

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Química Supramolecular: compostos de
inclusão de pirimetamina e sulfadiazina em
hidroxipropil- β -ciclodextrina.**

São Cristóvão
2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Química Supramolecular: compostos de
inclusão de pirimetamina e sulfadiazina em
hidroxipropil- β -ciclodextrina.**

MÁRCIA VALÉRIA GASPAR DE ARAÚJO

Dissertação apresentada ao Núcleo
de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Sergipe
como um dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Química

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Iara de Fátima Gimenez

São Cristóvão
2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Araújo, Márcia Valéria Gaspar de
A663q Química supramolecular : compostos de inclusão de pirimetamina e
sulfadiazina em hidroxipropil- β -ciclodextrina / Márcia Valéria Gaspar
de Araújo. - - São Cristóvão, 2007.
vi, 84 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Química) – Núcleo de Pós-Graduação
em Química, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade
Federal de Sergipe, 2007.

Orientador: Prof^a Dra. Iara de Fátima Gimenez

1. Química de materiais. 2. Química supramolecular -
Ciclodextrinas. 3. Compostos de inclusão – Pirimetamina e
Sulfadiazina. 4. Toxoplasmose. I. Título.

CDU 542.06:544.112

*“E aprendi que se depende sempre
De tanta, muita, diferente gente
Toda pessoa sempre é as marcas
Das lições diárias de outras tantas
pessoas”
Gonzaguinha, Caminhos do coração.*

Dedico o presente trabalho:

**Aos meus pais Anfrísio e Antonia, ao meu
irmão Márcio e aos amigos que tornaram
possível alcançar este objetivo.**

*"Quando você tem uma meta, o que
era um obstáculo passa a ser uma
etapa de um de seus planos."*

Gerhard Erich Boehme

AGRADECIMENTOS

Essa dissertação é resultado de um grande esforço e dedicação e do apoio e colaboração de muitas pessoas. Portanto de maneira especial e sincera, agradeço:

À DEUS pela vida, pelas oportunidades e por ter me dadas as condições de concretizar esse meu objetivo.

Aos meus pais por estarem sempre ao meu lado e por que me permitiram trilhar os caminhos do conhecimento para que pudesse chegar neste momento.

Ao meu irmão Márcio que soube me entender e me ajudar em todos os momentos que precisei.

À minha orientadora Profa. Dra. Iara de Fátima Gimenez, tudo que se possa dizer é pouco diante da sua competente orientação durante este trabalho. Agradeço ainda, a boa vontade, simpatia, amizade e incentivo que sempre me ofereceu, sendo um exemplo na minha formação profissional.

À Profa. Dra. Ledjane Silva Barreto a oportunidade, carinho e amizade ao longo desta caminhada, pela confiança depositada no meu trabalho, e principalmente por ter aberto o caminho para minha formação como pesquisadora, que será sempre reflexo dos seus exemplos e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Luiz Eduardo Almeida todos os ensinamentos que foram essenciais para a realização deste trabalho, o carinho e a atenção que sempre estiveram presentes em suas atitudes e ainda por ter disponibilizado toda a estrutura do seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Nivan e Elze Kelly pelas sugestões que me ajudaram a aprimorar este trabalho e por sua essencial contribuição fazendo todos os cálculos teóricos e a modelagem molecular das estruturas.

Ao Prof. Dr. Oswaldo Luiz Alves, ao Prof. Dr. Italo Odone Mazali e aos membros do Laboratório de Química do Estado Sólido (LQES) do IQ Unicamp, em especial Odair e Larissa, pelo apoio inestimável a este trabalho.

Às amigas Tatiana, Taís, Alana e Ana Paula, que sempre me acompanharam, solidárias e preocupadas nos momentos difíceis, felizes com as minhas vitórias, agradeço a amizade, o carinho e a companhia alegre nestes dois anos.

Aos docentes e funcionários do departamento de Química da UFS, e em especial à Ednalva, Elisa, Ismael e Ricardo pelo apoio sempre presente.

Aos membros da banca examinadora da qualificação e da defesa pelas opiniões valiosas e preciosas sugestões.

Às minhas amigas de sempre da UFS: Marta, Luzimar, Ângela, Neila, Rose e Alessandra.

Aos meus amigos e “chefes” Inácio, Abel e Adilton pelo apoio que tornou possível alcançar um sonho.

Aos colegas do Laboratório de Materiais: Patrícia Fernanda, Charlene, Ana Clécia, Francis, Patrícia Soares, Luis Pereira e Elias.

RESUMO DO CURRÍCULO VITAE

Fevereiro/2007

DADOS PESSOAIS

Nome Márcia Valéria Gaspar de Araújo
Nome em citações bibliográficas ARAÚJO, M. V. G.
Sexo feminino
e-mail: marcia@ufs.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2005-2007 Mestrado em Química. (concluindo)
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil
Título: Química Supramolecular: compostos de inclusão de pirimetamina e sulfadiazina em hidroxipropil-beta-ciclodextrina
Orientador: Iara de Fatima Gimenez

Palavras-chave: ciclodextrina, pirimetamina, sulfadiazina, compostos de inclusão e toxoplasmose.

1993 - 1998 Graduação em Licenciatura Em Química.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2005 - 2005 Análise Térmica Teoria e Laboratório.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

2005 - 2005 Química Supramolecular Uma Visão Interdisciplinar.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

2005 - 2005 Automação Em Química Analítica.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

2005 - 2005 Mecanismo de Transdução Celular.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

2006 - 2006 Vidros: Propriedades e Aplicações.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

2006 - 2006 Compreensão de Texto Espanhol.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

2006 - 2006 Estratégias em Química Medicinal.
Sociedade Brasileira de Química, SBQ, São Paulo, Brasil

2007 - 2007 Design e Preparação de Nanocompósitos.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

Universidade Federal de Sergipe - UFS

Vínculo institucional

1994 - 1995 Vínculo: Monitor , Enquadramento funcional: Monitoria , Carga horária: 10, Regime : Parcial

1995 – Atual Vínculo: Servidor público , Enquadramento funcional: Técnico Administrativo , Carga horária: 40, Regime : Integral

2005 - Atual Vínculo: Aluna de Pós-Graduação , Enquadramento funcional: Aluno de Pós-Graduação, Regime : Parcial

Produção bibliográfica

1. ARAÚJO, M. V. G., GIMENEZ, I. F., BARRETO, L. S., ALMEIDA, L. E.
Estudo da Inclusão de pirimetamina em hidroxipropil-b-ciclodextrina: 29a Reunião da Sociedade Brasileira de Química. 29a Reunião da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia.
29a Reunião da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: SBQ, 2006. v.único.
2. ARAÚJO, M. V. G., ANDRADE, D., LIMA, P. S.
Temas Sociais - uma abordagem integradora para a educação científica. In: Encontro Nacional de Ensino de Química/ XX Encontro de Debates sobre o Ensino de Química, 2000, Porto Alegre.
Caderno de Resumos Encontro Nacional de Ensino de Química. Porto Alegre, 2000. v.único. p.53 - 53

Participação em eventos

1. **I Workshop de Materiais e Química Verde**, 2007.
2. Apresentação de Poster / Painel no(a) **29a Reunião da Sociedade Brasileira de Química. 29a Reunião da Sociedade Brasileira de Química**, 2006. (Encontro)
Inclusão de pirimetamina em hidroxipropil-b-ciclodextrina.
3. **III Semana de Engenharia de Alimentos, inovações tecnológicas na indústria de alimentos**, 2006.
4. **II Workshop de Química e Biotecnologia**, 2005.
6. **Gestão ambiental e ação administrativa**, 2002. (Outra)
7. **IX Encontro Nacional de Ensino de Química**, 1998. (Encontro)

SUMÁRIO

Lista de Figuras	I
Lista de Tabelas	III
Lista de Símbolos	IV
Resumo	V
Abstracts	VI
Capítulo I – Introdução	01
1.1 Preliminar	02
1.2 Química Supramolecular	03
1.3 Ciclodextrinas	05
1.3.1 Estrutura	06
1.3.2 Solubilidade	08
1.3.3 Toxicidade	09
1.3.4 Formação de Complexos de Inclusão	10
1.3.5 Modificações Químicas nas Estruturas das Ciclodextrinas	15
1.3.6 Sistemas de Transporte e Liberação de Fármacos	19
1.4 Toxoplasmose	26
Capítulo II – Objetivos	29
2.1 Objetivo Geral	30
2.2 Objetivos Específicos	30
Capítulo III – Metodologia	32
3.1 Materiais	33
3.2 Preparação dos complexos de inclusão: HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ	33
3.3 Estudo da solubilidade de fases – complexos: HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ	34
3.4 Determinação da estequiometria do complexo.	35
3.5. Simulação computacional	36
3.6 Caracterização dos complexos: HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ.	36
3.6.1 Espectroscopia de absorção no UV-Vis	36
3.6.2 Análise térmica	37

3.6.3 Microscopia eletrônica de varredura	37
3.6.4 Difractometria de raios-X	37
3.6.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	37
3.6.6 Fluorescência	37
Capítulo IV – Resultados e discussão	38
4.1 Complexo de inclusão HP β CD/PIR	40
4.1.1 Estudos de solubilidade de fases	40
4.1.2 Espectroscopia na região do UV-Vis	42
4.1.3 Comportamento Térmico	43
4.1.4 – Difractometria de Raios-X	47
4.1.5 – Espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier	51
4.1.6. Microscopia Eletrônica de Varredura	53
4.1.7 Estudos da Estequiometria do complexo	55
4.1.8. Modelagem Molecular	56
4.2 Complexo de Inclusão HP β CD/SDZ	58
4.2.1 Estudos de solubilidade de fases	58
4.2.2 Espectroscopia na região do UV-Vis	60
4.2.3 Comportamento Térmico	61
4.2.4 – Difractometria de Raios-X	63
4.2.5 – Espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier	65
4.2.6 - Microscopia Eletrônica de Varredura	68
4.2.7 – Modelagem Molecular	70
Capítulo V – Conclusões e Trabalhos Futuros	72
Conclusões e trabalhos futuros	73
Capítulo VI – Referências	75
Referências	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Molécula da α -D-glucopiranosose na conformação cadeira com as posições 1 e 4 indicadas pelas setas.	05
Figura 2 – Estruturas das diferentes ciclodextrinas: a) α -CD b) β -CD c) γ -CD	05
Figura 3 - Representação da estrutura tridimensional das ciclodextrinas, mostrando as características estruturais definidas pelo arranjo das unidades de glicose.	06
Figura. 4 – Sítios hidrofóbicos e hidrofílicos das ciclodextrinas.	07
Figura 5 - Representação dos diâmetros internos e altura dos cones das ciclodextrinas.	07
Figura 6 - Representação esquemática da formação do complexo de inclusão com CD tendo como molécula convidada o p-xileno, os círculos pequenos representam as moléculas de água.	11
Figura 7 - Padrões de empacotamento: canais (a); gaiola <i>herringbone</i> (b) gaiola <i>brick</i> (c)	15
Figura 8 - Sítios de modificação mais freqüentes na β -ciclodextrina	16
Figura 9 - Estruturas da 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina	18
Figura 10 - Exemplos de dímeros de CDs com diferentes alças ou espaçadores	19
Figura 11 - Ilustração esquemática da formação do complexo fármaco/CD.	20
Figura 12 - Proposições de modelos para inclusão de complexos de prostaglandina E2 com α -CD, β -Cd e γ -CD	21
Figura 13 - Constante de equilíbrio e diagrama de solubilidade de fases do complexo Fármaco-CD	23
Figura 14 - <i>Toxoplasma Gondii</i>	26
Figura 15 – Estruturas da pirimetamina	27
Figura 16 - Estruturas da sulfadiazina	27
Figura 17 - Diagrama de solubilidade de fases da PIR em solução aquosa a temperatura ambiente (25° C) em função das concentrações de HP β CD	41
Figura 18 - Espectros de absorção UV-Vis da pirimetamina (a), HP β CD (b) e do complexo HP β CD/PIR liofilizado (c)	43
Figura 19 - Curvas de DSC da PIR (a), da HP β CD (b), da mistura física HP β CD e PIR (c) e do Complexo de inclusão HP β CD/PIR liofilizado(d).	45

Figura 20 - Curvas TG (I) e DTG (II) da PIR (a), da HPBCD (b) e do Complexo de inclusão HPβCD/PIR liofilizado(c).	47
Figura 21 - Difratoogramas de raios-X: HPβCD (a), PIR (b) mistura física HPβCD e PIR (c), complexo de inclusão HPβCD /PIR evaporado (d), complexo de inclusão HPβCD /PIR liofilizado (e).	49
Figura 22 - Espectros infravermelhos da PIR (a), HPβCD (b) e do complexo de inclusão HPβCD/PIR liofilizado (c).	51
Figura 23 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura: PIR (a) e (b) HPβCD (c) e (d) complexo HPβCD/PIR evaporado (e) e (f) e complexo HPβCD/PIR liofilizado (g) e (h).	54
Figura 24 – Gráfico obtido pelo método das variações contínuas (JOB’S PLOT) do complexo HPβCD/PIR.	55
Figura 25 – Espectros UV-vis do complexo HPβCD/PIR experimental (a), teórico - AM1 (b), teórico -PM3 (c), teórico –MM3.	57
Figura 26 – Modelagem Molecular do complexo HPβCD/PIR calculado por PM3.	57
Figura 27 - Diagrama de solubilidade de fases da SDZ em solução aquosa a temperatura ambiente (25° C) e pH ~7 em função das concentrações de HPβCD.	59
Figura 28 - Espectro de absorção UV-Vis da sulfadiazina (a), da HPβCD (b) e do complexo de inclusão HPβCD/SDZ liofilizado (c).	60
Figura 29 - Curvas de DSC da SDZ (a), da HPβCD (b), Complexo de inclusão HPBCD/SDZ liofilizado (c), Complexo de inclusão HPβCD/SDZ evaporado (d) da Mistura física HPβCD e SDZ (e).	62
Figura 30 - Curvas TG (I) e DTG (II) da SDZ (a), da HPBCD (b) e do Complexo de inclusão HPβCD/SDZ liofilizado(c).	63
Figura 31 - Difratoogramas de raio-X: HPβCD (a), SDZ (b) mistura física HPβCD e SDZ (c), complexo de inclusão HPβCD/SDZ evaporado (d), complexo de inclusão HPβCD/SDZ liofilizado (e).	64
Figura 32 - Espectros infravermelhos da SDZ (a), HPβCD (b) e do complexo de inclusão HPβCD/SDZ liofilizado (c)	67
Figura 33 – Espectros infravermelhos onde (a): SDZ, (b): HPβCD e (c): complexo de inclusão HPβCD/SDZ, obtidos com 256 acumulações, correspondentes à área em destaque na Figura 32.	68
Figura 34 – Microscopias (MEV) com ampliações: SDZ (b), complexo HPβCD/SDZ evaporado (c) e complexo HPβCD/SDZ liofilizado (d).	69
Figura 35 – Espectros UV-vis do complexo HPβCD/SDZ experimental (a), teórico - AM1 (b), teórico - MM3 (c), teórico - PM3(d).	71
Figura 36 – Modelagem Molecular do complexo HPβCD/SDZ calculado por PM3.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela I - Dimensões das ciclodextrinas	08
Tabela. II: Solubilidade de CD em água g/100 mL	08
Tabela III - Parâmetros espectroscópicos utilizados para construção do diagrama de solubilidade de fases.	34
Tabela IV - Solubilidades intrínsecas utilizadas.	35
Tabela V - Valores de número de onda e atribuições de bandas nos espectros FTIR para o sistema HP β CD /PIR.	52
Tabela VI - Valores de número de onda e atribuições de bandas nos espectros FTIR para o sistema HP β CD /SDZ.	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α-CD	Alfa Ciclodextrina
β-CD	Beta Ciclodextrina
γ-CD	Gama Ciclodextrina
AM1	Austin model 1
CD	Ciclodextrina
CDs	Ciclodextrinas
CGTASE	Enzima ciclodextrina glicosiltransferase
DIMEB	Dimetil Beta Ciclodextrina
DRX	Difratograma de raio-X
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
DTG	Termogravimetria derivada
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPβCD	2-Hidroxiopropil Beta Ciclodextrina
HPβCD/PIR	Complexo de inclusão de Pirimetamina em 2-Hidroxiopropil Beta Ciclodextrina
HPβCD/SDZ	Complexo de inclusão de Sulfadiazina em 2-Hidroxiopropil Beta Ciclodextrina
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MM3	Mecanic Molecular 3
PIR	Pirimetamina
PM3	Parametric Modifily 3
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SDZ	Sulfadiazina
TG	Termogravimetria
TRIMEB	Trimetil Beta Ciclodextrina
UV-vis	Região espectral desde o ultra-violeta ao visível

RESUMO

Este trabalho envolveu a preparação de complexos de inclusão entre Pirimetamina (PIR) e Sulfadiazina (SDZ), substâncias utilizadas no tratamento padrão da toxoplasmose, em hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), objetivando o aumento da solubilidade aquosa dos convidados. As baixas solubilidades tornam necessárias altas dosagens, causando uma vasta gama de efeitos adversos, que em testes futuros poderão ser reduzidos pelo aumento da solubilidade. Os complexos foram preparados pelo método da suspensão. Para o complexo formado entre PIR e HP β CD, a ocorrência de inclusão foi evidenciada através do aumento da solubilidade do convidado em presença de HP β CD, nos estudos do diagrama de solubilidade de fases. Obteve-se, ainda a partir destes estudos, um valor de 1901 M^{-1} para a constante de associação do complexo, demonstrando interações relativamente fortes. A estequiometria 1:1 para o complexo foi sugerida tanto a partir do diagrama de solubilidades quanto pelo método das variações contínuas. Evidências adicionais da inclusão foram propiciadas por calorimetria diferencial de varredura (DSC), que sugeriu que a PIR não se encontra como um sólido isolado, apesar de sua presença ter sido confirmada pela espectroscopia UV-vis. Medidas de DRX indicaram que a complexação da Pirimetamina em HP β CD não alterou a estrutura não-cristalina do hospedeiro, formando-se um complexo de inclusão não-cristalino. Para o complexo formado entre SDZ e HP β CD, o aumento de solubilidade em presença do hospedeiro também evidenciou a ocorrência de inclusão, de acordo com o diagrama de solubilidade de fases, que permitiu adicionalmente o cálculo de uma constante de associação de 1879 M^{-1} . Dados de DSC também sugeriram a formação de uma nova estrutura, pela ausência do pico de fusão da SZD, juntamente com a presença de um pico estreito, em uma temperatura distinta em relação aos materiais originais. Apesar de comprovada a presença de SDZ no complexo pelos espectros UV-vis e FTIR, o convidado não alterou o desordenamento característico da estrutura da HP β CD, segundo dados de DRX. Modelagens moleculares das estruturas dos complexos por métodos computacionais auxiliaram na compreensão das interações hospedeiro-convidado.

Palavras-chaves: ciclodextrinas, pirimetamina, sulfadiazina, complexos de inclusão e toxoplasmose

ABSTRACT

The preparation and characterization of inclusion complexes of pyrimethamine (PYR) and sulfadiazine (SDZ) in hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) to improve aqueous solubility of the guest molecules are described in this work. The guests are used in the treatment of toxoplasmosis and reduction of side effects related to the low solubility by cyclodextrin complexation will be tested in a future work. The complexes have been prepared by the suspension method in aqueous medium. Primary evidence of the inclusion of PYR in HP β CD was the increase in the water solubility in the presence of the host, according to the phase-solubility diagram. From these studies the value of the association constant of the species was 1901 M^{-1} , evidencing strong interactions. A 1:1 stoichiometry for the complex was suggested both from the phase diagram and from the Job's method. Additional evidences of complexation were provided by DSC measurements, which indicated the absence of isolated PYR particles despite the detection of this substance by UV-vis spectroscopy. This observation means that the guest inclusion does not influence the non-crystalline packing of the host, thus forming a non-crystalline complex. An increase of SDZ solubility with increasing HP β CD concentrations was observed in the phase-solubility studies, evidencing the formation of HP β CD/SDZ complex. This study also allowed the calculation of the association constant, which yielded a value of 1879 M^{-1} . DSC measurements also suggested the formation of a new structure on the basis of the absence of the SDZ melting peak, along with a new sharp endothermic peak, absent in the curves of the original materials. Although UV-vis and FTIR results pointed out the presence of SDZ in the complex, the inclusion of this molecule did not induce crystallization of the complex, according do XRD powder patterns. Molecular modelling of the structures of the complexes by computational methods have been performed to a better understanding of the host-guest interactions.

Keywords: cyclodextrins, pyrimethamine, sulfadiazine, inclusion compounds and toxoplasmosis

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1.1 - PRELIMINAR

O desenvolvimento de novos fármacos é um processo lento e dispendioso. O credenciamento pelos órgãos governamentais pode levar anos e nem sempre o sucesso é garantido. Adicionalmente, os incentivos financeiros são destinados para pesquisas de mercados mais rentáveis, como aqueles voltados para o câncer e a AIDS, de forma que as doenças mais presentes em países subdesenvolvidos, como a toxoplasmose, não recebem incentivos comparáveis.

Considerando-se as dificuldades inerentes à pesquisa de novos fármacos, uma alternativa viável é a melhoria das formulações atualmente utilizadas. Isto pode ser feito através da utilização de sistemas de transporte e liberação de fármacos que, além de otimizarem a ação do fármaco, diminuem sensivelmente os efeitos adversos decorrentes das administrações convencionais.

O presente trabalho objetivou estudar estruturas supramoleculares, com potencial de emprego como sistemas transportadores dos fármacos utilizados no tratamento padrão da toxoplasmose.

1.2 - QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

Durante muito tempo os químicos tentaram entender a natureza do ponto de vista molecular e, apesar do grande avanço, o conhecimento adquirido até então não explicava vários fenômenos observados, principalmente, nos seres vivos. Buscando compreender os processos que ocorriam na natureza, Emil Fischer em 1894 propôs que a interação de uma enzima com seu substrato ocorre de forma análoga a uma chave com sua fechadura, estudo que lhe rendeu o Prêmio Nobel em 1902. Tal abordagem é a base do que se chama química supramolecular¹.

