

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
QUÍMICA**

LARISSA HELENA DA ROCHA MEIRA

**ESTUDO DA INTERAÇÃO E COMPETIÇÃO ENTRE O
DODECIL SULFATO DE SÓDIO E FÁRMACOS
ANTI-HIPERTENSIVOS COM BETA-CICLODEXTRINA**

LARISSA HELENA DA ROCHA MEIRA

**ESTUDO DA INTERAÇÃO E COMPETIÇÃO ENTRE O
DODECIL SULFATO DE SÓDIO E FÁRMACOS
ANTI-HIPERTENSIVOS COM BETA-CICLODEXTRINA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
Multicêntrico em Química de Minas Gerais como
requisito para a obtenção do grau de Doutor em
Química.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Barros de Sousa.

Itajubá, 2018

*Dedico este trabalho a Deus,
minha família e meu marido.*

AGRADECIMENTOS

Apesar de não haver palavras que expressem a gratidão que tenho e o amor que sinto quero primeiramente agradecer a Deus por me fortalecer, guiar meus pensamentos e ações, e por me presentear com pessoas maravilhosas que me ajudam com muito amor e gratuidade, obrigada pelo dom da minha vida, da minha família e dos meus amigos, o Senhor é tudo em minha vida. Para chegar neste momento tenho que agradecer a meus pais Geralda e Roberval, obrigada por todo exemplo de luta e determinação, por trabalharem honestamente para conquistar a vida, por me criarem e educarem no caminho certo e com valores cristãos, obrigada pelos não's, que me livraram do que era errado, e por todo sim, que me permitiu ser livre para escolher meus caminhos, vocês são a base da minha vida e meu porto seguro, minha sorte na vida é ser filha de vocês. Mãe você me disse que o maior presente que poderia me dar era a educação e o estudo, obrigada por valorizar o que realmente importa nesta vida, é por isso que hoje venço mais esta etapa. Agradeço também a meus irmãos, obrigada pela amizade ímpar e por me propiciarem momentos de descontração e amor e por todo exemplo que me dão. Agradeço a meu marido Joercio Renato, por acreditar em mim mesmo quando eu achava que não ia conseguir, por me apoiar em todos os momentos, por me ouvir e aguentar meus momentos de ansiedade, e acima de tudo por ser sinal de Deus em minha vida, por partilhar tudo comigo, momentos bons e ruins, alegria e tristezas e comemorar todas as vitórias. Obrigada a meus sogros, cunhados e sobrinhos, a família em geral é minha fonte de forças. Aos meus avós Sérvulo (*in memorian*) e Noalir (*in memorian*) que eu queria muito que estivessem presentes para dividir esta vitória comigo, obrigada pelo exemplo e pelo amor, sei que vocês estão na presença de Deus olhando por mim. Agradeço a meu orientador Fred, obrigada por ver em mim o potencial que não sabia que tinha, por ter paciência em me ensinar e confiar em mim, escolher você e a Ju como padrinhos de casamento foi resultado da admiração que tenho por vocês como pessoas e como casal. Obrigada a todos os meus amigos que o LSPS me trouxe, citar nomes seria muito extenso por que são muitos “irmãozinhos” que ganhei, e uma vez irmão sempre irmão, obrigada pelos cafezinhos e por todo apoio, seria muito difícil chegar até aqui sem a amizade e ajuda de vocês. Agradeço também a todos os meus amigos que me apoiaram e deram suporte com momentos de descontração. Agradeço a todos que participaram da minha educação, família, professores, catequistas e amigos, pois cada aula, conversa e exemplo de vida são um grande ensinamento e moldaram quem sou. Aos que me esqueci de agradecer peço desculpa, pois Deus me presenteou com muitas ajudas e apoios que não caberiam aqui para eu agradecer!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xviii
1 INTRODUÇÃO.....	2
1.1 ESTUDOS PRÉVIOS NA FORMULAÇÃO DE MEDICAMENTOS.....	2
1.2 MOLÉCULAS ESTUDADAS	4
1.2.1 LOSARTAN POTÁSSICO	4
1.2.2 ATENOLOL	5
1.2.3 DODECIL SULFATO DE SÓDIO	6
1.2.4 CICLODEXTRINAS	6
1.2.4.1 CICLODEXTRINAS EM FORMULAÇÕES MEDICAMENTOSAS	10
1.3 INTERAÇÕES INTERMOLECULARES NOS COMPOSTOS DE INCLUSÃO	12
1.4 ESTUDO TERMODINÂMICO DOS COMPOSTOS DE INCLUSÃO.....	13
1.5 CALORIMETRIA DE TITULAÇÃO ISOTÉRMICA.....	17
1.6 ANÁLISE CINÉTICA.....	19
1.7 OBJETIVOS GERAIS	21
1.7.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
2.1 CALORIMETRIA DE TITULAÇÃO ISOTÉRMICA.....	23
2.1.1 Experimento de interação entre duas moléculas.....	23
2.1.2 Experimento de competição pela cavidade da β CD	24
2.2 COMPOTOS DE INCLUSÃO	25
2.2.1 Método de Liofilização.....	25
2.2.2 Método de Mistura Mecânica	26
2.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER E REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (FTIR-ATR)	26
2.4 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	27
2.5 VARIAÇÕES ESTEQUIOMÉTRICAS	27
2.6 CINÉTICA	28
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO - CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL.....	30

