoniazida e rifampicina; adsorver e liberar esses fármacos na ZIF-8, ZIF-90 e ZIF-8-90, a fim de comparação; estudar se houve mudança nas propriedades das MOFs ou dos fármacos; *in silico*, elucidar o acoplamento dos fármacos na estrutura da MOF e mudanças moleculares; *in vitro*, realizar novos testes de citotoxicidade de diferente protocolo, por marcação celular ou que utilize outro comprimento de onda. *In vivo*, elucidar a farmacocinética e farmacodinâmica do carreador, realizar exposição dos animais a inalação por meio aerossóis do carreador e trata-los com o carreador. Repetir o espectro de RMN e adicionar gotas de ácido trifluoroacético (TFA) para obter uma solução mais diluída e homogeneia.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A. Smart drug delivery systems: From fundamentals to the clinic. **Chemical Communications**, v. 50, n. 58, p. 7743–7765, 2014.
- ALVES, I. B. V. **Metal-Organic Frameworks (MOFs): alternativa inteligente para carregamento de fármacos anti-inflamatório e antineoplásico**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2013.
- AMIRILARGANI, M.; SADATNIA, B. Poly(vinyl alcohol)/zeolitic imidazolate frameworks (ZIF-8) mixed matrix membranes for pervaporation dehydration of isopropanol. **Journal of Membrane Science**, v. 469, p. 1–10, 2014.
- BADRINATH, M.; JOHN, S. **Isoniazid Toxicity**. [s.l.] StatPearls Publishing, 2018.
- BATTEN, S. R. et al. Terminology of metal–organic frameworks and coordination polymers (IUPAC Recommendations 2013). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 8, p. 1715–1724, 31 jul. 2013.
- BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE; SVS. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. [s.l.: s.n.].
- BRÓLIO, R. Quimeoterapia da tuberculose. **Revista de Saúde Pública**, v. 9, n. 1, p. 71–85, mar. 1975.
- BUJACZ, G.; WRZESNIEWSKA, B.; BUJACZ, A. Cryoprotection properties of salts of organic acids: a case study for a tetragonal crystal of HEW lysozyme. **Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography**, v. 66, n. 7, p. 789–796, 1 jul. 2010.
- CCDC. The Cambridge Crystallographic Data Centre. Cod. 602542. Disponível em: <<https://www.ccdc.cam.ac.uk/>>. Acesso em: 14 de jan de 2019.
- CDC. **Mycobacterium tuberculosis Drug Susceptibility Testing Program**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/tb/topic/laboratory/mpep/pdf/MPEP_November_2012.pdf>.

COD. Crystallography Open Database. Cod. 4108377. Disponível em: <<http://www.crystallography.net/cod/>>. Acesso em 14 de jan de 2019.

COSTA, M. P. et al. Uma abordagem atual sobre o impacto dos sistemas de liberação de drogas nos avanços em nanomedicina Current approach on the impact of drug delivery systems in advances on nanomedicine. p. 124–133, 2014.

CRAVILLON, J. et al. Formate modulated solvothermal synthesis of ZIF-8 investigated using time-resolved in situ X-ray diffraction and scanning electron microscopy. **CrystEngComm**, v. 14, n. 2, p. 492–498, 2012.

DAI, C.; WEI, W.; LEI, Z. Solubility of CO₂ in the mixture of methanol and ZIF-8 at low temperatures. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 60, n. 5, p. 1311–1317, 2015.

DERIA, P. et al. Beyond post-synthesis modification: evolution of metal–organic frameworks via building block replacement. **Chem. Soc. Rev.**, v. 43, n. 16, p. 5896–5912, 11 abr. 2014.

DONG, K. et al. Facile preparation of metal–organic frameworks-based hydrophobic anticancer drug delivery nanoplatfrom for targeted and enhanced cancer treatment. **Talanta**, v. 194, p. 703–708, 1 mar. 2019.

FANG, J. et al. Extremely low frequency alternating magnetic field–triggered and MRI–traced drug delivery by optimized magnetic zeolitic imidazolate framework-90 nanoparticles. **Nanoscale**, v. 8, n. 6, p. 3259–3263, 2016.