A química supramolecular foi definida com muita clareza por Jean-Marie Lehn, Prêmio Nobel em 1997 e um dos criadores desta área, ao estabelecer que:

“A química supramolecular é a química da ligação intermolecular, relacionando-se à estrutura e função das entidades formadas pela associação de duas ou mais espécies químicas”

Jean-Marie Lehn²

Portanto, a abordagem desta disciplina está centrada na associação entre espécies moleculares, visando à obtenção de uma determinada propriedade ou funcionalidade. Nesse sentido, estruturas supramoleculares têm sido projetadas com objetivos específicos, tais como automontagem, reconhecimento molecular, transformação, transporte e sinalização. Adicionalmente, estas estruturas supramoleculares podem ser concebidas de modo a terem um comportamento “inteligente”, isto é, com capacidade de compreender e responder a sinais químicos, sendo portanto, capazes de executar funções programadas³.

As espécies supramoleculares são organizadas por meio de interações intermoleculares, que podem ser estabelecidas através de interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, forças de empilhamento e forças de dispersão². Nos complexos supramoleculares do tipo hospedeiro(host)/convidado(guest), por exemplo, o substrato está acomodado dentro da cavidade do hospedeiro a fim de maximizar o contato com sua superfície. Esse “encaixe complementar” ocorre em “sítios” múltiplos de interação. Embora a energia de interação em cada sítio seja menor que aquela típica de ligação covalente, o efeito somado resulta em uma forte interação entre o hospedeiro e o convidado. Tal situação possibilita o contato sem gerar fortes repulsões não-ligantes, portanto o requisito fundamental para a formação e reconhecimento molecular é o princípio da “complementaridade”^{4,5}.

No caso de moléculas hospedeiras solúveis em água, a força-motriz para a complexação de convidados neutros é proporcionada por um efeito sinérgico de forças intermoleculares, predominantemente pela remoção do contato ou interação entre o solvente (água) e o convidado. Este é o caso dos aceptores naturais chamados de ciclodextrinas⁵.

1.3 – CICLODEXTRINAS

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos de origem natural, também conhecidos como cicloamilose ou cicloglucanos, formados por moléculas de D-glicose unidas através de ligações glicosídicas α (1,4) (Figura 1) e obtidos pela degradação enzimática do amido pelo microorganismo *Bacillus macerans*. A enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) catalisa vários tipos de reações e normalmente produz uma mistura de CDs com números diferentes de unidades de glicose, sendo as mais comuns e importantes as CDs que apresentam seis (α -CD), sete (β -CD) e oito (γ -CD) unidades formando os macrociclos demonstrados na Figura 2.⁶

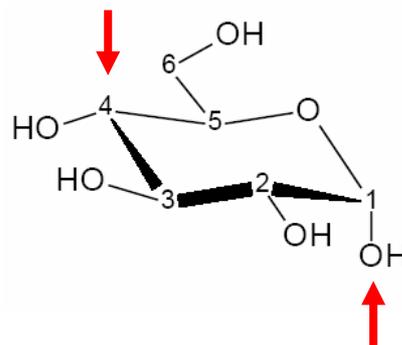


Figura 1- Molécula da α -D-glucopiranosose na conformação cadeira com as posições 1 e 4 indicadas pelas setas.

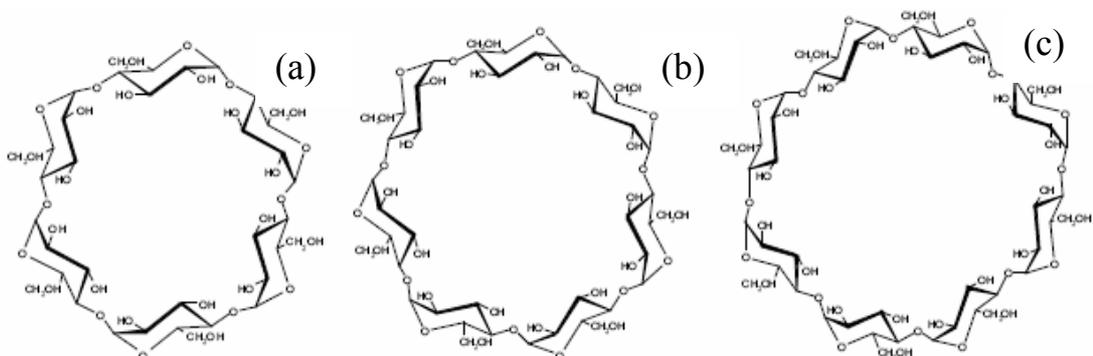


Figura 2 – Estruturas das diferentes ciclodextrinas: a) α -CD b) β -CD c) γ -CD

1.3.1 - Estrutura

As ciclodextrinas naturais ou canônicas são sólidos cristalinos, não higroscópicas, não redutoras e solúveis em água, cuja estrutura cristalográfica foi estabelecida por estudos de difração de raios-x⁷.

Quanto à estrutura tridimensional, as CDs apresentam-se na forma de “cones truncados” (Figura 3), em consequência da conformação do ⁴C₁ das unidades glicopiranosose e da falta de rotação livre ao redor das ligações glicosídicas. Na face mais ampla situam-se hidroxilas secundárias –posições C-2 e C-3 e, na face oposta, verifica-se a presença de hidroxilas primárias em C-6 (Figura 3)⁸. A rotação livre das hidroxilas primárias reduz o diâmetro efetivo da cavidade na respectiva face, enquanto o grupo de hidroxilas secundárias constitui uma cadeia relativamente rígida, sem rotação⁹.

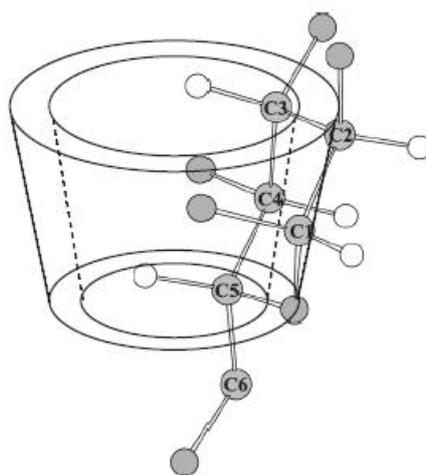


Figura 3 - Representação da estrutura tridimensional das ciclodextrinas, mostrando as características estruturais definidas pelo arranjo das unidades de glicose. (extraída da referência 8).

A presença de grupos hidroxilas nas extremidades favorece a solubilidade das ciclodextrinas em água. O interior da cavidade do cone apresenta um caráter hidrofóbico, devido as ligações C-H nos carbonos 3 e 5 (Figura 3) e a ligação glicosídica entre carbono e oxigênio. Portanto, em solução, as cavidades se comportam como sítios hidrofóbicos em meio hidrofílico, podendo ser descritas como um “ambiente microheterogêneo” (Figura 4)¹⁰.

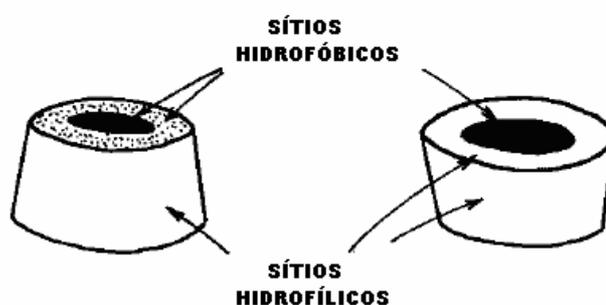


Figura 4 – Sítios hidrofóbicos e hidrofílicos das ciclodextrinas. (Extraída da referência 6).

Os parâmetros dimensionais das cavidades das ciclodextrinas podem ser observados na Figura 5 e os respectivos valores para α -CD, β -CD e γ -Cd estão listados na Tabela I.

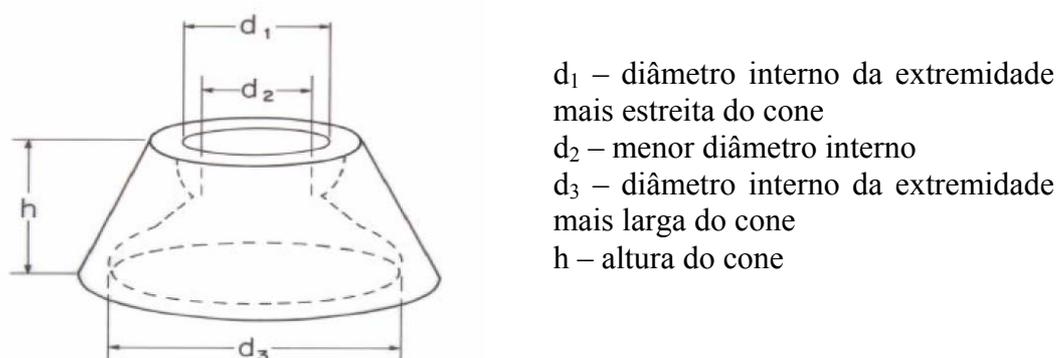


Figura 5 - Representação dos diâmetros internos e altura dos cones das Ciclodextrinas (Extraído da referência 10).

Tabela I: dimensões das CDs (Extraída da referência 10)

CD	d ₁ (Å)	d ₂ (Å)	d ₃ (Å)	h (Å)	V (mL) em 1 mol
α	5,6	4,2	8,8	7,8	104
β	6,8	5,6	10,8	7,8	157
γ	8,0	6,8	12,0	7,8	256

1.3.2 - Solubilidade

Como pode ser verificado na Tabela II, a solubilidade aquosa das CDs naturais é relativamente limitada, principalmente da β-CD, e a inclusão de compostos lipofílicos geralmente resulta em precipitação dos complexos sólidos, caso o limite de solubilidade seja atingido.

Tabela. II: Solubilidade das CDs em água -g/100 mL (Extraída da referência 11)

Temperatura	α-CD	β-CD	γ-CD
25°C	12,8	1,8	25,6
45°C	29,0	4,5	58,5
60°C	66,2	9,1	129,2

Como já mencionado, a presença de hidroxilas favorece, em princípio, a solubilidade em água, porém a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares impõe limitações. As ligações de hidrogênio entre as hidroxilas C-2 de uma D-glicose com aquelas em C-3 da unidade vizinha restringem a liberdade conformacional do anel e contribuem para a rigidez estrutural⁶. A β -CD é a ciclodextrina menos solúvel em água, devido à rigidez causada por um cinturão de ligações de hidrogênio que envolve todo o macrociclo¹². Na α -CD há uma unidade de D-glicose distorcida¹³ e somente quatro das seis ligações de hidrogênio possíveis são estabelecidas, favorecendo a solubilidade em água. A γ -CD possui uma estrutura mais flexível, sendo a mais solúvel das três.⁶

Apesar das vantagens, o uso prático das ciclodextrinas naturais pode ser restrito pela baixa solubilidade aquosa das mesmas, particularmente da β -CD. Para solucionar tais problemas, os grupamentos hidroxilas da β -CD podem ser substituídos por outros grupos com o objetivo de aumentar sua solubilidade, como acontece nas CDs metiladas ou hidroxialquiladas¹⁴.

1.3.3 - Toxicidade

O perfil de segurança das três CDs mais utilizadas e de seus derivados tem sido estudado recentemente^{15,16}. Estes estudos demonstraram que, se administradas oralmente, as CDs praticamente não apresentam toxicidade devido à falta de absorção no trato gastrointestinal¹⁵. Contudo, estudos toxicológicos têm demonstrado que a α -CD e a β -D não apresentam resultados satisfatórios quanto à segurança para administração parenteral¹⁷.

Merecem destaque os estudos referentes à administração subcutânea de β -CD, os quais evidenciaram que a administração em altas dose pode provocar efeitos adversos, incluindo-se nefrotoxicidade¹⁸. As modificações na estrutura da β -CD podem diminuir os efeitos tóxicos, como foi observado no caso da hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD). Neste contexto, os estudos de toxicidade foram realizados por administração oral ou intravenosa. Após os testes em várias espécies de animais e em humanos, verificou-se que a HP β CD é bem tolerada pelo organismo humano e é isenta de efeitos adversos, particularmente, quando a dose é administrada por via oral¹⁶. Há, contudo, evidências de que após a administração de HP β CD por via parenteral, pode-se observar uma quantidade considerável de colesterol e de ésteres de colesterol nos rins. Não obstante, tais quantidades são significativamente inferiores às observadas no caso de β -CD, o que aponta para uma menor tendência do complexo com HP β CD à cristalização, que lhe confere uma nefrotoxicidade mais baixa em comparação com a β -CD. Outro fator relevante é que a HP β CD apresenta uma atividade hemolítica menos pronunciada, se comparada às CDs naturais⁹.

1.3.4 - Formação de complexos de inclusão

A característica mais importante das CDs é a sua habilidade de formar complexos de inclusão, por interações supramoleculares, em solução e no estado sólido, com uma ampla variedade de compostos sólidos, líquidos e gasosos¹⁷.

Em um ambiente aquoso, as cavidades das CDs proporcionam um microambiente favorável à acomodação de substâncias hidrofóbicas. Um dos

requisitos para a formação do complexo é o tamanho da molécula a ser encapsulada na cavidade. Moléculas lipofílicas de tamanho adequado podem ser acomodadas completa ou parcialmente na cavidade da CD, formando um complexo no qual a relação hospedeiro/convidado é geralmente 1:1. Vale destacar a possibilidade de ocorrência de complexos CD/convidado com outras estequiometrias tais como 2:1, 2:2 e 1:2, entre outras (Figura 6).

Assume-se, geralmente, que a principal força-motriz para a formação do complexo em solução aquosa é a liberação de moléculas de água com entalpia alta, originalmente presentes no interior da cavidade, que são deslocadas pelas moléculas do convidado mais hidrofóbico presentes na solução. A associação supramolecular com predomínio de interações apolar-apolar diminui a tensão do anel da CD, resultando em um estado de energia mais baixo e, portanto, mais estável^{6,17}.

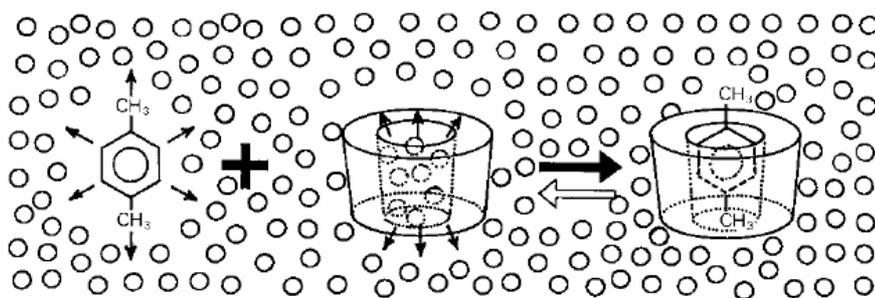


Figura 6: Representação esquemática da formação do complexo de inclusão com CD tendo como molécula convidada o p-xileno, os círculos pequenos representam as moléculas de água (Extraído da referência 6).

As propriedades das moléculas convidadas podem ser alteradas drasticamente quando de sua inclusão nas cavidades das CDs. Dentre as possíveis mudanças, pode-se citar: aumento da solubilidade do convidado, aumento da

estabilidade em relação à decomposição, controle de volatilidade, isolamento físico de misturas, modificações no aroma ou sabor de alimentos e como carreadores de fármacos¹⁷.

A formação do complexo de inclusão depende simultaneamente de fatores dimensionais/estéricos e energéticos, pois além da necessidade de que a cavidade tenha dimensão apropriada para a acomodação da molécula convidada, todas as interações entre cargas permanentes, dipolos e multipolos presentes no sistema devem ser consideradas¹⁸.

Neste contexto, há quatro tipos de interações energeticamente favoráveis à formação de complexo de inclusão em ciclodextrinas, destacadas a seguir¹⁷:

- Liberação de moléculas de água polares a partir da cavidade apolar da CD no processo de formação do complexo;
- Aumento do número de ligações de hidrogênio formadas à medida que a água sai da cavidade hidrofóbica e volta para o meio solvente;
- Forças de dispersão de London;
- Interações dipolo-dipolo;
- Relaxação da energia de tensão no sistema do anel da CD.

Todas estas interações podem ser consideradas como relativamente “fracas”, porém dão lugar a efeitos sinérgicos quando atuam em conjunto, resultando na formação de complexos com estabilidade suficiente para garantir seu isolamento. Por outro lado, tais forças devem ser suficientemente fracas para liberar as moléculas do convidado, sob condições específicas¹¹.

Para obter os complexos de inclusão com CDs são utilizados vários métodos, pois cada substância a ser encapsulada tem suas características que devem

ser observadas para definir o método ideal. Os métodos mais utilizados para obter o complexo de inclusão com CDs são^{19,20}:

a) Co-precipitação – adiciona-se uma solução do convidado em uma solução aquosa de CD. Se for preciso utilizar um solvente diferente da água para solubilizar o convidado, deve-se escolher um solvente que seja solúvel na água. A mistura é agitada até o equilíbrio e o complexo sólido obtido por evaporação à vácuo ou liofilização.

b) Suspensão – o convidado sólido é adicionado a uma solução aquosa de CD formando uma suspensão que é agitada vigorosamente e filtrada. O complexo sólido é obtido a partir da evaporação à vácuo ou liofilização do filtrado.

c) Empastagem (*Kneading*) – assim como na suspensão o convidado sólido é adicionado a uma mistura de CD com água, contudo é utilizado apenas 0,5 parte de água por parte de CD. O complexo sólido pode ser obtido sob vácuo ou aquecimento.

d) Moagem conjunta (*Grinding*) – mistura-se a CD e o convidado no estado sólido que são triturados vigorosamente por um determinado tempo na presença de uma pequena quantidade de água até que a mistura se torne pó.

Em solução aquosa, os complexos dissociam-se, estabelecendo-se um equilíbrio entre as moléculas livres e ligadas na cavidade da CD. Este é um processo dinâmico, no qual as moléculas do convidado se associam e dissociam constantemente das moléculas hospedeiras. Tal equilíbrio envolve um conjunto de espécies CD/hóspede com diferentes estequiometrias em proporções médias variáveis, sendo que a espécie que apresentar maior tempo de existência é referida como o complexo de inclusão²¹.

A literatura tem relatado muitas técnicas de caracterização do composto de inclusão com CD, contudo, de maneira geral, elas trazem evidências que, em conjunto, podem confirmar o fenômeno de inclusão. Dentre estas, pode-se destacar RMN²², DRX²³, DSC²⁴, TG²⁴, espectroscopia de absorção no UV-vis²⁴.

A formação de complexos de inclusão é o cerne das aplicações das CDs. Fármacos pouco solúveis em água²⁵, aromas²⁶, pesticidas²⁷, dentre outras espécies, podem ser encapsulados por CDs, otimizando propriedades importantes ou minimizando características desagradáveis. O estudo das CDs e seus derivados permite o surgimento de novas possibilidades, que podem ser usadas por uma ampla variedade de indústrias, favorecendo uma utilização mais econômica e eficaz das substâncias encapsuladas. Em outras situações, o complexo de inclusão formado é apenas um estado de transição, como na utilização de CDs na catálise de reações orgânicas e em separações cromatográficas quirais. Neste contexto, há, ainda, estudos de CDs como modelos relativamente simples para a compreensão da ação de enzimas, o que auxilia o entendimento das forças condutoras envolvidas nas interações biológicas²⁸.

Os complexos de inclusão cristalizam em dois padrões de empacotamento principais: “gaiola” e “canal”, conforme apresentado na Figura 7. No tipo gaiola, o empacotamento ocorre de maneira cruzada (*herringbone*) ou lado a lado (*brick*), sendo que no tipo canal as CD's são dispostas de tal maneira que o alinhamento de suas cavidades formem canais. Os compostos de inclusão de β -ciclodextrina com convidados relativamente pequenos adotam geralmente a estrutura gaiola, da mesma forma que ocorre com a β -ciclodextrina livre. Por outro lado, nos casos em que o convidado apresenta dimensões elevadas, o padrão de cristalização mais comum é a estrutura canal, com formação de dímeros estabilizados por pontes de hidrogênio^{29,30}.

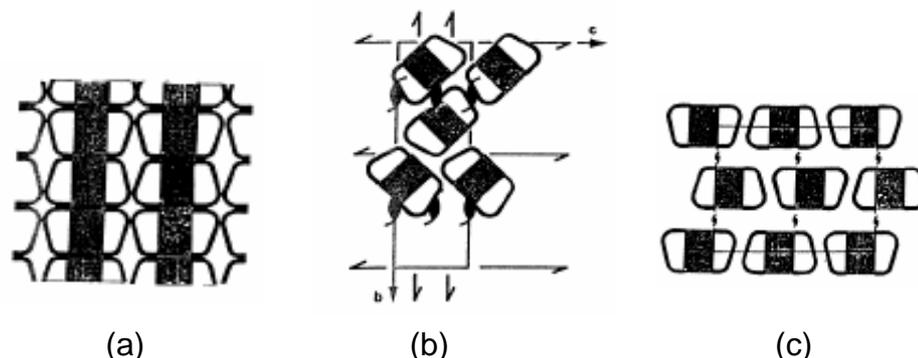


Figura 7: Padrões de empacotamento: (a) canais; (b) gaiola *herringbone* (c) gaiola *brick*.(Extraído da referência 30).

As ciclodextrinas apresentam muitas possibilidades ainda inexploradas. Portanto, espera-se um grande avanço nesta área, com um enorme número de novas aplicações para o processo de formação de compostos de inclusão com CDs. Muitos trabalhos são feitos objetivando novos métodos de síntese de CDs com grupos funcionais diversos, aumentando ainda mais a gama de utilização das CD e de seus derivados.

1.3.5 – Modificações Químicas nas Estruturas das CDs

Geralmente, as modificações estruturais nas CD's têm como objetivo diminuir a toxicidade e degradação, além de melhorar determinadas propriedades, tais como a solubilidade, otimizando o seu desempenho nas mais diversas aplicações. Contudo, a síntese seletiva de CDs oferece desafios importantes, devido à presença da cavidade hidrofóbica e uma grande quantidade de grupos hidroxilas. Essas modificações geralmente são realizadas através da substituição dos grupos hidroxilas

por outros grupos na face primária e/ou na face secundária da CD, da substituição do átomo de hidrogênio dos grupos hidroxilas e ainda da eliminação dos átomos de hidrogênio dos grupos $-\text{CH}_2\text{OH}$ para convertê-los, por exemplo, a $-\text{COOH}$ ^{31,32}.

