



Universidade do Algarve  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Complexos de inclusão de fármacos  
com Ciclodextrinas e Cucurbiturilos.  
Aplicações Farmacoterapêuticas.**

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Ricardo José de Sousa Silva

Faro, 2011





Universidade do Algarve  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Complexos de inclusão de fármacos  
com Ciclodextrinas e Cucurbiturilos.  
Aplicações Farmacoterapêuticas.**

Dissertação  
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
Ricardo José de Sousa Silva

Orientador:  
Prof. Doutor José Paulo da Silva

Faro, 2011

Aos meus pais por todo o apoio dado ao longo destes 5 anos. Sem eles nada disto teria sido possível.

À Catarina Silva pela amizade eterna, porque nos momentos complicados é bom saber que posso sempre contar com ela.

Ao Prof. Dr. José Paulo da Silva, pela sugestão e por todo o apoio dado durante a realização desta monografia.

Aos meus amigos, porque encontro-os sempre nas minhas memórias favoritas.

Aos meus irmãos da Versus Tuna por terem contribuído para o meu crescimento musical e pessoal. “Uma vez tuno, sempre tuno”.

À Alexandra Ferro por tudo o resto.

## Resumo

Esta monografia tem por objectivo analisar a contribuição da Química Supramolecular no desenvolvimento de aplicações farmacoterapêuticas. É apresentada uma revisão e é feita uma análise detalhada das propriedades e aplicações já existentes das ciclodextrinas e também de novos *nano*-contentores que possam ter estas aplicações no futuro, com destaque para os cucurbiturilos.

A Química Supramolecular é o ramo da Química que se foca no estudo das interacções não covalentes. Segundo Jean-Marie Lehn, Prémio Nobel da Química em 1987, a Química Supramolecular é o campo da ciência que estuda os conceitos químicos, físicos e biológicos de espécies químicas de grande complexidade que se mantêm unidas e organizadas através de interacções não covalentes.

Relacionado com a Química Supramolecular está o conceito *drug delivery*, o processo de administração de fármacos com finalidade terapêutica. Neste processo podem ser utilizados complexos moleculares que aprisionam um fármaco, protegendo-o e alterando o seu perfil de libertação, absorção, distribuição e eliminação. Desta forma o fármaco chega ao local de interesse de uma forma mais eficaz e segura.

As Ciclodextrinas são estruturas da família dos ciclo-oligossacarídeos correntemente usadas nestas aplicações terapêuticas. Possuem uma cavidade relativamente apolar no seu interior, com a capacidade de encapsular componentes hidrofóbicos. O exterior é hidrofílico, sendo pois solúveis em água. Possuem baixa toxicidade, dependendo da via de administração. São usadas em aplicações farmacêuticas, nomeadamente como forma de melhorar a biodisponibilidade do fármaco.

Os Cucurbiturilos são uma família de contentores moleculares que podem encapsular uma variedade de espécies catiónicas e neutras com alta afinidade. Por esta razão mostram grande potencial em *drug delivery*. Foram feitos vários estudos no sentido de avaliar a toxicidade e estabilidade destas moléculas transportadoras. Até agora todos os resultados apontam para um futuro promissor dos cucurbiturilos em aplicações farmacoterapêuticas.

**Palavras Chave:** ciclodextrinas, complexos de inclusão, cucurbiturilos, química supramolecular, vectores medicamentosos

## **Abstract**

This monograph intends to show the importance of Supramolecular Chemistry in pharmacological applications, based on the analysis of cyclodextrins properties and the study of new compounds that can be used for these applications in a near future, highlighting the cucurbit[n]uril family.

Supramolecular Chemistry is a branch of Chemistry that focuses on the study of the interactions between molecules, other than covalent binding. According to Jean Marie Lehn, Nobel Prize in Chemistry, 1987, Supramolecular Chemistry focus on the physical and biological aspects of compounds organized in complex structures that are maintained by non-covalent interactions.

The concept of drug delivery is related with Supramolecular Chemistry principles. By complexing drugs using cucurbit[n]uril molecules, one can control the release rate, absorption, distribution and elimination profiles. Therefore, the drug can reach the cell in a safer and more efficient way.

Cyclodextrins comprise a family of cyclic oligosaccharides that are used in therapeutical applications. They have an non-polar cavity, which can encapsulate hydrophobic drugs. Cyclodextrins are water soluble because of their hydrophilic external surface. They also expected to show low toxicity, depending however of the administration way. Their application in drug delivery is widely used and improves in general the drug bioavailability.

Cucurbit[n]urils are a family of molecular containers that can encapsulate a variety of cationic and neutral species with high affinity. For this reason they constitute potential drug delivery systems. Many studies have been carried out in order to understand their toxicity as well as their stability. All the results obtained so far point to a promising future for cucurbit[n]uril family in pharmaceutical applications.

**Key Words:** cyclodextrins, cucurbit[n]uril, drug carriers, inclusion complexes, supramolecular chemistry

## Índice

Índice de Figuras.....	VII
Índice de Quadros .....	VIII
Lista de Abreviaturas .....	IX
1. Introdução .....	pág. 1
2. Química Supramolecular .....	pág. 2
2.1. Perspectivas segundo Jean Marie Lehn .....	pág. 2
2.2. Reconhecimento molecular .....	pág. 3
3. Vectores Medicamentosos .....	pág. 4
3.1. Vectores Solúveis .....	pág. 5
3.2. Vectores Coloidais.....	pág. 5
3.2.1. Micro e Nanopartículas.....	pág. 6
3.2.2. Dendrímeros .....	pág. 7
3.2.3. Albumina .....	pág. 10
3.2.4. Lipossomas .....	pág. 11
3.2.5. Micelas.....	pág. 14
3.3. Vectores medicamentosos baseados em supramoléculas .....	pág. 15
4. Ciclodextrinas .....	pág. 17
4.1. Características das ciclodextrinas .....	pág. 17
4.2.1. Estrutura.....	pág. 17
4.2.2. Ciclodextrinas modificadas .....	pág. 20
4.2. Aplicações farmacológicas das ciclodextrinas .....	pág. 22
4.2.1. Base das ciclodextrinas como excipientes farmacêuticos .....	pág. 22
4.2.2. Toxicidade .....	pág. 25
4.2.3. Aplicações em formulações farmacêuticas.....	pág. 26
4.3. Aplicações futuras das ciclodextrinas.....	pág. 33
5. Cucurbiturilos .....	pág. 37
5.1. Características gerais dos cucurbit[n]urilos.....	pág. 38

5.1.1. CB[6] – o primeiro homólogo sintetizado .....	pág. 38
5.1.2. Aspectos gerais de síntese .....	pág. 39
5.1.3. Características estruturais .....	pág. 39
5.1.4. Potencial Electroestático .....	pág. 41
5.1.5. Mudanças de pKa e estabilidade da molécula hóspede .....	pág. 42
5.1.6. Capacidade de complexação dos cucurbit[n]urilos .....	pág. 43
5.2. Os cucurbiturilos como excipientes farmacêuticos .....	pág. 44
5.2.1. Toxicidade dos cucurbit[n]urilos .....	pág. 46
5.2.2. Permeabilidade na membrana celular .....	pág. 47
5.2.3. Alguns fármacos alvos de estudo .....	pág. 48
5.2.4. Formas farmacêuticas contendo cucurbit[n]urilos.....	pág. 50
6. Conclusão Geral.....	pág. 54
7. Bibliografia .....	pág. 55

## Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura de um dendrímero G4. A biodisponibilidade do dendrímero pode ser melhorada quando se conjugam grupos terminais. ....	pág. 8
Figura 2: Estrutura de raio X da albumina do soro humano.....	pág. 11
Figura 3: Estrutura de um lipossoma. ....	pág. 12
Figura 4: A) Micela não polimerizada, constituída por moléculas anfífilicas; B) Micela polimérica constituída por blocos de copolímeros anfífilicos. ....	pág. 15
Figura 5: Representação esquemática da $\beta$ -CD: As setas indicam os grupos hidroxilo primário e secundário. Os grupos hidroxilo secundários encontram-se ligados no aro mais largo da ciclodextrina. ....	pág. 18
Figura 6: A) Complexo fármaco-CD 1:1, B) Complexo fármaco-CD 1:2 C) Modelos propostos para a inclusão de PGE <sub>2</sub> com (a) $\alpha$ -CD, (b) $\beta$ -CD e (c) $\gamma$ -CD.....	pág. 23
Figura 7: Polialilamina com ciclodextrina pendente. ....	pág. 35
Figura 8: Estruturas dos cucurbit[n]urilos, CB[n] (n = 5, 6, 7, 8, 10, da esquerda para a direita). ....	pág. 40
Figura 9: Mapas de potencial electrostático para a) $\beta$ -CD e b) CB[7]. Da cor azul para vermelho os valores estendem-se de 80 a 40 kcal.mol <sup>-1</sup> . ....	pág. 42
Figura 10: Formação do complexo ternário MV <sub>2</sub> <sup>+</sup> .HN@CB[8]. ....	pág. 44
Figura 11: Exemplos de fármacos que formam complexos de inclusão com cucurbiturilos. ....	pág. 45

## Índice de Quadros

Quadro 1: Estrutura e propriedades físico-químicas de  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD..... pág. 19

Quadro 2: Sistema de classificação biofarmacêutica que caracteriza os fármacos de acordo com a sua solubilidade e permeabilidade. A solubilidade do fármaco é definida pela razão dose/solubilidade, considerando o fármaco solúvel aquele que dissolve numa dose mais elevada em 250 ml de água. Um fármaco diz-se permeável se tiver biodisponibilidade  $\geq 90\%$  ou absorção  $\geq 90\%$ .. ..... pág. 27

Quadro 3: Algumas formulações com ciclodextrinas comercializadas. .... pág. 28

Quadro 4: estrutura, solubilidade, estabilidade, pKa em cucurbit[n]urilos e ciclodextrinas. .... pág. 41

### Lista de abreviaturas:

ABZ	Albendazol
AINE	Anti-inflamatório não esteroide
AK	Activated Killer
BDIN	2,6-bis(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)naftaleno
CB[n]	Cucurbit[n]urilos
CD	Ciclodextrinas
DM $\beta$ -CD	dimetil- $\beta$ -ciclodextrina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EMB	Etambutol
EXSY	EXchanged SpectroscopY – espectroscopia modificada
HEK293	células Human Embryonic Kidney 293
HepG2	células de carcinoma hepático
HN	2,6-dihidroxi-naftaleno
HP $\beta$ -CD	hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina
HPMC	hidroxipropilmetilcelulose
MV <sub>2</sub> <sup>+</sup>	N,N'-dimetil-4,4'-bipiridínio
MTS	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio
NaCMC	carboximetilcelulose
PEG	Polietilenoglicol
RAW264.7	linha celular de macrófagos de rato
RM $\beta$ -CD	Ciclodextrinas metiladas aleatoriamente

RNA	Ácido ribonucleico
RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
SBE $\beta$ -CD	Sulfobutilo-éter- $\beta$ -ciclodextrina

## 1. Introdução

A nanotecnologia aplica diversos princípios de engenharia, física e ciência de matérias para a síntese de moléculas. São inúmeros os materiais à escala do nanómetro que podem ser utilizados, como dispositivos, sistemas, estruturas supramoleculares, complexos ou compósitos. Espera-se que a nanotecnologia seja responsável por inúmeros avanços em aplicações biomédicas, como a terapia genética e a administração de fármacos. <sup>[1]</sup>

O desenvolvimento de sistemas que permitam um transporte de fármacos seguro e eficaz tem sido um dos desafios mais importantes em tecnologia farmacêutica. Novos vectores têm sido desenvolvidos, e muitas supramoléculas têm vindo a ser testadas como possíveis transportadores de fármacos. O objectivo é sempre o de melhorar a solubilidade e biodisponibilidade do princípio activo, sem alterar as suas propriedades farmacológicas. Apesar de ainda existirem muitos caminhos a serem descobertos no campo do *drug delivery* e do diagnóstico, a nanotecnologia oferece vantagens que permitem uma melhor administração e libertação do fármaco. <sup>[1]</sup>

A Química Supramolecular estabelece princípios interessantes que podem ser aplicados no processo de *drug delivery*. A utilização de macromoléculas com capacidade de formarem complexos de inclusão com um fármaco, estabilizados através de ligações não-covalentes entre molécula hóspede e molécula hospedeira, tem sido um dos mecanismos mais estudados para o transporte de fármacos, e novas possibilidades têm surgido nesta área.

## 2. Química Supramolecular

### 2.1. Perspectivas segundo Jean Marie Lehn

Em 1987, Jean Marie Lehn, Donald J. Cram e Charles J. Pedersen receberam o prémio Nobel da Química, pelos “desenvolvimentos e utilização de moléculas com interacções altamente selectivas com estruturas específicas”. Uma área que tem sido alvo de inúmeros avanços nos últimos anos. No artigo de Jean Marie Lehn, intitulado *Supramolecular Chemistry – scope and prespectives molecules – supramolecules – molecular devices*, são definidos os princípios básicos da Química Supramolecular.

A Química Molecular, a química da ligação covalente, está relacionada com a descoberta e o domínio das regras que governam as estruturas, propriedades e transformações das espécies moleculares. [2]

Por outro lado, a Química Supramolecular pode ser definida como a “química para além da molécula”, focando-se em entidades organizadas de alta complexidade, que resultam da associação de duas ou mais espécies químicas através de forças intermoleculares. O seu desenvolvimento requer todos os recursos disponíveis em química molecular, juntando a isso a manipulação de interacções não-covalentes. [2]

Apesar de Jean Marie Lehn ser um dos “pais” da Química Supramolecular, o conceito não era novo. Nos anos 30, as “supramoleculas” eram já descritas como sendo entidades altamente organizadas, resultantes da associação coordenada de espécies saturadas. Estas espécies eram compostas pela molécula receptora e pelo substrato, este último usualmente o mais pequeno. As interacções moleculares são a base da alta especificidade de reconhecimento, reacção, transporte, regulação etc., de processos que ocorrem na biologia, como reacções enzimáticas, associação antigénio-anticorpo, tradução e transcrição do código genético, entre outros. O modelo de um receptor molecular artificial e abiótico, capaz de garantir processos de alta eficiência e selectividade, requer a correcta manipulação das características energéticas e estereoquímicas das ligações não covalentes. Compete ao químico inspirar-se nas características já conhecidas dos processos biológicos. No entanto, este é sempre livre de idealizar novas espécies e processos. [2], [3]

Uma espécie supramolecular tem como funções básicas o reconhecimento, transformação e translocação. Outras funções mais complexas poderão surgir como

resultado da interação de diversas subunidades de ligação. Uma supramolécula funcional pode ser utilizada para o desenvolvimento de um dispositivo molecular. Os criptanos, cuja síntese foi estudada por Jean Marie Lehn, serviram de base para o estudo das características destes dispositivos moleculares. [2]

## **2.2. Reconhecimento Molecular:**

O processo de reconhecimento molecular foi definido, segundo Jean Marie Lehn em 1987, como o processo que engloba ligação e selecção de substratos para um dado receptor molecular, formando-se assim um complexo com uma determinada função. Nos dias de hoje pode-se afirmar que se trata de uma interação específica entre duas moléculas através de uma ligação não-covalente. [2]

Existem alguns princípios básicos para a idealização de um receptor molecular. Para que haja um reconhecimento do substrato, a molécula receptora deve contactar com o substrato numa área grande. O receptor deve ser capaz de envolver a molécula hóspede de modo a que se estabeleçam inúmeras ligações não-covalentes, havendo assim um reconhecimento do tamanho, da forma e arquitectura dessa mesma molécula. [2]

As moléculas macropolicíclicas têm os requisitos necessários para o desenvolvimento de um receptor artificial – são moléculas grandes e podem conter fendas e cavidades com a forma e o tamanho apropriados. Além disso, estabelecem inúmeras pontes e ligações, que conferem uma arquitectura de características dinâmicas, um vantajoso arranjo de grupos estruturais, locais de ligação e funções reactivas. [2]

O balanço entre rigidez e flexibilidade é de particular importância para as propriedades dinâmicas da molécula hospedeira e da molécula hóspede. Apesar do reconhecimento ser conseguido devido à rigidez dos receptores organizados, processos como a troca, regulação, cooperação e controlo alostérico requerem uma estrutura flexível que se possa adaptar às diferentes alterações. A flexibilidade é uma característica extremamente importante em processos biológicos. [2]

Em suma, o papel da arquitectura de uma macromolécula é essencial para a optimização de macromoléculas em diversas aplicações como o *drug delivery*. [4]

### 3. Vectores Medicamentosos

Uma formulação farmacêutica deve ter, como uma das suas principais características, a capacidade de transportar o fármaco e permitir a sua libertação no local desejado (órgão, tecido ou célula). Esta deve, assim, conseguir proteger o fármaco de possíveis degradações ao longo do seu transporte no corpo humano, desempenhando a sua actividade farmacológica com o mínimo de efeitos adversos. Tendo em conta este cenário, a tendência terapêutica actual e do futuro será a obtenção de complexos de inclusão que atinjam um alvo bem definido, sem haver dispersão farmacológica noutros locais do organismo. Este tipo de medicação será, obviamente, menos tóxica que as formulações convencionais, e será necessária uma menor posologia de fármaco para que ocorra o efeito desejado. <sup>[5]</sup>

A vectorização medicamentosa é algo complexa, isto porque é necessário ultrapassar inúmeras barreiras anatomofisiológicas sem que o vector fique retido, passar por meios quimicamente hostis para que, na situação mais desejada, se atinja a célula de interesse ou mesmo algum dos seus componentes. São muitas as adversidades que estas moléculas devem conseguir ultrapassar, tais como a fagocitose, os mediadores do processo inflamatório (histamina, serotonina, prostaglandinas, etc.) e os anticorpos. <sup>[5]</sup>

Como se compreende, a dimensão destes vectores é de extrema importância quando se pretende definir o alvo terapêutico. Assim sendo, partículas com diâmetro superior a um micrómetro ( $> 1 \mu\text{m}$ ) destinam-se preferencialmente aos órgãos, enquanto que as partículas de diâmetro inferior a um micrómetro ( $< 1 \mu\text{m}$ ) poderão atingir tecidos e células. <sup>[5]</sup>

Podem dividir-se os vectores em dois grandes grupos: vectores solúveis e vectores coloidais. Enquanto que os vectores solúveis penetram nos capilares que apresentam um endotélio contínuo, os vectores coloidais, não tendo esta capacidade, atravessam os capilares fenestrados existentes no fígado e baço, o que possibilita o desenvolvimento das acções desejadas nesses órgãos, bem como nos tumores sólidos muito vascularizados, e nos tecidos inflamados. <sup>[5]</sup>

É importante ainda referir que as preparações podem actuar de forma passiva, baseada unicamente nos próprios fenómenos fisiológicos para libertação de fármaco, ou de

forma activa, quando a distribuição e libertação é controlada por meios externos ao vector, tais como o magnetismo, iontoforese, hipertermia localizada, ajustamentos de pH, etc. [5]

Em seguida são apresentados alguns dos vectores mais comuns usados como veículos para o transporte de fármacos no organismo.