3.2	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER E REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (FTIR-ATR)	30
3.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	37
3.3.1	SISTEMA SDS:βCD (1:1)	37
3.3.2	SISTEMA LOS:βCD (1:1)	40
3.3.3	SISTEMA ATE:βCD (1:1)	47
3.3.4	SISTEMAS TERNÁRIOS	54
	CAPÍTULO 4	60
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
	CARACTERIZAÇÃO TERMODINÂMICA	60
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO – CARACTERIZAÇÃO TERMODINÂMICA	61
4.1	CALORIMETRIA DE TITULAÇÃO ISOTÉRMICA	61
4.1.1	Sistemas Binários	61
4.1.2	Sistemas Ternários	79
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO – VARIAÇÕES ESTEQUIOMÉTRICAS E CINÉTICA	89
5.1	VARIAÇÕES ESTEQUIOMÉTRICAS	89
5.2	CINÉTICA	100
6	CONCLUSÕES	106
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Representação estrutural do losartan potássico (LOS.).	4
Figura 1.2 - Representação estrutural do atenolol (ATE).	5
Figura 1.3 - Representação estrutural do dodecil sulfato de sódio (SDS).	6
Figura 1.4 - Representação estrutural: (a) α -Ciclodextrina (CD); (b) Monômero da ciclodextrina, com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos. n = número de unidade de glicose	7
Figura 3.1 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR do SDS, da β CD e do CI SDS: β CD (1:1).	30
Figura 3.2 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR do LOS, da β CD e do CI LOS: β CD (1:1): a) espectro inteiro; b) expansão da região de 1540 a 650 cm^{-1} .	31
Figura 3.3 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR do ATE, da β CD e do CI ATE: β CD (1:1): a) espectro inteiro; b) expansão da região de 1520 a 650 cm^{-1} .	32
Figura 3.4 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR comparando os métodos de liofilização e mistura mecânica para o sistema SDS: β CD (1:1).	33
Figura 3.5 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR comparando os métodos de liofilização e mistura mecânica para o sistema LOS: β CD (1:1).	34
Figura 3.6 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR comparando os métodos de liofilização e mistura mecânica para o sistema LOS: β CD (1:1): a) comparação com espectro da β CD; b) comparação com espectro da β CD expansão da região de 1550 a 650 cm^{-1} .	35
Figura 3.7- Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR comparando os métodos de liofilização e mistura mecânica para o sistema ATE: β CD (1:1): a) comparação entre os sistemas; b) comparação com espectro da β CD; c) comparação com espectro da β CD expansão da região de 1200 a 650 cm^{-1} .	36
Figura 3.8 – Representação estrutural com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos: a) dodecil sulfato de sódio (SDS); b) monômero da ciclodextrina.	37
Figura 3.9 – Espectro de RMN ^1H do dodecil sulfato de sódio, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .	38