FAVILA, A.; GALLO, M.; GLOSSMAN-MITNIK, D. CHIH-DFT determination of the molecular structure infrared spectra, UV spectra and chemical reactivity of three antitubercular compounds: Rifampicin, Isoniazid and Pyrazinamide. **Journal of Molecular Modeling**, v. 13, n. 4, p. 505–518, 7 mar. 2007.

FERRAZ, L. R. DE 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**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

GUNASEKARAN, S. et al. FTIR, FT Raman spectra and molecular structural confirmation of isoniazid. **Indian Journal of Pure and Applied Physics**, v. 47, n. 1, p. 12–18, 2009.

HUANG, A. et al. Organosilica-Functionalized Zeolitic Imidazolate Framework ZIF-90 Membrane with High Gas-Separation Performance. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 42, p. 10551–10555, 15 out. 2012.

JAYACHANDRABABU, K. C. et al. Structure Elucidation of Mixed-Linker Zeolitic Imidazolate Frameworks by Solid-State ^1H CRAMPS NMR Spectroscopy and Computational Modeling. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 23, p. 7325–7336, 2016.

JAYACHANDRABABU, K. C.; SHOLL, D. S.; NAIR, S. Structural and Mechanistic Differences in Mixed-Linker Zeolitic Imidazolate Framework Synthesis by Solvent Assisted Linker Exchange and de Novo Routes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 139, n. 16, p. 5906–5915, 2017.

JING, H.-P. et al. Photocatalytic degradation of methylene blue in ZIF-8. **RSC Adv.**, v. 4, n. 97, p. 54454–54462, 2014.

JOSE, T. et al. Functionalized zeolitic imidazolate framework F-ZIF-90 as efficient catalyst for the cycloaddition of carbon dioxide to allyl glycidyl ether. **Catalysis Today**, v. 245, p. 61–67, maio 2015.

LIAO, Y.-T. et al. Synthesis of Mixed-Ligand Zeolitic Imidazolate Framework (ZIF-8-90) for CO₂ Adsorption. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 25, n. 2, p. 251–258, 27 mar. 2015.

LIN, Y. et al. Preparation of Y³⁺ - and La³⁺ -doped ZIF-8 Crystals and the Fluorescence Sensing of Amines. **Chemistry Letters**, v. 44, n. 7, p. 887–889, 5 jul. 2015.

LUZ, L. L. DA. **Impressos e Bio-híbridos Luminescentes Baseados em Ln-MOFs**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

MARTIN, A. R.; MOORE, C. P.; FINLAY, W. H. Models of deposition, pharmacokinetics, and intersubject variability in respiratory drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 15, n. 12, p. 1175–1188, 2 dez. 2018.

MISSIO, A. et al. **4,5,6,7-TETRAHYDROBENZOBITHIOPHENE DERIVATIVES AND METHODS FOR MEDICAL INTERVENTION AGAINST MYCOBACTERIAL INFECTIONS**, 2009. Disponível em:
<<https://patentimages.storage.googleapis.com/18/93/b9/cce39feb5a3238/US20090018149A1.pdf>>

MITCHELL, J. R. et al. Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydrazine metabolites. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 18, n. 1, p. 70–79, jul. 1975.

MOREIRA, A. DA C. et al. A prevalência da tuberculose no estado do Acre. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 57, n. 6, p. 691–697, dez. 2004.

MORRIS, W. et al. Crystals as molecules: Postsynthesis covalent functionalization of zeolitic imidazolate frameworks. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 38, p. 12626–12627, 2008a.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

NIEMI, M. et al. Pharmacokinetic Interactions with Rifampicin. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 42, n. 9, p. 819–850, 2003.

OUELLET, H.; JOHNSTON, J. B.; ORTIZ DE MONTELLANO, P. R. The Mycobacterium tuberculosis cytochrome P450 system. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 493, n. 1, p. 82–95, 1 jan. 2010.

PARK, K. S. et al. Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 27, p. 10186–10191, 5 jul. 2006.

POROCA, R. et al. Diferenciação de micobactérias por PCR multiplex Differentiation of micobacteria by multiplex PCR. v. 42, n. 6, p. 716–722, 2009.