### **3.1. Vectores solúveis**

De entre os vectores solúveis destacam-se as glicoproteínas, os polímeros solúveis e anticorpos monoclonais. Estes vectores ligam-se a alvos específicos, que podem ser receptores celulares ou antigénios de superfície. Os anticorpos monoclonais, por exemplo, são bons vectores para fármacos, especialmente os que apresentam maior toxicidade. Algumas toxinas podem ligar-se a estes anticorpos, constituindo imunotoxinas. No entanto a sua purificação é extremamente delicada, e por essa razão a sua utilização é bastante limitada. Para colmatar essa situação têm sido desenvolvidos polímeros solúveis, obtidos por síntese ou por semi-síntese. São compostos variados, preparados a partir da albumina plasmática ou da apolipoproteína beta, em que se inserem moléculas específicas de açúcares, dextranos, copolímeros, etc. [5]

### **3.2. Vectores coloidais**

Os sistemas coloidais podem ser organizados em partículas ou vesículas. Alguns exemplos mais importantes são aqui apresentados, como as nanopartículas, os dendrímeros, microesferas de albumina, lipossomas (vesiculares) e micelas. Estes são essenciais para o transporte efectivo de fármacos para o local de interesse. São vectores que sequestram, transportam e mantêm o princípio activo na rota pretendida. Um dos objectivos destes sistemas será também a redução da toxicidade inerente ao fármaco. [6]

O vector coloidal ideal deverá conseguir atravessar as barreiras biológicas, manter a especificidade e selectividade das células alvo, manter uma ligação ao fármaco

estável em diversos biofluidos, deve ser não tóxico e não imunogénico, degradando-se após reconhecimento e entrega do fármaco. [6]

Com os vectores coloidais, os efeitos adversos do fármaco são reduzidos, não existindo a necessidade de serem administradas doses elevadas, pois existe um maior direccionamento da terapêutica. Se estes sistemas forem concebidos criteriosamente, a sua contribuição em *drug delivery* será de grande importância. [6]

### 3.2.1. Micro e Nanopartículas

Entre as micropartículas destacam-se as microcápsulas, partículas que apresentam uma cavidade central que permite a encapsulação do fármaco, sendo revestidas por um involucro polimérico, e as microesferas, partículas de formato esférico em que o fármaco se encontra dissolvido ou suspenso no seio de uma matriz, cujas dimensões rondam os 10  $\mu\text{m}$ . As nanopartículas apresentam dimensões inferiores a 1  $\mu\text{m}$ . [1], [5]

São diversos os materiais utilizados para a obtenção de micro e nanopartículas. Um dos sistemas preparados inicialmente foram microesferas de albumina ou açúcar, nas quais se englobavam os fármacos, sendo posteriormente revestidas por gelatina, PVP, PVA, dextrinas, ciclodextrinas, etc. [5]

Hoje em dia é dada preferência a polímeros biodegradáveis, já preformados ou que se obtêm a partir de monómeros. Alguns desses polímeros são de natureza proteica, como a albumina, outros são polissacarídeos sintéticos ou semissintéticos, e outros comportam-se como lipossolúveis. Dos mais utilizados destacam-se os poliésteres, como o poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), policaprolactona, poli-hidroxibutirato, e respectivos copolímeros. [1], [5]

São várias as vias de administração onde as micro e nanopartículas podem ser empregues. Vacinas, antivíricos, citostáticos, antibioterapia intracelular, tratamento de parasitoses e transporte de imunossuppressores são exemplos de aplicações destes vectores. Os fármacos podem ser integrados na matriz ou podem ligar-se à superfície das micro e nanopartículas. [1], [5], [6]

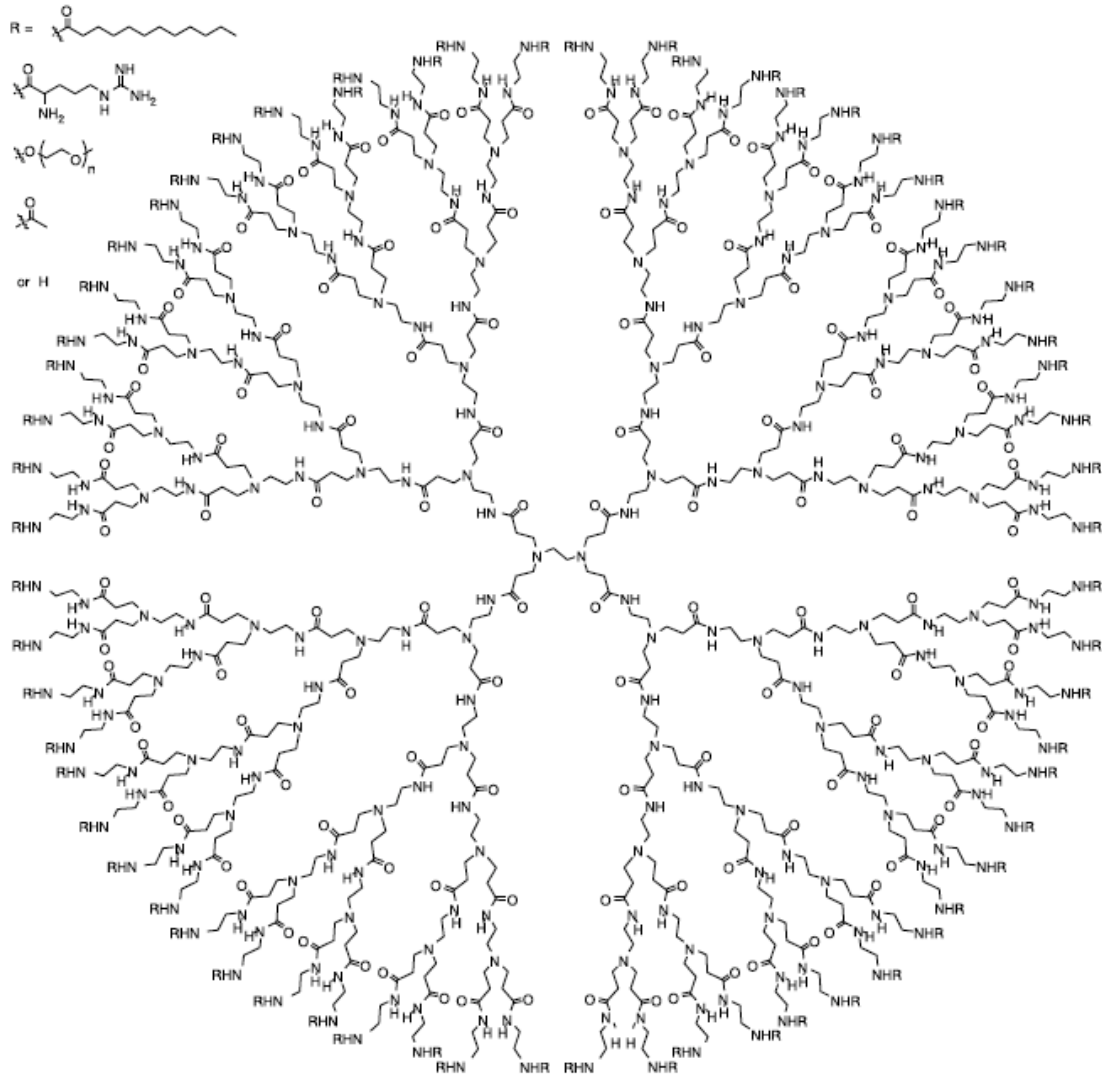
### 3.2.2. Dendrímeros (coloidal)

Os dendrímeros são macromoléculas artificiais com uma estrutura semelhante à copa de uma árvore. Estes possuem cavidades internas e conformações abertas, o que torna possível a encapsulação de diversos fármacos. Além disso, possuem uma superfície com uma maior densidade de grupos funcionais em comparação com outras macromoléculas. Estes grupos funcionais permitem melhorar a solubilidade de muitos fármacos, e a elevada reactividade dos dendrímeros é fruto da presença destes grupos nestas condições. Os fármacos podem assim ligar-se aos grupos funcionais da superfície da molécula, ou serem encapsulados na cavidade hidrofóbica. Com estas características os dendrímeros são pois compostos interessantes e com potencial para sistemas de *drug delivery*.<sup>[1], [7]</sup>

Os dendrímeros têm uma forma esférica ou elipsóide, e são constituídos por três componentes distintos: um núcleo central, uma zona ramificada e grupos funcionais da superfície. O núcleo central é constituído por uma molécula com pelo menos dois grupos funcionais. Cada camada concêntrica da zona ramificada é designada por “geração”. Quando têm aminas primárias como grupos terminais, são designados por dendrímeros de “geração completa”, enquanto que quando têm grupos carboxilo ou éster são designados por dendrímeros de “meia-geração”. A Figura 1 representa um dendrímero de geração 4 (G4). São os grupos funcionais da superfície da macromolécula que definem as propriedades físicas no estado sólido e em solução aquosa.<sup>[4], [7]</sup>

Os dendrímeros são distintos dos polímeros tradicionais, sendo sintetizados com elevada precisão, o que faz com que a sua polidispersão seja muito baixa. As dimensões dos dendrímeros são da ordem dos nanómetros. A forma do dendrímero varia com a quantidade de ramificações. Se esta for baixa, este apresenta uma forma de elipse, enquanto que se o número de ramificações for elevado este tem uma forma esférica muito bem definida. A solubilidade, com já foi referido, é determinada pelos grupos funcionais da superfície, número de ramificações, e até mesmo pelo núcleo. Alguns estudos revelaram que os dendrímeros apresentam solubilidade quase perfeita numa grande variedade de solventes. Em solventes orgânicos a sua boa solubilidade leva a uma rápida dissolução da macromolécula. Além disso, a boa solubilidade em água permite que estes sejam utilizados como veículos de moléculas hidrofóbicas. A

conformação dos dendrímeros depende não só das ramificações como também do meio em que a macromolécula se encontra. A sua estrutura é desta forma dinâmica, admitindo-se no entanto que estes mantenham a sua forma esférica em solução. [4], [7].



**Figura 1:** Estrutura de um dendrímero G4. A biodisponibilidade do dendrímero pode ser melhorada quando se conjugam grupos terminais compatíveis. [4]

A interação entre dendrímeros e fármacos tem vindo a ser explorada ao longo dos anos. São diferentes os tipos de interações que podem ocorrer, tais como encapsulação simples, interações electrostáticas e ligações covalentes. A arquitectura da molécula, que contém cavidades hidrofóbicas no seu interior, permite

uma encapsulação simples de fármacos. A juntar a isto, existem átomos de azoto e oxigénio nesta região que podem interagir com o fármaco através de pontes de hidrogénio. Devido à elevada densidade de grupos funcionais (como grupos amina e grupos carboxilo) na superfície do dendrímero, espera-se que se consiga melhorar a solubilidade de certos fármacos por interações electrostáticas <sup>[7]</sup>. Há já algumas aplicações, como por exemplo alguns anti-inflamatórios não esteroides como o Ibuprofeno e o Naproxeno e alguns agentes anticancerígenos e antibacterianos <sup>[8], [9], [10], [11]</sup>. Os grupos funcionais da superfície do dendrímero podem também formar ligações covalentes com os fármacos, sendo estes libertados apenas por acção química ou enzimática. <sup>[7]</sup>

- **Vias de administração**

A via intravenosa é a via mais rápida e simples para colocar o fármaco na circulação sistémica <sup>[13]</sup>. No entanto, a fraca solubilidade em meio aquoso de alguns fármacos, como os fármacos anticancerígenos, limita a utilização desta via em algumas terapêuticas, devido aos efeitos adversos que daí podem surgir <sup>[14]</sup>. A complexação destes fármacos com dendrímeros tem sido uma boa hipótese para contornar esta situação. <sup>[7], [15], [16], [17]</sup>

Em alguns estudos *in vivo* realizados em ratos foi testada a biodisponibilidade e a toxicidade dos dendrímeros. Os dendrímeros não apresentam toxicidade quando administrados por esta via. Quanto à biodisponibilidade, nem todos os dendrímeros são indicados para serem administrados desta forma. No entanto, quando associados a cadeias de polietilenoglicol (PEG) <sup>[18]</sup>, estes mantêm-se mais tempo em circulação, chegando às 24h após administração, não sendo eliminados tão rapidamente como os outros derivados. <sup>[7]</sup>

A via oral é a via mais comum para administração de fármacos. Neste caso os dendrímeros permitem a manutenção da concentração ideal de fármaco para o efeito terapêutico no local de interesse, podendo assim simplificar os esquemas terapêuticos. Estes podem ainda contribuir para um aumento da solubilidade e da estabilidade dos fármacos administrados. Estas macromoléculas possuem propriedades adesivas, ligando-se fortemente à mucosa, prolongando o tempo de contacto do fármaco com o

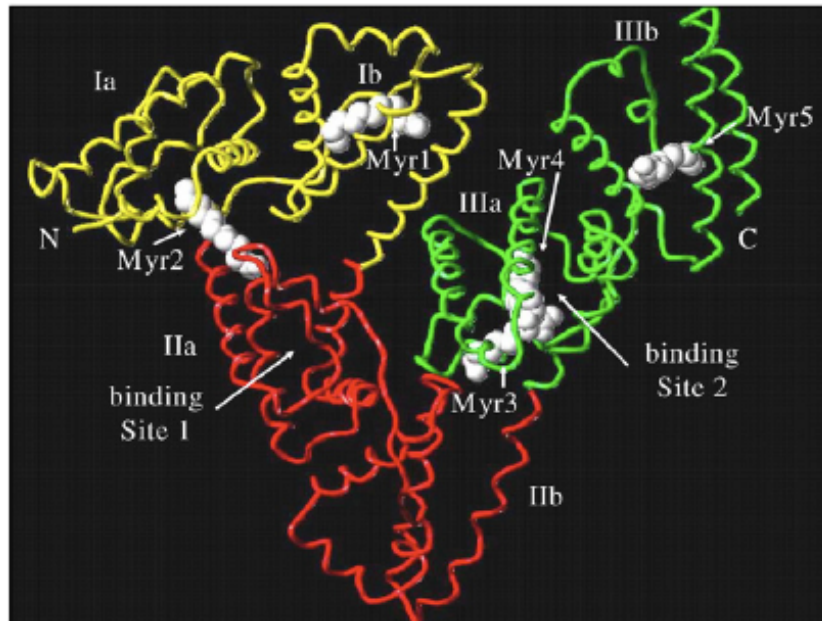
epitélio do intestino. Os dendrímeros são bem absorvidos no tracto gastrointestinal, e desta forma melhoram a absorção de fármacos com fraca capacidade de penetração na membrana do intestino. [7]

Outras vias de administração para os dendrímeros têm vindo a ser estudadas, existindo a possibilidade de estas macromoléculas serem utilizadas em formulações para administração por via transdérmica, ocular, rectal, vaginal e nasal. [1],[7]

Em suma, os dendrímeros parecem ser bons veículos para fármacos, possuindo a habilidade de se ligarem por vários mecanismos, como encapsulação, interacções electrostáticas e ligações covalentes. Por encapsulação, o complexo pode ser administrado por diferentes vias. É também importante referir que modificando a estrutura dos dendrímeros é possível corrigir alguns problemas de toxicidade. [7]

### 3.2.3. Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma (35-50 g/L soro humano), e tem um tempo de meia vida de 19 dias. Esta proteína pode aumentar a solubilidade de cadeias longas de ácidos gordos, pode ligar-se à bilirrubina e a uma grande variedade de moléculas com acção terapêutica, como penicilinas, sulfonamidas, benzodiazepinas, etc. Pode ainda ligar-se a alguns iões metálicos, funcionando como veículo para estes compostos na corrente sanguínea. A Figura 2 representa a estrutura ao raio X da albumina, destacando os dois pontos de possível ligação com outras moléculas. A albumina é uma proteína ácida, muito solúvel e extremamente robusta. É estável num intervalo de pH 4-9, solúvel em 40% de etanol e pode ser aquecida a 60 °C durante 10h sem sofrer deterioramento. Estas propriedades, bem como a absorção por células tumorais e tecido inflamado, e ainda a sua boa biodisponibilidade e baixa toxicidade, fazem com que esta proteína seja um forte candidato a veículo para *drug delivery*. [8]



**Figura 2:** Estrutura de raio X da albumina do soro humano <sup>[8]</sup>

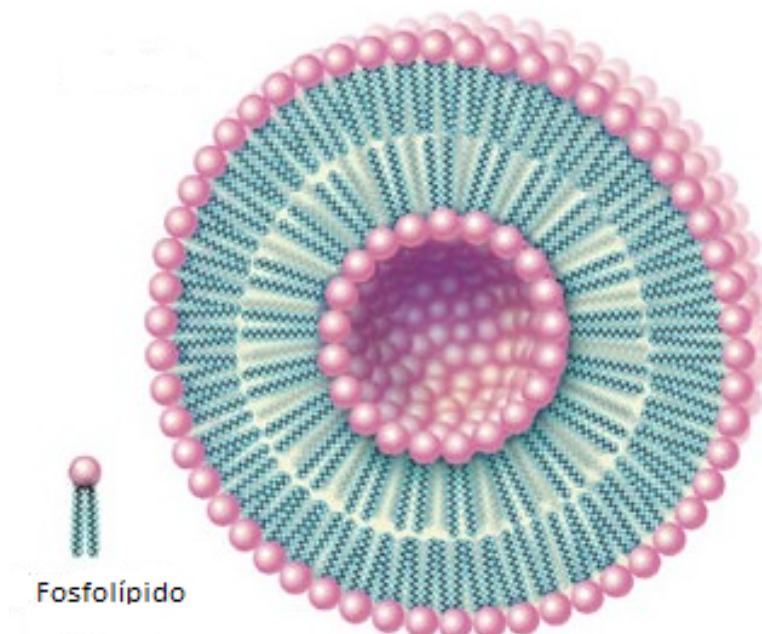
A American Bioscience, Inc. desenvolveu recentemente nanopartículas baseadas em albumina, uma tecnologia que dá pelo nome de *nab-technology* <sup>[19]</sup>. Estes sistemas são ideais para encapsular fármacos lipofílicos. A tecnologia parece simples: o fármaco é misturado com a albumina do soro humano num solvente aquoso e a mistura submetida a um jacto de alta pressão, com conseqüente formação de nanopartículas de albumina, com tamanhos de 100-200 nm, comparáveis ao tamanho dos lipossomas. Uma associação que tem vindo a ser estudada é a da nanopartícula com paclitaxel, um fármaco inibidor da mitose usado no tratamento contra o cancro da mama. Esta associação foi aprovada em 2005, e mostrou eficácia anti-tumoral superior à do paclitaxel isolado. <sup>[19], [20], [21], [22]</sup>

#### 3.2.4. Lipossomas

Atribui-se a Weissman, em 1965 <sup>[23]</sup>, o termo lipossoma (do grego lipos = gordura + soma = corpo), embora uns meses antes Bangham <sup>[24]</sup> já os tivesse produzido experimentalmente. Os lipossomas (Figura 3) são pequenas vesículas esféricas com diâmetros que variam de alguns nanómetros a poucos micrómetros (sempre maior que 25 nm), constituídos principalmente por fosfolípidos e colesterol. Devido ao seu

tamanho, características anfífilas e biocompatibilidade, os lipossomas são moléculas com boas potencialidades em *drug delivery*.<sup>[1], [5]</sup>

As matérias primas utilizadas para a preparação de lipossomas são basicamente fosfolípidos, que podem ser naturais ou sintéticos, um esterol e, eventualmente, um produto iônico que permite a obtenção de vesículas carregadas positiva ou negativamente. Os fosfolípidos são moléculas que possuem simultaneidade de carga positiva e negativa com a mesma intensidade, e em que também coexistem uma porção hidrofílica (ácido fosfórico e base orgânica) e uma fracção lipofílica (cadeias carbonadas gordas). Na preparação dos lipossomas recorre-se também à utilização de um esterol, normalmente o colesterol. Este destina-se a reduzir a difusão dos fármacos hidrossolúveis para o exterior das vesículas, aumentando ainda a sua estabilidade no plasma, e conservando os fosfolípidos de forma ordenada.<sup>[5], [25]</sup>



**Figura 3:** Estrutura de um lipossoma<sup>[26]</sup>

Durante o processo de síntese dos lipossomas, a inclusão de fármacos pode ser feita em diferentes momentos, dependendo da sua solubilidade. Assim, os compostos lipofílicos são adicionados juntamente com os fosfolípidos, colesterol e antioxidantes, enquanto que os fármacos hidrofílicos são adicionados juntamente com a fase aquosa. Este processo será influenciado por alguns parâmetros tais como a temperatura, composição da fase gorda, pH, força iónica, e relação entre fármaco e lípidos.<sup>[5]</sup>