Devido à nucleoficidade dos grupos hidroxilas, as reações que se processam nestes sítios ocorrem predominantemente por ataque eletrofílico. Se o reagente eletrofílico formar um complexo com a CD, então a orientação do reagente dentro do complexo é um fator adicional na determinação da formação do produto. É importante ressaltar que os solventes também influenciam na determinação da força e da orientação do complexo entre o reagente e a CD¹¹. Na Figura 8 pode se observar os sítios de modificação mais frequentes nas hidroxilas das ciclodextrinas, que são os carbonos 2,3 e 6 de cada unidade de glicose que compõe as CDs. As modificações partindo das CDs naturais originaram as chamadas CDs de segunda geração.

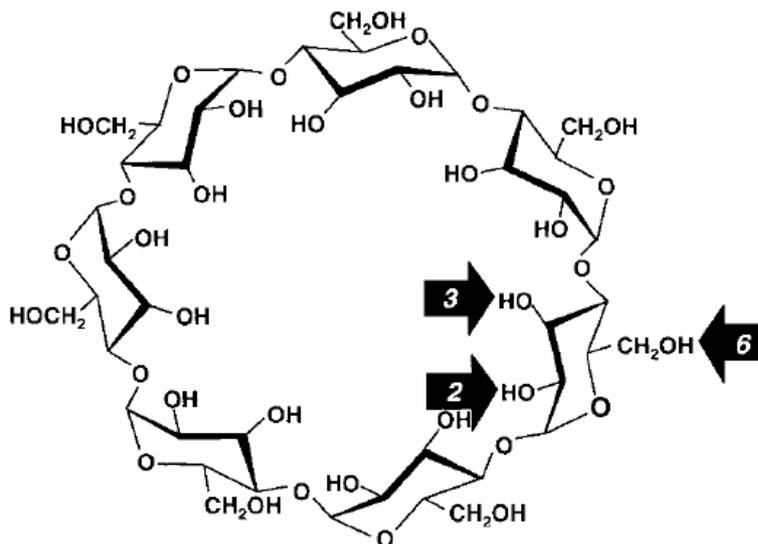


Figura 8 - Sítios de modificação mais frequentes na β -ciclodextrina (Extraída da referência 19).

As hidroxilas da posição 2 são as mais ácidas, aquelas na posição 3 são as mais impedidas espacialmente e as hidroxilas na posição 6 são as mais susceptíveis ao ataque por parte de reagentes eletrofílicos. Neste contexto, vale destacar que dependendo da reatividade do reagente eletrofílico, essa substituição pode ocorrer nas duas faces da CD: um reagente muito reativo não irá discriminar as hidroxilas, enquanto que aqueles menos reativos somente atacam as hidroxilas mais reativas.

Dentre as CDs de segunda geração modificadas em sua face primária, pode-se citar as metiladas DIMEB e TRIMEB (dimetil β -CD e trimetil β -CD), conhecidas também por HEPTAKIS (2,6-di-o-metil) e HEPTAKIS (2,3,6-tri-o-metil), respectivamente³². A substituição dos grupos hidroxilas por grupos metílicos impede a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares, o que torna a estrutura molecular mais flexível, originando alterações relacionadas com a solubilidade e tornando as CDs metiladas mais solúveis em água. A hidroxipropil- β -ciclodextrina - HP β CD (Figura 9) é um derivado hidroxialquilado, modificado na face primária, da β -ciclodextrina, que equilibra a habilidade de encapsulamento com uma elevada solubilidade em água, provavelmente, atribuída a sua estrutura não-cristalina. Observa-se, contudo, uma situação oposta no caso da β -CD, que apresenta uma estrutura cristalina rígida decorrente do elevado número de ligações hidrogênio intramoleculares entre as hidroxilas secundárias: sua elevada energia reticular propicia uma solubilidade em água inferior à das outras CDs¹⁶.

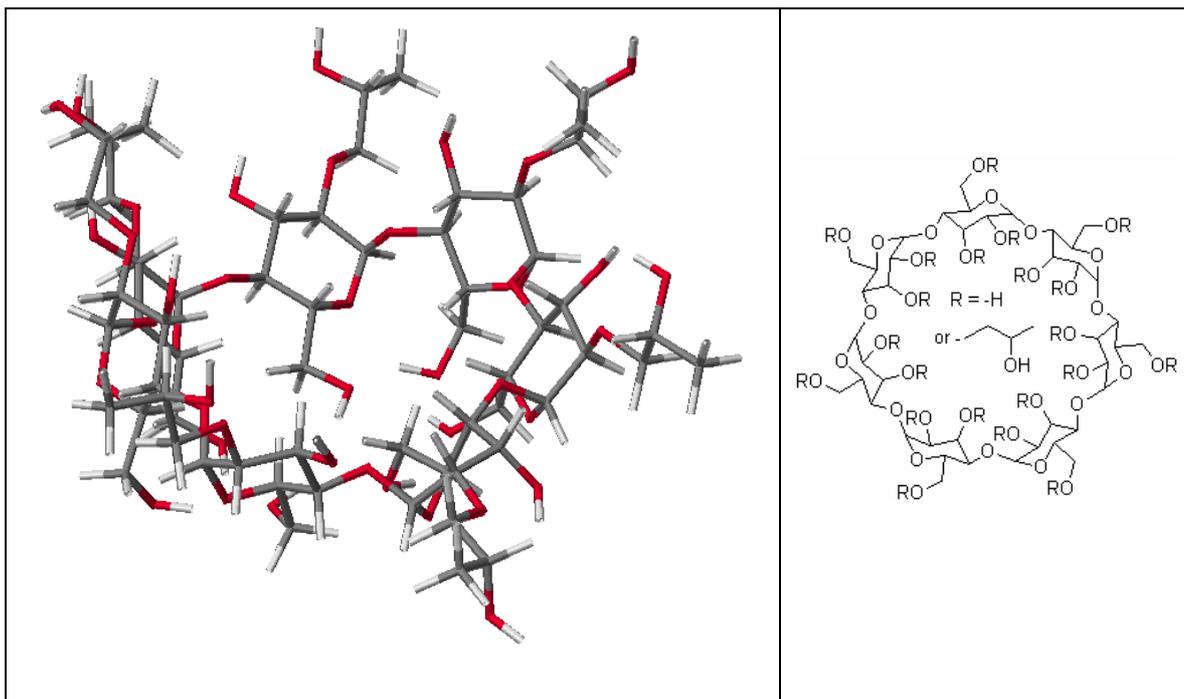


Figura 9: Estruturas da 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina

As CDs de segunda geração apresentam-se como uma mistura de isômeros estruturais. Esta característica é inconveniente para determinadas utilizações, já que as CDs isoméricas não possuem a mesma capacidade de reconhecimento frente a receptores biológicos no organismo. Intentando superar estas limitações, desenvolveram-se novas estruturas supramoleculares, conhecidas como CDs de terceira geração, das quais fazem parte os dímeros de CDs, CDs dendríticas e CDs hiperramificadas³³.

Em determinadas situações, as constantes de associação entre as CDs naturais e as moléculas orgânicas são tão fracas que impedem a utilização efetiva do complexo. Tal limitação tem sido contornada por meio do uso de dímeros de CDs, nos quais duas unidades CDs são conectadas por uma cadeia orgânica –o espaçador– com maior eficácia de associação devido à presença de dois sítios de ligação em uma

só molécula. De maneira geral, pode-se encarar a ação dos dímeros como decorrente de um efeito quelante, uma vez que a associação de ligantes bidentados é mais eficaz em comparação com ligantes monodentados³⁴.

Inúmeros trabalhos têm sido publicados sobre síntese de dímeros e muitas estruturas estão sendo estudadas: homodímeros (Figura 10a)³⁵ e heterodímeros (Figura 10b)³⁶. A ligação entre alças (espaçadores) e as CDs pode realizar-se, dentre outros, através de átomos de oxigênio (Figura 10c)³⁷, enxofre (Figura 10a)³⁵ e nitrogênio (Figura 10b)³⁶, entre outros.

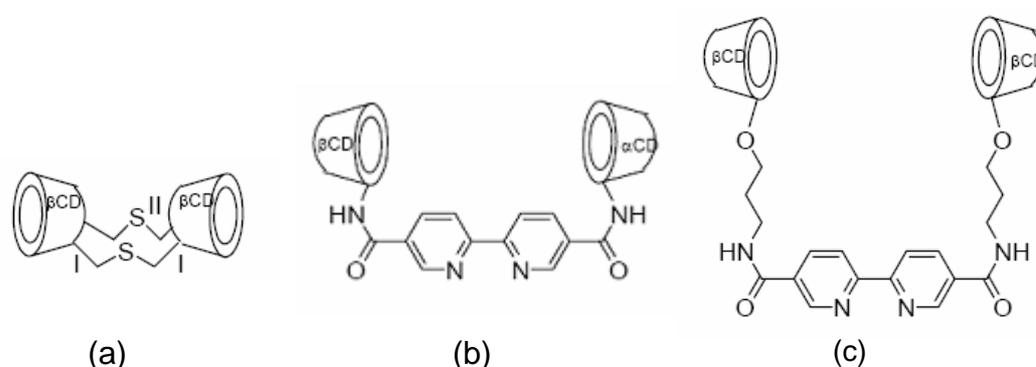


Figura 10 - Exemplos de dímeros de CDs com diferentes alças ou espaçadores: referência 35 (a), referência 36 (b), referência 37 (c).

1.3.6 - Sistemas de Transporte e Liberação de Fármacos

O desenvolvimento de sistemas de transporte e liberação de fármacos tem sido alvo de muitas pesquisas, com resultados obtidos, principalmente, na manipulação molecular dos sistemas e de suas interações com os fármacos, proporcionando vantagens no sentido de contornar limitações de propriedades físico-químicas, farmacodinâmicas e farmacocinéticas, além de reduzir a toxicidade local e sistêmica³⁸.

Devido às propriedades das CDs, tais como suas características multifuncionais e biodegradabilidade, as mesmas têm sido utilizadas como sistemas transportadores de fármacos e proteínas, podendo inclusive servir como sistemas de transporte com alvos definidos¹⁵.

As CDs são capazes de formar complexos de inclusão com muitos fármacos, com tamanho e forma apropriados, encapsulando total ou parcialmente as moléculas hospedes³⁹. A Figura 11 ilustra esquematicamente o equilíbrio dinâmico para 1:1 e 1:2 dos complexos fármaco/CD.

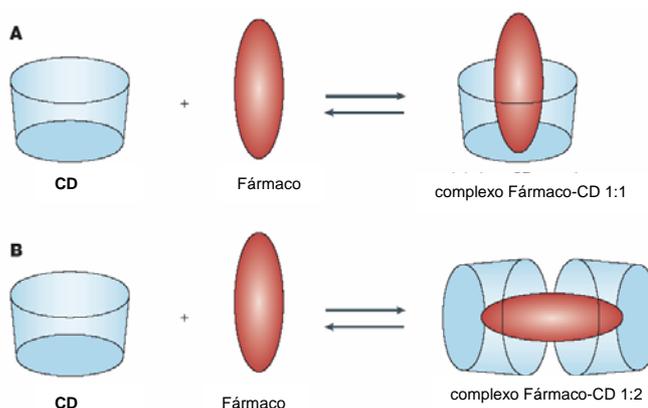


Figura 11: Ilustração esquemática da formação do complexo fármaco/CD (Extraído da referência 40).

Como já foi visto anteriormente, a formação dos complexos de inclusão pode se dar através do encapsulamento de toda molécula convidada ou apenas parte dela. A Figura 12 apresenta modelos de como a α -CD, β -CD e γ -CD podem formar complexos de inclusão com a prostaglandina E2, em virtude do tamanho da cavidade, podendo-se verificar que o encapsulamento pode ocorrer em diversas posições⁴⁰.

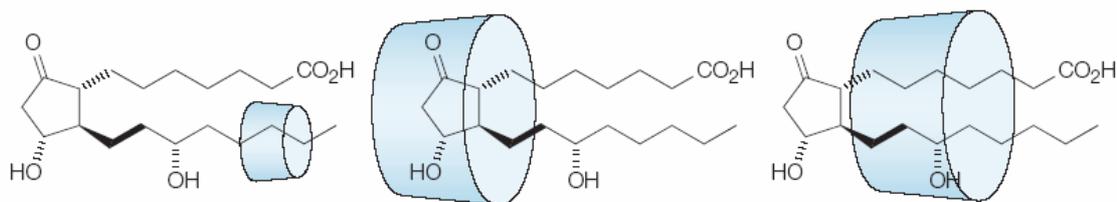


Figura 12: Proposições de modelos para inclusão de complexos de prostaglandina E2 com α -CD, β -CD e γ -CD (Extraído da referência 40)

A ação e a toxicidade do complexo de inclusão nas condições *in vivo*, o comportamento do produto obtido e o perfil de dissolução podem constituir fatores limitantes para o uso de complexos de inclusão fármacos/CDs²¹. Todavia, de modo geral, os complexos de inclusão com CDs abrem novas perspectivas à utilização dos fármacos. Os principais objetivos a atingir com a utilização por via oral destes novos sistemas incluem²¹:

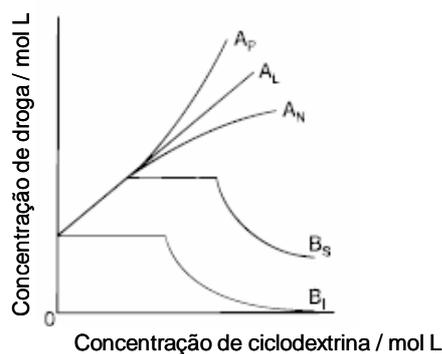
- Aumento da solubilidade aquosa e melhoria da biodisponibilidade, através do aumento da velocidade aparente e extensão da dissolução;
- Melhoria das características físicas, para melhor homogeneização e compressão do fármaco sob a forma de comprimidos;
- Aumento da estabilidade ou do tempo de liberação, durante o trânsito gastrointestinal, pela modificação do local e/ou do perfil da taxa de liberação do fármaco;
- Modificação dos parâmetros farmacocinéticos, implicando a melhoria da absorção e aumento dos níveis sanguíneos de fármacos pouco solúveis na água;
- Diminuição da irritação dos tecidos, dos efeitos colaterais e das reações hemolíticas;

- Mascaramento de odor e sabor desagradáveis;
- Redução de incompatibilidades entre fármacos, caso ao menos um deles esteja complexado;
- Obtenção de soluções aquosas estáveis de fármacos pouco solúveis em água, evitando, assim, o recurso à adição de solventes orgânicos.

Vale destacar que uma das principais utilizações farmacêuticas das ciclodextrinas é no aumento da solubilidade de fármacos insolúveis ou pouco solúveis em água^{41,42}. A avaliação da alteração da solubilidade do fármaco após complexação pode ser efetuada segundo o método proposto por Higuchi e Connors⁴³, para a construção do diagrama de solubilidade de fases. Este tipo de estudo consiste na adição de um excesso em massa (fixa) de fármaco a uma série de soluções de ciclodextrina, com concentrações crescentes. A série de soluções e um controle (água + fármaco) são agitados por 48 horas, seguindo-se de filtração e análise por espectroscopia no UV-vis, para a determinação quantitativa. O diagrama é um gráfico das concentrações do fármaco em solução, determinadas experimentalmente, versus as concentrações de ciclodextrina utilizadas. A solubilidade aquosa da substância convidada aumenta ao ser encapsulada em CD, formando um equilíbrio dinâmico entre o fármaco livre e o complexo de inclusão. A constante K_c , que governa o referido equilíbrio, pode ser obtida através do diagrama de solubilidade, juntamente com a natureza do complexo, Figura 13a e 13b^{40,43}.

$$K_c = \frac{\text{inclinação}}{S_o \text{ (1-inclinação)}}$$

(a)



(b)

Figura 13: Constante de equilíbrio e diagrama de solubilidade de fases complexo Fármaco-CD. (Extraída da referência 40).

Na Figura 13b pode-se observar os diversos comportamentos possíveis para o diagrama de solubilidade de fases fármaco/CD. Um diagrama do tipo A evidencia um complexo solúvel, no qual a solubilidade do hóspede pode aumentar linearmente em função da concentração de CD (tipo A_L) ou apresentar desvios negativos (A_N) ou positivos (A_P) de linearidade. Um diagrama do tipo B indica um complexo com solubilidade limitada, podendo ser do tipo B_S (solúvel apenas a baixas concentrações de CD) ou do tipo B_I , indicativo de um complexo insolúvel. Para uma estequiometria 1:1, a constante de associação do complexo é calculada de acordo com a equação descrita na Figura 13a, utilizando a inclinação da reta e a solubilidade intrínseca do fármaco (S_o), que é a solubilidade do fármaco na ausência de ciclodextrina^{40,43}.

Geralmente a β -CD produz curvas do tipo B, devido a sua baixa solubilidade aquosa, enquanto as CDs quimicamente modificadas, incluindo a HP β CD, usualmente produzem complexos solúveis originando curvas do tipo A. A

estequiometria pode ser avaliada pelo ajuste de curvas, contudo os sistemas com curvas do tipo A_N são difíceis de interpretar¹⁷.

Pode-se utilizar o diagrama de solubilidade de fases para determinar a estequiometria do complexo formado, contudo esta estequiometria pode ser avaliada alternativamente utilizando-se o método das variações contínuas (*Job's plot*)^{44,45}, baseado na diferença na absorbância do convidado na ausência e na presença de ciclodextrina⁴⁶. De forma breve, misturam-se soluções aquosas equimolares do convidado e da ciclodextrina nas razões volumétricas 9:1, 8:2, etc., mantendo-se o volume total constante, o que faz com que a soma das concentrações das duas espécies também seja constante ($[CONVIDADO]_t + [CD]_t = M$)^{47,48} e a razão r ($r = [CD] / \{[CD] + [CONVIDADO]\}$) varie de 0,1 a 1,0. Na maioria dos trabalhos descritos na literatura, o método das variações contínuas tem sido feito por RMN ¹H ou espectroscopia de fluorescência e, só recentemente, estudos de estequiometria utilizando dados de absorbância no UV-vis têm sido descritos^{46,49}.

A utilização de CDs com o objetivo de aumentar a solubilidade e diminuir efeitos adversos pode ser ilustrada pelo complexo Piroxicam- β CD (Brexin®). O piroxicam é um antiinflamatório não esteróide largamente utilizado no tratamento de estados inflamatórios e dolorosos, porém causa sérios efeitos adversos, em especial ao trato gastrointestinal. O complexo piroxicam- β CD é altamente hidrossolúvel e proporciona uma rápida absorção do fármaco, com incidência menor de efeitos não desejados⁵⁰. Em um trabalho mais recente, a inclusão de praziquantel, um antiparasitário com amplo espectro de atuação, porém com baixa solubilidade, levou a um aumento de 5 vezes na solubilidade aquosa. Conseqüentemente, verificou-se uma melhoria importante na biodisponibilidade do fármaco, juntamente com potencialização do efeito terapêutico⁵¹.

Embora a existência de CDs e o seu uso na indústria farmacêutica tenha sido documentado há décadas, foi apenas recentemente que a exploração em aplicações além de solubilização e estabilização de moléculas passou a ser descrito. Um exemplo é o caso de sistemas supramoleculares de liberação dirigida de fármacos (*drug targeting*). Vale mencionar um sistema formado por um complexo contendo a substância violaceína, que é direcionado para as células tumorais de forma seletiva por meio de nanopartículas de ouro de 3 a 4 nm⁵². A comercialização em larga escala e a funcionalização de CDs têm sido intensivamente ampliadas, sendo que os sistemas recentes encontram aplicações não usuais que brevemente poderão ser disponibilizadas no mercado.

1.4 TOXOPLASMOSE

A toxoplasmose é uma infecção causada por um protozoário, o *Toxoplasma gondii* (Figura 14), que tem como hospedeiro definitivo os felinos, sendo o gato doméstico o representante mais importante nas áreas urbanas, e o homem um hospedeiro intermediário.

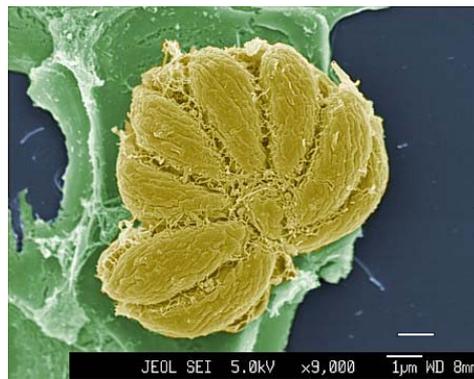


Figura 14: Toxoplasma Gondii - Publicada em: Microscopy Research and Technique (Autor: Rodrigo Cardoso Magno e Marcia Attias - Instituto de Biofísica U.F.R.J.)

A infecção se apresenta nas formas adquirida e congênita e é uma das doenças com índices de prevalência mais altos do mundo, principalmente em áreas de subdesenvolvimento. Apesar de usualmente assintomática, em pacientes imunodepressivos, como aqueles submetidos a transplante de órgãos, em tratamento por quimioterapia ou infectados pelo vírus HIV, a encefalite toxoplasmática é a manifestação mais comum e pode causar graves lesões cerebrais e até mesmo a morte. Em gestantes portadoras do parasita, os riscos de seqüelas na criança variam de acordo com a idade gestacional. Em todos os casos o tratamento tem que ser rapidamente instituído a fim de se minimizar a extensão afetada.⁵³.

O tratamento padrão para a toxoplasmose adquirida é a combinação de pirimetamina (5-(4-clorofenil)-6-etil-2,4-pirimidiamina) (Figura 15) e sulfadiazina (4-amino-N-(2-pirimidinil) benzenosulfonamida) (Figura 16). Esses fármacos agem inibindo a síntese de ácido fólico do protozoário, prejudicando a síntese enzimática e provocando erros na divisão nuclear, o que impede a multiplicação do parasita⁵⁴. A atividade da combinação dos dois fármacos, dada sua atuação sinérgica contra o *Toxoplasma gondii*, é até oito vezes maior do que se os mesmos fossem utilizados isoladamente.