Figura 3.10 – Espectro de RMN ^1H do CI SDS: β CD (1:1), a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	39
Figura 3.11 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do CI SDS: β CD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	40
Figura 3.12– Representação estrutural com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos: a) losartan potássico (LOS); b) monômero da ciclodextrina.	40
Figura 3.13 - Espectro de RMN ^1H do losartan potássico, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	41
Figura 3.14 – Expansão do espectro de RMN ^1H do losartan potássico, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	42
Figura 3.15 – Mapa de contorno $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	43
Figura 3.16 – Mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	43
Figura 3.17 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	44
Figura 3.18 - Mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	44
Figura 3.19 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	45
Figura 3.20 - Espectro de RMN ^1H do CI LOS: β CD (1:1), a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	46
Figura 3.21 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do LOS: β CD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	47
Figura 3.22– Representação estrutural com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos: a) atenolol (ATE); b) monômero da ciclodextrina.....	47
Figura 3.23 - Espectros de RMN ^1H do atenolol, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O : a) espectro inteiro; b) expansão.	49
Figura 3.24 – Expansões do espectro de RMN ^1H do atenolol, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	50

Figura 3.25 – Mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC para o atenolol a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O : a) total; b) expansão.	51
Figura 3.26 - Mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC para o atenolol a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	52
Figura 3.27 – Espectro de RMN ^1H do CI ATE: β CD (1:1), a 400 MHz e a 25 °C, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	53
Figura 3.28 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do ATE: β CD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	54
Figura 3.29 - Espectro de RMN ^1H do CI SDS:LOS: β CD (1:1:1), a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	55
Figura 3.30 - Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do SDS:LOS: β CD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	56
Figura 3.31 – Espectro de RMN ^1H do CI SDS:ATE: β CD (1:1:1), a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	57
Figura 3.32 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do SDS:ATE: β CD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O	58
Figura 3.33 – Representação das prováveis estruturas dos CIs binários. Fote: Meira, <i>et al.</i> , 2018.	59
Figura 4.1 - Perfil da titulação entre β CD 12,00 mmol.L ⁻¹ e SDS 1,00 mmol.L ⁻¹ a 25 °C.....	62
Figura 4.2 - Perfil da titulação entre β CD 12,00 mmol.L ⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ a 25 °C.....	62
Figura 4.3 – Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ ; (■) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ ; b) β CD 10,00 mmol.L e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.	63
Figura 4.4 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ ; (■) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ ; b) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.	64
Figura 4.5 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ ; (■) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ ; b) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.	64
Figura 4.6- Perfil da titulação entre SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 0,50 mmol.L ⁻¹ a 25 °C.....	65

Figura 4.7 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	66
Figura 4.8 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) Água tipo I e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	66
Figura 4.9 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	67
Figura 4.10 – Representação esquemática de alguns tipos de compostos de inclusão que podem existir em equilíbrio.....	68
Figura 4.11 - Compensação do sistema SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 0,50 mmol.L ⁻¹	69
Figura 4.12 - Perfil da titulação a 25 °C para: a) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ em ATE 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) β CD 10,00 mmol.L ⁻¹ em ATE 0,50 mmol.L ⁻¹	70
Figura 4.13 - Perfil da titulação a 25 °C: a) ATE 10,00 mmol.L ⁻¹ em β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) ATE 10,00 mmol.L ⁻¹ em β CD 2,00 mmol.L ⁻¹ ; c) ATE 8,00 mmol.L ⁻¹ em β CD 2,00 mmol.L ⁻¹	71
Figura 4.14 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00; (■) ATE 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	71
Figura 4.15 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	72
Figura 4.16 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) Água tipo I e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	72
Figura 4.17 - Compensação do sistema ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹	73
Figura 4.18 - Perfil da titulação a 25 °C: a) LOS 20,00 mmol.L ⁻¹ em β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) LOS 30,00 mmol.L ⁻¹ em β CD 1,00 mmol.L ⁻¹	75
Figura 4.19 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) LOS 25,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) LOS 25,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) LOS 25,00 mmol.L ⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	75