Em relação à estabilidade dos complexos, devem ser tidas em consideração as seguintes componentes: estabilidade física e química, estabilidade dos fármacos encapsulados e estabilidade quanto à saída antecipada dos fármacos incluídos no lipossoma. É importante referir que a parede lipídica dos lipossomas é fortemente afectada pela acção do ar (oxigénio), que induz oxidação, e pela água que hidrolisa a vesícula principalmente ao nível das ligações éster. Nesta situação é necessário estabilizar a vesícula recorrendo a antioxidantes e sequestrantes de metais com acção antioxidante e ajustar o pH para um valor que impeça a hidrólise. O comportamento das bicamadas influencia a ligação fármaco-lipossoma, que se pretende estável até ao momento da libertação do fármaco. É importante referir que a permeabilidade das bicamadas ao fármaco diminui com o aumento do comprimento e da saturação das cadeias carbonadas dos fosfolípidos. O colesterol pode também influenciar essa permeabilidade. <sup>[5]</sup>

- **Vias de administração**

Têm sido usados lipossomas para aplicação dérmica, em produtos cosméticos e um pouco também em dermatologia, com o principal objectivo de se conseguir uma melhor penetração de alguns compostos na pele, tais como vitaminas, colagénio e péptidos activos. Por esta via os lipossomas percorrem um curto percurso até ao local de interesse, as forças mecânicas são reduzidas e o pH é favorável à estabilidade da formulação. <sup>[5]</sup>

Por via nasal têm sido usados lipossomas em associação com antibióticos, insulina, algumas hormonas, vitamina B12, calcitonina e anticoncepcionais. A via nasal tem interesse pois trata-se de uma via fortemente irrigada, na qual fármacos de pequena massa molecular podem atingir 100% de biodisponibilidade, e pelo facto dos princípios activos absorvidos escaparem ao efeito de primeira passagem. <sup>[5]</sup>

A utilização de formulações com lipossomas para administração oral acarreta alguns problemas, como a presença como as grandes variações de pH ao longo do tracto gastrointestinal e a presença de variados enzimas. Em todo o caso, os lipossomas conseguem proteger o fármaco da agressividade do estômago e podem ainda melhorar

a sua absorção. Os fármacos de natureza proteica, como a insulina e o factor VIII, são aqueles cuja encapsulação em lipossomas pode ser mais vantajosa. [5], [27]

A via endovenosa acaba por ser a via de eleição para a administração de lipossomas. Esta não se trata de uma via de administração desprovida de condicionantes que podem afectar os lipossomas. Existem em circulação compostos, nomeadamente as lipoproteínas de alta densidade (HDL), que removem os fosfolípidos das vesículas, diminuindo a sua estabilidade. Concomitantemente a este ataque das HDL às paredes dos lipossomas alguns fármacos lipofílicos podem ficar em circulação no estado livre, o que não é desejável. Por outro lado, as opsoninas juntamente com as proteínas do complemento, revestem os lipossomas facilitando o processo de fagocitose, que facilita a sua entrada na célula alvo. No entanto, este processo de fagocitose deve ser controlado e não ocorrer de forma imediata. [5]

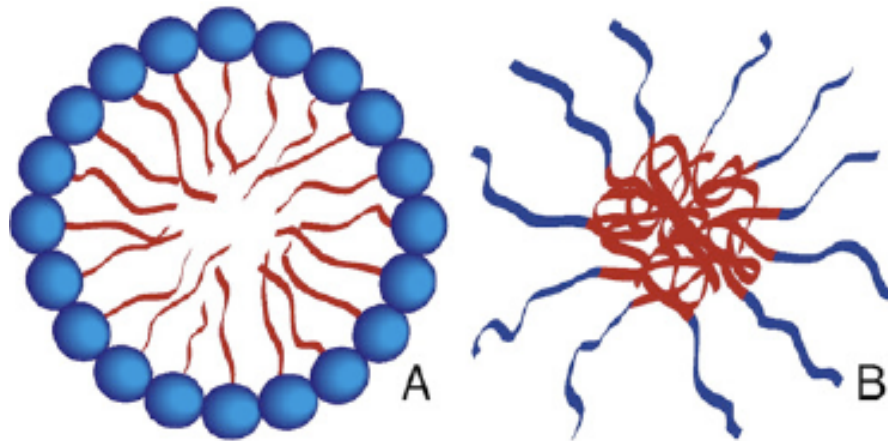
Os lipossomas são utilizados como veículos de várias moléculas, tais como agentes citostáticos, quelantes (em intoxicações metálicas), antivíricos, antiparasitários, hormonas diversas, antifúngicos, enzimas, vacinas, ou mesmo material genético. [5]

Alguns fármacos têm sido usados em associação com lipossomas. A anfotericina B e nistatina (antifúngicos), derivados de antimónio pentavalente (antiparasitários usados, por exemplo, para tratamento da leishmaniose), doxorubicina e daunorrubicina (citostáticos cardiotóxicos), vidarabina (antivírico com actividade contra hepatite B), têm sido utilizados em lipossomas, juntamente com alguns antibióticos como a gentamicina e a ampicilina. [1], [5]

### **3.2.5. Micelas**

As micelas (Figura 4) são definidas como sendo um agregado de moléculas anfifílicas numa vesícula esférica. O centro da micela é hidrofóbico e assim pode sequestrar fármacos hidrofóbicos que serão posteriormente libertados na célula de interesse. As micelas convencionais são formadas por moléculas de cabeça hidrofílica e cauda hidrofóbica, normalmente composta de porções de hidrocarbonetos e ácidos gordos. O tamanho destas moléculas determinará o tamanho da micela. [28]

Polímeros com segmentos hidrofílicos e hidrofóbicos podem também agregar-se em meio aquoso e originar micelas poliméricas. Estes polímeros têm blocos hidrofílicos compostos por poli(óxido de etileno) (PEO), e blocos hidrofóbicos de poli(óxido de propileno) (PPO), poli (ácido láctico) (PLA), ou outros poliéteres ou poliésteres compatíveis. Estas micelas poliméricas apresentam algumas vantagens em relação a outras nanopartículas: são estruturalmente estáveis em altas concentrações de copolímero, sendo o seu tempo de dissolução maior devido ao elevado peso molecular; podem manter-se na circulação sanguínea durante mais tempo quando têm PEO na sua constituição e podem incorporar facilmente o fármaco quando se encontram em mistura. [28]



**Figura 4:** A) Micela não polimerizada, constituída por moléculas anfifílicas; B) Micela polimérica constituída por blocos de copolímeros anfifílicos. [28]

### 3.3. Vectores medicamentosos baseados em supramoléculas

As moléculas macrocíclicas representam uma classe importante de veículos para fármacos, uma vez que, ao contrário de outras classes de veículos como as nanopartículas, estes são capazes de sequestrar fármacos dentro da sua estrutura, providenciando uma barreira à degradação e desactivação do fármaco. Enquanto que os lipossomas e as micelas podem encapsular os fármacos dentro do seu núcleo, o tamanho das moléculas macrocíclicas pode ser regulado para se controlar a força de ligação e a capacidade de libertação do fármaco.

Em destaque nesta monografia encontram-se dois tipos de macromoléculas: as ciclodextrinas, já bastante usadas em formulações farmacêuticas, e os cucurbiturilos, moléculas que apresentam excelentes características e elevado potencial de aplicação em futuros sistemas para *drug delivery*.

- **Ciclodextrinas**

As ciclodextrinas são um grupo de oligossacarídeos capazes de formarem complexos de inclusão com diversos fármacos. Através desta complexação, a solubilidade de alguns fármacos hidrofóbicos pode ser melhorada sem que a estrutura da molécula seja alterada. No capítulo 4 serão apresentadas em maior detalhe as características das ciclodextrinas e as suas associações com diferentes fármacos.<sup>[1]</sup>

- **Cucurbiturilos**

Os cucurbiturilos são macromoléculas sintéticas, formadas a partir da condensação de grupos glicoluril com formaldeído. São moléculas relativamente recentes e que apresentam boas características para serem usadas como veículos de fármacos. No capítulo 5 serão apresentados em detalhe.

## 4. Ciclodextrinas

A primeira referência a uma substância que mais tarde foi designada de ciclodextrina data de 1891 [29]. Em meados de 1953, Freudenberg et al [30] recebeu a primeira patente para uso de ciclodextrina em formulações farmacêuticas. No entanto, até 1970, as ciclodextrinas apenas eram produzidas com baixo grau de pureza e em quantidades muito reduzidas, sendo que os elevados custos de produção deitavam por terra a sua utilização a nível industrial. No entanto, devido a recentes avanços biotecnológicos, a produção em larga escala tem sido uma constante e, conseqüentemente, a utilização das ciclodextrinas tem-se expandido. [31], [32]

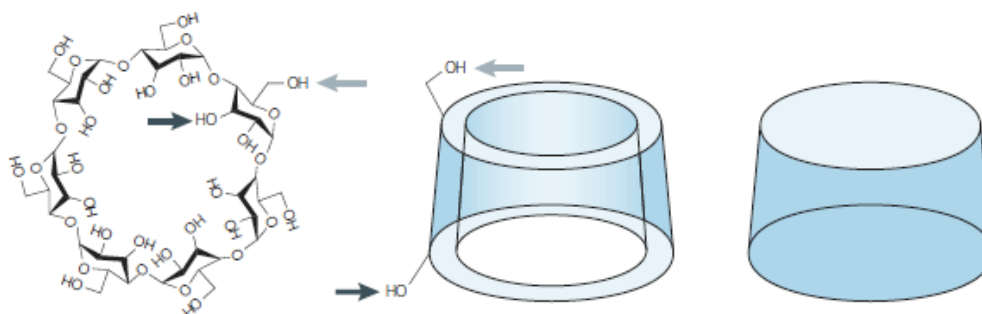
Na indústria farmacêutica, as ciclodextrinas têm sido particularmente utilizadas em virtude das suas propriedades complexantes para aumentar a solubilidade e dissolução de fármacos insolúveis, aumentar a sua biodisponibilidade e estabilidade, diminuir a irritação gástrica e ocular causada por determinados fármacos, diminuir ou eliminar odores ou sabores desagradáveis, prevenir interações entre diferentes fármacos ou entre fármacos e excipientes e ainda converter fármacos líquidos em pós amorfos microcristalinos. [1], [31], [32], [33]

### 4.1. Características das ciclodextrinas

#### 4.1.1. Estrutura:

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos, compostas por unidades D-glucopiranosídicas (glucose) ligadas entre si por meio de ligações  $\alpha$ -1,4 glicosídicas. Estas são desenvolvidas a partir do amido (polímero linear constituído por unidades de glucose): a degradação do amido pelo enzima glucosiltransferase origina, por quebra de cadeia e rearranjo molecular, produtos primários que são oligómeros cíclicos, ou ciclodextrinas. A classificação das ciclodextrinas depende do número de resíduos de glucose na sua estrutura. As ciclodextrinas mais comuns, ou seja, aquelas que são obtidas com maior rendimento, são denominadas  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD, e contêm seis, sete e oito unidades de glucose respectivamente. Por razões estequiométricas não existem ciclodextrinas com número inferior a 6 unidades de glucose. Por outro lado, já foram identificadas ciclodextrinas compostas por mais de 8 unidades de glucose, contudo estas são produzidas com rendimento muito baixo. [1], [31], [32], [34]

No que toca à aparência, as ciclodextrinas são semelhantes a um cone cortado. Devido à conformação em cadeira das unidades de glucose e à ausência de rotação livre das ligações glicosídicas, as ciclodextrinas adquirem esta forma tronco-cónica. Nesta estrutura, os grupos hidroxilo secundários encontram-se localizados nos carbonos C2 e C3 das unidades de glucose na extremidade mais larga, enquanto os grupos hidroxilo primários ligados ao carbono C6 das unidades de glucose localizam-se na extremidade oposta mais estreita, como representado na Figura 5. Esta disposição molecular surge da livre rotação dos grupos hidroxilo primários, que faz com que exista uma redução do diâmetro efectivo da extremidade mais estreita da ciclodextrina, contrariamente aos grupos hidroxilo secundários que não possuem esse movimento de rotação. [31], [32], [33], [34], [35], [36]



**Figura 5:** Representação esquemática da  $\beta$ -CD: As setas indicam os grupos hidroxilo primário e secundário. Os grupos hidroxilo secundários encontram-se ligados no aro mais largo da ciclodextrina. [32]

Os grupos -CH ligados aos protões H1, H2 e H4, encontram-se no exterior da molécula, e os grupos hidroxilo (-OH), orientam-se para o exterior do cone, tornando a superfície externa da ciclodextrina hidrofílica. Por outro lado, o revestimento da cavidade interna da molécula é delineado pelos grupos -CH, ligados aos protões H3 e H5, e por pontes éster de oxigénio glicosídicas. Os pares de electrões livres dos átomos de oxigénio envolvidos nas ligações éster encontram-se orientados para o interior da cavidade, produzindo localmente um ambiente de elevada densidade electrónica, que confere à superfície interna da ciclodextrina um carácter extremamente hidrofóbico. [31], [37], [38]

As diferentes estruturas das três ciclodextrinas naturais obtidas com maior rendimento,  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD, influenciam a solubilidade aquosa das mesmas. A solubilidade de  $\beta$ -CD, por exemplo, é muito baixa devido às ligações de hidrogénio intramoleculares estabelecidas entre os grupos C<sub>2</sub>-OH de uma unidade de glucose e os grupos C<sub>3</sub>-OH de uma unidade de glucose adjacente, originando uma estrutura rígida. Já no caso da  $\alpha$ -CD, só quatro das seis possíveis ligações de hidrogénio podem ser estabelecidas, em virtude de uma das unidades de glucose se encontrar numa posição distorcida. A  $\gamma$ -CD, das três, é aquela com melhor solubilidade em meio aquoso, por se tratar de uma molécula não-coplanar de estrutura mais flexível. No entanto, apesar da sua limitada solubilidade,  $\beta$ -CD acaba por ser a ciclodextrina natural com maior aplicação no campo farmacêutico, por ser obtida industrialmente com alto rendimento, elevada qualidade e com poucos custos. Além disso possui uma cavidade interna cujas dimensões são excelentes para incorporar compostos aromáticos hidrófobos. No Quadro 1 encontram-se sumariadas algumas das características mais importantes das três ciclodextrinas naturais. <sup>[31], [32]</sup>

**Quadro 1:** Estrutura e propriedades físico-químicas de  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD. <sup>[31]</sup>

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
<b>Unidades de glucose (n°)</b>	6	7	8
<b>Massa molecular (g/mol)</b>	972	1135	1297
<b>Solubilidade aquosa (g/100 ml a 25°C)</b>	14.5	1.85	23.2
<b>Diâmetro interno da cavidade (Å)</b>	4.7 – 5.3	6.0 – 6.5	7.5 – 8.3
<b>Altura da estrutura tronco-cónica (Å)</b>	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1
<b>Volume aproximado da cavidade (Å<sup>3</sup>)</b>	174	262	427
<b>Forma dos cristais</b>	Lâminas hexagonais	Paralelogramas monoclinico	Prismas quadráticos
<b>pKa (a 25°C)</b>	12.333	12.202	12.081
<b>Constante de difusão a 40°C (m<sup>2</sup>/s)</b>	3.443	3.223	3.000

#### 4.1.2. Ciclodextrinas modificadas:

Embora as ciclodextrinas naturais,  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD, sejam muito utilizadas na investigação e desenvolvimento de formulações farmacêuticas, elas apresentam algumas propriedades menos adequadas para um bom sistema de *drug delivery*. Como já foi referido,  $\beta$ -CD apresenta uma solubilidade aquosa relativamente reduzida (1,85% m/v, a 25°C), devido à sua estrutura rígida. Esta limitação está na origem do desenvolvimento de ciclodextrinas quimicamente modificadas, que apresentem melhorias ao nível da solubilidade e toxicidade, possibilitando a sua administração por via parentérica. Estas modificações pretendem também alargar o leque de moléculas passíveis de serem encapsuladas pela  $\beta$ -CD. [31]

As ciclodextrinas são modificadas nos grupos hidroxilos primários e/ou secundários, onde podem ser ligados diversos grupos funcionais. Pode haver substituição com grupos metilo, carboximetilo, hidroxietilo, hidroxipropilo, sulfobutilo, ou pode também haver polimerização da macromolécula. Têm sido sintetizados e caracterizados ao longo das últimas décadas centenas de derivados, mas apenas alguns têm constituído opções válidas para utilização como excipientes farmacêuticos. Entre estes, os derivados contendo substituintes metilo, hidroxipropilo e, mais recentemente, substituintes éter-sulfobutilo, destacam-se pela sua maior representatividade em aplicações farmacêuticas, sendo utilizados em larga escala na qualidade de excipientes farmacêuticos. [31]

Os **derivados hidrofílicos** têm como objectivo melhorar a solubilidade de alguns fármacos. São vários os derivados hidrofílicos de ciclodextrinas, destacando-se os seguintes:

- **Derivados metilados** – As hidrossolubilidades dos derivados metilados de  $\beta$ -CD são muito superiores à da ciclodextrina natural, mas diminuem com o aumento da temperatura. Esta situação pode limitar o seu uso em preparações injectáveis que necessitem de ser esterilizadas pelo calor. A metilação das ciclodextrinas origina também derivados muito solúveis em solventes orgânicos. Estes derivados são menos higroscópicos e possuem menor tensão superficial, em comparação com as ciclodextrinas naturais. A sua natureza higroscópica acaba por ser uma vantagem quando se pretende encapsular fármacos sensíveis à humidade. [31]

- **Derivados hidroxialquilados** – Estes derivados podem ser obtidos a partir das três ciclodextrinas naturais. No entanto a derivação a partir de  $\beta$ -CD é a única que traz vantagens. A preparação destes derivados ocorre de forma não selectiva. Desta forma, o produto de reacção de condensação das ciclodextrinas com os agentes hidroxialquilantes é sempre uma mistura dos respectivos derivados com vários graus de substituição. Os derivados hidroxialquilados são altamente solúveis em água, e são menos higroscópicos que a respectiva ciclodextrina. No entanto, em presença de humidade relativa acima dos 90%, estes dissolvem-se na água de adsorção devido à sua elevada solubilidade. [31]

- **Derivados ramificados** – Nestes derivados os grupos hidroxilo primários e secundários são substituídos por mono e dissacarídeos através de ligações  $\alpha$ -(1,6). Estes têm vindo a ser alvo de grande interesse devido à sua elevada hidrossolubilidade. A sua preparação é feita, na maioria dos casos, por via enzimática. Contrariamente às ciclodextrinas hidroxialquiladas, as ciclodextrinas ramificadas são obtidas com elevado grau de pureza. Têm solubilidade em água e nalguns solventes orgânicos muito superior à das ciclodextrinas naturais. [31]

Por outro lado, os **derivados hidrofóbicos** têm como principal função controlar a velocidade de libertação de alguns fármacos solúveis em água.