RABAHI, M. F. et al. Tuberculosis treatment. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 43, n. 6, p. 472–486, dez. 2017.

RAHEVAR, K. et al. Implementing the End TB Strategy in the Western Pacific Region: Translating vision into reality. **Respirology (Carlton, Vic.)**, n. January, 2018.

RENS, C. et al. Aloe Emodin Reduces Phthiodiolone Dimycocerosate Potentiating Vancomycin Susceptibility on Mycobacteria. **Indian Journal of Microbiology**, v. 58, n. 3, p. 1–4, 2018.

REYNOLDS, D.; WAYNE SERMON; BEN MCKEE; DANIEL PLATZMAN; ROBIN FREDRIKSSON; MATTIAS LARSSON; JUSTIN TRANTER. "Believer". **Evolve**, 2017.

RIOJAS, M. A. et al. Phylogenomic analysis of the species of the *Mycobacterium tuberculosis* complex demonstrates that *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* and *Mycobacterium pinnipedii* are later heterotypic synonyms of *Mycobacterium tuberculosis*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 68, n. 1, p. 324–332, 1 jan. 2018.

ROSEMBERG, J. Mecanismo Imunitário Da Tuberculose Síntese E Atualização. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v. 9, n. 1, p. 35–59, 2001.

SAÚDE, S.-E. DE V. EM. **Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco | Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco**. Disponível em: <<http://portal.saude.pe.gov.br/noticias/secretaria-executiva-de-vigilancia-em-saude/tuberculose-ses-com-acao-no-dia-de-combate>>. Acesso em: 13 ago. 2018.

SAUKKONEN, J. J. et al. An Official ATS Statement: Hepatotoxicity of Antituberculosis Therapy. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 174, n. 8, p. 935–952, 15 out. 2006.

SCHÖN, T.; CHRYSANTHOU, E. Minimum inhibitory concentration distributions for *Mycobacterium avium* complex—towards evidence-based susceptibility breakpoints. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 55, p. 122–124, 1 fev. 2017.

SECRET, E. et al. Enzyme-responsive hydrogel microparticles for pulmonary drug delivery. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 6, n. 13, p. 10313–10321, 2014.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE / MINISTÉRIO DA SAÚDE. Implantação do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública no Brasil: primeiros passos rumo ao alcance das metas. **Boletim Epidemiológico** 11, v. 49, p. 18, 2018.

SHIEH, F. K. et al. Water-based synthesis of zeolitic imidazolate framework-90 (ZIF-90) with a controllable particle size. **Chemistry - A European Journal**, v. 19, n. 34, p. 11139–11142, 2013.

SOUZA, M. V. N. DE; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 678–682,

ago. 2005.

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

SWATKO-OSSOR, M. et al. Do new N-substituted 3-amino-4-phenyl-5-oxo-pyrazolinecarboxamide derivatives exhibit antitubercular potential? **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 121, n. April, p. 155–165, 2018.

TAMAMES-TABAR, C. et al. Cytotoxicity of nanoscaled metal–organic frameworks. **J. Mater. Chem. B**, v. 2, n. 3, p. 262–271, 11 dez. 2014.

THOMPSON, J. A. et al. Hybrid zeolitic imidazolate frameworks: Controlling framework porosity and functionality by mixed-linker synthesis. **Chemistry of Materials**, v. 24, n. 10, p. 1930–1936, 2012.

VASCONCELOS, I. B. et al. Cytotoxicity and slow release of the anti-cancer drug doxorubicin from ZIF-8. **RSC Advances**, v. 2, n. 25, p. 9437, 24 set. 2012.

VERPLOEGH, R. J. et al. Quantitative Predictions of Molecular Diffusion in Binary Mixed-Linker Zeolitic Imidazolate Frameworks Using Molecular Simulations. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 122, n. 10, p. 5627–5638, 2018.

WOODS, G. L. et al. **Performance Standards for Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardia spp., and Other Aerobic Actinomycetes**. [s.l: s.n.]. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **TB a global emergency** (K. Klauadt et al., Eds.) **World Health Organization**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/58749/WHO_TB_94.177.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 5 ago. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Tuberculosis Report 2017. **Report**, 2017.