- Figura 4.20 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I..... 76
- Figura 4.21 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I..... 76
- Figura 4.22 - Compensação do sistema LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹..... 77
- Figura 4.23 - Distância entre os hidrogênios nos sistemas: a) ATE: β CD; b) SDS: β CD e c) LOS: β CD..... 79
- Figura 4.24 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I..... 80
- Figura 4.25 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I..... 80
- Figura 4.26 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I..... 81
- Figura 4.27 – Comparação das titulações: (■) água tipo I e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹: a) 25 °C; b) 37 °C; c) 45 °C..... 81
- Figura 4.28 – Dinâmica molecular do sistema SDS:ATE: β CD: a) início em t = 0,00 ns; b) final em t = 9,35ns. 82
- Figura 4.29 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e LOS: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS: β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I..... 83
- Figura 4.30 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e LOS: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS: β CD 1,00 mmol.L⁻¹;

b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	83
Figura 4.31 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e LOS:βCD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L ⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.....	84
Figura 4.32 – Comparação das titulações: (■) água tipo I e LOS:βCD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e LOS 1,00 mmol.L ⁻¹ ; (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L ⁻¹ ; a) 25 °C; b) 37 °C; c) 45 °C.....	84
Figura 4.33 - Dinâmica molecular do sistema SDS:LOS:βCD: a) início em t = 0,00 ns; b) final em t = 9,35ns.	85
Figura 4.34 - Compensação do sistema: a) ATE:SDS:βCD; b) LOS:SDS:βCD	87
Figura 4.35 - Distância entre os hidrogênios do SDS e da :βCD nos sistemas: a) SDS:βCD; b) SDS:ATE:βCD e c) SDS:LOS:βCD.	87
Figura 5.1– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (1:2); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (1:2); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (1:2) após a subtração da interação com a água tipo I.....	90
Figura 5.2– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (1:3); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (1:3); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (1:3) após a subtração da interação com a água tipo I.....	90
Figura 5.3– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (1:4); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (1:4); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (1:4) após a subtração da interação com a água tipo I.....	91
Figura 5.4– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (2:1); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (2:1); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (2:1) após a subtração da interação com a água tipo I.....	93
Figura 5.5– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (3:1); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (3:1); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (3:1) após a subtração da interação com a água tipo I.....	93
Figura 5.6– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (4:1); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (4:1); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e βCD:LOS (4:1) após a subtração da interação com a água tipo I.....	94