- **Derivados etilados** – Pode fazer-se a substituição dos grupos hidroxilo da ciclodextrina por grupos alquilo de tamanho superior ao metilo. Esta substituição leva a uma redução da solubilidade aquosa da molécula. [31]

- **Derivados acilados** – Pode também fazer-se a substituição de todos os grupos hidroxilo da  $\beta$ -CD por diferentes cadeias alquiladas. A solubilidade aquosa, ponto de fusão e velocidade de hidrólise da ciclodextrina acilada diminuem com o aumento da cadeia alquílica. [31]

- **Derivados ionizáveis** – Pode finalmente fazer-se uma substituição dos grupos hidroxilo das ciclodextrinas por grupos ionizáveis, o que confere a estes derivados uma capacidade de complexação dependente do pH do meio. Por exemplo,

as ciclodextrinas com grupos carboximetilo têm solubilidade baixa a pH ácido mas a pH neutro ou alcalino a solubilidade aumenta bastante <sup>[39], [40]</sup>. Este comportamento deve-se à ionização dos grupos carboxilo que apresentam um pKa cerca de 3.5. Destes derivados, destaca-se o derivado sulfobutilo-éter, SBEβ-CD, que apresenta elevada solubilidade aquosa (>500 mg/ml), e é capaz de formar complexos de inclusão com inúmeros fármacos. As suas aplicações serão abordadas mais à frente. <sup>[31], [39], [40]</sup>

## **4.2. Aplicações Farmacológicas das ciclodextrinas**

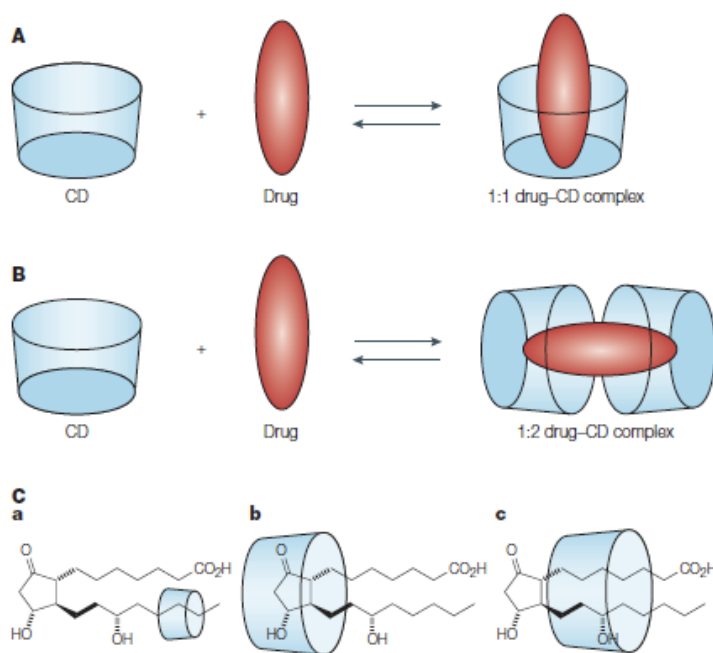
### **4.2.1. A base das ciclodextrinas como excipientes farmacêuticos**

As ciclodextrinas têm desempenhado um papel muito importante no aumento da solubilidade de alguns fármacos pouco solúveis em água, através da formação de complexos de inclusão. Funcionam assim como transportadores hidrofílicos para fármacos com características moleculares pouco adequadas a uma boa absorção e boa biodisponibilidade. <sup>[33]</sup>

Devido às suas características peculiares, as ciclodextrinas podem ser consideradas cápsulas cilíndricas vazias de tamanho molecular, abertas em ambas as extremidades, que lhes permite a inclusão de uma enorme variedade de moléculas orgânicas, nomeadamente fármacos apolares, na sua cavidade central. A formação de um complexo de inclusão é possível com a molécula de fármaco inteira ou apenas uma porção hidrofóbica de uma molécula de fármaco de maiores dimensões. As ciclodextrinas são vulgarmente chamadas de moléculas hospedeiras, sendo desta forma responsáveis pela encapsulação das moléculas hóspede, formando-se assim complexos hóspede-hospedeiro, também designados por complexos de inclusão. Os complexos de inclusão são portanto associações entre duas ou mais moléculas, nas quais uma das moléculas, a hospedeira, inclui total ou parcialmente, sem estabelecimento de ligações covalentes, uma molécula hóspede. O fármaco complexado entra rapidamente em equilíbrio com as moléculas livres em solução. As forças que prevalecem na formação do complexo incluem ligações por pontes de hidrogénio, interacções por forças de Van der Waals e interacções por transferências de carga. <sup>[31], [32], [33]</sup>

Como cada ciclodextrina possui um tamanho de cavidade diferente, as moléculas complexadas serão, conseqüentemente, diferentes. Assim sendo,  $\alpha$ -CD complexa bem moléculas mais pequenas ou cadeias laterais de moléculas de maiores dimensões, enquanto que  $\gamma$ -CD consegue complexar moléculas de tamanho considerável, como antibióticos. Por exemplo,  $\alpha$ -CD pode formar complexos com cadeias alifáticas e moléculas como polietilenoglicol (PEG), enquanto que  $\beta$ -CD é apropriada para encapsular anéis aromáticos. No entanto, regra geral, as ciclodextrinas têm tendência a ligarem-se a compostos neutros e aniônicos. A inclusão na cavidade da ciclodextrina é condicionada por factores estequiométricos relacionados com a forma e tamanho das moléculas hóspedes e também pela polaridade das moléculas. [31], [32], [36]

A estequiometria dos complexos é outro factor limitante na complexação de fármacos. Os complexos fármaco-CD formam-se habitualmente nas proporções 1:1 ou 1:2 mas, quando a molécula hóspede é suficientemente longa, a inclusão poderá dar-se por mais do que um lado, formando complexos 1:3, 2:2, 2:3, etc. A Figura 6 compara as duas estequiometrias mais comuns e as diferenças de tamanho das três ciclodextrinas naturais. [32]



**Figura 6:** A) Complexo fármaco-CD 1:1, B) Complexo fármaco-CD 1:2 C) Modelos propostos para a inclusão de PGE<sub>2</sub> com (a)  $\alpha$ -CD, (b)  $\beta$ -CD e (c)  $\gamma$ -CD [32]

Em média, o peso molecular dos fármacos a complexar varia entre 100 e 400, sendo o peso molecular das ciclodextrinas muito superior, com valores de 972, 1135 e 1297 para  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD, respectivamente. Esta diferença de pesos moleculares e estequiometria limitam a quantidade de fármaco a ser encapsulado no processo de complexação. Estas limitações fazem com que, por exemplo, 100 mg de complexo contenham apenas 5 a 25 mg de substância activa. Quando a dose terapêutica não é superior a 25 mg e o teor de substância activa é de 5%, esta poderá ser incorporada em comprimidos de aproximadamente 500 mg. No entanto, o peso do comprimido pode ser restritivo, e neste caso novas formas farmacêuticas devem ser equacionadas. É importante referir que todos os fármacos cujas doses terapêuticas sejam inferiores a 5 mg são os ideais para complexação com ciclodextrinas, como por exemplo a digoxina, a prostaglandina E ou a nitroglicerina. [32]

As ciclodextrinas são bastante estáveis em meio alcalino, mas hidrolisam-se em meio fortemente ácido. Um dos factores que permite a utilização de ciclodextrinas em aplicações farmacêuticas é a sua capacidade de resistência à degradação de alguns enzimas.  $\alpha$ -CD e  $\beta$ -CD não são hidrolisadas pela  $\beta$ -amilase, no entanto são susceptíveis de serem atacadas pela  $\alpha$ -amilase. As três são alvo de fermentação na microflora intestinal quando administradas por via oral. Quando administradas por via intravenosa são excretadas na urina praticamente intactas. Alguns enzimas de bactérias e fungos são capazes de degradar ciclodextrinas. [31], [32], [33]

As ciclodextrinas não conseguem atravessar a membrana celular devido à sua estrutura química, peso molecular e baixo coeficiente de partição octanol/água. Apenas o fármaco na forma livre consegue atravessar a membrana lipofílica. É importante referir que as ciclodextrinas não melhoram a capacidade dos fármacos hidrofílicos em atravessar a membrana lipofílica. Serão as características do fármaco e as características da própria membrana que irão definir se as ciclodextrinas melhoram ou dificultam a passagem do fármaco. As ciclodextrinas podem facilitar a passagem do fármaco através de barreiras hidrofílicas de difusão controlada, mas podem dificultar a sua passagem através de uma membrana lipofílica de difusão controlada. [33]

#### 4.2.2. Toxicidade:

A toxicidade das ciclodextrinas depende da via pela qual são administradas.

- **Toxicidade Oral** – As ciclodextrinas são consideradas não tóxicas em doses baixas e moderadas, quando administradas por via oral. Dos estudos realizados ao longo dos anos, pode-se concluir que a  $DL_{50}$  aguda da  $\beta$ -CD é superior a 12.5 g/kg em ratinhos e 5.0 g/kg nos cães. Esta não apresenta toxicidade se a dose diária ingerida for inferior a 600 mg/kg <sup>[41], [42], [43]</sup>. A ausência de toxicidade também se verificou para a  $\alpha$ -CD e  $\gamma$ -CD. No homem, a dose diária ingerida não ultrapassa em média os 50 mg/kg, muito distante dos valores tóxicos. Assim, pode-se afirmar que as ciclodextrinas administradas por via oral são praticamente atóxicas, consequência da nula ou muito limitada absorção gastrointestinal ou através das membranas biológicas lipofílicas da forma intacta da molécula, devido ao seu elevado tamanho. <sup>[31], [32], [41], [42], [43]</sup>

- **Toxicidade Parentérica** – A  $\beta$ -CD e a  $\alpha$ -CD naturais, bem como alguns derivados alquilados e a dimetil- $\beta$ -CD (DM $\beta$ -CD), apresentam toxicidade quando administrados por via parentérica. A  $\beta$ -CD e a DM $\beta$ -CD, por exemplo, têm afinidade para o colesterol. Estas têm assim capacidade de extrair o colesterol, bem como outros componentes lipídicos da membrana celular. Em elevadas concentrações, estas podem mesmo provocar hemólise e alteração na forma dos eritrócitos. A  $\beta$ -CD, quando administrada por via intramuscular, pode provocar ulceração no local de administração. <sup>[31], [32]</sup>

Estas ciclodextrinas também apresentam nefrotoxicidade. Devido à fraca solubilidade de  $\beta$ -CD, esta tem tendência a precipitar e a formar cristais no rim. É usual ocorrer uma complexação com o colesterol e posterior deposição no rim, formando-se cálculos renais que podem danificar as vias urinárias. Quando se administra uma dose única de 1 g/kg de  $\alpha$ -CD ou 0,67 g/kg de  $\beta$ -CD, são observadas alterações das células epiteliais ao nível do túbulo proximal renal <sup>[44]</sup>. Quando  $\beta$ -CD é administrada por via intraperitoneal ou intravenosa, a toxicidade manifesta-se pelo aumento de azoto uréico no sangue e diminuição da actividade de vários enzimas relacionados com a função renal. <sup>[31], [32]</sup>

Devido aos efeitos tóxicos acima mencionados para as ciclodextrinas, quando administradas por via parentérica, é compreensível que as formulações injectáveis sejam pouco utilizadas. No entanto, a  $\gamma$ -CD, devido provavelmente à sua elevada solubilidade aquosa, não apresenta nefrotoxicidade e é menos hemolítica que as restantes ciclodextrinas naturais, podendo assim ser utilizada com relativa segurança em formulações injectáveis como agente complexante de fármacos. É importante também referir que a toxicidade do derivado hidroxipropil- $\beta$ -CD (HP $\beta$ -CD) é muito baixa, apresentando uma toxicidade muito semelhante à da glicose. <sup>[31], [32]</sup>

#### 4.2.3. Aplicações em formulações farmacêuticas

A investigação farmacêutica tem estado bastante activa nos últimos anos. Têm vindo a ser desenvolvidos novos fármacos com novas propriedades, numa necessidade de obtenção de formulações com um biodisponibilidade oral mais elevada e de preparações parentéricas solubilizadas. Com todo este desenvolvimento, e com todos os estudos feitos a moléculas com possibilidade de serem usadas como fármacos, surgiu a necessidade de obtenção de novas formulações para aplicação em *drug delivery*, de modo a que se consigam ter mais opções terapêuticas para fazer face a todos os desafios que têm vindo a ser lançados. <sup>[31], [33]</sup>

Para que um fármaco esteja biodisponível oralmente, este deve conseguir dissolver-se e ser absorvido pelo tracto intestinal, de maneira que se atinjam os níveis de fármaco adequados para a obtenção de um efeito terapêutico no local de interesse. Tem sido grande o interesse na obtenção de formulações farmacêuticas para administração oral onde a taxa de fármaco libertado e tempo de libertação sejam controlados de acordo com as necessidades da terapêutica. Os perfis para a libertação de fármaco podem ser divididos assim em duas categorias, libertação controlada e libertação retardada. <sup>[33]</sup>

Existem três tipos de libertação controlada. Na libertação imediata, pretende-se complexar um fármaco que seja pouco solúvel em solução aquosa com uma ciclodextrina hidrofílica que permita melhorar esta propriedade. A libertação imediata de fármacos como analgésicos, antipiréticos ou vasodilatadores coronários é muito importante em situações de emergência <sup>[45], [46]</sup>. Uma libertação prolongada é obtida utilizando-se ciclodextrinas hidrofóbicas, que permitem uma libertação mais lenta e

controlada do fármaco. Este tipo de formulações fazem com que se mantenha uma concentração constante de fármaco durante a terapêutica, prolongando a sua eficácia e reduzindo alguns efeitos tóxicos. Por último, na libertação modificada, o fármaco é libertado num estado físico diferente. Por exemplo, a nifedipina, um antagonista dos canais de cálcio, tem de ser administrada duas a três vezes por dia devido ao efeito de primeira passagem que sofre e ao seu curto tempo de meia vida. Além disso, ainda tem fraca solubilidade em solução aquosa e tem tendência a formar cristais <sup>[47]</sup>. Uma libertação modificada com o auxílio de ciclodextrinas permite corrigir estes problemas. <sup>[33]</sup>

A libertação retardada é obtida usando derivados de ciclodextrinas sensíveis ao pH, resistindo ao pH do estômago e libertando o fármaco em regiões mais avançadas do tubo digestivo, onde o pH é mais alcalino. <sup>[33]</sup>

Estudos anteriores mostram que mais de 40% das falhas dos fármacos em desenvolvimento estão relacionadas com as fracas propriedades biofarmacêuticas, nomeadamente fraca dissolução e permeabilidade <sup>[48]</sup>. Tendo em conta estas características como a solubilidade e permeabilidade, a agência americana FDA (*Food and Drug Administration*) desenvolveu um sistema de classificação de fármacos <sup>[49]</sup>, <sup>[50]</sup>, <sup>[51]</sup>, dividindo os fármacos em 4 grupos consoante estas características, de acordo com o Quadro 2. <sup>[32]</sup>

**Quadro 2:** Sistema de classificação biofarmacêutica que caracteriza os fármacos de acordo com a sua solubilidade e permeabilidade. A solubilidade do fármaco é definida pela razão dose/solubilidade, considerando o fármaco solúvel aquele que dissolve numa dose mais elevada em 250 ml de água. Um fármaco diz-se permeável se tiver biodisponibilidade  $\geq 90\%$  ou absorção  $\geq 90\%$ . <sup>[32]</sup>

Tipo III ↑ Solubilidade, ↓ Permeabilidade	Tipo I ↑ Solubilidade, ↑ Permeabilidade
Tipo IV ↓ Solubilidade, ↓ Permeabilidade	Tipo II ↓ Solubilidade, ↑ Permeabilidade

A capacidade das ciclodextrinas formarem complexos de inclusão, tanto em solução como no estado sólido, onde a molécula hóspede está rodeada pelo ambiente

hidrofóbico da cavidade da ciclodextrina, promove modificações nas propriedades da molécula que são particularmente úteis no campo farmacêutico. [31]

As razões para a inclusão de ciclodextrinas numa formulação farmacêutica podem ser muito distintas, e normalmente específicas para cada situação, dependendo da via de administração e dos problemas fisiológicos e químicos a enfrentar. O Quadro 3 sintetiza algumas das especialidades farmacêuticas contendo complexos de inclusão com ciclodextrinas. [31]

**Quadro 3:** Algumas formulações com ciclodextrinas comercializadas [31]

<b>Complexo fármaco-CD</b>	<b>Nome comercial</b>	<b>Forma Farmacêutica</b>	<b>País</b>
PGE1/ $\alpha$ -CD	Provastatina®	Solução I.V.	Japão
PGE2/ $\beta$ -CD	Prostamon E®	Comprimido sublingual	Japão
Piroxicam/ $\beta$ -CD	Brexin®, Flogene®	Comprimido, solução, granulado, supositório.	Itália, etc.
Dexametasona/ $\beta$ -CD	Glymesason®	Pomada	Japão
Nitroglicerina/ $\beta$ -CD	Nitropen®	Comprimido sublingual	Japão
Cefalosporina/ $\beta$ -CD	Meiact®	Comprimido	Japão
Hidrocortisona/HP $\beta$ -CD	Dexocort®	Solução	Islândia
Itraconazol/ HP $\beta$ -CD	Sporanox®	Solução	Bélgica
Omeprazol/ $\beta$ -CD	Omebeta®	Comprimido	Alemanha
Indometacina/ HP $\beta$ -CD	Indocollyre®	Solução oftálmica	França
Nimesulide/ $\beta$ -CD	Aulin®	Supositório, granulado, comprimido	Itália, etc.
Alprostadil/ $\alpha$ -CD	Rigidur®	Solução I.V.	Dinamarca
Nicotina/ $\beta$ -CD	Nicorette®	Comprimido sublingual	Suécia
Dextrometorfano/ $\beta$ -CD	Rynathisol®	Xarope	Itália
Cetirizina/ $\beta$ -CD	Cetirizin®	Comprimido	Alemanha
Mitomicina/ HP $\beta$ -CD	MitoExtra®	Solução I.V.	Suíça
Cloranfenicol/ RM $\beta$ -CD	Clorocil®	Solução oftálmica	Portugal
Diclofenac/ HP $\gamma$ -CD	Voltaren Ophatamic®	Solução oftálmica	Suíça
Cisapride/ HP $\beta$ -CD	Prepulsid®	Supositório	Bélgica
Voriconazole/ SBE $\beta$ -CD	VFend®	Solução I.V.	EUA

- **Aplicações iniciais das  $\alpha$ -CD e  $\beta$ -CD - prostaglandinas e AINEs**

As ciclodextrinas chegaram pela primeira vez ao mercado como moléculas de aplicação em *drug delivery* que permitiam a administração de várias prostaglandinas [46], [52], [53]. Um dos primeiros compostos usados como substrato, a PGE<sub>2</sub>, consiste numa substância com propriedades semelhantes à oxitocina, uma hormona que promove contracções uterinas e produção de leite, sendo por isso usada durante o parto [53], [54]. Tal como outras prostaglandinas do tipo E, estes compostos são extremamente instáveis, e esta situação complica a sua formulação e desenvolvimento. A utilização de complexos  $\beta$ -CD com PGE<sub>2</sub> resulta assim num aumento significativo da estabilidade do composto no estado sólido. Este complexo foi aprovado para o mercado Japonês em 1976. O complexo que dá pelo nome de Prostarmon E é altamente efectivo e representa um enorme avanço médico, não só pela indução dos efeitos semelhantes à oxitocina, mas também pela sua tendência em diminuir o sangramento durante o parto. [32]

A segunda prostaglandina a ser comercializada como complexo com ciclodextrinas foi a PGE<sub>1</sub>. Esta prostaglandina é responsável pelo relaxamento do músculo liso e aumento do fluxo sanguíneo, tendo sido desenvolvida inicialmente para tratamento de problemas relacionados com a circulação periférica. Devido à sua fraca estabilidade metabólica, a PGE<sub>1</sub> necessitava de ser administrada por via intra-arterial para que se obtivessem os resultados clínicos desejados. A utilização do complexo  $\alpha$ -CD com PGE<sub>1</sub> permitiu uma administração por via parentérica, evitando assim a administração intra-arterial, que obviamente acarreta mais riscos. Em 1979 este complexo, denominado alprostadil alfadex, foi aprovado para tratamento de complicações de circulação periférica, incluindo a doença de Buerger [53], [54] (uma inflamação e trombose de pequenas e médias artérias e veias dos pés e mãos, associada ao tabaco). O complexo mostrou também actividade contra oclusão arterial e aterosclerose. [32]

Este complexo alprostadil alfadex é também usado para tratamento da disfunção eréctil no homem. Nesta situação, o complexo é administrado através de injeção intra-cavernosa. Este mostrou ser eficaz em indivíduos que não reagem positivamente ao sildenafil (Viagra®), um inibidor oral da 5-fosofodiesterase. A complexidade da forma de administração deste complexo fez com que se desenvolvessem formas mais acessíveis, incluindo doses para administração intravenosa. Estes desenvolvimentos

levaram à formulação do Prostandin, que foi aprovado no Japão em 1982, e posteriormente noutros países como a Alemanha. [32], [53], [54]

Um terceiro exemplo de uma prostaglandina comercializada em complexo com ciclodextrinas é o limaprost alphfadex, complexo esse usado no tratamento de doenças vasculares. Este análogo da prostaglandina mostra ter uma melhor actividade antiagregante e vasodilatadora em comparação com a PGE<sub>1</sub>. O composto encontra-se disponível em formulação oral e mostra uma relação acção/reacções adversas positiva. Este complexo limoprost- $\alpha$ -CD apresenta actividade no tratamento da doença de Buerger, tendo sido aprovado para comercialização em 1988. [32]