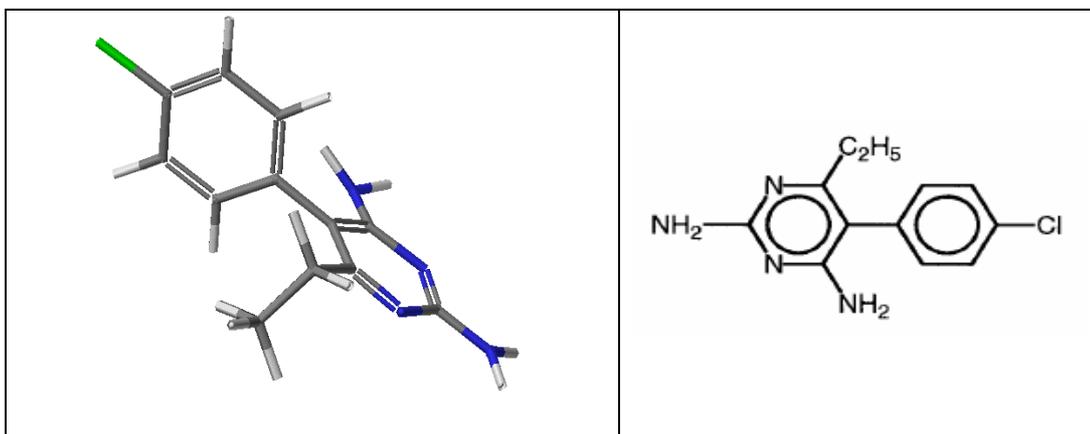


Figura 15: Estruturas da pirimetamina

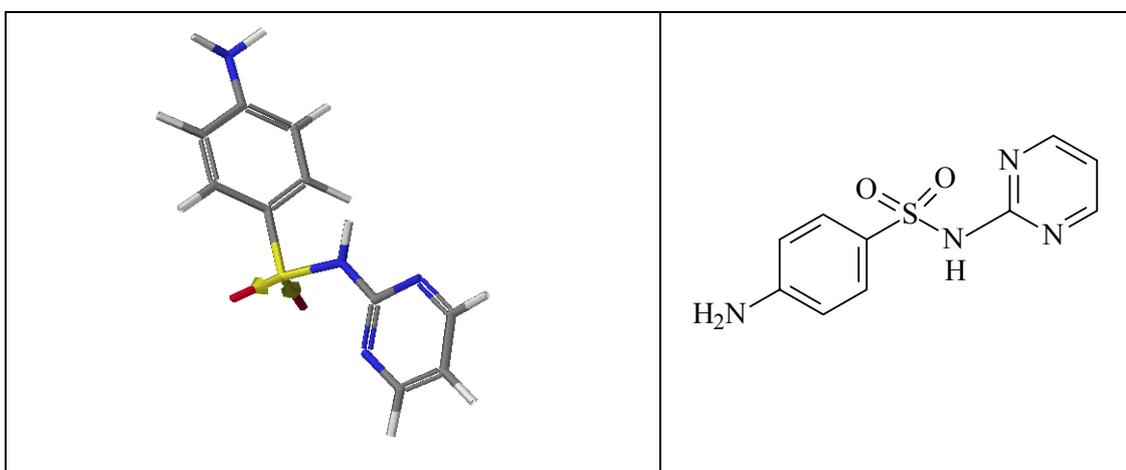


Figura 16: Estruturas da sulfadiazina

Devido a baixa solubilidade aquosa destes fármacos, altas concentrações são necessárias, o que compromete a eficácia terapêutica da combinação em imunodrepressivos e neonatos, ocasionando efeitos adversos severos: a sulfadiazina pode causar sérias reações alérgicas, como erupções cutâneas, coceiras e náuseas, enquanto a pirimetamina pode provocar uma neutropenia reversível (depressão gradual da medula óssea) com conseqüente diminuição de glóbulos sangüíneos⁵⁵.

Uma alternativa para esse problema é aumentar a solubilidade da pirimetamina e sulfadiazina, pela utilização de compostos de inclusão com ciclodextrinas como sistemas de transporte e liberação^{19,56}. No entanto, na literatura não existe referência a estudos sobre encapsulamento destes fármacos em CDs, mais especificamente em HP β CD. Como a busca por novos medicamentos para a toxoplasmose é inexpressiva, a possibilidade de aumentar a solubilidade dos medicamentos existentes, acarretando diminuição das doses com manutenção de eficácia torna o estudo de seus complexos em CDs favorável aos pacientes, principalmente os imunodepressivos e neonatos, diminuindo os efeitos adversos e a letalidade oriunda da administração do tratamento.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi preparar sistemas supramoleculares, pela inclusão das moléculas convidadas Pirimetamina (PIR) e Sulfadiazina (SDZ) em Hidroxipropil- β -Ciclodextrina (HP β CD), caracterizando os complexos resultantes quanto à estrutura, estabilidade e propriedades. As moléculas a serem encapsuladas são fármacos utilizados no tratamento da toxoplasmose e a HP β CD já é amplamente utilizada em formulações farmacêuticas, de modo que as estruturas supramoleculares poderão apresentar um potencial de utilização na liberação controlada dos fármacos.

2.2 Objetivos Específicos

- Preparar, pelo método de suspensão, complexos de inclusão de PIR e SDZ em HP β CD.
- Estudar a variação da solubilidade das moléculas convidadas em presença de HP β CD, pela construção dos diagramas de solubilidade de fases.
- Calcular as constantes de estabilidade usando o diagrama de solubilidade de fases.
- Caracterizar as estruturas supramoleculares preparadas, através do uso de técnicas físico-químicas;

- Modelar as estruturas dos complexos resultantes.
- Estudar a estequiometria do complexo HP β CD/PIR utilizando o método das variações contínuas (método de Job)

CAPÍTULO III

METODOLOGIA

CAPÍTULO III

METODOLOGIA

3.1 Materiais

Os reagentes utilizados foram:

- 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina, marca SIGMA, FW = 1540
- Pirimetamina (5-(4-clorofenil)-6-etil-2,4-pirimidiamina), marca SIGMA, FW = 248,7.
- Sulfadiazina (4-amino-N-(2-pirimidinil) benzenosulfonamida), marca SIGMA, FW = 250,28

As soluções foram preparadas com água ultra pura (Purificador Aquapur, permutation).

3.2 Preparação dos complexos de inclusão: HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ

As moléculas a serem encapsuladas (PIR ou SDZ) foram adicionadas no estado sólido a soluções aquosas de HP β CD na proporção molar de 1:1 e, em seguida, as misturas foram agitadas magneticamente por 48 horas, à temperatura ambiente e sob abrigo da luz. Após o tempo de agitação, as suspensões foram centrifugadas e o sobrenadante foi filtrado sob pressão reduzida em membrana 0,45 μ m. A fim de se coletar os compostos solubilizados no estado sólido, o filtrado foi evaporado, na temperatura de 45°C, em um rota-evaporador ou, alternativamente, por liofilização.

Prepararam-se também misturas físicas dos fármacos com HP β CD na proporção molar na proporção 1:1, pela trituração em almofariz de ágata.

3.3 Estudo da solubilidade de fases – complexos: HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ.

Para ambas as moléculas convidadas, o estudo de solubilidade de fases foi feito agitando-se 20 mL de soluções aquosas de HP β CD de concentrações crescentes (0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 mM) com uma massa fixa do fármaco (em excesso de 5 vezes em relação ao número de moles de HP β CD na solução mais concentrada). Em ambos os casos, as suspensões resultantes foram submetidas a agitação à temperatura ambiente por 48 h, sendo em seguida filtradas em membrana de 0,45 μ m. No caso específico da SDZ, realizou-se uma diluição das soluções que foram agitadas, utilizando-se 1 mL de cada solução e diluindo-se para 100 mL. As concentrações de PIR e SDZ foram determinadas por espectroscopia de absorção no UV-vis. Para tanto, utilizaram-se as absortividades molares (ϵ) e as solubilidades intrínsecas (S_0) das moléculas estudadas a vários pH's, determinadas nos estudos espectroscópicos prévios realizados por Lázaro e Almeida⁵⁷, conforme tabela III e IV.

Tabela III: Parâmetros espectroscópicos utilizados para construção do diagrama de solubilidade de fases (Extraído da referência 57).

Fármaco	pH	λ nm	ϵ L mol ⁻¹ cm ⁻¹
Primetamina	9,0	284	8.374 \pm 75
Sulfadiazina	7,0	258	13.066 \pm 211

Tabela IV: Solubilidades intrínsecas utilizadas (Extraído da referência 57).

Fármaco	pH	S₀ (mg/L)
Pirimetamina	9,0	30
Sulfadiazina	7,0	60

O experimento foi executado em triplicata e com os valores obtidos construiu-se o diagrama de solubilidade de fases para os dois complexos.

3.4 Determinação da estequiometria dos complexos (Método das Variações Contínuas)

Um meio seguro para determinação da estequiometria do complexo é o método das variações contínuas (método de Job)^{44,45,48} que é baseado na variação de alguma propriedade diretamente dependente da formação do complexo (intensidade de fluorescência, deslocamento químico de prótons etc.), cujo valor máximo deve ser obtido para a estequiometria ótima. Para isto, soluções equimolares, $1,0 \times 10^{-6}$ mol/L, de PIR e da HP β CD foram preparadas e, em seguida, misturaram-se volumes variados das duas soluções: 2 mL + 8 mL etc, mantendo-se o volume total constante, fazendo com que a soma das concentrações das duas espécies também seja constante. A mesma série de diluições foi feita, nas mesmas condições, para PIR e água destilada. Após agitação por 48 horas, efetuaram-se medidas de fluorescência das soluções com excitação em 294 nm.

Vale comentar que, como a sulfadiazina não apresenta fluorescência e o método das variações contínuas não é sensível por absorção no UV-vis, tal estudo não foi realizado para este convidado.

3.5. Simulação computacional das estruturas dos complexos de inclusão

As geometrias de menor energia para os complexos de inclusão de ambos os convidados em HP β CD foram modeladas por Costa e col., em uma colaboração a este trabalho. Para tanto, utilizaram-se os métodos AM1, PM3 e MM3, implementados no programa CACHE Worksystem 6.1 (Manual CACHE, 2003, Fujitsu Limited).

As geometrias modeladas nos diferentes métodos foram utilizadas, em seguida, para a simulação dos espectros de absorção no UV-vis. Para isto, usou-se o método INDO/S-CI implementado no programa ZINDO (ZINDO Manual, QTP, University of Flórida), que foi utilizado para calcular as forças dos osciladores e as energias de transições. O espaço da configuração CI foi gradualmente acrescido até que nenhuma mudança significativa nas energias fosse notada. Em seguida, um ajuste por Lorentzianas foi realizado para traçar o perfil dos espectros teóricos com as larguras das bandas. Para isto, utilizaram-se as energias de transições singleto com as respectivas intensidades relativas, obtidas da força dos osciladores. Os perfis encontrados foram comparados com os espectros experimentais.

3.6 Caracterização dos complexos HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ.

Os complexos sólidos coletados como descrito no item 3.2 foram caracterizados pelas seguintes técnicas:

3.6.1 Espectroscopia de absorção no UV-Visível: as medidas espectrofotométricas foram realizadas na faixa de 200-400 nm com um aparelho UV-vis Perkin Elmer Lambda 45.

3.6.2 Análise térmica: as análises termogravimétricas (TG) foram realizadas em um equipamento da TA Instruments, modelo 2960, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, sob fluxo de N₂ (100 L/min), usando porta amostra de alumina. As curvas de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram obtidas em um equipamento da TA Instruments, modelo 2010, sob fluxo de N₂ (100 mL/min), com taxa de aquecimento 10°C/minuto, utilizando-se porta-amostras de alumínio.

3.6.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV): as amostras foram suspensas em álcool iso-propílico por ultrassonicação, depositando-se as suspensões sobre porta-amostras de latão e, após a evaporação do solvente, uma fina película de ouro foi também depositada. As imagens de MEV foram obtidas em um equipamento Jeol JSM – 6360L.

3.6.4 Difractometria de raios-X: os difratogramas de raios-X das amostras, na forma de pó, foram obtidos em um difratômetro Rigaku, com velocidade de varredura de 2°/minuto em 2 θ , fonte Cu- $\kappa\alpha$ (1,5418 Å) em 40 kV e 40 mA.

3.6.5 Espectroscopia infravermelho: os espectros infravermelhos foram obtidos em um equipamento Perkin Elmer Spectrum BX FTIR System, com resolução de 4 cm⁻¹ na faixa de 4000-400 cm⁻¹, pela técnica de pastilha de KBr e 16 acumulações. Alternativamente, para o sistema HP β CD/SDZ, obtiveram-se espectros a partir de pastilhas de KBr na região de 1570-1610 cm⁻¹ com 256 acumulações e resolução de 2 cm⁻¹.

3.6.6 Fluorescência: As medidas de emissão de fluorescência foram realizadas em um equipamento Perkin–Elmer LS 55 Luminescence Spectrometer.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados deste Trabalho, iniciando-se pelos estudos de solubilidade de fases e caracterização dos complexos de inclusão do sistema HP β CD/PIR. Em seguida, são apresentados os resultados de solubilidade de fases do sistema HP β CD/SDZ e a caracterização do complexo de inclusão deste sistema.

Os complexos de inclusão foram obtidos utilizando o método da suspensão, conforme descrito na metodologia, em temperatura ambiente e usando como solvente apenas a água. Estes parâmetros foram escolhidos por serem eficientes na complexação deste sistema e por estarem dentro dos princípios da Química e Engenharia Verde. De acordo com estes princípios, os métodos desenvolvidos devem utilizar e gerar substâncias com pouca ou nenhuma toxicidade à saúde humana e ao ambiente, além optar por processos que ocorram à temperatura e pressão ambientes, reduzindo adicionalmente o consumo energético⁵⁸.

Vale comentar que, com relação às amostras denominadas de complexos de inclusão, tratam-se de misturas contendo um excesso de HP β CD não-complexada. Este excesso ocorre pois apesar de se usar estequiometria 1:1 na preparação, verifica-se sempre a presença de um resíduo insolúvel de PIR, que é separado por centrifugação e filtração. No caso da ciclodextrina que permanece não-encapsulada no meio, como esta é solúvel, sua purificação normalmente não é realizada neste tipo de estudo, devido a grandes dificuldades mesmo por técnicas modernas de

cromatografia. As misturas são utilizadas mesmo em formulações farmacêuticas, dada a comprovada baixa toxicidade da HP β CD, observando-se todavia as metodologias otimizadas para garantir a eficácia de cada sistema.

4.1 Complexo de inclusão HP β CD/PIR

4.1.1 Estudos de solubilidade de fases

A partir do estudo da variação da solubilidade da PIR em presença de diferentes concentrações de HP β CD, construiu-se o diagrama de solubilidade de fases, apresentado na Figura 17. Pode-se observar que a concentração do convidado aumenta linearmente com o aumento da concentração de HP β CD, o que pode ser interpretado como evidência direta de inclusão. O perfil observado permite classificar o diagrama de solubilidade como sendo do tipo A_L, conforme definido por Higuchi e Connors⁴³, demonstrando, além da ocorrência de encapsulamento, que o complexo de inclusão formado é solúvel em água.

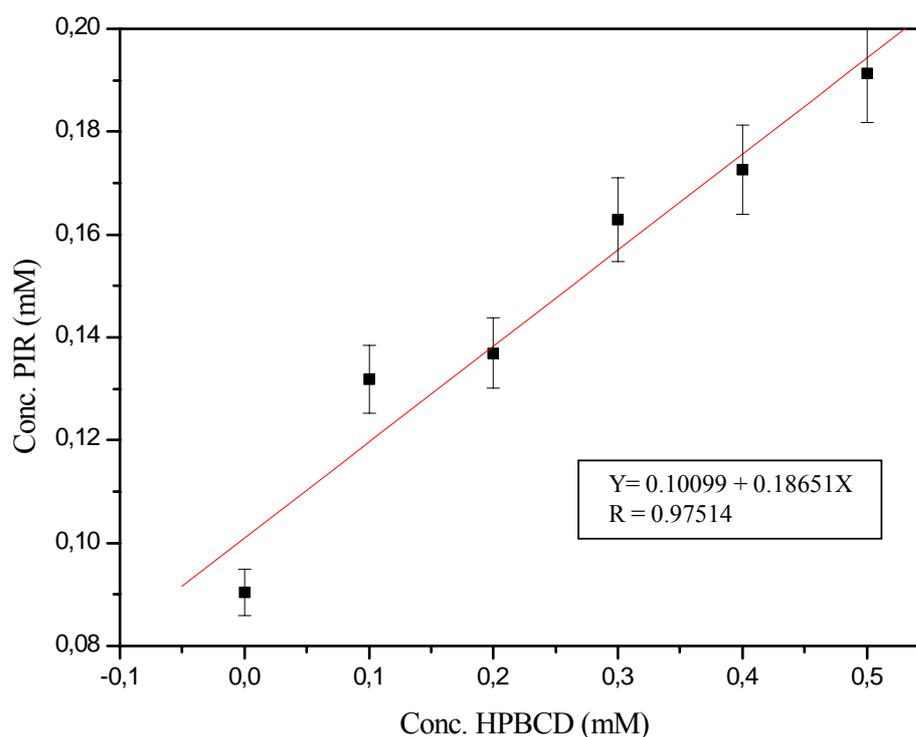


Figura 17 - Diagrama de solubilidade de fases da PIR em solução aquosa, a temperatura ambiente (25° C) e pH ~9, em função das concentrações de HPβCD;

Como apresentado na Introdução deste Trabalho, o diagrama de solubilidades também permite uma estimativa da estequiometria e da estabilidade do complexo formado. O ajuste da curva obtida a um modelo linear resultou em um valor de inclinação inferior a um (0,18651), o que indica a formação de um complexo com uma estequiometria 1:1^{17,33,43}. A constante da estabilidade do complexo de inclusão com a estequiometria sugerida ($K_{1:1}$) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$K_{1:1} = \text{inclinação} / [S_0(1-\text{inclinação})]$$

onde a “inclinação” corresponde ao valor obtido a partir do ajuste ao modelo linear e S_0 é a solubilidade intrínseca do convidado, ou seja, na ausência da HPβCD. O valor

utilizado para S_0 foi de 30 mg.L^{-1} , obtido por Lázaro e Almeida^{27III} a $\text{pH} = 9$. A constante de associação apresentou um valor de $1900,6 \text{ M}^{-1}$ (onde M : mol L^{-1}), demonstrando uma forte interação entre a CD e o fármaco, pois são descritos na literatura valores entre 50 a 2000 M^{-1} para ciclodextrinas e derivados⁵⁹.

Para as condições estudadas, pode-se afirmar que a solubilidade da PIR a $\text{pH} = 9$ aumentou em mais de 50% , evidenciando a formação de um complexo de inclusão mais solúvel que o fármaco puro. Nos estudos prévios de Lázaro e Almeida⁵⁷, a solubilidade da PIR, determinada através do método de dissolução direta em função do pH , foi 160 mg.L^{-1} a $\text{pH} = 4,0$, 40 mg.L^{-1} a $\text{pH} = 7,0$ e 30 mg.L^{-1} a $\text{pH} = 9,0$. No presente caso as soluções do complexo HP β CD/PIR tiveram pH em torno de $9,0$, portanto numa faixa em que a solubilidade da PIR é muito baixa. Pode-se observar no gráfico que, com concentração de $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ de HP β CD, a concentração da PIR é de $47,6 \text{ mg.L}^{-1}$ ($0,19128 \text{ mmol.L}^{-1}$). Finalmente, vale comentar que, em geral, o perfil do diagrama de solubilidade de fases é a principal evidência da formação dos complexos de inclusão, o que nem sempre é evidenciado tão diretamente pelos resultados de caracterização.

4.1.2 Espectroscopia na região do UV-Vis.

Inicia-se neste ponto a apresentação dos resultados de caracterização do complexo de inclusão HP β CD/PIR coletado no estado sólido. Na Figura 18 observa-se o espectro de absorção no UV-vis de uma solução aquosa do sólido obtido por liofilização, após a preparação do complexo de inclusão HP β CD/PIR. O espectro apresenta uma banda em 280 nm , atribuída à PIR, que confirma sua presença no complexo de inclusão.

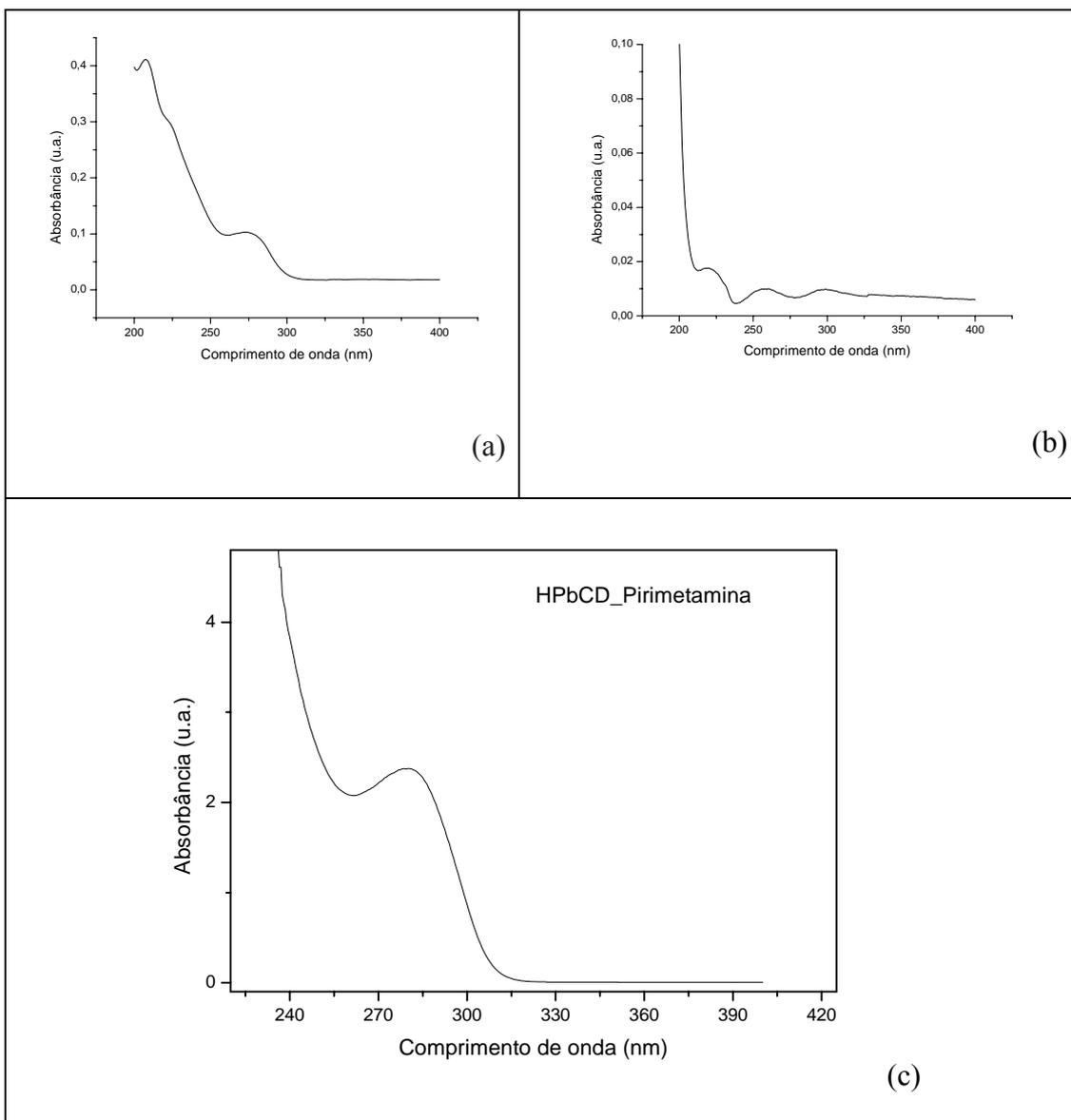


Figura 18 - Espectro de absorção UV-vis da pirimetamina (a), do HPβCD (b) e do complexo HPβCD/PIR liofilizado (c).