Figura 5.7– Representação esquemática da formação de agregados moleculares de β CD.....	95
Figura 5.8– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e β CD:ATE (1:2); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (1:2); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (1:2) após a subtração da interação com a água tipo I.....	96
Figura 5.9– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e β CD:ATE (1:3); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (1:3); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (1:3) após a subtração da interação com a água tipo I.....	96
Figura 5.10– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e β CD:ATE (1:4); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (1:4); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (1:4) após a subtração da interação com a água tipo I.....	97
Figura 5.11– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e β CD:ATE (2:1); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (2:1); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (2:1) após a subtração da interação com a água tipo I.....	98
Figura 5.12 – Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e β CD:ATE (3:1); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (3:1); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (3:1) após a subtração da interação com a água tipo I.....	98
Figura 5.13– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e β CD:ATE (4:1); (■) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (4:1); b) SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ e β CD:ATE (4:1) após a subtração da interação com a água tipo I.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Características das ciclodextrinas.....	7
Tabela 2.1 - Relação titulante e titulado para ajuste das concentrações.....	24
Tabela 2.2- Relação titulante e titulado	24
Tabela 2.3- Relação titulante e titulado para o experimento de competição	25
Tabela 2.4 - Quantidades pesadas para os compostos de inclusão	26
Tabela 3.1 – Deslocamentos químicos (δ) para os hidrogênios da molécula de LOS e do CI LOS: β CD (1:1) e variação dos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$).....	46
Tabela 3.2 – Variação dos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$) dos hidrogênios de ATE no CI ATE: β CD (1:1).....	53
Tabela 3.3 – Variação dos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$) do CI SDS:LOS: β CD (1:1:1).....	55
Tabela 3.4 – Variação dos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$) no CI SDS:ATE: β CD (1:1:1).....	57
Tabela 4.1 - Parâmetros termodinâmicos do sistema β CD 10 mmol.L ⁻¹ em SDS 0,5 mmol.L ⁻¹	64
Tabela 4.2 - Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ β CD 1,00 mmol.L ⁻¹	67
Tabela 4.3 – Valores de constante de associação para CIs com ciclodextrinas à 25 °C	68
Tabela 4.4 - Parâmetros termodinâmicos do sistema ATE 20,00 mmol.L ⁻¹ em β CD 1,00 mmol.L ⁻¹	72
Tabela 4.5 - Parâmetros termodinâmicos obtidos por Buha, Baxi <i>et al.</i> (2012)	74
Tabela 4.6 - Parâmetros termodinâmicos do sistema LOS 25,00 mmol.L ⁻¹ em β CD 1,00 mmol.L ⁻¹	76
Tabela 4.7 - Parâmetros termodinâmicos obtidos por De Paula, <i>et al.</i> (2011).....	78
Tabela 4.8 - Valores da equação da reta para os sistemas binários	78
Tabela 4.9 - Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ em ATE: β CD 1,00 mmol.L ⁻¹	81
Tabela 4.10 - Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ em LOS: β CD 1,00 mmol.L ⁻¹	84
Tabela 4.11 – Valores da equação da reta para os sistemas ternários	87
Tabela 5.1 – Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ em β CD:LOS em diferentes estequiometrias a 25 °C	92

Tabela 5.2– Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ em βCD:LOS em diferentes estequiometrias a 25 °C	94
Tabela 5.3– Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ em βCD:ATE em diferentes estequiometrias a 25 °C	97
Tabela 5.4 – Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L ⁻¹ em βCD:LOS em diferentes estequiometrias a 25 °C	99
Tabela 5.5 – Parâmetros cinéticos da interação entre SDS e βCD em diferentes temperaturas	100
Tabela 5.6 – Parâmetros cinéticos do estudo de Nilsson <i>et al.</i> (2008).....	101
Tabela 5.7 – Parâmetros cinéticos da interação entre fármacos e βCD em diferentes temperaturas.....	101
Tabela 5.8– Parâmetros cinéticos do estudo de Guo <i>et al.</i> (2017)	102
Tabela 5.9 – Comparação dos parâmetros termodinâmicos - SDS 10 mmol.L ⁻¹ em βCD 1 mmol.L ⁻¹	103
Tabela 5.10– Comparação dos parâmetros termodinâmicos – LOS 25 mmol.L ⁻¹ em βCD 1 mmol.L ⁻¹	103
Tabela 5.11 – Comparação dos parâmetros termodinâmicos – ATE 20 mmol.L ⁻¹ em βCD 1 mmol.L ⁻¹	103

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

δ	Deslocamento químico
γ	Deformação angular fora do plano
ν	Estiramento
$\Delta\delta$ e $\Delta\delta\delta$	Variação do deslocamento químico
β CD	Beta-ciclodextrina
γ CD	Gama-ciclodextrina
α CD	Alfa-ciclodextrina
$[M]_t$	Concentração do titulado
$[X]_t$	Concentração total de titulante livre
ΔG	Variação da energia livre de Gibbs
ΔH	Variação de entalpia
ΔH_{dil}	Entalpia de diluição
ΔS	Variação de entropia
ATE	Atenolol
CA	<i>Clusters analysis</i>
CD	Ciclodextrina
CDs	Ciclodextrinas
CI	Composto de inclusão
CIs	Compostos de inclusão
CI_{bin}	Composto de inclusão binário