Os Anti-Inflamatórios não Esteroides (AINEs) são muito usados no tratamento da dor. As irritações gastrointestinais são uma das principais contra-indicações associadas a estes fármacos. Um complexo de Piroxicam associado a uma ciclodextrina pode resolver esta situação. Este fármaco é vulgarmente utilizado para de artrite reumatoide, bem como para a gota e dismenorria (dor pélvica que ocorre antes ou durante o período menstrual). O Piroxicam tem um tempo de meia vida relativamente longo, podendo ser tomado apenas uma vez por dia. No entanto é pouco solúvel em água e tem fraca biodisponibilidade oral. Assim sendo, associou-se uma ciclodextrina a este fármaco no sentido de melhorar as suas propriedades, incluindo a segurança e a capacidade de dissolução. Estes melhoramentos fazem com que o fármaco provoque menos irritação gastrointestinal e consiga ser absorvido mais rapidamente, havendo consequentemente um aumento da sua eficácia. Não existe uma alteração do tempo de meia vida quando o complexo é formado [55], [56], [57], [58]. Assim sendo, o complexo Piroxicam- $\beta$ -CD mostra ter uma acção mais rápida no local da inflamação. Alguns estudos sobre complexação indicaram a formação do complexo com estequiometria de 2.5 para 1. [32], [55]

- **Aplicações de derivados  $\beta$ -CD metilados:**

Como já foi anteriormente referido, os derivados metilados de  $\beta$ -CD (RM $\beta$ -CD) produzem complexos eficientes e com boa biocompatibilidade. Têm vindo a ser usados em muitas formulações que hoje em dia são comercializadas. Um exemplo desse tipo de formulações é o Clorocil, um colírio contendo o antibiótico

Cloranfenicol, comercializado em Portugal. As possíveis vantagens das ciclodextrinas para administrações por via ocular são o aumento da estabilidade e a redução de alguns efeitos de irritação e desconforto causados por alguns fármacos. É importante reduzir a irritação ocular de uma formulação de modo a evitar o lacrimejar reflexo e uma consequente perda de fármaco. [1], [32], [33]

Existem outras formas farmacêuticas com RM $\beta$ -CD. O produto de administração nasal Aerodil consiste na associação da ciclodextrina referida com  $\beta$ -estradiol. Este complexo mantém as propriedades do estradiol, sendo eficaz na redução dos sintomas da menopausa. [32], [59], [60], [61], [62], [63]

Os produtos com RM $\beta$ -CD administrados por via nasal apresentam algumas vantagens relativamente a outras vias de administração. As ciclodextrinas usadas nestas formulações têm como principal objectivo aumentar a solubilidade aquosa dos fármacos lipofílicos. Por esta via de administração a absorção sistémica é directa, e o efeito de primeira passagem é reduzido. Os derivados metilados das ciclodextrinas aumentam assim a biodisponibilidade de alguns fármacos. As concentrações máximas no plasma são atingidas ao fim de 10-30 minutos, regressando aos valores basais ao fim de 2 horas [59]. Esta via de administração produz uma razão fisiológica entre estrone/estradiol. Vários estudos revelaram que esta forma farmacêutica de administração nasal é eficaz nos sintomas da menopausa em quatro semanas após o início do tratamento, continuando a melhorar os sintomas após as doze semanas [59]. [32], [33]

É importante referir que a toxicidade local das ciclodextrinas nas fossas nasais é muito baixa. No entanto é importante avaliar as formulações preparadas e confirmar que estas protegem a mucosa nasal quando administradas. [33]

- **Aplicações de derivados  $\beta$ -CD hidroxipropilados:**

As HP $\beta$ -CD estão disponíveis e registadas para administração oral, intravenosa, rectal e oftálmica. Os produtos mais comuns são as associações com Itraconazol (Sporanox®). HP $\gamma$ -CD está disponível em colírios com Diclofenac [64].

O Itraconazol é um fármaco do tipo triazol, que actua inibindo o citocromo P450 do fungo e inibindo a síntese de ergosterol, um componente essencial da membrana do fungo. Foi o primeiro composto a ser aprovado com forma farmacêutica para administração por via oral e actividade contra *Candida spp.* e *Aspergillus spp.*, os dois fungos mais comuns de causar patogenicidade no homem. Foi desenvolvida uma formulação de Itraconazol líquida para administração oral com o objectivo de combater algumas limitações das formas farmacêuticas anteriores. HP $\beta$ -CD foi o excipiente escolhido para esta formulação, tendo como objectivo o de melhorar a biodisponibilidade do fármaco. A forma oral, bem como a forma intravenosa, mostraram boa segurança e eficácia nos testes realizados. A formulação para administração por via oral está indicada em pacientes com estados febris e com suspeitas de infecção por fungos. A solução aquosa contém 10 mg por mL de Itraconazole, o que representa um melhoramento na solubilidade do fármaco. A formulação para administração intravenosa está também indicada para tratamento empírico e para blastomicose e histomicose. [32], [65], [66], [67]

- **Aplicações de derivados sulfobutilo-éter  $\beta$ -CD**

As SBE $\beta$ -CD foram os derivados de ciclodextrinas mais recentes a serem aprovados para formulações farmacêuticas. A estrutura peculiar destes derivados, na qual os grupos substituintes sulfobutilo-éter exercem repulsões electroestáticas mútuas, está na origem do posicionamento favorável à entrada da cavidade da ciclodextrina, aumentando o seu carácter hidrofóbico e a sua capacidade de complexação. As cadeias alquílicas de SBE $\beta$ -CD podem proporcionar regiões hidrofóbicas adicionais para a estabilização do complexo, contrabalançando os potenciais efeitos negativos da interferência estereoquímica. Estas cadeias alquílicas podem também facultar uma extensão da cavidade da ciclodextrina, com a qual as moléculas de fármaco podem interagir. É importante referir que os derivados  $\gamma$ -CD também estão disponíveis neste tipo de formulação. [31], [32]

Em 2002 foram introduzidas no mercado formulações com Voriconazol (antifúngico) e uma formulação para administração intramuscular de Ziprasidone (antipsicótico). O Voriconazol é efectivo contra *Candida spp.* e *Aspergillus spp.*, sendo também activo contra *Scedosporium* e *Fusarium spp.* [31], [32]

- **Ciclodextrinas em associação com outros transportadores**

As ciclodextrinas têm aplicações na concepção de outros sistemas de transporte de fármacos mais complexos. É possível associarem-se as ciclodextrinas a outros transportadores e sistemas, como lipossomas, microesferas, bombas osmóticas, péptidos, proteínas e nanopartículas. Por exemplo, nas ciclodextrinas associadas a lipossomas, o objectivo será conjugar as vantagens das ciclodextrinas, como o aumento da solubilidade do fármaco, com as vantagens dos lipossomas, nomeadamente o *drug targeting*. Formando-se os complexos solúveis em água, as ciclodextrinas permitem que os fármacos insolúveis se liguem à fase aquosa das vesículas, permitindo que mais fármacos se liguem aos lipossomas, melhorando o *drug targeting* e reduzindo a toxicidade. Com esta associação obtêm-se por exemplo formulações mais estáveis de Metronidazol e Verapamil. Além disso, o lipossoma consegue aprisionar melhor certos fármacos, como a Prednisolona, quando associados a derivados de ciclodextrinas como a HP $\beta$ -CD. A associação de ciclodextrinas com bombas osmóticas permite corrigir alguns defeitos destes sistemas, contribuindo para melhorar sua solubilidade. Já em associação com nanopartículas, as ciclodextrinas não só melhoram a solubilidade dos fármacos a encapsular, como melhoram a estabilidade fotolítica e hidrolítica, e aumentam a capacidade de encapsulamento da nanopartícula. [32]

### **4.3. Aplicações futuras das ciclodextrinas**

Existe um grande número de possibilidades muito interessantes para futuras aplicações de ciclodextrinas, incluindo novas utilizações para os derivados já desenvolvidos, bem como o desenvolvimento de novos derivados.

Até agora as ciclodextrinas têm sido utilizadas com mais frequência em moléculas com baixa massa molecular. No entanto crê-se que as ciclodextrinas possam ser úteis para melhorar as propriedades de formulações com proteínas, péptidos e oligonucleótidos. A HP $\beta$ -CD e outros derivados previnem a agregação de proteínas em solução, tais como a hormona do crescimento e IL-2. Soluções com insulina podem também ser estabilizadas contra degradação química e física através do uso de ciclodextrinas. Estas melhorias podem ser fruto da capacidade que as ciclodextrinas

têm em estabilizar as conformações proteicas através de interações com resíduos de aminoácidos acessíveis na molécula. [32]

No seguimento dos estudos realizados sobre ciclodextrinas e o seu emergente papel no processo de *drug delivery*, é possível também afirmar que as ciclodextrinas podem ser usadas na extração de compostos. As ciclodextrinas podem também alterar a distribuição de lípidos *in vivo*. Neste contexto, um estudo revelou que a HP $\beta$ -CD tem a capacidade de extrair colesterol das membranas de um vírus, ou mesmo remover o colesterol de células infectadas pelo vírus do HIV. Esta extração baixa dramaticamente a libertação de HIV e material viral. Estes resultados sugerem que a aplicação vaginal de HP $\beta$ -CD pode ser usada para a redução da transmissão de HIV [68]. Além disso, as ciclodextrinas podem reverter o bloqueio neuromusculares *in vivo* do rocurónio, formando complexos de adição com este relaxante do músculo esquelético. [32]

As ciclodextrinas têm vindo a ser combinadas com polímeros e fármacos de moléculas pequenas. Polímeros biodegradáveis contendo ciclodextrinas e antibióticos têm vindo a ser preparados, e mostram bons resultados no fabrico de fibras e filmes resistentes a bactérias [69], [70].

Além de todas estas novas combinações, novos derivados de ciclodextrinas têm sido descobertos [71]. Recentemente, ciclodextrinas contendo grupos amina queratinizados têm sido estudadas como agentes multifuncionais para aplicações oftálmicas [72]. Estes derivados com estas características podem solubilizar o fármaco de forma mais efectiva e actuar como agentes antibacterianos. [32]

- **Ciclodextrinas contendo polímeros:**

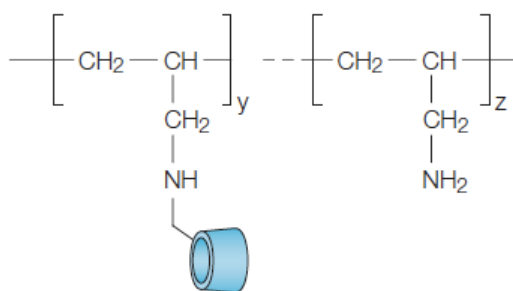
Estes sistemas são conhecidos há já algumas décadas. A sua utilização em aplicações farmacêuticas é estudada desde os anos 80. [73], [74], [75]

Os primeiros polímeros a serem preparados foram os que possuíam uma estrutura *crosslinked* [76]. A maioria destes polímeros são solúveis em água. Por exemplo, o complexo contendo o polímero epíclorohidrina e a  $\beta$ -CD acaba por ser mais solúvel em água que a própria  $\beta$ -CD. Estes foram os primeiros sistemas de ciclodextrinas

contendo polímeros a serem estudados para aplicações em *drug delivery*. Além deste polímero outros foram desenvolvidos e testados em complexos com ciclodextrinas para aplicações farmacêuticas, nomeadamente os diepóxidos e os diisocianatos. O complexo entre  $\beta$ -CD e diisocianato apresenta constantes de inclusão na ordem dos  $10^9 \text{ M}^{-1}$ , enquanto que os valores comuns para outros complexos rondam os  $10^3 \text{ M}^{-1}$ .<sup>[77]</sup> Estes valores reflectem a grande capacidade de ligação das ciclodextrinas quando organizadas em entidades supramoleculares.<sup>[32]</sup>

Alguns fármacos com poder antisséptico foram incorporados em polímeros de ciclodextrinas para o tratamento de feridas e queimaduras. Este polímero permite que o fármaco seja libertado de forma controlada no local da lesão, sem que ocorra uma inflamação do tecido circundante. Neste contexto têm sido desenvolvidos geles constituídos por dextransos de cadeia alquil modificada e epíclorohidrina reticulada, associados a uma ciclodextrina com polímeros e carregada com tamoxifeno. Esta cadeia quando em contacto com os polímeros formam complexos de inclusão com as ciclodextrinas. Com estes polímeros obteve-se um perfil de libertação de ordem zero para o tamoxifeno.<sup>[32]</sup>

Existem outras classes de ciclodextrinas com polímeros, nomeadamente aqueles que contém ciclodextrinas como anexo da cadeia base do polímero (Figura 7). Uma subclasse deste tipo de complexos são as ciclodextrinas anexadas a dendrímeros. Uma ou mais ciclodextrinas podem ligar-se a dendrímeros de vários tipos. Além disso, os dendrímeros podem ser sintetizados a partir da superfície da própria ciclodextrina.<sup>[32]</sup>



**Figura 7:** Polialilamina com ciclodextrina pendente<sup>[32]</sup>

Tendo em conta características como a variabilidade, flexibilidade, tamanho e propriedades químicas do complexo, estes polímeros com ciclodextrinas pendentes são fortes candidatos a vectores em *drug delivery*. Por serem polímeros com propriedades ajustáveis, como a solubilidade, carga, polaridade, etc., podem

facilmente ser usados para transporte de fármacos. Estes polímeros ligam-se aos fármacos formando complexos de inclusão, sendo que mecanismo de liberação do fármaco dependerá da característica do polímero. [32]

Em suma, pode-se afirmar que as ciclodextrinas são utilizadas para: melhorar solubilidade, melhorar biodisponibilidade, melhorar estabilidade, converter líquidos e óleos a pós amorfos, reduzir a evaporação e estabilizar sabores, reduzir odores e gostos, reduzir hemólise e prevenir incompatibilidades em misturas.

Apesar de a existência de ciclodextrinas e a sua utilização na indústria farmacêutica ser comum há já algumas décadas, apenas recentemente se começaram a explorar as suas aplicações para além da solubilização e estabilização de pequenas moléculas. Diz a história que a comercialização de ciclodextrinas funcionais tem vindo a crescer gradualmente, o que pode indicar que estas novas formas de ciclodextrinas possam ser bem sucedidas no futuro. As ciclodextrinas associadas a polímeros parecem estar a ter enorme interesse na indústria farmacêutica e a sua aplicação no transporte de fármacos para terapêutica farmacológica parece ser já uma certeza. [32], [33]

## 5. Cucurbiturilos

Há mais de um século atrás, quando Robert Behrend e os seus colaboradores estudavam reacções de condensação entre grupos glicoluril e formaldeído, em HCl concentrado, obtiveram uma misteriosa matéria esbranquiçada <sup>[78]</sup>. Apesar de não saber que material tinha sintetizado, Behrend observou que este se dissolvia em água na presença de tanto protões como iões alquilo, e formava facilmente complexos com metais e corantes orgânicos. Sem saber, Behrend tinha sintetizado um parente dos cucurbiturilos. Esta descoberta casual foi ganhando interesse e hoje em dia é um dos mais reconhecidos sistemas em Química Supramolecular. <sup>[79] [80] [81]</sup>

Após 75 anos de dormência, as investigações levadas a cabo por Mock e pelos seus colaboradores <sup>[82]</sup>, durante os anos 80, puderam mostrar que a matéria branca sólida consistia num hexâmero macrocíclicos, o cucurbit[6]uril (CB[6]), cuja forma era semelhante à de uma abóbora. A este hexâmero chamou-se cucurbiturilo por tratar-se do nome botânico para abóbora. Nos anos que se seguiram, as propriedades do CB[6] – alta afinidade, alta selectividade e capacidade de formação de complexos – foram delineadas pelos trabalhos pioneiros de equipas de pesquisa como os grupos de Mock <sup>[83]</sup>, Kim <sup>[84], [85]</sup>, e Buschmann <sup>[86]</sup>. As suas pesquisas levaram a estudos sobre possíveis aplicações para CB[6], como modificadores de solubilidade, enzimas artificiais e interruptores moleculares. <sup>[79], [80]</sup>

A família dos cucurbit[n]urilos (CB[n]) tem vindo a crescer, e outros análogos têm surgido (CB[5] - CB[10], excepto CB[9]), cujo tamanho, capacidade de inclusão e variedade de compostos reconhecidos ultrapassa as das já conhecidas ciclodextrinas. A sua forma, solubilidade e função desta molécula sintética podem ser um importante passo nas áreas da nanotecnologia e tecnologia farmacêutica. <sup>[80]</sup>

Hoje em dia estão a ser descortinadas possíveis aplicações para os cucurbiturilos, algumas delas de importância assinalável, que podem levar a que os cucurbiturilos se tornem moléculas comuns em futuras formulações farmacêuticas. <sup>[79]</sup>

## 5.1. Características gerais dos cucurbit[n]urilos

### 5.1.1. CB[6] – o primeiro homólogo sintetizado

Como foi referido anteriormente, só em 1981 se conseguiu uma caracterização completa do CB[6] por Mock et al. <sup>[82]</sup> CB[6] é uma molécula formada por seis unidades de glicolurilo, com um diâmetro de cavidade de aproximadamente 5.5 Å acessível do exterior por dois portais com grupos carbonilo de diâmetro 4.0 Å aproximadamente. Apesar do tamanho da cavidade ser algo semelhante ao da  $\alpha$ -CD, a estrutura simétrica do CB[6] com dois portais idênticos é uma das características estruturais que o distingue das ciclodextrinas. O interior hidrofóbico de CB[6] permite a formação de complexos de inclusão com hidrocarbonetos. No entanto, ao contrário das ciclodextrinas, este consegue formar complexos com grupos alquilo protonados e arilaminas. Uma das vantagens do CB[6] é a formação de complexos estáveis com um vasto leque de pequenas moléculas, especialmente com poliaminas, ligando-se a estas com elevada afinidade ( $K > 10^6 \text{ M}^{-1}$ ). <sup>[87], [88], [89]</sup>

O CB[6] apresenta no entanto algumas desvantagens. Em primeiro lugar, a sua solubilidade em solventes comuns, excepto em soluções aquosas fortemente ácidas, é extremamente baixa. A maioria dos complexos com cucurbiturilos têm sido estudados numa mistura de 1:1 de ácido fórmico e água. Assim sendo, a sua fraca solubilidade em solventes comuns cria sérias limitações às suas aplicações. Em segundo lugar, não se conhecem métodos que permitam introduzir grupos funcionais na molécula. Por exemplo, derivados glicolurilo com substituintes não conseguem obter produtos cíclicos na condensação com formaldeído. Excepção feita ao dimetilglicoluril, que consegue formar na reacção de condensação decametil-CB[5]. <sup>[87]</sup>

Até meados de 1990 não se conheciam mais homólogos para além de CB[6]. Esta era outra das desvantagens desta molécula sintética, porque outras moléculas como as ciclodextrinas ou calixarenos tinham vários derivados com diferentes capacidades de inclusão. No entanto, os estudos pioneiros de Kim et al permitiram descortinar novos homólogos de CB[6]. Estas novas moléculas sintetizadas, com cavidades menores e maiores que CB[6], permitiram criar uma nova onda de interesse em torno dos cucurbiturilos. <sup>[87]</sup>