4.1.3 Comportamento Térmico

A caracterização do comportamento térmico do complexo HPβCD/PIR foi feita pelas técnicas de DSC (Figura 19) e TG (Figura 20), sendo que a primeira

destas Figura em trabalhos da área como uma das mais adequadas para evidenciar a ocorrência de inclusão em ciclodextrinas^{60,61}.

As curvas de DSC de amostras de PIR, de HP β CD, da mistura física e do complexo de inclusão são apresentadas na Figura 19. Para a PIR (Figura 19a) observa-se um pico endotérmico estreito em 242 °C, associado à fusão do fármaco. Esta temperatura está de acordo com o ponto de fusão descrito na literatura para este composto⁶⁷. Por comparação com a curva TG para este composto (Figura 20I), verifica-se que na mesma região ocorre a perda de massa completa, sugerindo que o composto funde com decomposição. A curva de DSC da HP β CD (Figura 19b) mostra um evento endotérmico próximo a 100°C, que corresponde à liberação de água da HP β CD, além de um evento exotérmico alargado centrado em 300 °C, associado à decomposição da HP β CD, em plena concordância com dados da literatura⁶² e com a curva TG (Figura 20b).

No DSC da mistura física (Figura 19c) pode-se observar uma combinação dos eventos térmicos observados para ambas as substâncias isoladas. No intervalo de temperaturas onde ocorre a fusão da PIR, observa-se um pico discreto indicando ainda a presença do fármaco isolado, mas pode-se sugerir pela diminuição do pico que pode ter ocorrido o encapsulamento no processo de trituração para obtenção da mistura física, fato este descrito na literatura para o complexo HP β CD/Meloxicam⁶³.

O DSC do complexo de inclusão da HP β CD /PIR exibe um pico endotérmico próximo a 100°C, indicativo da liberação de moléculas de água. De forma interessante, a fusão da PIR não é observável, sugerindo que não há cristais isolados de PIR. Quando encapsuladas, as moléculas de PIR nas cavidades da HP β CD interagem apenas com o hospedeiro de forma relevante. Portanto, o comportamento térmico do complexo de inclusão é distinto daquele verificado para os componentes

isolados, o que é típico de sistemas supramoleculares e que indica a formação de uma nova espécie. Em suma, a evidência de encapsulamento esperada na análise da curva de DSC de complexos de inclusão em ciclodextrinas é o desaparecimento do pico endotérmico característico da fusão da molécula convidada.

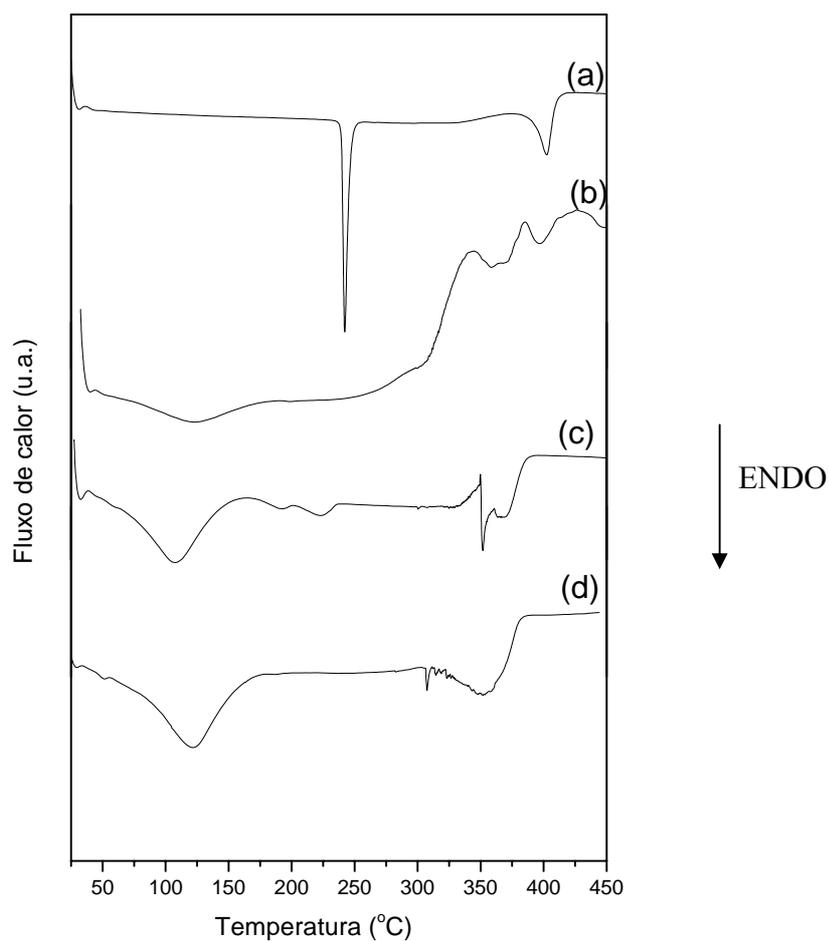


Figura 19 - Curvas de DSC da PIR (a), da HP β CD (b), da mistura física HP β CD e PIR (c) e do Complexo de inclusão HP β CD/PIR liofilizado(d).

Os resultados obtidos concordam com os dados disponíveis na literatura, tais como as curvas de DSC descritas para o complexo HP β CD/Colesterol⁶⁴, que exibiram para o colesterol puro o pico endotérmico em 152°C, correspondente ao

ponto de fusão, enquanto que a curva de DSC do complexo não apresenta picos endotérmicos nessa região, evidenciando a formação do complexo de inclusão.

As curvas de TG e DTG estão apresentadas na Figura 20. A curva TG da PIR (Figura 20-Ia) mostra que esta substância sofreu um processo de decomposição térmica que iniciou em 190°C e finalizou em 300°C sem deixar resíduos sólidos, provavelmente, em duas etapas, de acordo com a curva DTG, Figura 20-IIa. Na curva TG da HPβCD pode-se observar na Figura 20-Ib que a decomposição térmica começa na temperatura de 300 °C e em 500 °C decompõe-se totalmente, aparentemente por um mecanismo que envolve dois eventos simultâneos, além de um evento final por volta de 470 °C (Figura 20-IIb), o que está de acordo com estudos prévios²⁹. Observando a curva de TG do complexo de inclusão HPβCD/PIR liofilizado (Figura 20-Ic) vemos que a decomposição inicia aproximadamente na mesma faixa da HPβCD, contudo depois de 500°C a HPβCD se decompõe totalmente enquanto que o complexo passa por uma decomposição lenta e gradual de um com resíduo de cerca de 5% em 600°C.

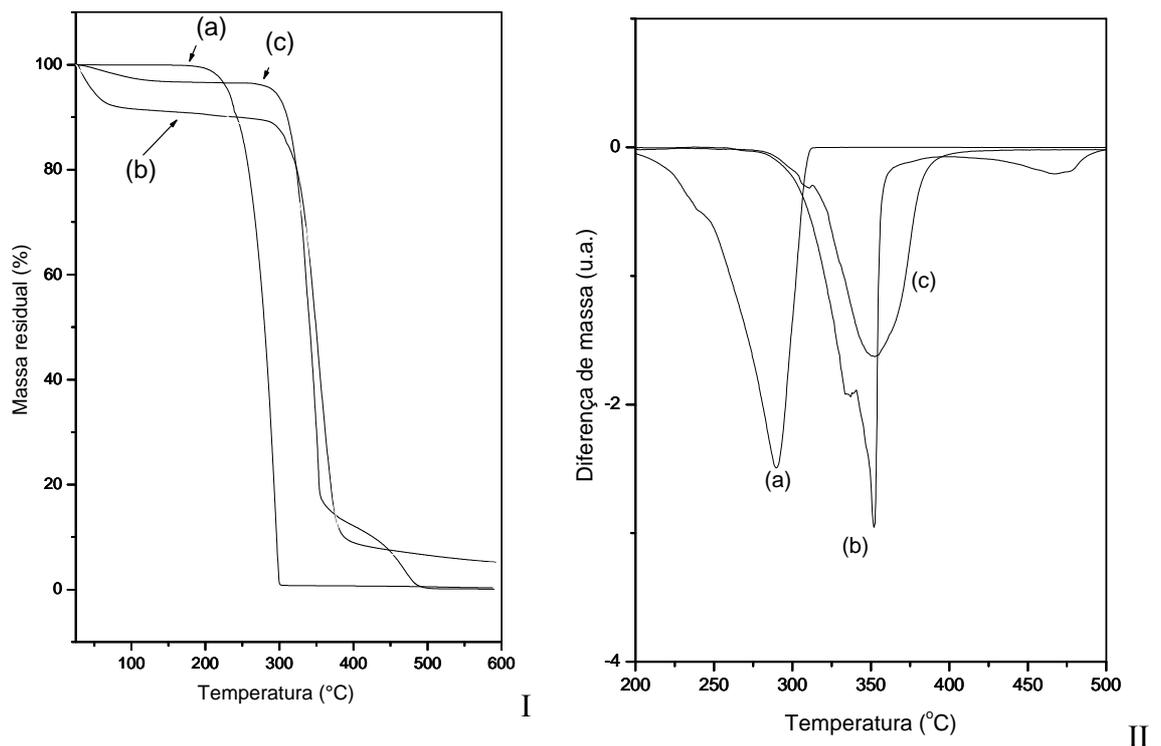


Figura 20 - Curvas TG (I) e DTG (II) da PIR (a), da HPβCD (b) e do Complexo de inclusão HPβCD/PIR liofilizado(c).

4.1.4 – Difractometria de Raios-X (DRX)

Informações complementares sobre a estrutura do complexo de inclusão foram obtidas por Difractometria de Raio-X das amostras na forma de pó. A Figura 21 apresenta os difratogramas de raios-X da PIR sólida (a), da mistura física HPβCD e PIR (c), do complexo de inclusão HPβCD/PIR liofilizado (c) e da HPβCD (d).

No difratograma da PIR (Figura 21a) observam-se picos de difração, indicativos do ordenamento estrutural típico de um sólido cristalino. No difratograma

da HP β CD (Figura 21b) verifica-se a presença de um halo e ausência de picos, evidenciando seu caráter não-cristalino. O difratograma da mistura física (Figura 21c) é praticamente uma sobreposição dos espectros das substâncias isoladas, indicando que neste caso não houve formação de uma nova espécie, pelo menos que pudesse ser detectada. Finalmente, no difratograma do complexo de inclusão (Figura 21d) verifica-se apenas a presença de um halo associado à ausência de cristalinidade, típico da estrutura da HP β CD original, estando ausentes os picos referentes a cristais da PIR isolada. Considerando que o espectro UV-vis desta amostra deixa claro a presença de PIR no complexo liofilizado, tal observação sugere que a inclusão da PIR não altera o desordenamento estrutural característico da HP β CD, confirmando as observações realizadas a partir dos dados de DSC.

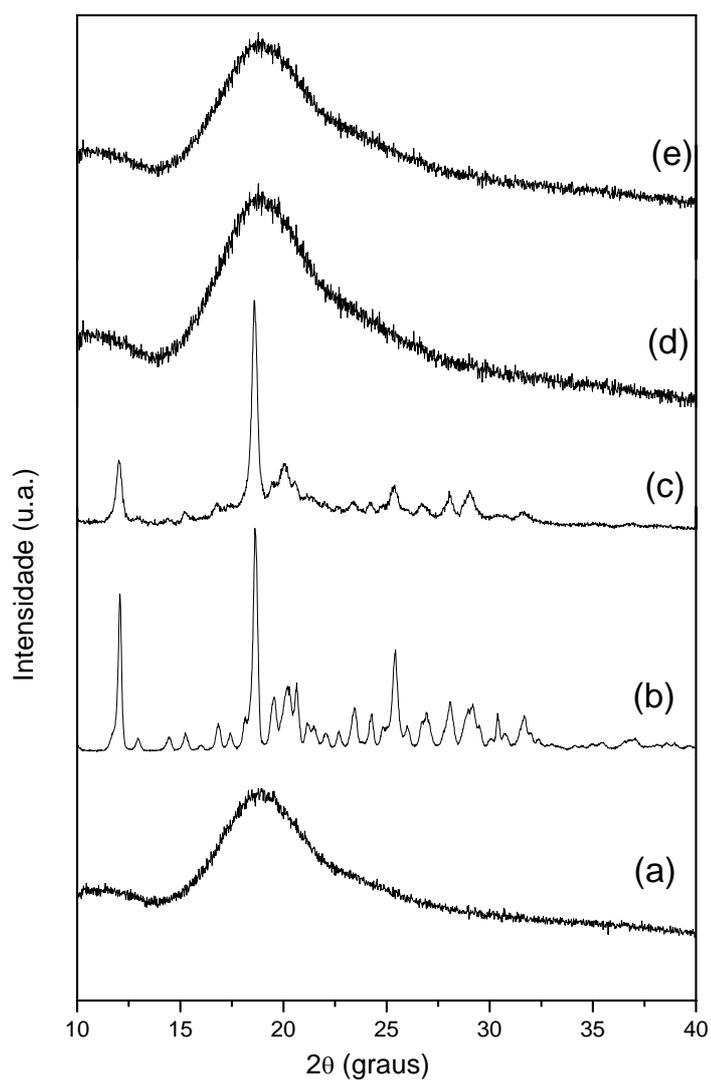


Figura 21 - Difratomogramas de raios-X: HP β CD (a), PIR (b) mistura física HP β CD e PIR (c), complexo de inclusão HP β CD /PIR evaporado (d), complexo de inclusão HP β CD /PIR liofilizado (e).

Dados da literatura, bem como os obtidos no presente trabalho, confirmam que quando se utiliza uma CD com estrutura não-cristalina, o mesmo padrão é encontrado no complexo, em especial no caso de moléculas relativamente pequenas como é o caso dos fármacos estudados. Isto pode ser observado no artigo que estuda o complexo de inclusão HP β CD/bacaleína⁶⁵ e na obtenção de complexos com a

hidroxietil- β -ciclodextrina que também tem estrutura não cristalina. Há, todavia, casos singulares em que se observa o contrário, como no caso de algumas polipseudo-rotaxanas, nas quais convidados de cadeia longa atravessam o interior das cavidades de várias ciclodextrinas, induzindo a cristalização de estruturas colunares⁶⁶.

4.1.5 – Espectrometria infravermelho com transformada de Fourier

A caracterização do complexo de inclusão em ciclodextrinas por FTIR tem suas limitações inerentes. Em primeiro lugar, as ligações formadas no complexo são ligações intermoleculares que não devem alterar de maneira considerável o espectro. Em segundo lugar, dado haver um excesso de HP β CD, a quantidade do convidado na amostra do complexo é inferior, de modo que a intensidade das bandas do convidado seja diminuída por um tipo de efeito de “diluição”. Finalmente, na estrutura das ciclodextrinas há um elevado número de grupos altamente polares, tais como O-H e C-O, cujas bandas apresentam intensidades intrinsecamente altas, tendendo a mascarar bandas dos convidados. Entretanto, dependendo do sistema, a comparação cuidadosa dos espectros pode fornecer evidências de complexação. Ao contrário da estrutura cristalina do convidado, que é perdida na formação do complexo de inclusão, a estrutura molecular é preservada de tal forma que as ligações químicas podem ser detectadas nos espectros infravermelhos.

A Figura 22 apresenta os espectros infravermelhos da PIR (a), da HP β CD (b) e do complexo de inclusão HP β CD/PIR (c), cujas atribuições podem ser observadas na Tabela IV.

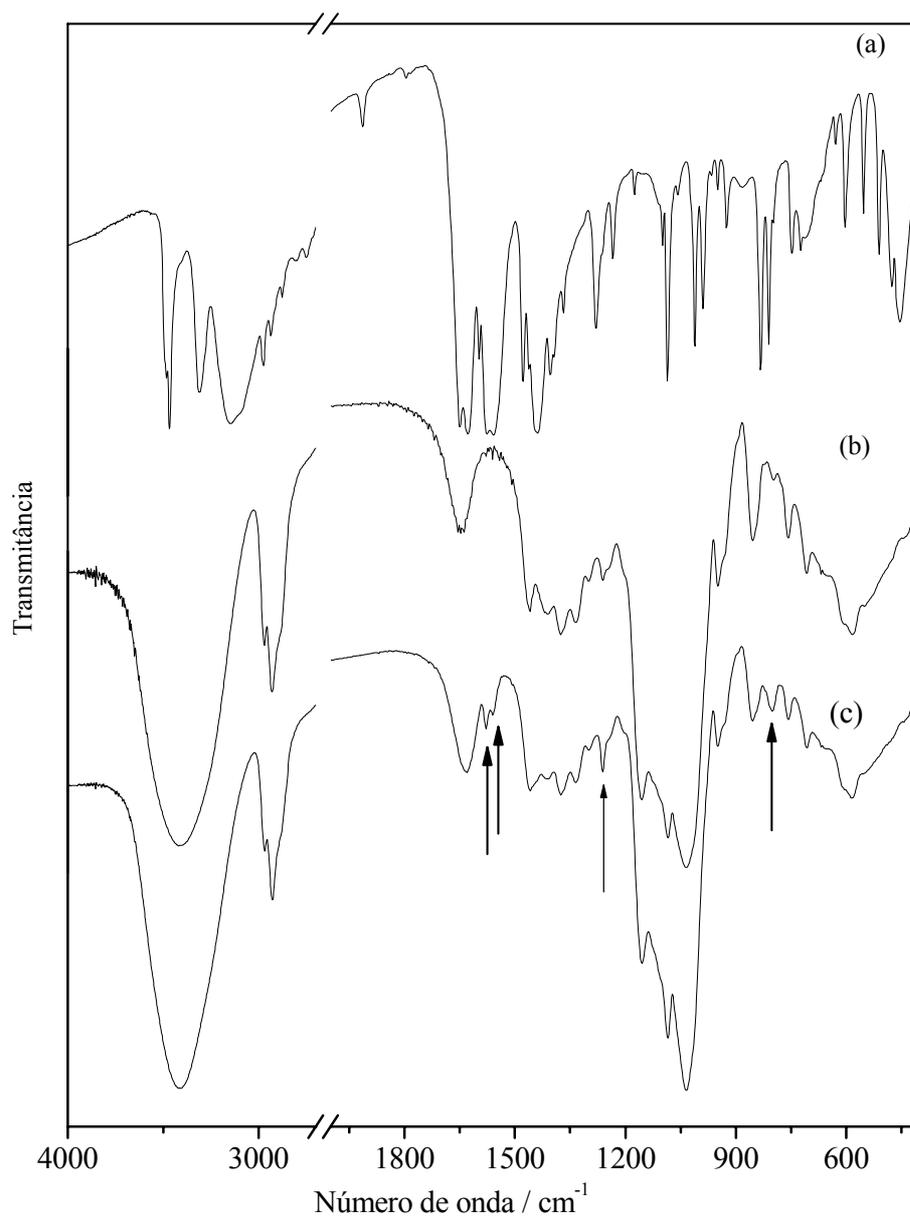


Figura 22 - Espectros infravermelhos da PIR (a), HP β CD (b) e do complexo de inclusão HP β CD/PIR liofilizado (c)

Tabela V: Valores de número de onda e atribuições de bandas nos espectros FTIR para o sistema HP β CD /PIR.

PIR	HP β CD
3467 e 3310: $\nu_{\text{asym/sym}}(\text{H-N-H})$ de NH_2	3410: $\nu(\text{O-H})$
3149: $\nu(\text{C-H})$ de anel aromático	2970 e 2930: $\nu(\text{C-H})$
1913 e 1793: bandas de combinação de anéis <i>p</i> -dissubstituídos	1458: $\delta(\text{C-H})$ de CH_2 e CH_3
1600-1400: $\nu(\text{C=C})$ de anel aromático	1377: $\delta(\text{C-H})$ de CH_3
1370: $\delta(\text{C-H})$ de CH_3	1334: acoplamento $\delta(\text{C-C-H})$, $\delta(\text{C-O-H})$, $\delta(\text{H-C-H})$
1250: $\nu(\text{C-N})$	1261: acoplamento $\delta(\text{O-C-H})$, $\delta(\text{C-O-H})$, $\delta(\text{C-C-H})$
1100-980: $\delta(\text{C-H})$ (no plano) de anel aromático	1155 e 1080: acoplamento $\nu(\text{C-O})$, $\nu(\text{C-C})$, $\delta(\text{C-O-H})$
706: $\delta(\text{C-H})$ (fora do plano) de anel aromático	1031: acoplamento $\nu(\text{C-C})$, $\delta(\text{O-C-H})$, $\delta(\text{C-C-H})$, $\delta(\text{C-C-O})$
455: $\delta(\text{C=C})$ (fora do plano) de anel aromático	948: vibrações do esqueleto envolvendo as ligações α -1,4
	850: acoplamento $\delta(\text{C-C-H})$, $\nu(\text{C-O})$, $\nu(\text{C-C})$ de anel aromático

ν : estiramento; δ = deformação

O espectro do complexo de inclusão HP β CD/PIR (Figura 22c) é praticamente dominado por bandas de HP β CD, pois na maioria das regiões as bandas da HP β CD mascaram as da PIR. Mais uma vez esse é um resultado que pode ser observado em outros trabalhos, como

o da obtenção do complexo HP β CD/colesterol⁶⁴. Isto se deve à tendência inerente ao mascaramento das bandas dos convidados por parte das absorções da HP β CD, já destacada. Este tipo de observação é comum em espectros infravermelhos de complexos de inclusão com ciclodextrinas. Todavia, a presença de PIR no complexo de inclusão é confirmada pelas bandas em 1570 cm⁻¹, 1558 cm⁻¹, 1278 cm⁻¹ e 810 cm⁻¹, marcadas pelas setas.