ZHANG, P. et al. Mass spectrometry-based metabolomics for tuberculosis meningitis. **Clinica Chimica Acta**, v. 483, n. January, p. 57–63, ago. 2018.

ZHAO, G. et al. Bimetallic Zeolitic Imidazolate Framework as an Intrinsic Two-Photon Fluorescence and pH-Responsive MR Imaging Agent. **ACS Omega**, v. 3, n. 8, p. 9790–9797, 31 ago. 2018.

APÊNDICE A – HISTÓRICO ESCOLAR

**HISTÓRICO ESCOLAR STRICTO SENSU**

(baseado na Res. 10/08 do CCEPE)

DADOS PESSOAIS DO ALUNO		
NOME COMPLETO: Yuri José de Albuquerque Silva	CPF: [REDACTED]	
FILIAÇÃO: [REDACTED]		
DATA NASCIMENTO: [REDACTED]	CIDADE: Recife	ESTADO: Pernambuco
IDENTIDADE: [REDACTED]	ORG. EXP.: [REDACTED]	DATA: [REDACTED]

DADOS DO CURSO	
NOME: PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS	NÍVEL: ☒ MEST ☐ DOUT ☐ MESTPROF
CONVÊNIO COM OUTRAS IES:	☐ MINTER ☐ DINTER
ÁREA CONCENTRAÇÃO: Materiais Não Metálicos	
DATA MATRÍCULA INICIAL: MARÇO/2017	DATA DA COLAÇÃO DE GRAU:
ORIENTADOR: Severino Alves Junior	CPF: [REDACTED]

DADOS ACADÊMICOS					
RENDIMENTO ACADÊMICO (valor numérico, calculado em conformidade com o Artigo no. 36 da Res.10/08): 3,78					
CÓDIGO DISCIPLINAS	NOME DAS DISCIPLINAS OBRIGATORIAS CURSADAS	CARGA HORÁRIA	SEMESTRE/ANO	CONCEITO OBTIDO	No. DE CRÉDITOS
MTR900	Introdução à Ciência de Materiais	60	01/2017	A	4
MTR904	Preparação e Caracterização de Materiais I	60	01/2017	A	4
MTR912	Seminários da Pós-Graduação I	30	01/2017	A	2
MTR916	Colóquios I	30	01/2017	A	2
MTR906	Preparação e Caracterização de Materiais II	60	02/2017	C	4
MTR908	Estudo Dirigido I	60	02/2017	A	4
TOTAL DE CRÉDITOS					(1) 20
CÓDIGO DISCIPLINAS	NOME DAS DISCIPLINAS ELETIVAS CURSADAS	CARGA HORÁRIA	SEMESTRE/ANO	CONCEITO OBTIDO	No. DE CRÉDITOS
MTR980	Tópicos em Ciência de Materiais I (Nanobiotecnologia)	60	01/2017	A	4
MTR980	Tópicos em Ciência de Materiais I (Biomateriais)	60	01/2018	A	4
MTR980	Tópicos em Ciência de Materiais I (Caracterização Físico-Química de Nanomateriais)	60	01/2018	B	4
MTR980	Tópicos em Ciência de Materiais I***	60	02/2018	A	4
TOTAL DE CRÉDITOS					(2) 16
TÍTULO DA TESE/DISSERTAÇÃO			DATA DA DEFESA	CONCEITO (*)	No. DE CRÉDITOS (**)
#####			#####	#####	(3)
TOTAL GERAL DE CRÉDITOS (1+2+3)					36