### 5.1.2. Aspectos gerais da síntese:

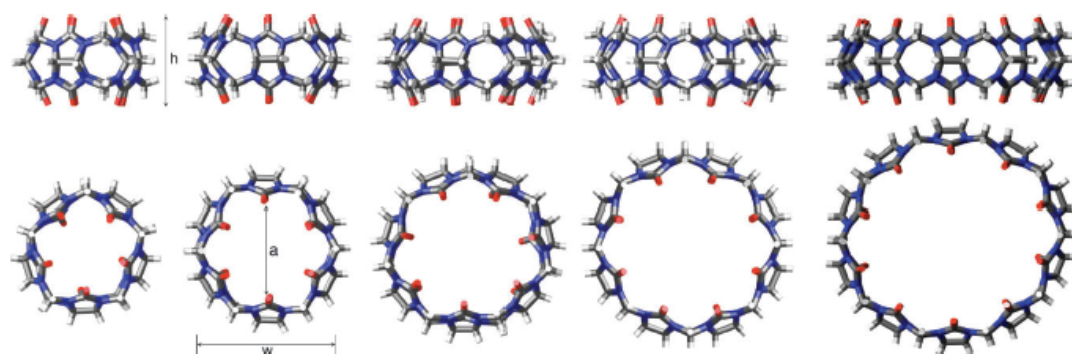
Na condensação de glicolurilo e formaldeído, nem Behrend et al.<sup>[78]</sup> nem Mock et al.<sup>[82]</sup> detectaram compostos macrocíclicos (homólogos) compostos por um número diferente de anéis glicoluril. Apenas passados 20 anos é que os grupos de Kim e Day obtiveram homólogos de CB[6], numa reacção com temperatura e cinética controladas.<sup>[80], [90], [91], [92]</sup>

O protocolo utilizado para sintetizar os homólogos CB[n] é muito semelhante ao utilizado para sintetizar CB[6]. Muito resumidamente, a reacção de condensação do glicolurilo com o formaldeído, numa proporção de 1:2, em 9 M de ácido sulfúrico, a uma temperatura de aproximadamente 75 – 90 °C durante 24h, permite a obtenção de uma mistura de homólogos da família CB[n]. A chave para a obtenção da mistura é a utilização de uma temperatura mais baixa do que a aplicada na síntese convencional de CB[6] (>110 °C). Através de RMN e espectrometria de massa conseguiu-se concluir que se obteve uma mistura de CB[n], nas proporções ~10 – 15% de CB[5], ~50 – 60% de CB[6], ~20 – 25% de CB[7], e ~10 – 15% de CB[8]. Os homólogos CB[n] são posteriormente separados na sua forma pura através de cristalização fraccionada e dissolução.<sup>[87]</sup>

### 5.1.3. Características estruturais

Os homólogos CB têm sido caracterizados através de vários métodos de espectrometria e cristalografia de raio-X. A Figura 8 mostra as estruturas ao raio-X das diferentes moléculas da família CB[n]. Para estas estruturas, diferentes parâmetros importantes, como o volume da cavidade, diâmetro do portal, da cavidade e altura foram calculados e resumidos no Quadro 4. Todos os parâmetros aumentam de forma sistemática com o aumento de n, o número de unidades glicolurílicas, com excepção da altura, que é semelhante em todas as moléculas da família (9.1 Å). O diâmetro da cavidade aumenta progressivamente de ~4.4 a ~8.8 Å, da mesma forma que o diâmetro do portal, que varia de ~2.4 a ~6.9 Å. Os volumes das cavidades também aumentam progressivamente, variando entre 82-870 Å<sup>3</sup>. É possível afirmar que os tamanhos da cavidade de CB[6], CB[7] e CB[8] são análogos aos de  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD, respectivamente. A cavidade de CB[6] no estado sólido contem 3 moléculas de

H<sub>2</sub>O ligadas por pontes de hidrogénio, que podem ser libertadas quando há ligação a outra molécula. As características que definem os análogos CB[5] - CB[10] são os dois portais alinhados por grupos carbonil, que permitem a entrada na cavidade hidrofóbica. O diâmetro dos portais é cerca de 2 Å menor que a cavidade em si, o que pode levar a que surjam barreiras à associação e dissociação de moléculas. [36], [80], [87], [93]



**Figura 8:** Estruturas dos cucurbit[n]urilos, CB[n] (n = 5, 6, 7, 8, 10, da esquerda para a direita) [93]

Uma das limitações da família CB[n] está relacionada com a sua fraca solubilidade em água. No entanto, esta varia com o valor de n, registando-se um facto curioso. Os homólogos CB[n] com n ímpar (n = 5, 7), dissolvem-se relativamente bem em água enquanto que os homólogos CB[n] com n par (n = 6, 8, 10), têm fraca solubilidade em água (em média  $<10^{-5}$  M). [93]

Por exemplo, o CB[7] tem uma solubilidade em água moderadamente boa ( $2 - 3 \times 10^{-2}$  M), que pode ser comparável à solubilidade de  $\beta$ -CD ( $1.6 \times 10^{-2}$  M). É importante referir que, no geral, a solubilidade da família CB[n] é menor que a das ciclodextrinas. No entanto, os CB[n] mostram ter boa solubilidade em solução aquosa em meio ácido, bem como em soluções aquosas com iões metálicos, e muitos complexos fármaco-CB[n] apresentam boa solubilidade em água. [80], [87]

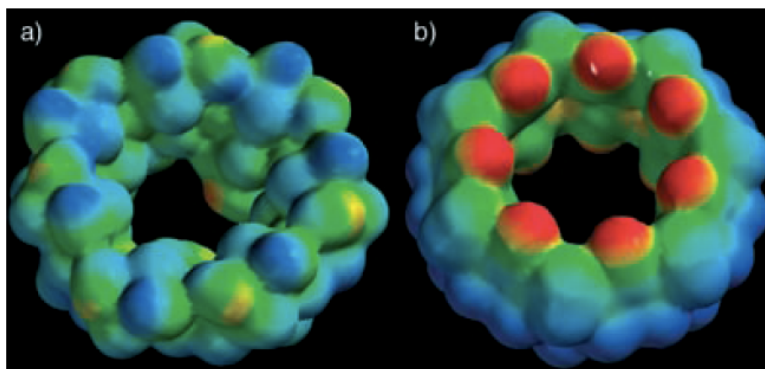
**Quadro 4:** estrutura, solubilidade, estabilidade, pKa em cucurbit[n]urilos e ciclodextrinas<sup>[80]</sup>

	<b>Mr</b>	<b>D. aro (Å)</b>	<b>D. cavidade (Å)</b>	<b>Espessura (Å)</b>	<b>Volume (Å<sup>3</sup>)</b>	<b>Solubilidade (mM)</b>	<b>Estabilidade (°C)</b>	<b>pKa</b>
CB[5]	830	2.4	4.4	9.1	82	20-30	>420	
CB[6]	996	3.9	5.8	9.1	164	0.018	425	3.02
CB[7]	1163	5.4	7.3	9.1	279	20-30	370	
CB[8]	1329	6.9	8.8	9.1	479	<0.01	>420	
CB[10]	1661	9.0-11.0	10.7-12.6	9.1	-	-	-	-
$\alpha$ -CD	972	4.7	5.3	7.9	174	149	297	12.332
$\beta$ -CD	1135	6.0	6.5	7.9	262	16	314	12.202
$\gamma$ -CD	1297	7.5	8.3	7.9	472	178	293	12.081

#### 5.1.4. Potencial electroestático

Os efeitos electroestáticos desempenham um papel crucial no reconhecimento molecular, tanto em solução aquosa como em solventes orgânicos.

Como foi mostrado anteriormente, o volume de cavidade dos CB[n] varia de forma semelhante ao volume das ciclodextrinas. No entanto existem algumas diferenças significativas entre as duas moléculas. Os grupos funcionais presentes nos portais das cavidades das duas moléculas são diferentes, conferindo a cada molécula um perfil de ligação diferente. Os grupos OH na entrada da cavidade das ciclodextrinas permitem uma ligação à molécula hóspede através de ligações hidrogénio. Por outro lado, os grupos carbonil nos portais das cavidades dos CB[n] permitem interações ião-dipolo e ligações de hidrogénio, e são capazes de coordenar com iões metálicos. Estas diferenças podem ser observadas através de perfis de potencial electrostático. Em 2003 foram reportados os mapas de potencial electrostático de superfície para CB[7], que mostram as zonas de potencial negativo (vermelho) perto dos portais ureidil C=O. O potencial electroestático do CB[7] nas cavidades e no portal é claramente mais negativo que o potencial de  $\beta$ -CD, como se pode ver na Figura 9. Esta diferença no potencial electrostático tem consequências no reconhecimento molecular: CB[n] interage preferencialmente com espécies catiónicas, enquanto que  $\beta$ -CD interage melhor com espécies aniónicas e neutras.<sup>[80], [87], [93]</sup>



**Figura 9:** Mapas de potencial electroestático para a)  $\beta$ -CD e b) CB[7]. Da cor azul para vermelho os valores estendem-se de 80 a 40 kcal.mol<sup>-1</sup> [80]

### 5.1.5. Mudanças de pKa e estabilidade da molécula hóspede

Uma propriedade dos cucurbiturilos que tem gerado algum interesse nestes últimos anos é a mudança de pKa e estabilidade da molécula hóspede por inclusão, devido às possíveis aplicações que esta pode ter. Alterando o pKa de um fármaco, consegue-se obter uma molécula mais estável e com melhores propriedades. [94]

Dois fármacos muito comuns no mercado, o Lanzoprazol e o Omeprazol, inibidores da bomba de prótons, foram complexados com CB[7]. Estes inibidores da bomba de prótons são benzimidazóis de relevante aplicação em medicina. Uma das principais limitações destes fármacos é a sua lenta conversão na forma cíclica sulfenamida, que acaba por ser a forma activa do fármaco que reage com os resíduos de cisteína da (H<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>) - ATPase, diminuindo a produção de ácido gástrico. Esta forma activa dimeriza-se e decompõe-se rapidamente em meio ácido, sendo esta outra das limitações do fármaco. A complexação com CB[7] proporciona um aumento significativo da activação e estabilização do fármaco. Em primeiro lugar, o CB[7] catalisa a formação da forma activa do fármaco. Em segundo lugar, CB[7] estabiliza a sulfenamida cíclica, havendo muito menos decomposição da molécula. Através de espectroscopia UV pode-se observar a cinética do fármaco em solução aquosa. Na ausência de CB[7], a forma activa degrada-se rapidamente a pH 2.9, com tempo de meia-vida de aproximadamente 60 minutos. Por outro lado, na presença de CB[7] (5mM), a sulfenamida torna-se bastante estável, sendo degradada com um tempo de meia vida de 3 semanas. É importante referir que o grau de estabilização da forma activa

depende da concentração de CB[7]. Assumindo que a decomposição depende linearmente da concentração da forma livre, estimou-se uma constante de ligação para o complexo de  $10^5 \text{ M}^{-1}$ . [94]

Em alguns estudos conseguiu-se mostrar que o homólogo CB[7] interage preferencialmente com iões amónio, levando a que ocorram mudanças de pKa. [95] Estas mudanças de pKa mostram que as constantes de equilíbrio e a cinética de associação e dissociação do complexo com CB[7] são altamente dependentes do pH do meio. Esta dependência da família CB[n] em relação ao pH pode ser útil na produção de dispositivos moleculares sensíveis a pH. [93]

### 5.1.6. Capacidade de complexação dos cucurbit[n]urilos

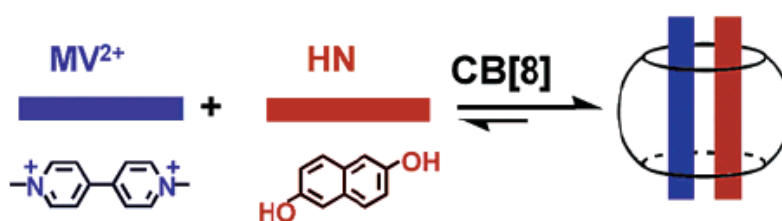
Os homólogos da família CB[n] partilham as mesmas características que CB[6], cavidade hidrofóbica e grupos carbonil polares em volta dos portais. No entanto, e devido ao tamanho dos portais e das cavidades, cada homólogo tem diferentes capacidades de complexação.

A relativa rigidez do CB[6] e a justaposição das regiões que favorecem a ligação de grupos com carga e a região que favorece os resíduos hidrofóbicos confere à molécula uma elevada selectividade de ligação. CB[6] forma complexos muito estáveis com diaminoalcanos protonados, e complexos relativamente estáveis com aminas aromáticas protonadas. Pode também encapsular moléculas neutras, como o tetrahydrofurano ou o benzeno, em solução aquosa. [80], [87]

CB[5], com uma cavidade de tamanho  $82 \text{ \AA}^3$ , é demasiado pequeno para se ligar a iões alquilamónio. CB[5] é apenas capaz de se ligar a moléculas mais pequenas, como alguns gases raros como Xe e Ar, ou outros gases como  $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$ , e alguns solventes (como por exemplo  $\text{CH}_3\text{CN}$  e  $\text{CH}_3\text{OH}$ ), na sua cavidade, e a alguns iões amónio nos seus portais. Dois iões  $\text{NH}_4^+$  podem selar completamente as duas aberturas de CB[5]. [80], [87], [93]

As propriedades de reconhecimento de CB[7] (Volume de cavidade =  $279 \text{ \AA}^3$ ) e CB[8] (Volume de cavidade =  $479 \text{ \AA}^3$ ), que têm volumes equivalentes a  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD, respectivamente, são bem mais interessantes [96]. CB[7] consegue encapsular uma

grande variedade de compostos aromáticos carregados positivamente. CB[7], por exemplo, forma um complexo 1:1 com um derivado do naftaleno, 2,6-bis(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)naftaleno (BDIN) e também com N,N'-dimetil-4,4'bipiridínio ( $MV_2^+$ ), um forte aceitador de electrões. Este também se consegue ligar a muitas moléculas de interesse a nível biológico, como alguns corantes, agentes anticancerígenos e metallocenos. A cavidade do CB[8] é semelhante em termos de volume à cavidade da  $\gamma$ -CD mas com uma conformação menos flexível. CB[8] comporta-se como uma versão maior de CB[5] – CB[7] em muitas situações, preferindo por exemplo ligar-se a catiões por interacções ião-dipolo, mas também apresenta um esquema de reconhecimento mais complexo. Além de conseguir reconhecer praticamente todas as moléculas que os seus homólogos CB[n] mais pequenos reconhecem, CB[8] consegue ainda complexar duas moléculas aromáticas ao mesmo tempo. A cavidade de CB[8] é suficientemente grande para poder incluir duas moléculas de BDIN, formando um complexo 1:2, ou mesmo duas moléculas diferentes ao mesmo tempo, como  $MV_2^+$  e HN, formando um complexo 1:1:1, como apresentado na figura 10. Existe uma forte transferência de carga no interior da cavidade entre  $MV_2^+$  e HN, sendo esta possível devido à proximidade das duas moléculas quando complexadas. Este fenómeno pode ser utilizado para detecção de compostos de importância biológica com cadeias aromáticas [80], [87]. [93]



**Figura 10:** Formação do complexo ternário  $MV_2^+.HN@CB[8]$ . [87]

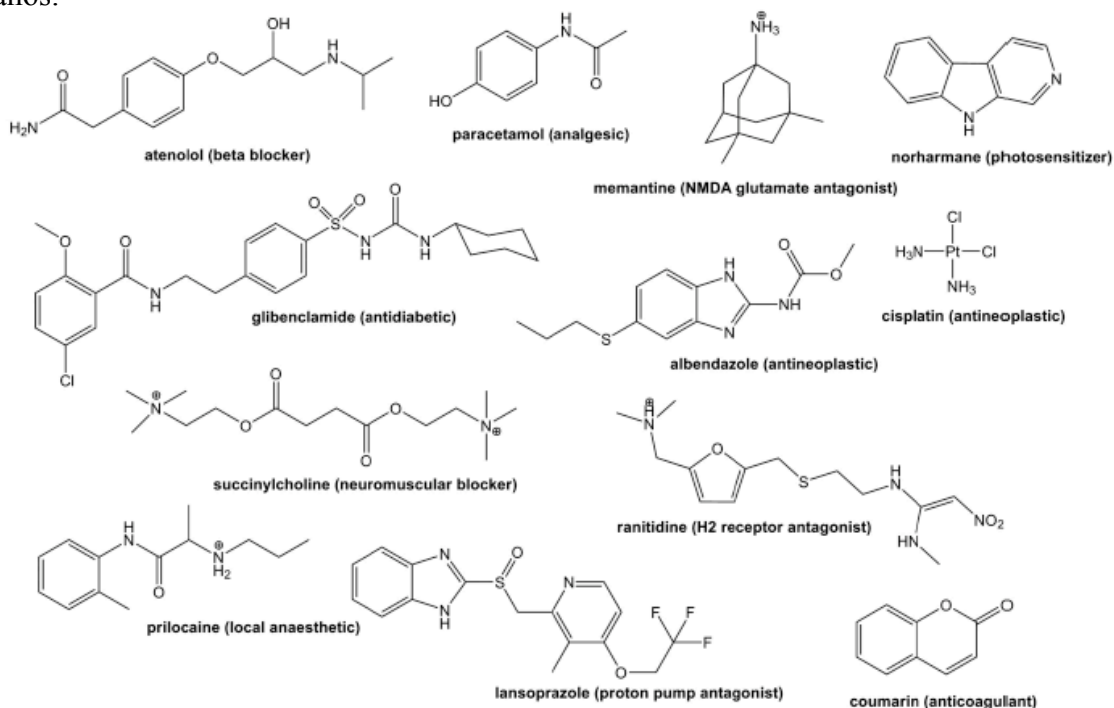
## 5.2. Os cucurbiturilos como excipientes farmacêuticos

Os cucurbiturilos têm sido apontados como possíveis moléculas de uso farmacêutico. Dada a sua excelente capacidade de encapsulação e maior afinidade e selectividade, é muito provável que possam ser desenvolvidos complexos que melhorem a biodisponibilidade de certos fármacos. A família CB[n] liga-se fortemente aos seus alvos (no geral com valores de  $K_a > 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) através da combinação do efeito hidrofóbico e de interacções ião-dipolo com os grupos ureidil C=O dos portais de CB[n]. E, mais importante ainda, a libertação da molécula encapsulada pode ser

influenciada por diversos estímulos, como a variação do pH do meio. Alguns estudos têm sido feitos com o objectivo de comprovar as vantagens dos cucurbiturilos nesta aplicação. [94] [97]

Uma das razões para que muitos fármacos não sejam aprovados para terapia provém da sua fraca biodisponibilidade. A biodisponibilidade é definida como sendo a fracção inalterada do fármaco que alcança a circulação sistémica após a sua administração. Existem muitos factores que influenciam a biodisponibilidade de um fármaco, como a sua solubilidade, estabilidade, capacidade de atravessar a membrana celular, toxicidade, distribuição, etc. Sabendo que muitos fármacos novos estão a falhar estes testes, torna-se pouco vantajoso investir-se no desenvolvimento de novos fármacos. Desta forma, o interesse da indústria tem sido o de melhorar a biodisponibilidade de candidatos a fármacos através da utilização de veículos de *drug delivery*. [97], [98]

A fase pré-clínica do desenvolvimento de um fármaco é um processo necessário para se testar as funcionalidades dos CB[n] como importante molécula em *drug delivery*. Esta é uma fase onde se testam algumas características importantes como a capacidade do fármaco em atravessar a membrana celular, estabilidade metabólica e uma série de estudos toxicológicos *in vitro* e *in vivo* para garantir a segurança em humanos. [97]



**Figura 11:** Exemplos de fármacos que formam complexos de inclusão com cucurbiturilos. [81]

### 5.2.1. Toxicidade dos cucurbit[n]urilos

Testou-se a toxicidade da família CB[n] nalgumas células como as células do rim (HEK293), hepatócitos (HepG2) e macrófagos (RAW264.7). Para estes testes escolheram-se dois compostos, o CB[5] e o CB[7], devido à sua boa solubilidade em água.<sup>[97]</sup>

Foram utilizados dois testes para se quantificar a toxicidade, o teste MTS [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio] que mede o metabolismo celular, e o teste AK (*Activated Killer*) que mede a morte celular pela libertação do enzima adenilatocinase no sobrenadante. Ambos os ensaios foram usados em três tipos de linhas celulares. As células HEK293, para se estudar o efeito do fármaco no sistema renal e HepG2, células do fígado onde o fármaco é metabolizado. Estas células são normalmente usadas em testes toxicológicos com fármacos. Também se testou a toxicidade nas células RAW264.7, abordadas mais à frente.<sup>[97]</sup>