4.1.6. Microscopia Eletrônica de Varredura

Os complexos de inclusão sólidos, coletados por dois métodos diferentes (evaporação do solvente em evaporador rotativo e liofilização), bem como os sólidos de partida foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), com o intuito de se comparar os efeitos dos processos de secagem nas amostras de complexos de inclusão. As imagens de MEV são apresentadas na Figura 23.

Nas micrografias da PIR original (Figura 23a,b), pode-se identificar partículas com morfologia de blocos irregulares e, para a HP β CD, partículas com morfologia de placas irregulares (Figura 23c,d).

As imagens MEV do complexo de inclusão seco por evaporação (Figura 23e,f) permitem observar partículas com dois tipos distintos de morfologia: partículas semelhantes a HP β CD original, além de partículas com bordas arredondadas e com sinais de coalescência (“pescoços

Nas imagens da amostra submetida à liofilização (Figura 23g,h), observa-se um aspecto predominante de placas finas e homogêneas, que são típicas de sólidos coletados por este processo. Portanto, conforme o método de preparação, os complexos de inclusão apresentam morfologias diferentes: o complexo de inclusão evaporado mostrou uma estrutura mais compacta e dimensões maiores e o complexo de inclusão de liofilizado é formado pela agregação de partículas pequenas.

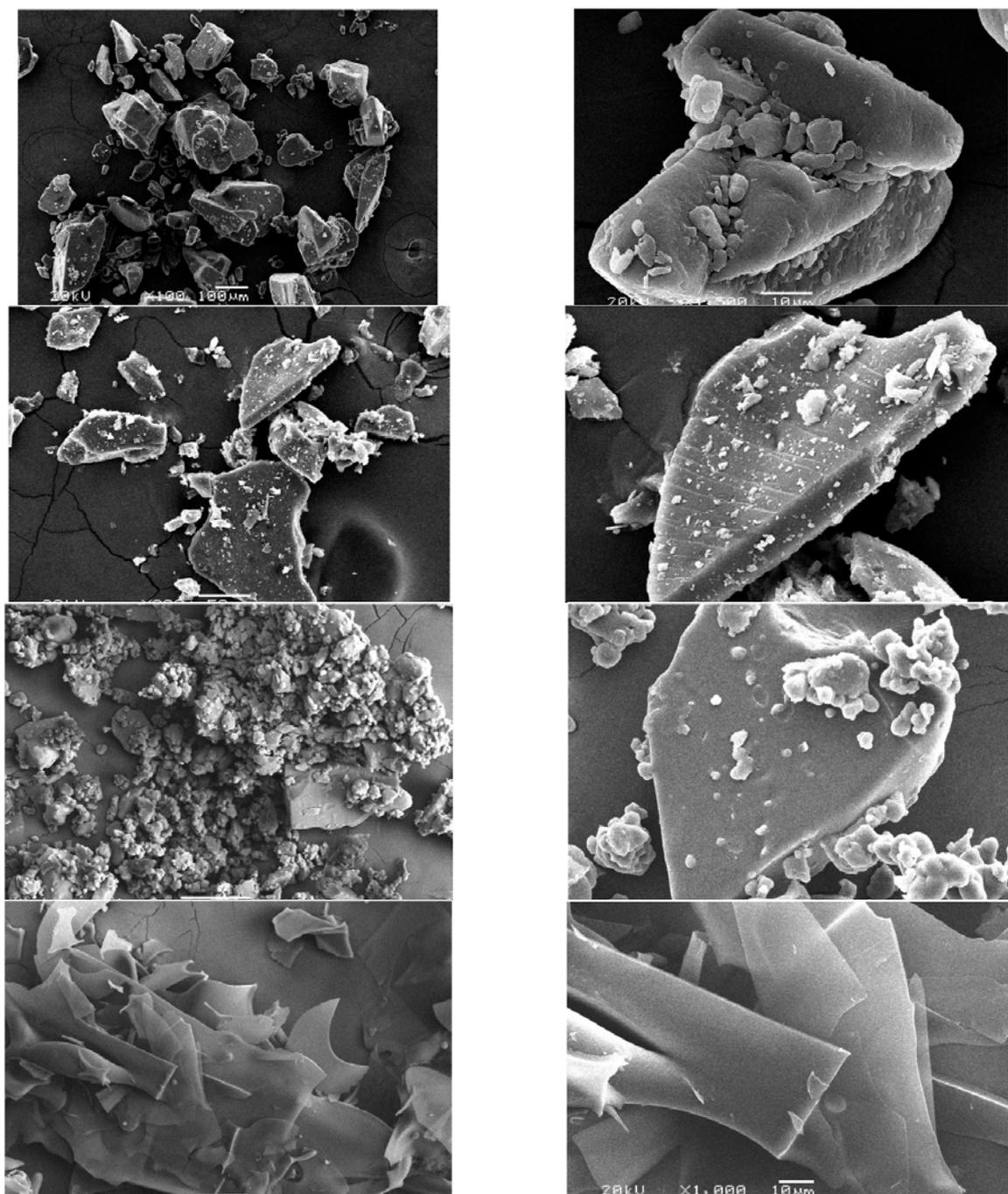


Figura 23 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura: PIR (a) e (b) HP β CD (c) e (d) complexo HP β CD/PIR evaporado (e) e (f) e complexo HP β CD/PIR liofilizado (g) e (h).

4.1.7 Estudos da Estequiometria do complexo (Método das variações contínuas)

De acordo com o método das variações contínuas, a estequiometria de complexos pode ser determinada monitorando-se alguma propriedade relacionada diretamente com a concentração do complexo, para uma série de misturas com proporções variáveis entre as espécies formadoras do complexo. Em um gráfico da propriedade medida, em função da fração molar de uma das espécies, a variação máxima da propriedade será observada para a fração molar referente à estequiometria do complexo^{44,45,48}. Para a pirimetamina, o método das variações contínuas foi aplicado com base na propriedade de emissão de fluorescência deste convidado.

A Figura 24 mostra o gráfico obtido aplicando o método das variações contínuas nas condições especificadas, para o sistema HP β CD/PIR (gráfico de Job). Pode-se observar que o máximo de variação da intensidade de fluorescência encontra-se na fração molar 0,5, podendo-se concluir que a estequiometria de formação do composto de inclusão é 1:1. Esta observação está em concordância com o resultado obtido no estudo de solubilidade de fases.

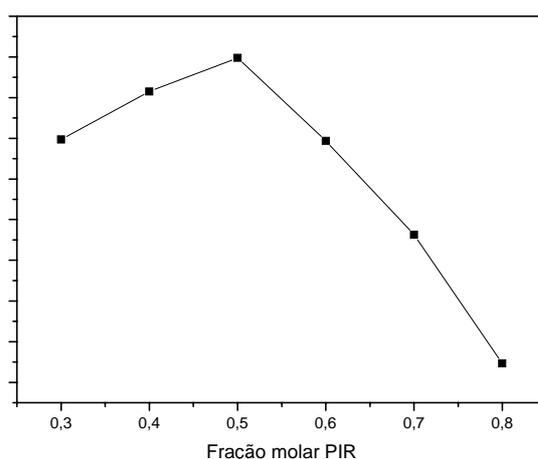


Figura 24 - Gráfico obtido pelo método das variações contínuas (JOB'S PLOT) do complexo HP β CD/PIR.

4.1.8. Modelagem Molecular

A modelagem das possíveis estruturas moleculares para o complexo HP β CD/PIR foi efetuada utilizando-se os métodos AM1, MM3 e PM3. As estruturas resultantes de cada método apresentaram variações nas distâncias entre hospedeiro-convidado dentro da cavidade, ou seja, no grau de entrada no anel. O método MM3 sugere uma maior entrada do anel, enquanto o AM1 é o que sugere a menor entrada. Uma vez, que não temos dados cristalográficos para comparação utilizamos a simulação dos espectros de absorção UV-vis teóricos (no vácuo) de cada uma, para definir o melhor método. Tal comparação pode ser observada na Figura 25

Pelo exame dos espectros na Figura 25, verifica que todos os espectros calculados para as espécies no vácuo apresentam um deslocamento para o azul em comparação com o espectro em solução. Todos os espectros calculados apresentaram uma boa concordância com o espectro experimental, no número de bandas e nas intensidades relativas. Apesar de o PM3 apresentar o maior deslocamento para o azul é o método que apresenta o perfil mais próximo do experimental (Figura 25d), sugere-se, então, que a estrutura mais provável é a obtida por PM3 (Figura 26).

Os cálculos semi-empíricos (AM1, PM3) e MM3 sugerem que a orientação do cloro para dentro da estrutura é preferível. O MM3 (distância de 28,2 nm) sugere uma forte interação entre o cloro e uma hidroxila do isohidroxipropil, o PM3 (distância de 32,8 nm) sugere uma ligação de hidrogênio fraca e o AM1 (distância de 42,3 nm) sugere que não há nenhuma ligação de hidrogênio entre o cloro e uma hidroxila do isohidroxipropil

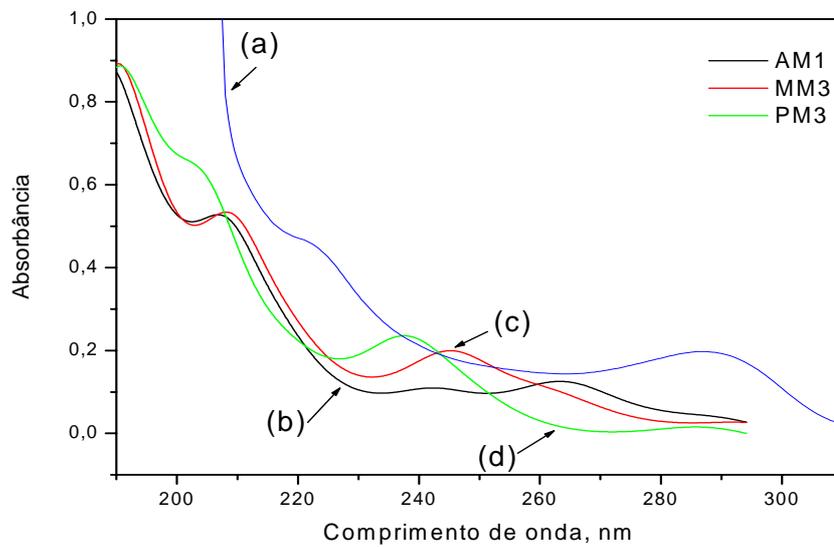


Figura 25 – Espectros UV-vis do complexo HP β CD/PIR experimental (a), teórico – AM1 (b), teórico – MM3 (c), teórico – PM3

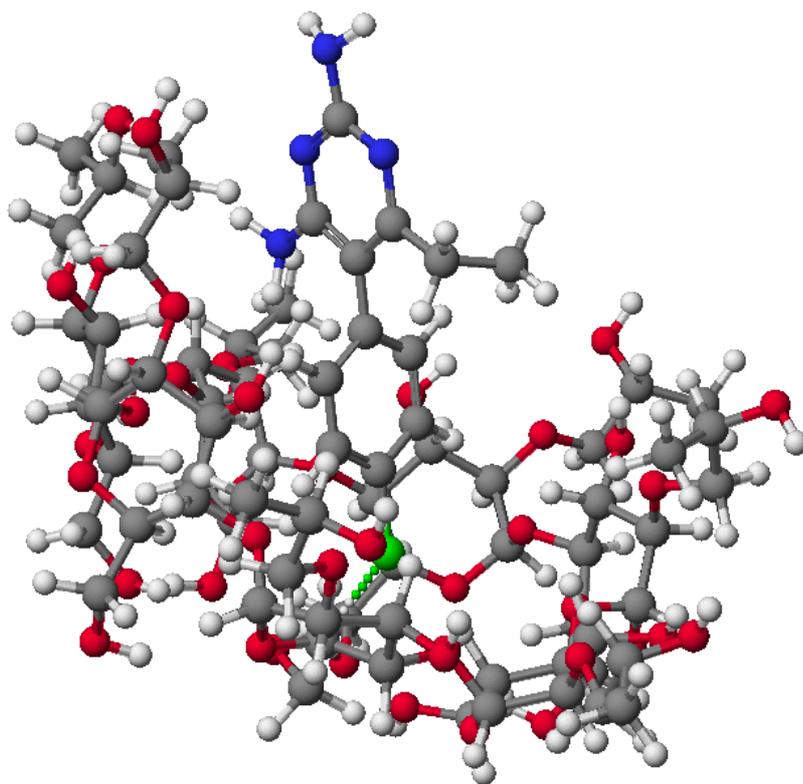


Figura 26 – Modelagem Molecular do complexo HP β CD/PIR calculado por PM3.

4.2 Complexo de Inclusão HP β CD/SDZ

4.2.1 Estudos de solubilidade de fases

Através dos dados obtidos nos experimentos de solubilidade de fases, construiu-se o diagrama apresentado na Figura 27, a partir do qual calculou-se a constante de associação K . Vale comentar que os valores de pH's das soluções variaram ligeiramente em torno de 7 (25 °C). A curva tem um comportamento linear em função das concentrações de HP β CD testadas, sendo evidente o aumento da concentração de SDZ em água com o crescente aumento da concentração de HP β CD, sendo portanto do tipo A. De acordo com a literatura, este tipo de diagrama é característico dos complexos de HP β CD^{64,65}, implicando na formação de complexos mais solúveis em água do que a SDZ pura. A exemplo do que foi observado para a PIR, esta é a evidência mais direta de formação das estruturas supramoleculares.

O perfil da curva do diagrama de fases se aproxima mais do perfil A_L , como pode ser observado na Figura 27, apesar de uma certa oscilação nos pontos para cima e para baixo da curva. Este tipo de comportamento é relativamente comum e foi verificado, por exemplo, no estudo do complexo de inclusão β CD/Permetrin⁶⁷ em que os pontos apresentam ligeira oscilação em relação à reta obtida na regressão linear.

Considerando a estequiometria 1:1 e tendo em vista o valor da inclinação da reta, obtida por ajuste ao modelo linear, ser 0,31051, portanto menor que 1, a “constante de associação” foi calculada segundo a equação apresentada na Figura 5a. Utilizando-se como S_o (solubilidade intrínseca) o valor de 60 mg L⁻¹, Tabela II,

obtendo-se um valor de 1879 M^{-1} para a constante de associação. Em comparação com o valor obtido para o complexo com PIR (1901 M^{-1}), a constante de associação da SDZ demonstra que as interações são semelhantes. Esta observação é importante, pois uma vez que o tratamento padrão para a toxoplasmose envolve uma ação sinérgica das duas substâncias, constantes com valores próximos indicam que a liberação ocorre de maneira simultânea, fato que otimiza o tratamento. Pode ser interessante em um trabalho futuro estudar-se a formulação de misturas dos dois complexos de inclusão, para caracterizar melhor o possível potencial sinérgico.

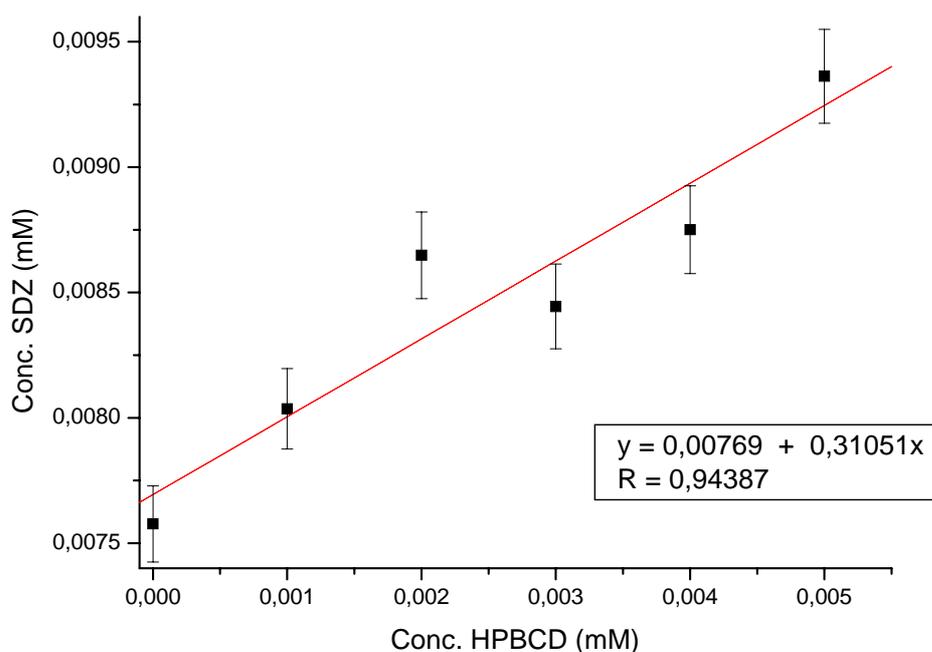


Figura 27: Diagrama de solubilidade de fases da SDZ em solução aquosa, a temperatura ambiente (25°C) e $\text{pH} \sim 7$, em função das concentrações de HP β CD.

4.2.2 Espectroscopia na região do UV-Vis

Após a preparação dos complexos de inclusão HP β CD/SDZ, amostras dos mesmos foram coletadas no estado sólido para caracterização. Na Figura 28 observa-se o espectro de absorção no UV-Vis do complexo de inclusão HP β CD/SDZ, coletado por liofilização, no qual se pode verificar a presença das bandas características da sulfadiazina em solução aquosa a pH = 7, centradas em 241 e 258 nm, confirmando a presença da mesma no sólido. Vale comentar que o mesmo foi observado para o material coletado por meio de evaporador rotativo.

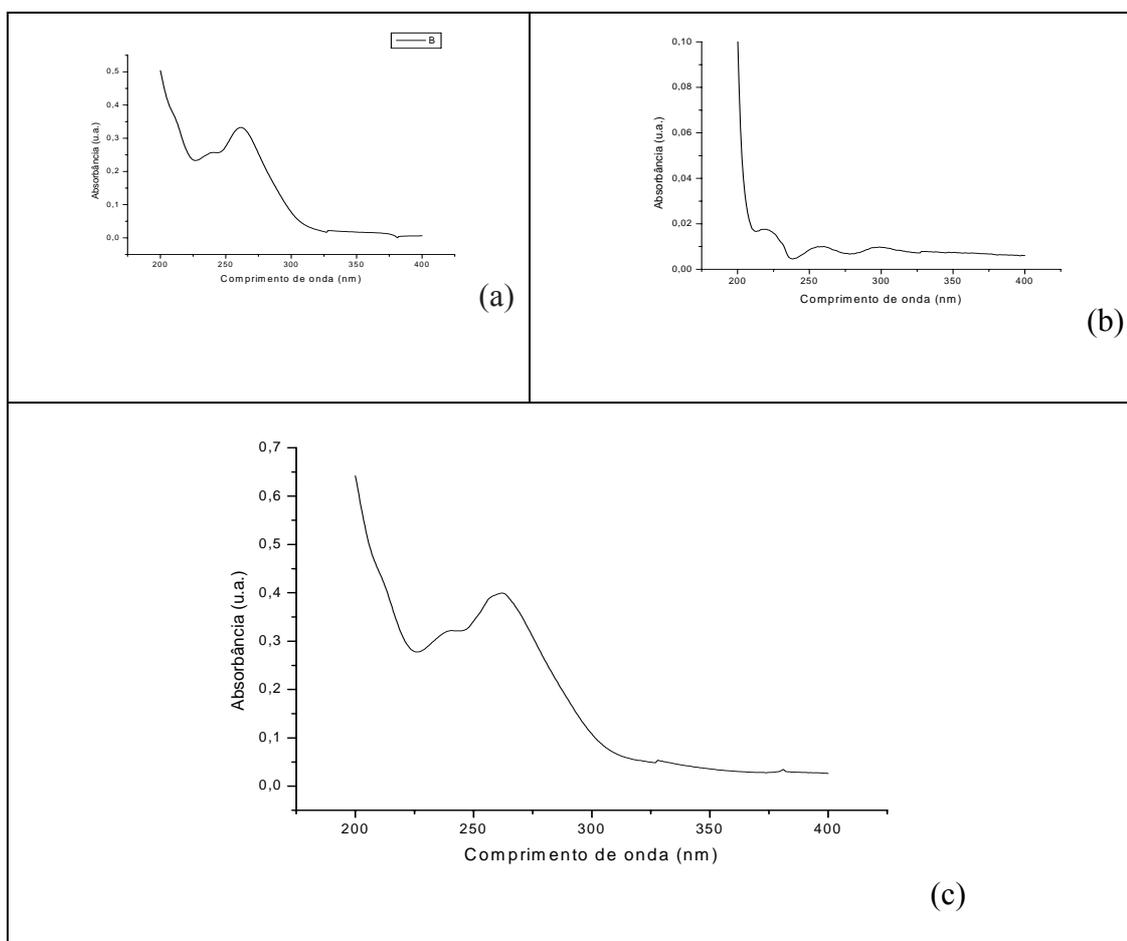


Figura 28 - Espectro de absorção UV-vis da sulfadiazina (a), do HP β CD (b) e do complexo HP β CD/SDZ liofilizado (c).