(*) Colocar: APR – aprovado REP – reprovado (**) Quando se aplicar

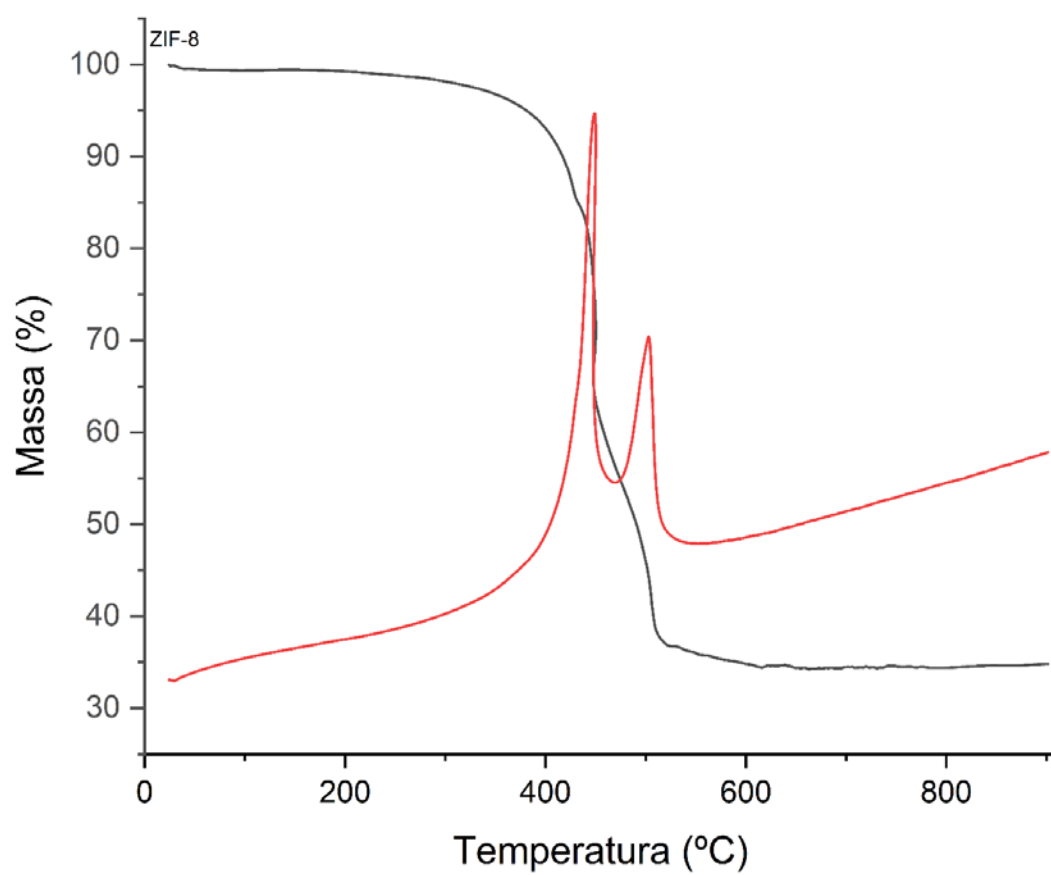
Equivalência de Disciplinas:*** Disciplina equivalente a DCB978 cursada no PPG-Ciências Biológicas e aprovada pela Comissão do Colegiado em 16/10/2018.
 Cursadas em outro Programa na UFPE:
 Cursadas em outras IES:

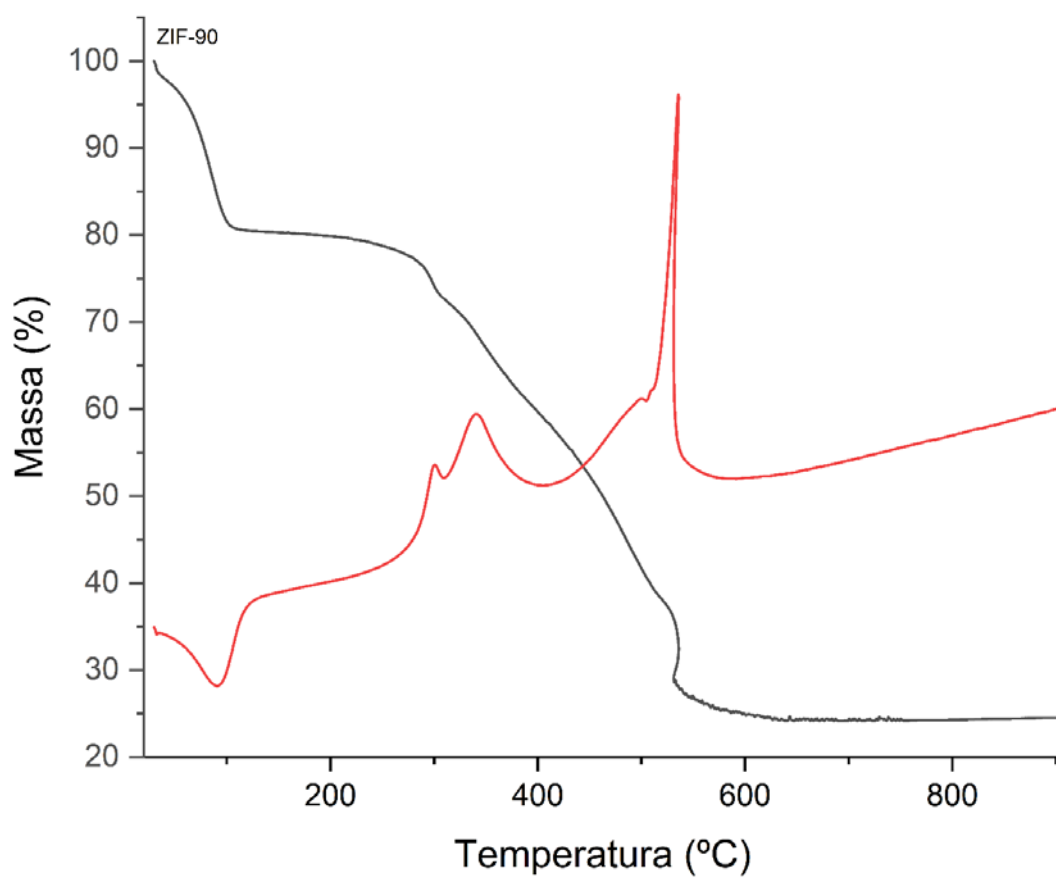
DADOS GERAIS	
FEZ EXAME DE QUALIFICAÇÃO: ☒ NÃO ☐ SIM, Data:	Resultado: ☐ APR ☐ REP
TRANCOU MATRÍCULA(Conf. Art. 18 II da Res. 10/08): ☒ NÃO ☐ SIM, Período Total:	
FEZ JUS A PRORROGAÇÃO(conf. Art. 18 I da Res. 10/08): ☒ NÃO ☐ SIM, Período Total:	