Assim sendo, foram testados nestas linhas celulares a toxicidade da camptotecina, eritromicina, estolato de eritromicina, CB[5] e CB[7]. A eritromicina é um fármaco vulgarmente usado no tratamento de infecções bacterianas. O estolato de eritromicina é um derivado com maior toxicidade. Estes dois fármacos servem de ponto de comparação para os níveis de citotoxicidade dos contentores CB[n]. A camptotecina é utilizada como controlo positivo, pois é um fármaco usado no combate ao cancro, e que provoca morte celular pela inibição da topoisomerase I. No entanto apenas foram usadas nos estudos com RAW264.7 e HEK293, células que têm um tempo de replicação favorável para que se induza a morte celular por este mecanismo.<sup>[97]</sup>

Os testes foram feitos durante dois dias, com concentrações máximas de fármacos e CB[n] de 1 mM. A camptotecina reduz a viabilidade celular para 59%, a eritromicina reduz a 84% e o estolato de eritromicina reduz a viabilidade a 4%, para concentrações a 1mM. Quanto aos compostos da família CB[n], a viabilidade foi reduzida a 94% e 96% para CB[5] e CB[7] respectivamente. Estes resultados sugerem que os compostos da família CB[n] têm boa biocompatibilidade. Quanto ao teste AK, que mede a morte celular, nas células não tratadas houve 18% de morte celular, enquanto que para CB[5] e CB[7] registaram valores de 9 e 11% de morte celular

respectivamente. O estolato de eritromicina apresentou um grau de morte celular ainda maior que o controlo com camptotecina. [97]

Para as células do fígado, HepG2, os valores dos teste MTS e AK são semelhantes aos valores obtidos para as células HEK293. Para o CB[5] e o CB[7] obtiveram-se valores de viabilidade celular de 96 e 97% respectivamente. No teste AK obtiveram-se valores para morte celular de 22 e 24% para CB[5] e CB[7] respectivamente. [97]

Para testar a toxicidade nas células RAW264.7 escolheu-se o CB[7], o mais solúvel dos contentores em estudo, em ensaios MTS e AK. O CB[7] foi muito bem tolerado pelos macrófagos, apresentando uma viabilidade celular de 101%, a uma concentração de 1mM. No ensaio AK, as células não tratadas apresentaram um valor de 38% de morte celular, enquanto que com CB[7] obteve-se 30% de morte celular. [97]

Em suma, é possível afirmar que as células eucariotas toleram bem tanto CB[5] como CB[7], pelo menos nos testes *in vitro* realizados. A família CB[n] chega a apresentar valores de toxicidade mais favoráveis que outros nanocontentores, como os lipossomas, os dendrímeros e até mesmo as ciclodextrinas. Apesar de as ciclodextrinas serem estudadas desde os anos 70, e de apresentarem baixa toxicidade, estas têm capacidade de extrair o colesterol das membranas celulares, criando buracos que levam a citotoxicidade directa, em estudos *in vitro* com eritrócitos. Assim, este estudo revela que as moléculas CB[n] poderão desempenhar um papel importante em aplicações em *drug delivery*. No entanto é necessário fazerem-se testes *in vivo* para que se consigam chegar a conclusões mais concretas. [31], [32], [97]

### **5.2.2. Permeabilidade na membrana celular**

Além da baixa toxicidade, os CB[n] têm outras características que os tornam moléculas interessantes no transporte de fármacos. Segundo um estudo realizado por García et al., conseguiu-se concluir, por fluorescência, que CB[7] e CB[8] conseguem atravessar a membrana celular das células embrionárias de um rato. Usaram-se neste estudo dois corantes, o laranja da acridina (AO) e o pironina Y (PYY), pois são dois compostos que conseguem através a membrana, sendo absorvidos no citosol e causando posteriormente dano fotoquímico. Estes dois corantes podem atingir o

estado excitado quando irradiados com radiação UV, formando-se espécies reactivas de oxigénio. CB[8] consegue encapsular duas moléculas de corante na sua cavidade. Desta forma, a fluorescência apresentada por este complexo de inclusão é diferente da fluorescência do corante livre. Quando o complexo atravessa a membrana, não há variação na intensidade de fluorescência, indicando que os corantes atravessam a membrana encapsulados. Conclui-se assim que o complexo corante - CB[8] atravessa a membrana celular. [99]

### 5.2.3. Alguns fármacos alvos de estudo:

- **Oxaliplatina**

Um dos estudos realizados por Kim et al. [88] consistiu na encapsulação de oxaliplatina em CB[7], de modo a serem estudados os efeitos da formação deste complexo na estabilidade e actividade do fármaco. A cisplatina e a oxaliplatina são dois fármacos de grande interesse no tratamento de cancro colorectal avançado. Neste teste a oxaliplatina foi encapsulada em CB[7] e foi testada a sua estabilidade e efeito. Foi escolhido CB[7] devido à sua boa solubilidade em água. [88]

Preparou-se uma solução aquosa com oxaliplatina e CB[7] na proporção 1:1, resultando na formação de um complexo de inclusão. A formação deste complexo foi também comprovada através de análise RMN e por espectrometria de massa. [88]

A constante de associação medida a pH=7.2 foi de  $2.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ , um valor muito semelhante ao de outras moléculas que também se ligam a CB[7]. [88]

Para estudar a estabilidade cinética do complexo em água, foi levado a cabo um estudo 2D EXSY, um tipo de estudo RMN bidimensional a 273K. Foi obtido um valor de  $k$  de  $130 \text{ s}^{-1}$ , um resultado que indica que, apesar da forte ligação entre CB[7] e a oxaliplatina, o fármaco pode ser libertado do CB[7] de forma lenta. [88]

O complexo oxaliplatina@CB[7]. torna-se um complexo muito estável devido ao efeito sinérgico entre as ligações por pontes de hidrogénio e as interacções hidrofóbicas na cavidade de CB[7]. Aliás, é possível afirmar que a estabilidade da oxaliplatina melhora quando incorporada em CB[7]. Uma vez dissolvida em água, a oxaliplatina é estável durante 6h à temperatura ambiente, e durante 24h em meio

refrigerado. Por outro lado, o complexo de inclusão formado é estável mesmo a temperaturas e pressões elevadas. [88]

Foi também testada a reactividade do complexo de inclusão com a cadeia de DNA, nomeadamente a ligação da oxaliplatina à guanosina. A reacção foi feita durante 6h a 310K e o sistema estudado por RMN. Após as 6h, 50% da guanosina não reagiu com a oxaliplatina livre. Por outro lado, 72% da guanosina não reagiu com o complexo de inclusão. Estes resultados indicam que a reactividade da oxaliplatina é afectada quando esta se encontra complexada com o CB[7]. Pode assim afirmar-se que a citotoxicidade do fármaco decresce quando este se encontra encapsulado em CB[7]. [88]

Duma comparação feita entre a cisplatina, a oxaliplatina e o complexo de inclusão, conclui-se que o complexo de inclusão com CB[7] é muito menos citotóxico para as linhas celulares em estudo do que os fármacos livres [100]. Existe também uma redução da actividade antitumoral do fármaco quando este se encontra complexado com CB[7]. [88]

Em suma, CB[7] pode formar complexos de inclusão estáveis com a oxaliplatina em solução aquosa. A encapsulação do fármaco com CB[7] resulta numa maior estabilidade do mesmo, um ligeiro decréscimo na reactividade com a guanosina, mas também existe um decréscimo dos efeitos adversos causados pelo fármaco. [87]

- **Etambutol**

Outros fármacos foram também alvo de teste quanto à sua biodisponibilidade quando inseridos num complexo de inclusão com CB[n]. Testou-se a bioactividade do fármaco etambutol (EMB) isolado e carregado no CB[7]. Usou-se *M. Smegmatis*, uma micobactéria não virulenta, como modelo para infecção dos macrófagos. As células RAW264.7 foram então infectadas por *M. smegmatis* e tratadas durante 3 dias com EMB e EMB@CB[7], e foi determinada a quantidade de bactéria viável. Conclui-se que não existe muita diferença entre a quantidade de bactéria viável no tratamento com EMB e EMB@CB[7], o que pode indicar que CB[7] não afecta a capacidade antibacteriana do EMB. [97]

- **Albendazol**

O albendazol (ABZ) é um fármaco conhecido pelo seu largo espectro antiparasitário. Recentemente conheceram-se novas aplicações para o ABZ, nomeadamente a sua capacidade antitumoral por ligar-se à  $\beta$ -tubulina, um alvo comum de muitos fármacos com estas propriedades, inibindo a polimerização dos microtúbulos <sup>[101], [102], [103], [104]</sup>. Têm-lhe sido atribuídas outras aplicações, como tratamento de cancro do cólon e ovários, leucemia e hepatocarcinoma. <sup>[105]</sup>

Apesar de contar com todas estas aplicações, a solubilidade de ABZ é muito reduzida (0.983  $\mu$ M). Foram então testados complexos de inclusão com CB[6], CB[7] e CB[8] contendo ABZ, a pH 3.0. Conseguiu-se observar um aumento de solubilidade do fármaco, chegando a atingir valores máximos após 24h de 6.0 mM, quando complexado com CB[7], a pH 3.0 ou pH 6.6. No entanto este valor só é obtido quando o complexo é inicialmente preparado a pH 3.0. É interessante referir que, devido à diferença de volume das cavidades dos vários homólogos CB[n] usados, a orientação de ABZ na molécula hospedeira varia. Tal como aconteceu com a oxaliplatina, a actividade de ABZ encapsulado em CB[7] é menor do que a actividade de ABZ livre. No entanto, a encapsulação permite proteger o ABZ de agentes degradantes. A encapsulação de ABZ em homólogos CB[n] permite assim a obtenção de uma formulação para possíveis aplicações clínicas. <sup>[105]</sup>

A formulação de complexos fármaco@CB[n] pode significar uma melhoria da estabilidade de muitos fármacos. A encapsulação de vários fármacos como o paracetamol, memantina, atenolol, entre outros, resulta num aumento considerável do ponto de fusão da formulação farmacêutica. <sup>[81]</sup>

#### **5.2.4. Formas farmacêuticas contendo cucurbit[n]urilos**

Os cucurbiturilos, comparativamente a outras moléculas como as ciclodextrinas ou os calixarenos, têm uma solubilidade em água relativamente baixa. No entanto, a sua solubilidade nalguns fluidos biológicos é mais alta do que o esperado. Existem cinco fluidos presentes no corpo humano onde os complexos fármaco@CB[n] conseguem

dissolver-se e serem transportados para o local de interesse: plasma sanguíneo, saliva, sucos gástrico e intestinal, e fluidos nasais. A concentração de sais e ácidos presentes nestes fluidos permite uma boa solubilização dos complexos fármaco@CB[n] <sup>[106]</sup>. No entanto é importante referir que os catiões presentes nestes fluidos podem ligar-se aos portais dos cucurbiturilos e actuarem como “tampas”, dificultando a libertação do fármaco no local desejado <sup>[107]</sup>. Serão necessários mais estudos nesta área para que se possa averiguar o real efeito destas ligações na libertação do fármaco. <sup>[81]</sup>

Além da solubilidade inerente aos cucurbiturilos, um fármaco pode ter a capacidade de aumentar a solubilidade de CB[n] quando se forma o complexo, ou CB[n] pode contribuir para o aumento de solubilidade do fármaco. Alguns complexos de platina, usados no combate ao cancro, melhoram significativamente a solubilidade de CB[8] quando se forma o complexo de inclusão, enquanto que o CB[6], CB[7] e CB[8] melhoram significativamente a solubilidade do albendazol, de 3 µM para 2-7 mM, dependendo do cucurbiturilo usado. Da mesma forma, a solubilidade do benzimidazol é também melhorada quando complexado com cucurbiturilos. Tendo em conta estas características, algumas, vias de administração foram exploradas. <sup>[81], [99]</sup>

A via oral é a via de administração mais comum e com maior grau de aceitação por parte dos pacientes. É a via mais segura e simples para a administração de fármacos que consigam superar o ambiente do tracto gastrointestinal. Foi então testada a utilização de CB[6] microcristalino como excipiente num comprimido. 50% dos excipientes da formulação era CB[6], sendo os restantes excipientes a lactose (diluyente), Avicel (compactação), talco (lubrificante), estearato de magnésio (lubrificante) e Ac-Di-Sol (desintegrante). Esta formulação origina um comprimido com rigidez, com bom tempo de desintegração, superfície lisa e com melhores resultados nos testes de friabilidade. <sup>[81]</sup>

Registaram-se interacções entre o CB[6] com o estearato de magnésio e a lactose, nomeadamente alterações no ponto de fusão e na entalpia destes compostos. Análises por RMN das soluções contendo estes três excipientes mostram que não existe encapsulação nem de estearato de magnésio nem de lactose por parte de CB[6]. Assim sendo, existe a possibilidade de estas interacções no estado sólido serem resultado de ligações de hidrogénio entre os grupos hidroxilo da lactose e os portais

de CB[6], e do efeito hidrofóbico entre as cadeias de estearato de magnésio e as regiões metileno de CB[6].<sup>[81]</sup>

A boa solubilidade de CB[6] no fluido nasal faz com que os cucurbiturilos sejam bons candidatos a excipientes em formulações para administração nasal. Até agora foi possível produzirem-se formulações baseadas em polímeros, uma com hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e outra com carboximetilcelulose de sódio (NaCMC). A dissolução de CB[6] na matriz hidratada de NaCMC é facilmente atingida devido à complexação do cucurbiturilo com os cátions de sódio. Por outro lado, HPMC não dissolve CB[6], no entanto esta pode ser possível quando adicionado NaCl.<sup>[81]</sup>

- **Associação com nanopartículas**

Como já foi referido anteriormente, um dos grandes problemas que afecta o tratamento do cancro com fármacos hidrofóbicos prende-se com a fraca solubilidade em meio aquoso dos mesmos, bem como a sua falta de especificidade. Já foi comprovado que a associação com CB[n] permite melhorar algumas propriedades destes fármacos, mas novas associações têm vindo a ser testadas.<sup>[89]</sup>

Recentemente têm sido desenvolvidas novas formulações que conjugam CB[n] e alguns vectores utilizados em *drug delivery*. Têm sido sintetizadas formulações baseadas na associação de um derivado de CB[6] e polímeros de nanopartículas (NPs), e as suas aplicações têm vindo a ser exploradas<sup>[108]</sup>. Estas associações CB[6]NPs podem servir de excelentes veículos para o transporte de fármacos hidrofóbicos. Em CB[6]NPs, os fármacos hidrofóbicos podem ser carregados nas NPs, veículos com excelente capacidade e eficiência. A superfície do fármaco pode ser facilmente modificada de uma forma não-covalente, através das interações estabelecidas entre CB[6] e os derivados de poliaminas. Além disso, um fármaco complexado com CB[6]NPs pode chegar mais facilmente à célula cancerígena, havendo posteriormente endocitose mediada por um receptor e libertação no citoplasma, o que melhora os efeitos do fármaco.<sup>[89]</sup>

Conseguiu-se demonstrar o potencial de CB[6]NPs em *drug delivery* para tratamento de células HeLa do carcinoma do ovário através de um estudo *in vitro* usando um

corante, Nile Red, como modelo para o fármaco hidrofóbico <sup>[109]</sup>. Para isso utilizaram-se marcadores fluorescentes ligados a CB[6]NPs de modo a se poder observar o seu percurso na célula. A molécula hospedeira foi “decorada” com conjugados folato-espermidina, pois apenas assim esta consegue entrar na célula por endocitose, o que sugere que o mecanismo de entrada de CB[6]NPs seja mediado por receptores sensíveis ao folato. Após 1h de incubação conseguiu-se observar o corante espalhado por toda a célula, enquanto que CB[6]NPs se acumula nos endossomas. Não se conhece o mecanismo de libertação do fármaco hidrofóbico, no entanto, tendo em conta que este se liberta facilmente da molécula hospedeira, é muito provável que este seja um método com fortes possibilidades de ser aplicado em *drug delivery* no futuro. <sup>[89]</sup>

Desde que, em 2004, quando começaram os testes de cucurbiturilos em *drug delivery*, que as suas aplicações neste campo não param de aumentar. Os cucurbiturilos mostram grande potencial como excipientes de formulações farmacêuticas por diversas razões. Apesar de já se conhecer com algum detalhe o mecanismo de formação dos complexos fármaco@CB[n], muito ainda está por descobrir sobre os órgãos alvo destas moléculas e o seu metabolismo no corpo. Além disso, não se conhecem os efeitos tóxicos de uma utilização crónica dos cucurbiturilos. A estas questões junta-se a necessidade de se conseguirem obter formulações cristalinas de todos os homólogos sintetizados, algo que ainda não é possível. São necessários mais estudos no que toca à estabilidade a longo prazo dos complexos com cucurbiturilos. Por fim, apenas agora começou o desenvolvimento das doses ideais para humanos. Muitas formulações farmacêuticas necessitam de ser exploradas para que se tire o máximo partido dos cucurbiturilos. <sup>[81]</sup>

## 6. Conclusão Geral

Muitas são as tecnologias disponíveis para melhorar o transporte de fármacos. Diferentes vectores têm diferentes formas de encapsulação da molécula, mas todos eles contribuem para melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade do princípio activo em questão. Tendo em conta a via de administração é escolhido o vector mais adequado.

Os princípios da Química Supramolecular constituem os pontos chave no desenvolvimento de macromoléculas capazes de formarem complexos de inclusão com fármacos. As ciclodextrinas, já comuns em formulações farmacêuticas comercializadas, apresentam boas soluções para muitos dos desafios apresentados em terapêutica farmacológica. Concluiu-se que estas melhoram algumas propriedades de fármacos com fraca solubilidade, sendo capazes de encapsular diversas moléculas de diferentes tamanhos. O desenvolvimento de derivados de ciclodextrinas tem permitido a obtenção de macromoléculas com propriedades especializadas para cada tipo de administração e para cada tipo de célula alvo.

Os cucurbiturilos são uma linha relativamente recente de macromoléculas sintéticas, e as suas possíveis aplicações farmacêuticas têm vindo a ser estudadas nos últimos anos. São muitas as características que os tornam fortes candidatos a vectores medicamentosos. O facto de conseguirem encapsular uma grande variedade de moléculas, a capacidade de melhorar a solubilidade e biodisponibilidade de certos fármacos, a sua aparente não toxicidade e capacidade de atravessarem a membrana celular são algumas das características essenciais para aplicações em *drug delivery*. A sua capacidade de inclusão de derivados platinados pode ser um sinal para uma utilização em tratamentos anti-tumorais <sup>[110]</sup>. A relativa dificuldade que o cucurbiturilo tem para libertar certos fármaco constitui ainda uma limitação ao seu uso, mas sabe-se no entanto que uma variação de pH pode contribuir para a libertação da molécula encapsulada <sup>[111]</sup>. A utilização de cucurbiturilos em futuras formulações farmacêuticas é cada vez mais uma certeza.