4.2.3 Comportamento térmico

Analogamente ao efetuado para o sistema HP β CD/PIR, as curvas de DSC e TG foram obtidas para a caracterização do comportamento térmico, sendo apresentadas nas Figuras 29 e 30. A curva DSC da SDZ (Figura 29a) mostra um pico estreito e simétrico no intervalo de temperatura de 256 a 262 °C, relativo à fusão do fármaco, provavelmente, concomitante com o início da decomposição, por comparação à curva TG. A curva DSC da HP β CD (Figura 29b) já foi discutido anteriormente nos resultados da PIR. A curva DSC da mistura física (Figura 29e) apresenta semelhanças com o perfil térmico da HP β CD, além do pico de fusão característico da SDZ, indicando a presença deste material como sólido isolado. A curva de DSC do complexo HP β CD/SDZ revela um comportamento térmico diferente do observado para os materiais originais, sendo que a evidência mais importante do encapsulamento é a ausência do pico de fusão do fármaco livre. Um evento endotérmico adicional é observado a partir de 300 °C que pode estar relacionado a um processo de fusão, por ser estreito, com decomposição, por comparação com o início da perda de massa nas curvas TG. O interessante é que a HP β CD original não apresenta tal comportamento, decompondo sem fundir. Tal observação sugere que o complexo de inclusão se comporta como um composto bem definido, talvez em virtude das fortes interações sugeridas pelo valor da constante de associação.

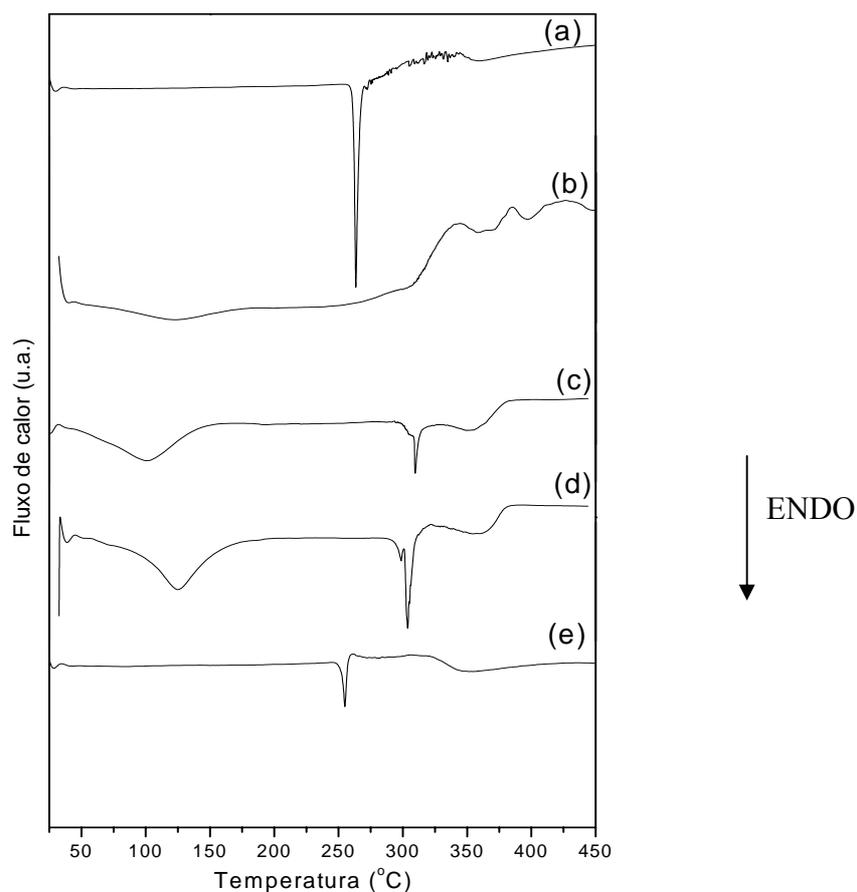


Figura 29: Curvas DSC da SDZ (a), da HPβCD (b), Complexo de inclusão HPβCD/SDZ liofilizado (c), Complexo de inclusão HPβCD/SDZ evaporado (d) da Mistura física HPβCD e SDZ (e).

A partir das curvas TG, Figura 30, observa-se que a SDZ se decompõe a partir de 248 °C, através de duas etapas principais, apresentando cerca de 33,7 % de resíduo em 590 °C. No caso do complexo de inclusão, verifica-se uma decomposição a partir de 275 °C estendendo-se em um intervalo relativamente amplo, até cerca de 390 °C, aparentemente por meio de uma única etapa, mas pela curva DTG pode-se sugerir que sejam duas etapas simultâneas. A principal diferença em relação à curva da HPβCD é a ausência do evento em 470 °C, apontando também o comportamento como espécie distinta.

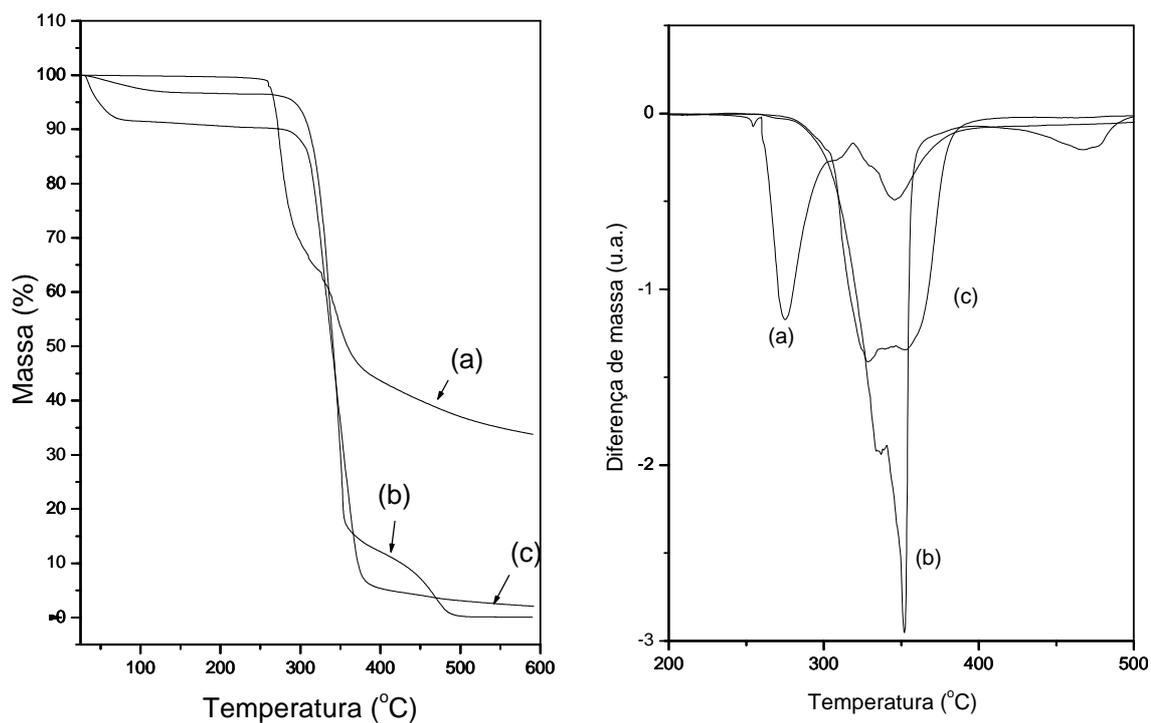


Figura 30 - Curvas de TG (I) e DTG (II) da SDZ (a), da HPβCD (b) e do Complexo de inclusão HPβCD/SDZ liofilizado(c).

4.2.4 – Difractometria de Raios-X

Na Figura 31 pode-se observar os difratogramas da SDZ (a), HPβCD (b), da mistura física (c) e dos complexos evaporado e liofilizado. O difratograma da HPβCD já foi discutido e, no caso do difratograma da SDZ (Figura 31b), a presença de picos intensos e estreitos evidencia sua estrutura cristalina.

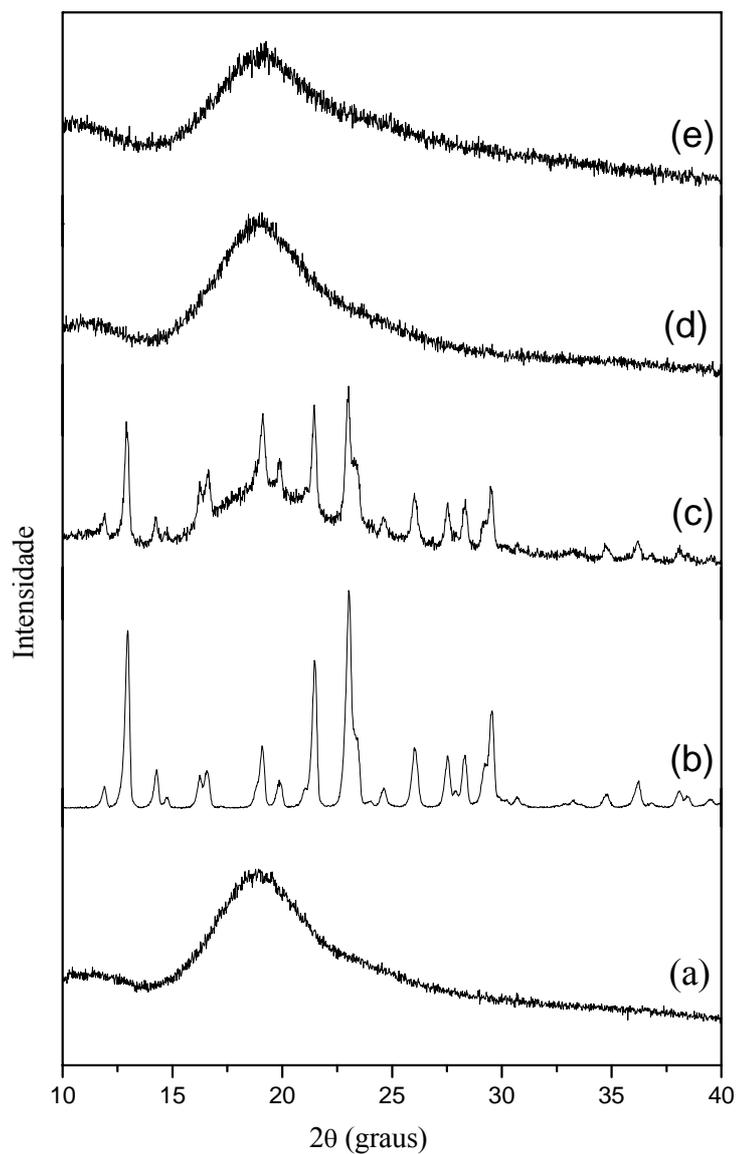


Figura 31 - Difratoogramas de raio-X: HP β CD (a), SDZ (b) mistura física HP β CD e SDZ (c), complexo de inclusão HP β CD/SDZ evaporado (d), complexo de inclusão HP β CD/SDZ liofilizado (e).

No caso do difratograma da mistura física HP β CD/SDZ (Figura 31c), a exemplo do outro sistema estudado, HP β CD/PIR, verifica-se que também se trata de

uma mistura de HP β CD e SDZ. O complexo de inclusão HP β CD/SDZ, tanto evaporado quanto liofilizado (Figura 31d e 31e) apresentam uma estrutura não-cristalina semelhante ao perfil da HP β CD, como já discutido, sugerindo ocorrência de inclusão, uma vez que a presença de SDZ foi confirmada por espectroscopia UV-vis.

4.2.5 Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier

Na Figura 32 podem ser observados os espectros infravermelhos da SDZ (a), da HP β CD (b) e do complexo de inclusão correspondente (c). O espectro da SDZ apresenta um número elevado de bandas bem definidas, das quais diversas correspondem a modos vibracionais não correlacionáveis, juntamente com outras que podem ser atribuídas a frequências características dos grupos presentes da SDZ. Estas últimas, juntamente com as respectivas atribuições, estão listadas na tabela VI.

Comparando-se o conjunto de espectros, observa-se que o espectro do complexo de inclusão é completamente dominado pelas bandas da HPBCD e, diferentemente do que se observou no caso da PIR, nenhuma banda da SDZ foi observada. Uma das razões para isto é que, com exceção das bandas em 1582 e 1594 cm^{-1} , todas as bandas intensas do fármaco (marcadas com setas) e que têm maior probabilidade de serem observadas no espectro do complexo, coincidem com fortes absorções da HP β CD. Para uma avaliação mais cuidadosa, mediu-se o espectro do complexo de inclusão na faixa de 1570-1610 cm^{-1} , com acumulação de 256 espectros, a fim de minimizar a ocorrência de ruídos. O espectro resultante é mostrado na Figura 33, podendo-se observar nas regiões marcadas com asteriscos

as bandas que são características da SDZ, o que confirma a presença desta substância no complexo de inclusão.

Tabela VI: Valores de número de onda e atribuições de bandas nos espectros FTIR para o sistema HP β CD /SDZ.

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição tentativa
3424, 3356	ν (N-H) de NH ₂
3258	ν (N-H) de NH
3102, 3076, 3040	ν C-H) de anel aromático e heteroaromático
1594, 1582, 1492, 1442	ν (C=C, C=N) de anel aromático e heteroaromático
1326, 1158	ν assimétrico e ν simétrico (S=O) de SO ₂
1094	ν (C-N)
684	δ (C-H) (anel) para fora do plano

ν : estiramento; δ = deformação

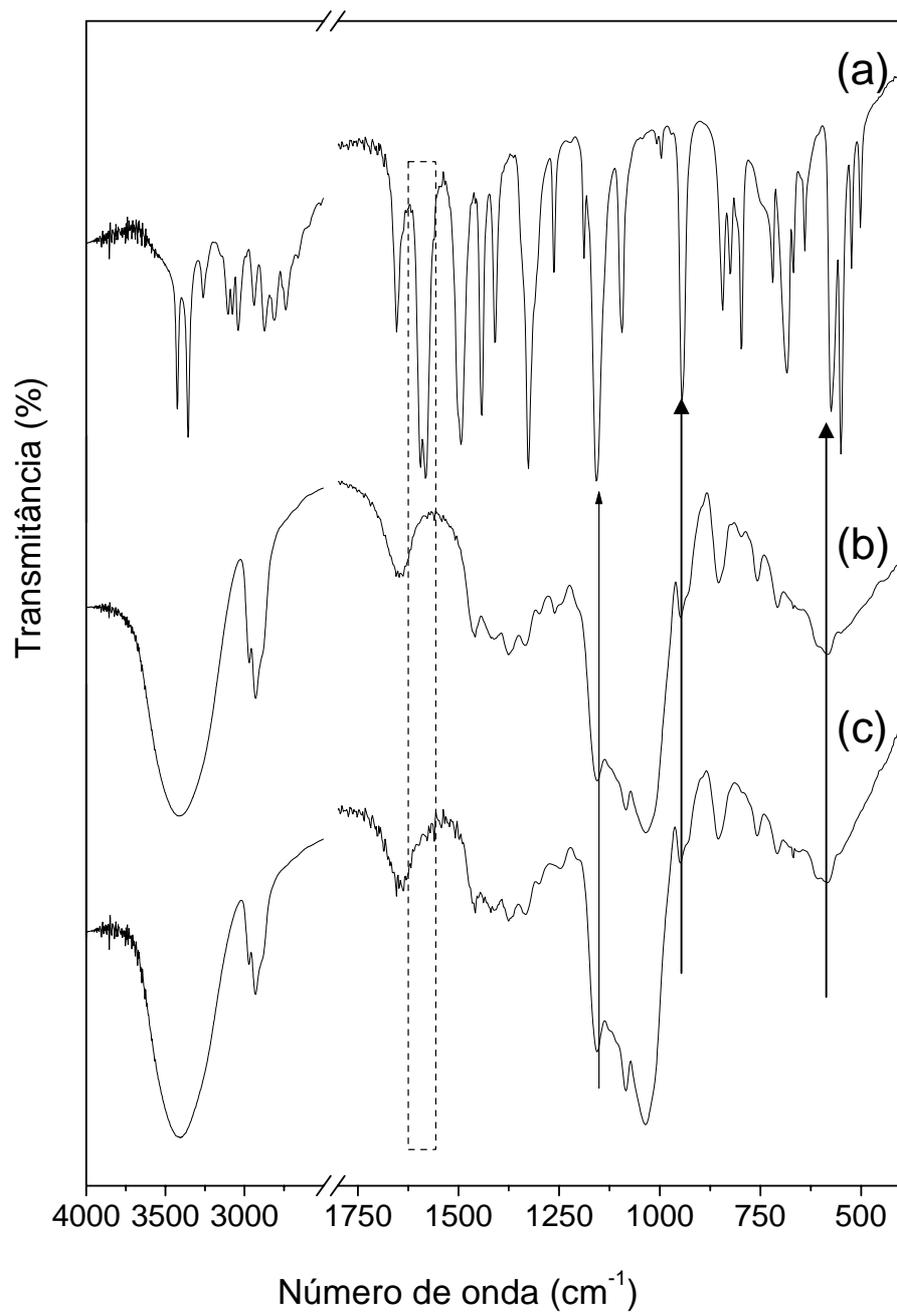


Figura 32 - Espectros infravermelhos da SDZ (a), HPβCD (b) e do complexo de inclusão HPβCD/SDZ liofilizado(c)

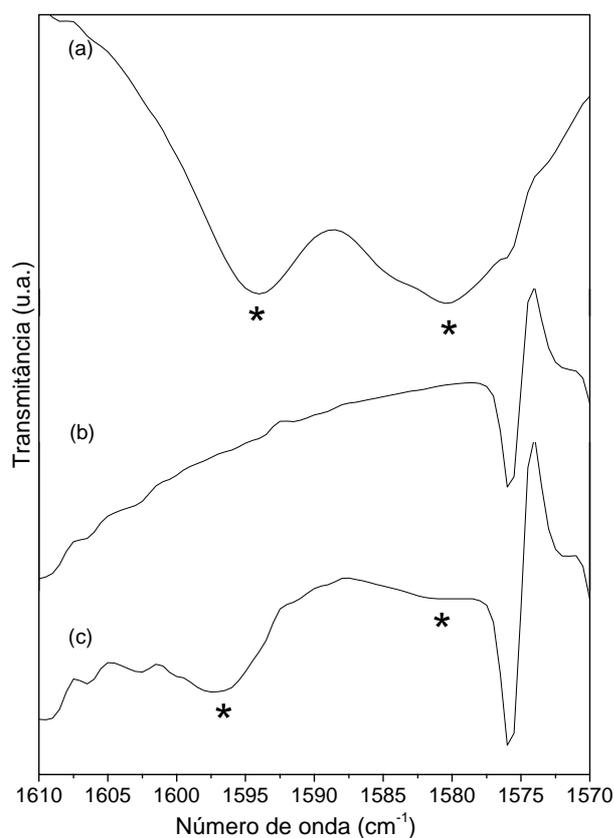


Figura 33 – Espectros infravermelhos onde (a): SDZ, (b): HP β CD e (c): complexo de inclusão HP β CD/SDZ, obtidos com 256 acumulações, correspondentes à área em destaque na Figura 32.

4.2.6. Microscopia Eletrônica de Varredura

As imagens de microscopia eletrônica de varredura para os materiais do sistema HP β CD/SDZ são mostradas na Figura 34. A morfologia característica da SDZ, Figura 34a,b, é semelhante a agulhas, sendo completamente distinta as do complexo de inclusão evaporado, Figura 34c,d. Para este último, observa-se a presença de agregados de partículas irregulares, juntamente com partículas com a

morfologia de placas também irregulares, típicas da HP β CD, sugerindo sua presença em excesso. Por fim, a forma peculiar das partículas do complexo obtido por liofilização, placas finas e homogêneas, pode ser observada na Figura 34e,f.

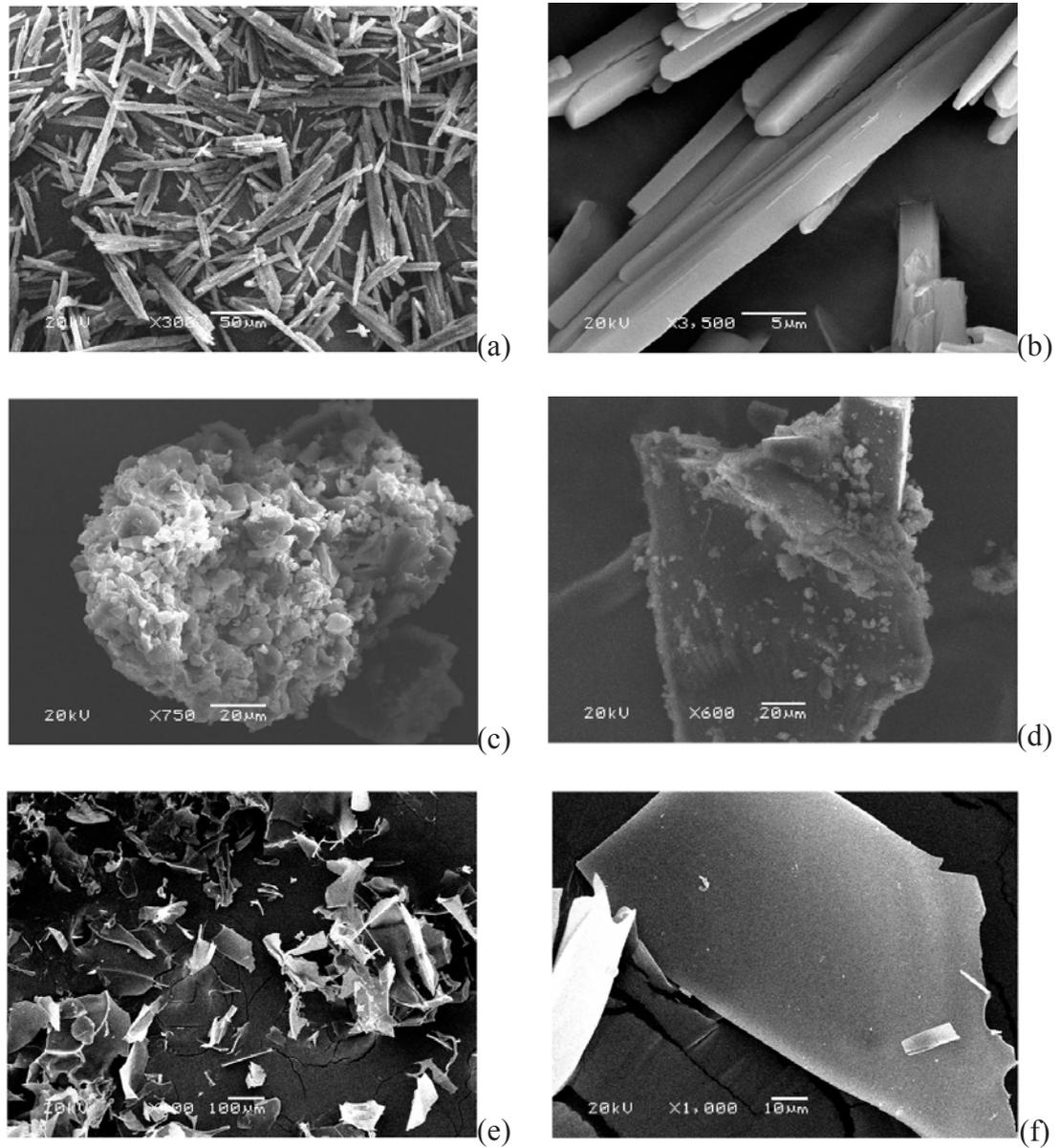


Figura 34 – Microscopias (MEV) com ampliações: SDZ (a) e (b), complexo HP β CD/SDZ evaporado (c) e (d) e complexo HP β CD/SDZ liofilizado (e) e (f).