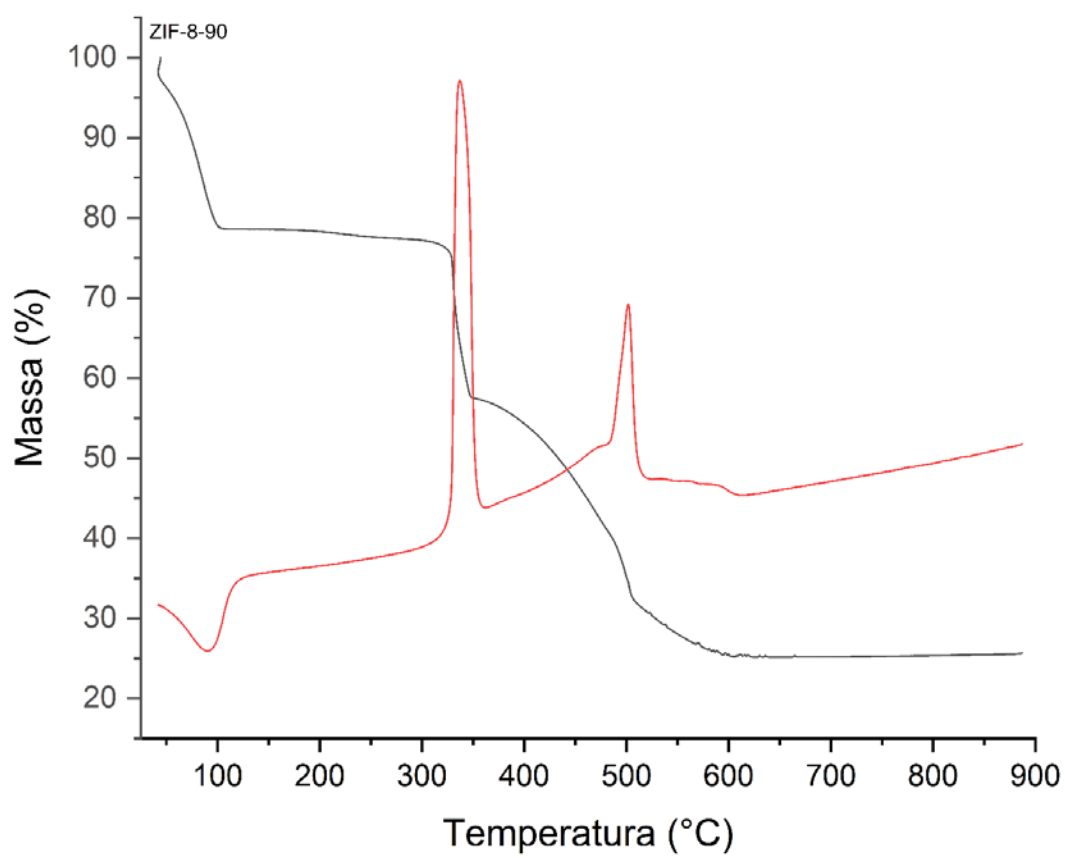
Em 20/11/2018

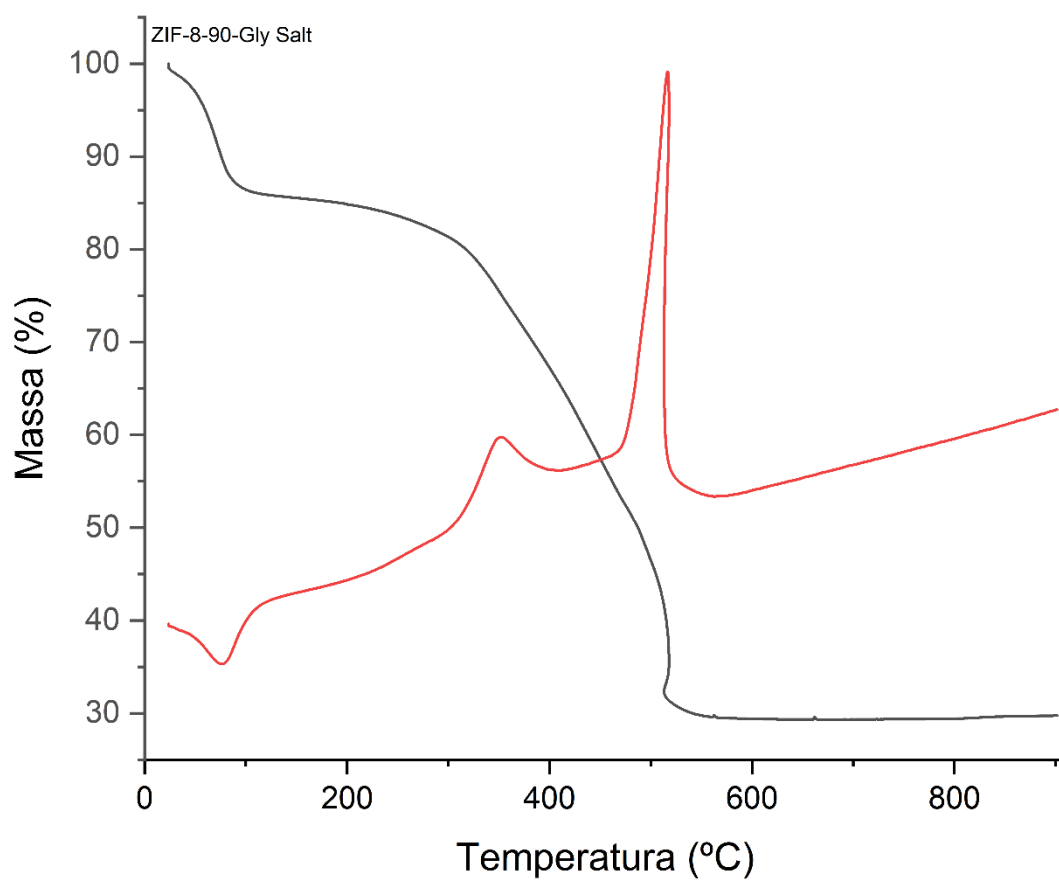
Heloisa Henrique da Silva
 Secretária Executiva
 Pós-Graduação em Ciências de
 Materiais - CCEN/UFPE
 SIAPE - 1944443