## 7. Bibliografia:

- [1]. Sahoo S, Dilnawaz F, Krishnakumar S, Nanotechnology in ocular drug delivery, *Drug Discovery Today* 2008, 13(3/4), 144-51
- [2]. Lehn J. M., *Supramolecular chemistry – scope and perspectives molecules – supermolecules – molecular devices*, Nobel lecture, 1987, 444-91
- [3]. Lehn J. M., *Supramolecular chemistry concepts and perspectives*, VCH 1995
- [4]. Grayson SM, Godbey WT. The role of macromolecular architecture in passively targeted polymeric carriers for drug and gene delivery. *Journal of Drug Target*. 2008; 16(5):329-56
- [5]. Prista L., Alves A., Morgado R., *Tecnologia Farmacêutica III Volume*, Fundação Caloust Gulbenkian, Maio 1996, 2065-82
- [6]. Sharma J., Kalra S., Sharma A., Rani S., *Colloidal Drug Carriers*. *The Internet Journal of Family Practice*. 2010; 9 n° 2
- [7]. Cheng Y, Xu Z, Ma M, Xu T. Dendrimers as drug carriers: applications in different routes of drug administration. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008; 97(1):123-43.
- [8] Milhem OM, Myles C, McKeown NB, Attwood D, D'Emanuele A. Polyamidoamine Starburst (R) dendrimers as solubility enhancers. *Int. J. Pharm*. 2000. 197:239–241
- [9] Cheng YY, Xu TW. Solubility of nicotinic acid in polyamidoamine dendrimer solutions. *Eur J Med Chem* 2005; 40:1384–1389.
- [10] Kolhe P, Misra E, Kannan RM, Kannan S, Lieh- Lai M. Drug complexation, in vitro release and cellular entry of dendrimers and hyperbranched polymers. *Int J Pharm* 2003; 259:143–160
- [11] Chauhan AS, Sridevi S, Chalasani KB, Jain AK, Jain SK, Jain NK, Diwan PV. Dendrimermediated transdermal delivery: Enhanced bioavailability of indomethacin. *J Control Release* 2003; 90:335–343.
- [12] Cheng YY, Xu TW, Fu RQ. Polyamidoamine dendrimers used as solubility

enhancers of ketoprofen. *Eur J Med Chem.* 2005; 40:1390–1393

[13] Moghimi SM, Bonnemain B. Subcutaneous and intravenous delivery of diagnostic agents to the lymphatic system: Applications in lymphoscintigraphy and indirect lymphography. *Adv Drug Deliv Rev* 1999; 37:295–312

[14] Markman M. Intraperitoneal antineoplastic drug delivery: Rationale and results. *Lancet Oncol* 2003; 4:277–283

[15] Di Venosa G, Casas A, Battah S, Dobbin P, Fukuda H, Macrobert A, Batlle A. Investigation of a novel dendritic derivative of 5-aminolaevulinic acid for photodynamic therapy. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38:82–91

[16] Wu G, Barth RF, Yang WL, Chatterjee M, Tjarks W, Ciesielski MJ, Fenstermaker RA. Sitespecific conjugation of boron-containing dendrimers to anti-EGF receptor monoclonal antibody cetuximab (IMC-C225) and its evaluation as a potential delivery agent for neutron capture therapy. *Bioconjug Chem* 2004; 15:185–194

[17] Yang WL, Barth RF, Adams DM, Ciesielski MJ, Fenstermaker RA, Shukla S, Tjarks W, Caligiuri MA. Convection-enhanced delivery of boronated epidermal growth factor for molecular targeting of EGF receptor-positive gliomas. *Cancer Res* 2002; 62:6552–6558

[18] De Jesus OLP, Ihre HR, Gagne L, Frechet JMJ, Szoka FC. Polyester dendritic systems for drug delivery applications: In vitro and in vivo evaluation. *Bioconjug Chem* 2002; 13:453–461.

[19]. Kratz F. Albumin as a drug carrier: design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles. *Journal of Controlled Release.* 2008, 132(3): 171-83.

[20] N. Desai, V. Trieu, Z. Yao, L. Louie, S. Ci, A. Yang, C. Tao, T. De, B. Beals, D. Dykes, P. Noker, R. Yao, E. Labao, M. Hawkins, P. Soon-Shiong, Increased antitumor activity, intratumor paclitaxel concentrations, and endothelial cell transport of cremophor- free, albumin-bound paclitaxel, ABI-007, compared with cremophor-based paclitaxel, *Clin. Cancer Res.* 2006; 12 1317–1324.

[21] P.L. Porter, E.H. Sage, T.F. Lane, S.E. Funk, A.M. Gown, Distribution of

SPARC in normal and neoplastic human tissue, *J. Histochem. Cytochem.* 1995; 43:791–800.

[22]. Hawkins MJ, Soon-Shiong P, Desai N. Protein nanoparticles as drug carriers in clinical medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2008, 60(8): 876-85

[23] Sessa G, Weissmann G. Phospholipid spherules (liposomes) as a model for biological membranes. *J Lipid Res.* 1968; 9(3):310-8

[24] Banghama D., Hill M., W., Miller N. G. A. Preparation and use of liposomes as models of biological membranes. *In Methods in membrane biology*, edited by E. D. Korn, Plenum Press, New York, 1974; 1: 1

[25] Talsma H., Preparation, characterization and stabilization of liposomes, *Pharm. Weekblad, Sci. Ed.*, 1992; 14: 332

[26] Enciclopédia Britannica, <http://www.britannica.com/>, 2007

[27] Wilding I. R., Pharmacoscintigraphic evaluation of oral delivery systems, partes I e II, *Pharm. Techn. Europe*, 1994

[28]. Husseini GA, Pitt WG. Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2008; 60(10): 1137-52.

[29] Villiers, A., 1891. Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique. *Compt. Rend. Acad. Sci.* 112, 536–538

[30] Freudenberg, K., Cramer, F., Plieninger, H., 1953. Verfahren zur Herstellung von Einschlussverbindungen physiologisch wirksamer organischer Verbindungen. Knoll A.-G. Chemische Fabriken, Germany, Patent No. 895,769, 5 November 1953

[31]. Veiga F, Pecorelli C, Ribeiro L, As Ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica, Minerva Coimbra, Julho 2006

[32]. Davis ME, Brewster ME. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. *Nature Reviews Drug Discovery.* Dezembro 2004; 3(12): 1023-35.

[33]. Rasheed A, Kumar C. K. A, Sravanthi, Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review, *Scientia Pharmaceutica*, Novembro 2008, 76: 567-98

- [34]. Messner M, Kurkov SV, Jansook P, Loftsson T. Self-assembled cyclodextrin aggregates and nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010; 387(1-2): pág. 199-208.
- [35]. Chen G, Jiang M. Cyclodextrin-based inclusion complexation bridging supramolecular chemistry and macromolecular self-assembly. *Chem Soc Rev*. 2011; 40(5): 2254-66
- [36]. Chen Y, Zhang Y, Liu Y, Molecular selective binding and nanofabrication of cucurbituril/cyclodextrin pairs, *Israel Journal of Chemistry* 2011; 51: 515-524
- [37] Fromming K. H., Szejtli J., *Cyclodextrins in Pharmacy*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1994
- [38] Szejtli J., Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry, *Chem. Rev.* 1998, 98:1743-53
- [39] Horiuchi Y. et al., Release control of theophylline by beta-cyclodextrin derivatives: hybridizing effect of hydrophilic, hydrophobic and ionizable beta-cyclodextrin complexes, *J. Control. Release*, 1991; 15: 177-183
- [40] Uekama K. et al. Cyclodextrin drug carrier systems. *Chem. Rev.* 1998, 98: 2045-76
- [41] Gergely V. et al, Toxicity studies of beta-cyclodextrin. In *International symposium on cyclodextrins*, 1, 1982
- [42] Szejtli J., Sebastyén G., Resorption, metabolism and toxicity studies on the peroral application of beta-cyclodextrin, 1979
- [43] Olivier P., et al, Subchronic toxicity of orally administered beta-cyclodextrin in rats, *J. Am. Col. Toxicol.* 1991; 10: 407-19
- [44] Frank D., et al, Cyclodextrin nephrosis in rat, *Am. J. Pathol.*, 1976, 83: 367-374
- [45] Szejtli J. *Cyclodextrins and their Inclusion Complexes*. Akademiai Kiado, Budapest, 1982
- [46] Uekama, K. & Otagiri, M. Cyclodextrins in drug carrier systems. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst*, 1987; 3: 1-40.

- [47] Uekama K, Ikegami K, Wang Z, Horiuchi Y, Hirayama F. Inhibitory effect of 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin on crystal-growth of nifedipine during storage: superior dissolution and oral bioavailability compared with polyvinylpyrrolidone K-30. *J Pharm Pharmacol.* 1992; 44: 73–78.
- [48] Prentis, R. A., Lis, Y. & Walker, S. R. Pharmaceutical innovation by seven UK-owned pharmaceutical companies (1964–1985). *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1988; **25**:387–396
- [49] Amidon, G. L., Lennernäs, H., Shah, V. P. & Crison, J. R. Theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.* 1995 **12**:413–420
- [50] Dressman, J. B., Amidon, G., Reppas, C. & Shah, V. P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharm. Res.* 1998; **15**:11–22
- [51] Ahr, G., Voith, B. & Kuhlmann, J. Guidance related to bioavailability and bioequivalence: European industry perspective. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 2000; **25**: 25–27
- [52] Loftsson, T., Brewster, M. E. & Masson, M. Role of cyclodextrins in improving oral drug delivery. *Am. J. Drug Deliv.*, (in the press)
- [53] Tsuboshima, M., Matsumoto, K., Aral, Y., Wakatsuka, H. & Kawasaki, A. Prostaglandins: synthetic and pharmaceutical studies and development. *Yakugaku Zasshi* 1992; **112**:447–469
- [54] Inaba, K. Application of cyclodextrin to prostaglandin formulation. *Denpun Kagaku* 1984; **31**:107–111
- [55] McEwen J. Clinical pharmacology of piroxicam- $\beta$ -cyclodextrin. Implications for innovative patient care. *Clin. Drug Invest.* 2000; **19** (Suppl. 2), 27–31
- [56] Woodcock B. G., Acerbi, D., Merz, P. G., Rietbrock, S. & Rietbrock, N. Supermolecular inclusion of piroxicam with  $\beta$ -cyclodextrin: pharmacokinetic properties in man. *Eur. J. Rheumatol. Inflamm.* 1983; **12**:12–28
- [57] Serni U. Rheumatic disease — clinical experience with piroxicam- $\beta$ -cyclodextrin.

Eur. J. Rheumatol. Inflamm. 1993; **12**:47–54

[58] Lee C. R. & Balfour, J. A. Piroxicam- $\beta$ -cyclodextrin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in rheumatic diseases and pain states. *Drugs* 1994; **48**:907–929

[59] Studd, J. et al. Efficacy and acceptability of intranasal 17  $\beta$ - estradiol for menopausal symptoms: randomized dose–response study. *Lancet* 1999; **353**: 1574–1578

[60] Pelissier, C. et al. Clinical evaluation, dose-finding and acceptability of Aerodiol, the pulsed estrogen therapy for treatment of climacteric symptoms. *Maturitas* 2001; **37**:181–189

[61] Gompel A. et al. Endometrial safety and tolerability of Aerodiol (intranasal estradiol) for 1 year. *Maturitas* 2000; **36**:209–215

[62] Panay, N., Toth, K., Pelissier, C. & Studd, J. Dose-ranging studies of a novel intranasal estrogen replacement therapy. *Maturitas* 2001; **38** (Suppl. 1), S15–S22

[63] Doren, M. et al. Therapeutic value and long-term safety of pulsed estrogen therapy. *Maturitas* 2001; **38** (Suppl. 1), S23–S30

[64] Mester, U. et al. A comparison of two different formulations of diclofenac sodium 0.1% in the treatment of inflammation following cataract-intraocular lens surgery. *Drugs R&D* 2002; **3**:143–151

[65] De Beule, K. & Van Gestel, J. Pharmacology of itraconazole. *Drugs* 2001; **61** (Suppl. 1), 27–33

[66] Slain, D., Rogers, P. D., Cleary, J. D. & Chapman, S. W. Intravenous itraconazole. *Ann. Pharmacother* 2001; **35**: 720–729

[67] Willems, L., Van der Geest, R. & De Beule, K. Itraconazole oral solution and intravenous formulations: A review of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J. Clin. Pharm. Ther* 2001; **26**, 159–169

[68] Graham, D., Chertova, E., Hilburn, J., Arthur, L. & Hildreth, J. E. K. Cholesterol depletion of human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency

virus with  $\beta$ -cyclodextrin inactivates and permeabilizes the virions: evidence for viron-associated lipid rafts. *J. Virol.* 2003; **77**: 8237–8248

[69] Huang, L. et al. Formation of antibiotic, biodegradable/ bioabsorbable polymers by processing with neomycin sulfate and its inclusion compound with  $\beta$ -cyclodextrin. *J. Appl. Poly. Sci.* 1999; **74**:937–947.

[70] Rusa, C. C. et al. Controlling the behaviors of biodegradable/bioadsorbable polymers with cyclodextrins. *J. Polym. Environ.* 2004; **12**:157

[71] Bom, A. et al. A novel concept of reversing neuromuscular block: chemical encapsulation of rocuronium bromide by a cyclodextrin-based synthetic host. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2002; **41**:266–270

[72] Kis, G., Schoch, C. & Bizec, J.-C. Quaternary ammonium cyclodextrins — molecules with a wide range of applications. 12th International Cyclodextrin Symposium (Montpellier, France), P-203, 2004 16–19

[73] Szeman, J. et al. Water soluble cyclodextrin polymers: their interaction with drugs. *J. Inclus. Phenom.* 1987; **5**:427–431

[74] Fenyvesi, E., Ujházy, A., Szejtli, J., Pütter, S. & Gan, T. G. Controlled release of drugs from CD polymers substituted with ionic groups. *J. Inclus. Phenom. Mol.* 1996; **25**:185–189

[75] Mocanu, G., Vizitiu, D. & Carпов, A. Cyclodextrin polymers. *J. Bioact. Compat. Pol.* 2001; **16**:315–342.

[76] Solms, J., & Egli, R. H. Harze mit Einschlusshohlräumen von cyclodextrin-struktur. *Helv. Chim. Acta* 1965; **48**:1225–1228

[77] Ma, M. & Li, D.-Q. New organic nanoporous polymers and their inclusion complexes. *Chem. Mater.* 1999; **11**:872–874

[78] Behrend R., Meyer E., Rusche F., *Justus liebig's Ann. Chem.*, 1905, 339:1-37

[79]. Nau W, Scherman O, The World of Cucurbiturils – From Peculiarity to Commodity, *Israel. Journal of Chemistry*, Guest Editorial, 2011; 51:492-94

- [80]. Lagona J, Mukhopadhyay P, Chakrabarti S, Isaacs L. The cucurbit[n]uril family. *Angewandte Chemie Int Ed Engl.* Agosto 2005; 44(31):4844-70
- [81]. Walker S, Oun R, McInnes F, Wheate N, The potential of cucurbit[n]urils in drug delivery, *Israel Journal of Chemistry* 2011; 51:616-24
- [82] W. A. Freeman, W. L. Mock and N.-Y. Shih, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, 103, 7367–7368; R. Behrend, E. Meyer and F. Rusche, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 1905, 339, 1–37
- [83] W. L. Mock, *Top. Curr. Chem.* 1995, 175:1 – 24.
- [84] J. W. Lee, S. Samal, N. Selvapalam, H.-J. Kim, K. Kim, *Acc. Chem. Res.* 2003, 36, 621 – 630.
- [85] K. Kim, *Chem. Soc. Rev.* 2002, 31:96 – 107.
- [86] R. Hoffmann, W. Knoche, C. Fenn, H.-J. Buschmann, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1994, 90:1507 – 1511
- [87]. Lee JW, Samal S, Selvapalam N, Kim HJ, Kim K. Cucurbituril homologues and derivatives: new opportunities in supramolecular chemistry. *Accounts of Chemical Research.* Agosto 2003; 36(8):621-30.
- [88]. Jeon YJ, Kim SY, Ko YH, Sakamoto S, Yamaguchi K, Kim K. Novel molecular drug carrier: encapsulation of oxaliplatin in cucurbit[7]uril and its effects on stability and reactivity of the drug. *Org Biomol Chem.* Junho 2005; 3(11):2122-5.
- [89]. Park KM, Suh K, Jung H, Lee DW, Ahn Y, Kim J, Baek K, Kim K. Cucurbituril-based nanoparticles: a new efficient vehicle for targeted intracellular delivery of hydrophobic drugs. *Chem Commun (Camb).* Janeiro 2009; (1):71-3.
- [90] J. Kim, I.-S. Jung, S.-Y. Kim, E. Lee, J.-K. Kang, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, K. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122:540 – 541
- [91] A. I. Day, A. P. Arnold, R. J. Blanch, B. Snushall, *J. Org. Chem.* 2001, 66:8094 – 8100.
- [92] A. I. Day, R. J. Blanch, A. P. Arnold, S. Lorenzo, G. R. Lewis, I. Dance, *Angew. Chem.* 2002, 114, 285 – 287; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41:275 – 277.

- [93]. Isaacs L. Cucurbit[n]urils: from mechanism to structure and function. *Chem Commun (Camb)*. Fevereiro 2009;(6):619-29.
- [94]. Saleh N, Koner AL, Nau WM. Activation and stabilization of drugs by supramolecular pKa shifts: drug-delivery applications tailored for cucurbiturils. *Angewandte Chemie Int Ed Engl*. 2008; 47(29):5398-401.
- [95] C. Marquez and W. M. Nau, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2001, 40, 3155–3160; J. Mohanty, A. C. Bhasikuttan, W. M. Nau and H. Pal, *J. Phys. Chem. B*, 2006, 110, 5132–5138; N. Saleh, A. L. Koner and W. M. Nau, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2008, 47, 5398–5401.
- [96] W. S. Jeon, K. Moon, S. H. Park, H. Chun, Y. H. Ko, J. Y. Lee, E. S. Lee, S. Samal, N. Selvapalam, M. V. Rekharsky, V. Sindelar, D. Sobransingh, Y. Inoue, A. E. Kaifer and K. Kim, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127:12984–12989.
- [97]. Hettiarachchi G, Nguyen D, Wu J, Lucas D, Ma D, Isaacs L, Briken V. Toxicology and drug delivery by cucurbit[n]uril type molecular containers. *PLoS One*. Maio 2010; 5(5):e10514.
- [98]. Bertram G. Katzung, *Farmacologia básica e clínica*, McGraw-Hill, Lange, 10ª edição.
- [99]. Montes-Navajas P, González-Béjar M, Scaiano JC, García H. Cucurbituril complexes cross the cell membrane. *Photochemical & Photobiological Science*. Dezembro 2009; 8(12):1743-7.
- [100] N. J. Wheate, A. I. Day, R. J. Blanch, A. P. Arnold, C. Cullinane and J. G. Collins, *Chem. Commun.*, 2004, 1424.
- [101] M. H. Pourgholami, L. Woon, R. Almajd, J. Akhter, P. Bowery and D. L. Morris, *Cancer Lett.*, 2001; **165**: 43.
- [102] M. H. Pourgholami, J. Akhter, L. Wang, Y. Lu and D. L. Morris, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2005, **55**:425.
- [103] M. H. Pourgholami, Z. Yan Cai, Y. Lu, L. Wang and D. L. Morris, *Clin. Cancer Res.*, 2006, **12**:1928.

- [104] A. Khalilzadeh, K. T. Wangoo, D. L. Morris and M. H. Pourgholami, *Biochem. Pharmacol.*, 2007, **74**:407.
- [105]. Zhao Y, Buck DP, Morris DL, Pourgholami MH, Day AI, Collins JG. Solubilisation and cytotoxicity of albendazole encapsulated in cucurbit[n]uril. *Organic & Biomolecular Chemistry*. Dezembro 2008; 6(24):4509-15.
- [106] [19] S. Walker, R. Kaur, F. J. McInnes, N. J. Wheate, *Mol. Pharm.* 2010, **7**:2166–2172.
- [107] S. D. Choudhury, J. Mohanty, H. Pal, A. C. Bhasikuttan, *J. Am. Chem. Soc.* 2010, **132**:1395–1401.
- [108] D. Kim, E. Kim, J. Kim, K. M. Park, K. Baek, M. Jung, Y. H. Ko, W. Sung, H. S. Kim, J. H. Suh, C. G. Park, O. S. Na, D. -k. Lee, K. E. Lee, S. S. Han and K. Kim, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2007, **46**, 3471.
- [109] E. R. Gillies and J. M. J. FreËchet, *Chem. Commun.*, 2003, 1640
- [110]. Wheate NJ, Buck DP, Day AI, Collins JG. Cucurbit[n]uril binding of platinum anticancer complexes. *Dalton Transactions*. Janeiro 2006; (3):451-8.
- [111] Carvalho CP, Uzunova VD, Da Silva JP, Nau WM, Pischel U. A photoinduced pH jump applied to drug release from cucurbit[7]uril. *Chem Commun (Camb)*. 2011; **47**(31):8793-5