4.2.7. Modelagem Molecular

Os cálculos para a modelagem molecular do composto de inclusão HP β CD/SDZ também foram feitos pelos métodos AM1, MM3 e PM3. As estruturas resultantes se apresentaram ligeiramente diferentes quanto às distâncias hospedeiro/convidado no interior da cavidade, de forma que ainda serão otimizadas com mais detalhe. Novamente os espectros de absorção UV-vis associado a cada estrutura no vácuo foram calculados, podendo-se observar a comparação dos mesmos com o espectro experimental em solução aquosa na Figura 35. Os espectros calculados também se apresentam deslocados para o azul, provavelmente por não considerarem as interações com o solvente. Neste caso, o espectro que reproduziu mais adequadamente o perfil do espectro experimental foi, também, o da estrutura calculada pelo PM3 (Figura 35d), tanto em relação ao número de bandas quanto ao perfil de intensidades. Desta forma, sugere-se que a estrutura mais provável seja a obtida por PM3 (Figura 36).

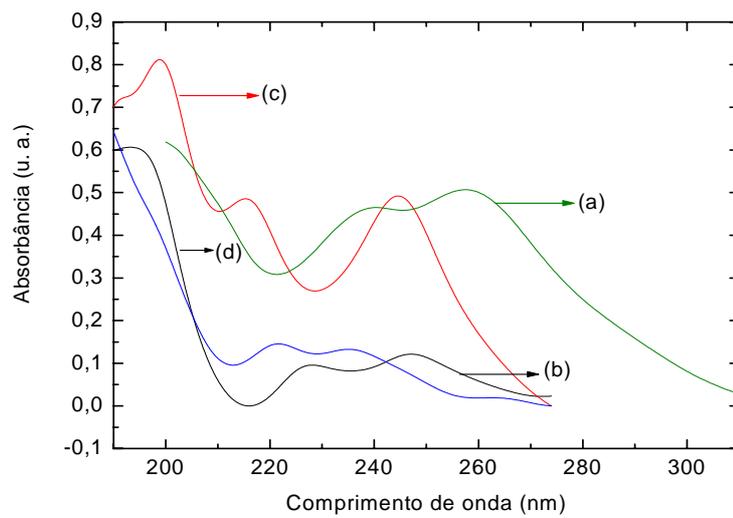


Figura 35 – Espectros UV-vis do complexo HP β CD/SDZ experimental (a), teórico - AM1 (b), teórico - MM3 (c), teórico - PM3(d).

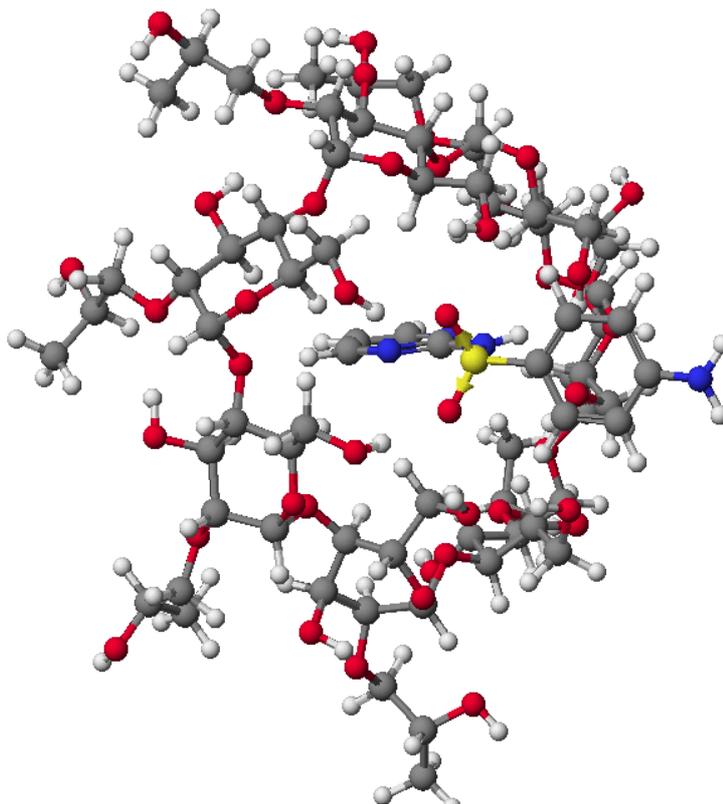


Figura 36 – Modelagem Molecular do complexo HP β CD/SDZ calculado por PM3.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

A conclusão geral deste trabalho é que o método de suspensão foi eficiente para preparação dos dois complexos de inclusão, HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ, e que através do encapsulamento foi possível aumentar a solubilidade aquosa da PIR e da SDZ, tendo como consequência a redução de efeitos adversos quando estes fármacos são administrados puros. Pode-se concluir também que:

- ✓ As constantes de associação obtidas para os complexos dos complexos de inclusão HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ interações relativamente fortes.
- ✓ Pela análise da inclinação e do perfil da curva obtida pelo método de construção de diagrama de fases pode se sugerir uma estequiometria 1:1 para os dois complexos.
- ✓ Para o complexo HP β CD/PIR considerando a curva obtida pelo método das variações contínuas (Job's Plot) podemos concluir que a estequiometria deste complexo é de 1:1, confirmando o resultado obtido pelo método de construção do diagrama de fases.

- ✓ De acordo com estudos do comportamento térmico, pode-se afirmar que ambas as moléculas na forma complexada em HP β CD apresentaram maior estabilidade térmica do que em suas formas cristalinas, além de um comportamento consistente com a formação de uma espécie química distinta (a espécie supramolecular);
- ✓ Os resultados da caracterização dos sistemas HP β CD/PIR e HP β CD/SDZ mostraram evidências de inclusão na cavidade do hospedeiro.

Como trabalhos, futuros propõe-se:

- ✓ Complementação da caracterização dos complexos de inclusão por espectrometria de massas e RMN;
- ✓ Aplicação do método das variações contínuas com base em RMN¹H ao sistema HP β CD/SDZ;
- ✓ Estudo da cinética de liberação dos fármacos em formulações simples e mistas, além de medidas de atividade biológica, em colaboração com outros grupos.

CAPÍTULO VI

REFERÊNCIAS

CAPÍTULO VII

REFERÊNCIAS

1. STEED, Jonathan W; ATWOOD Jerry L. Supramolecular chemistry: A concise introduction, John Wiley e sons, Ltda, 2000.
2. LEHN, J. M. Supramolecular Chemistry, VCH, Weinheim, Germany, 1995.
3. ARAKI, K. ; TOMA, H. E. . Química de sistemas supramoleculares constituídos por porfirinas e complexos metálicos. **Química Nova**, São Paulo, 25, 6, p. 962-975, 2002.
4. CRAM, D. J; LEHN, G. M. Host-guest complexation. 36. Spherand and lithium and sodium ion complexation rates and equilibria. **Journal American Chemistry Society**, 107, p.3657-3668, 1985.
5. MONTANARI, Maria Luiza C; MONTANARI, Carlos Alberto; PILOVELOSO, Dorila *et al.* Drug delivery systems. **Química Nova**, 21, 4, p.470-476, 1998
6. SZEJTLI, J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical Reviews**, p.1743-1753, 1998.
7. SAENGER, W., LINDNER, K. Crystal and molecular structure of cyclohepta-amylose dodecahydrate. **Carbohydrate Research**, 99, 2, p.103-115, 1982.
8. BRITTO, Marta A. F. O; NASCIMENTO JR., Clebio S; SANTOS, Hélio F. Structural analysis of cyclodextrins: a comparative study of classical and quantum mechanical methods. **Química Nova**, 27, 6, p.882-888, 2004.
9. BEKERS, O; UIJTENDAAL, E; BEIJNEN, J.H. et al. Cyclodextrins in the pharmaceutical field. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 17, p. 1503-1549, 1991.

10. RIBEIRO, A.O. Interação entre α -CD e compostos de terras raras luminescentes. Ribeirão Preto. Dissertação de mestrado, Instituto de Química, UNICAMP, 2000.

11. QUINONES, H. J.C. Ciclodextrinas: naturaleza, propiedades y aplicaciones. Departamento de Madera, Celulosa Y Papel, Universidad Guadalajara, México, 2001. Livro disponível no site:

<http://dmcyp.cucei.udg.mx/hecont/ciclodextrinas/index.htm>.

12. NAIDOO, Kevin J; CHEN, Jeff Yu-Jen; JANSSON, Jennie L. M; WIDMALM, Goran; MALINIAK, Arnold. Molecular Properties Related to the Anomalous Solubility of β -Cyclodextrin, **Journal of Physical Chemistry B**, 108, p.4236-4238, 2004.

13. GILLET, Brigitte; NICOLE, Daniel J; DELPUECH, Jean-J. The hydroxyl group protonation rates of α , β and γ -cyclodextrins in dimethyl sulphoxide, **Tetrahedron Letters**, 23, 1, p.65-68, 1982.

14. UEKAMA, K. Design and evaluation of cyclodextrin-based drug formulation. **Chemical Pharmaceutical**, 52, p.900-915, 2004.

15. UEKAMA, Irie T, K. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation, **Journal Pharmaceutical Science**, 86, p.147-62, 1997.

16. GOULD, S; SCOTT, R.C. 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): a toxicology review, **Food and Chemical Toxicology**, 43, p. 1451-1459, 2005.

17. DEL VALLE, E. M. Martin. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry**, 39, p.1033-1046, 2004.

18. FROMMING, K.H., SZEJTLI, J. Pharmacokinetics and toxicology of cyclodextrins. In: Szejtli, J., Szente, L. (Eds.), 8th Int. Symposium on Cyclodextrins, 3, p.33–45, 1996.

19. K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie, Cyclodextrin drug carrier systems., **Chemical Review**, 98, p.2045-2076, 1998.

20. MARTINS, F. Estudo do processo de encapsulação do bioaroma de gorgonzola em β -ciclodextrina e em lipossomas. Campinas, 2003. 189p. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas.

21. RAMA, Ana Cristina Ribeiro, VEIGA, Francisco, FIGUEIREDO, Isabel Vitória *et al.* Biopharmaceutical aspects of drug formulation for neonatology: rational for indomethacin's complexation with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin to treat patent ductus arteriosus. **Revista Brasileira de Ciência Farmacêutica**, vol.41, no.3, p.281-299, 2005.

22. GIBAUD, S; ZIRAR, S. B; MUTZENHARDT, P; FRIES, I; ASTIER, A. Melarsoprol–cyclodextrins inclusion complexes, **International Journal of Pharmaceutics**, 306, p.107–121, 2005.

23. LIU, X; LIN, H; THENMOZHIYAL, J. C; CHAN, S. Y; HO, P. C. Inclusion of Acitretin into Cyclodextrins: Phase Solubility, Photostability, and Physicochemical Characterization, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 92, 12, p. 2449-2457, 2003.

24. PETROVSKI, Z; BRAGA S. S; SANTOS, A. M; RODRIGUES, S. S; GONÇALVES, I. S; PILLINGER, M. KUHN, F. E; ROMÃO, C. C. Synthesis and characterization of the inclusion compound of a ferrocenyldiimine dioxomolybdenum complex with heptakis-2,3,6-tri-O-methyl- β -cyclodextrin, **Inorganica Chimica Acta**, 358, p.981–988, 2005.

25. AMMAR, H. O; SALAMA, H. A; GHORAB, M; MAHMOUD, A. A. Formulation and biological evaluation glimepiride-cyclodextrin-polymer systems, **International Journal of Pharmaceutics**, 309, p. 129-138, 2006.
26. MADENE, A; JACQUOT, M; SCHER, J; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review, **International Journal of Food Science and Technology**, 41, p.1-21, 2006.
27. LEZCANO, M; NOVO, M; AL SOUFI, W; RODRIGUEZ-NUNEZ, E; TATO, J. V. Complexation of Several Fungicides with β -ciclodextrina: Determination of the Association Constants and Isolation of the Solid Complexes, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57, p. 5036-5040, 2003.
28. SINGH, M; SHARMA, R; BANERJEE, U.C. Biotechnological applications of cyclodextrin, **Biotechnology Advances**, 20, p. 341-359, 2002.
29. SAENGER, W. Crystal packing patterns of cyclodextrin inclusion complexes. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, 2, p. 445-454, 1984.
30. SAENGER, W. Inclusion compounds, ed. J. L. Atwood, J. E. D. Davies e D. D. MacNicol, Academic Press, Londres, v.2, cap. 8 (1984)
31. A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, V. T. D'Souza, Methods for selective modifications of cyclodextrins, **Chemical Review**, 98, p.1977-1996, 1998.
32. CEREDA, M. P; VILPOUX O. F. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas, Capítulo 17, Fundação Cargill - São Paulo, 2003.

33. GARCIA, M. G. Síntesis de Ciclodextrinas Multivalentes y Evaluación de sus propiedades como Sistemas Transportadores de Fármacos. Sevilla, 2005. Tese (Doutorado), 354p. Departamento de Química Orgánica, Universidad de Sevilla.

34. BEA, I; GOTSEV, M. G; IVANOV, P. M; JAIME, C; KOLLMAN, P. A. Chelate Effect in Cyclodextrin Dimers: A Computacional (MD, MM/PBSA, and MM/GBSA) Study. **Journal Organic Chemistry**, **1**, (5), p. 2056 -2063, 2006

35. YUAN, D. Q.; INAMEL, S.; KOGA, K.; YAMAGUCHI, M.; FUJITA, K. The First Successful Crystallographic Characterization of a Cyclodextrin Dimer: Efficient Synthesis and Molecular Geometry of a Doubly Sulfur-Bridged β -Cyclodextrin. **Chemistry - A European Journal**, **9**, p. 3501-3506, 2003.

36. VENEMA, F.; NELISSEN, H. F. M.; BERTHAULT, P.; BIRLIRAKIS, N.; ROWAN, A. E.; FEITERS, M. C.; NOLTE, R., Synthesis, Conformation, and Binding Properties of Cyclodextrin Homo- and Heterodimers Connected through Their Secondary Sides. **Chemistry - A European Journal**, **4**, p.2237-2250, 1998.

37. NELISSEN, H. F. M.; FEITERS, M. C.; NOLTE, R. J. M. Synthesis and Self-Inclusion of Bipyridine-Spaced Cyclodextrin Dimers. **Journal Organic Chemistry**, **67**, **17**, p. 5901-5906, 2002.

38. SZEJTLI, J. Cyclodextrins in drug formulations: part I. **Pharmarceutical Technology**, Eugene, v.2, p.15-22, 1991.

39. SZEJTLI, J. Cyclodextrins in drug formulations: part II. **Pharmarceutical Technology**, Eugene, v.3, p.16-24, 1991.

40. DAVIS, M. E; BREWSTER, M. E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future, **Nature Reviews Drug Discovery**, **3**, **12**, p.1023-35, 2004.

41. CAPPELLO, Brunella; DI MAIO, Clelia; IERVOLINO, Maria; MIRO, Agnese. Improvement of Solubility and Stability of Valsartan by Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, 54, p.289-294, 2006.

42. LIU, Jun; QIU, Liyan; GAO, Jianqing; JIN, Yi. Preparation, characterization and in vivo evaluation of formulation of baicalein with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, 312, p.137-143, 2006.

43. HIGUCHI, T.; Connors, K. A. Phase-solubility techniques, **Advances Analytical Chemistry Instrumental**, 4, p.117-212, 1965.

44. LOUKAS, Y. L. Multiple Complex Formation of Unstable Compounds with Cyclodextrins: Efficient Determination and Evaluation of the Binding Constant With Improved Kinetic Studies, **Analyst**, 122, 4, p. 377-381, 1997.

45. JOB, P., The Method of Continuous Variations for Studying Metal-Ligand Complexation. **Analytical Chemistry**, 9, p.113, 1928.

46. DOTSIKAS, Y; KONTOPANOY, E; ALLAGIANNIS, C; LOUKAS, Y. L. Interaction of 6-*p*-toluidinylnaphthalene-2-sulphonate with β -cyclodextrin, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 23, p.997–1003, 2000.

47. LEAL, A. L; CARBAJO, L. M; BARBA, A. I. O; CARMONA, M. A. M; GARCÍA, B. C. Complejos de inclusión de harmano con hidroxipropil- β -ciclodextrina. Aspectos metodológicos relativos a su caracterización analítica, **Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia**, 70, p.681-693, 2004.

48. LOUKAS, Y. L. Evaluation of the methods for the determination of the stability constant of cyclodextrin-chlorambucil inclusion complexes, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 16, p.275-280, 1997.

49. LOFTSSON, T; MAGNÚSDOTTIR, A; MÁSSON. M; SIGURJÓNSDOTTIR, J. Self-Association and Cyclodextrin Solubilization of Drugs, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 91, 11, p. 2307-2316, 2002.

50. Texto disponível no site:

<http://www.farmalabchiesi.com.br/faprobrexin.htm>, acessado em 05 de janeiro de 2007.

51. JESUS, M. B.; PINTO, L. M. A.; FRACETO, L. F.; TAKAHATA, Y.; LINO, A. C. S.; JAIME, C.; PAULA, E.; Theoretical and experimental study of a praziquantel and β -cyclodextrin inclusion complex using molecular mechanic calculations and ^1H -nuclear magnetic resonance, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 41, p. 1428-1432, 2006.

52. GIMENEZ, I. F. ; ANAZETTI, Maristela C. ; MELO, Patricia S. ; HAUN, Marcela ; AZEVEDO, Marcelo M.m. de ; DURÁN, Nelson ; ALVES, Oswaldo L. . Cytotoxicity on V79 and HL60 Cell Lines by Thiolated- β -Cyclodextrin-Au/Violacein Nanoparticles . **Journal of Biomedical Nanotechnology**, 1, 3, p.352-358, 2005.

53. ASPINALL, T. The molecular basis of sulfonamide resistance in *Toxoplasma gondii* and implications for the clinical management of toxoplasmosis, **Journal of Infectious Diseases**, 185, 1637-1643, 2002.

54. BOSH-DRIESSEN, L. H. Et al. A Prospective, Randomized trial of Pyrimethamine and Sulfadiazine for the Treatment of Ocular Toxoplasmosis. **American Journal of Ophthalmology**, 134, 1,p.34-40, 2002.

55. . DINIZ, E. M. A; VAZ, F. A. C. Qual é a recomendação atual para o tratamento da toxoplasmose congênita?. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 49, 1, p.10-10, 2003.

56. CHALLA, AHUJA, A; ALI, J; KHAR, R. K. Cyclodextrins in Drug Delivery: An Updated Review, **AAPS PharmSciTech**, 6, 2, p.329-357, p.103-110, 2005.

57. LAZARO, G. S. Estudo espectroscópico da Interação de Pirimetamina e Sulfadiazina com Sistemas Modelos. São Cristóvão, 2006. 66 páginas. Dissertação (Mestrado), Departamento de Química, Universidade Federal de Sergipe.

58. SILVA, F. M.; LACERDA, P. S. B; JONES J; Sustainable development and green chemistry. **Química Nova**, 28, 1, 2005.

59. T. Loftsson, D. Hreinsdóttir, M. Másson, Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs, **International Journal of Pharmaceutics**, 302, p.18–28, 2005.

60. IV- N. Morin¹, A. Chilouet², J. Millet³ and J.-C. Rouland. BIFONAZOLE-b-CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEXES Thermal analysis and X-ray powder diffraction study, **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 62, p.187-201, 2000.

61. V. Singh, V U., Aithal, K.S., Udupa, N., nclusion complex ofplumbagin with beta-cyclodextrin as evidence by spectral data and Comparative dissolution characteristics of bropirimine-b-cyclodextrin molecular modeling. **Pharmazie**, 53, p.208–210, 1998.

62. VEIGA, M. D.; MERINO, D.; LOZANO, R. , Characterization of some cyclodextrin derivatives by thermal analysis, **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 68, p. 511-516, 2002.

63. BABOOTA, S; AGARWAL, S. P. Preparation and Characterisation of Meloxicam Hydroxy Propyl β -Cyclodextrin Inclusion Complex. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, 51, p.219–224, 2005.

64. WILLIAMS III, R. O; MAHAGUNA, V; SRIWONGJANYA, M. Characterization of an inclusion complex of cholesterol and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, 46, p.355-360, 1998.

65. LIU, J; QIU, L; GAO, J; J, Y. Preparation, characterization and in vivo evaluation of formulation of baicalein with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, **International Journal of Pharmaceutics**, 312, p.137-143, 2006.

66. YANG, Y; CHEN, ; LIU, L. Linear Polypseudorotaxanes Possessing Many Metal Centers Constructed from Inclusion Complexes of α -, β -, and γ -Cyclodextrins with 4,4-Dipyridine, **Inorganic Chemistry**, 45, p.3014-3022, 2006.

67. YANG, G; WANG, H; YANG, W; GAO, D; ZHAN, C. Bioactive Permethrin/ β -cyclodextrin Inclusion Complex, **Journal Physical Chemistry B**, 110, p.7044-7048, 2006.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)