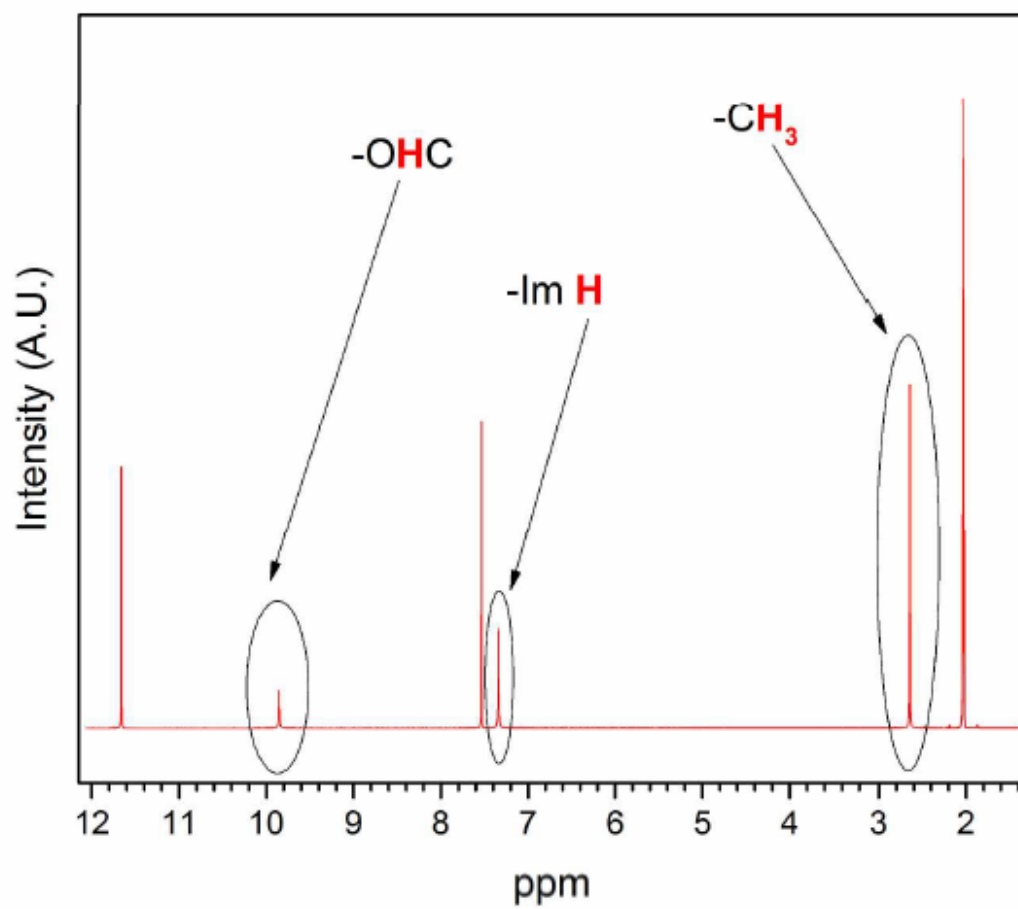
Prof. Eduardo Padrón Hernández
 Coordenador
 Pós-Graduação em Ciência de Materiais
 CCEN/UFPE

APÊNDICE B – ANÁLISE TÉRMICA DA ZIF-8

APÊNDICE C – ANÁLISE TÉRMICA DA ZIF-90

APÊNDICE D – ANÁLISE TÉRMICA DA ZIF-8-90

APÊNDICE E – ANÁLISE TÉRMICA DA ZIF-8-90-GLY SALT

ANEXO A – ESPECTRO RESSONÂNCIA ZIF-8_x-90_{100-x}

Fonte: Jayachandrababu et al., (2016)