CI _{ter}	Composto de inclusão ternário
COSY	<i>Correlation sprectroscopy</i>
DCPD	Fosfato dicálcico desidratado
DEPT	<i>Distortioneless enhancement by polarization transfer</i>
DM β CD	Dimetil-betaciclodextrina
DPP1	Dipeptidil peptidase 1
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crónica
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i>
DTA	<i>Diferencial thermal analysis</i>
EM	Estearato de magnésio
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>
HMBC	<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i>
HP β CD	Hidroxipropil-beta-ciclodextrina
HSQC	<i>Heteronuclear single quantum correlation</i>
ITC	<i>Isothermal tritation calorimetric</i>
k _a	Constante de afinidade
k _d	Constante de dissociação
k _{on}	Constante cinética de interação
k _{off}	Constante cinética de dissociação
LB	Labraso
L-HPC	Hidroxipropilcelulose de baixa substituição

LOS	Losartan potássico
MCC	Celulose microcristalina
M β CD	Metil-betaciclodextrina
n	Estequiometria
NaCMV	Carboximetilcelulose de sódio
NaSG	Glicolato de amido sódico
OE	Oleato de etilo
PCA	<i>Principal component analysis</i>
PIOH	Pioglitazona
PL	<i>Plurol oleique</i>
PRUV	Estearil fumarato de sódio
PVP	Polivinilpirrolidona
PVPVA	Poli(1-vinilpirrolidona-acetato de co-vinila)
PXRD	<i>Power Xray diffraction</i>
q	Calor
RMN	Ressonância magnética nuclear
ROESY	<i>Rotating frame overhause effect</i>
SDS	Dodecil sulfato de sódio
T	Temperatura
TEA	Trietanolamina
NMP	1-metil-2-pirrolidona

TG	Termogravimetria
U	Energia interna
w	Trabalho

RESUMO

A análise prévia da compatibilidade entre os componentes de uma formulação farmacêutica é de relevante importância para garantir a biodisponibilidade, eficácia e segurança destes, uma vez que podem ocorrer interações não desejadas entre o fármaco e os excipientes, bem como entre os excipientes utilizados. Assim, no presente trabalho foi realizado um estudo da competição dos fármacos anti-hipertensivos losartan potássico (Karagiannis *et al.*) e atenolol (Patel *et al.*) com o excipiente dodecil sulfato de sódio (SDS) pela interação com a beta-ciclodextrina (β CD). Para isso, foram realizadas análises estruturais dos compostos binários LOS: β CD, ATE: β CD, SDS: β CD, e ternários SDS:LOS: β CD e SDS:ATE: β CD, para verificar a possível formação desses sistemas supramoleculares. A técnica de calorimetria de titulação isotérmica (ITC) foi utilizada com a finalidade de determinar os parâmetros físico-químicos da interação entre os fármacos e a β CD, o SDS e a β CD e entre os fármacos e o SDS, além da análise de competição entre o SDS e os fármacos pela β CD. Logo, a correlação nos mapas de contorno 2D-ROESY permitiram inferir a formação dos compostos de inclusão binários, sendo observada a interação da cadeia alquil do SDS com a β CD, dos anéis aromáticos do LOS com a β CD e da região aromática do ATE com a β CD. Já para os sistemas ternários a presença de correlação somente entre o SDS e a β CD foi observada, indicando o possível deslocamento dos fármacos da cavidade da β CD, contudo tais resultados não foram conclusivos. Assim, os resultados de ITC mostraram que o sistema SDS: β CD obteve maior constante de formação, indicando uma interação mais forte entre estas moléculas. Por isso, as análises de competição foram realizadas titulando-se o SDS nas soluções β CD:fármaco (1:1), sendo que os resultados de ITC indicaram o deslocamento do ATE, mas não do LOS na presença do excipiente, indicando a formação de um sistema supramolecular ternário. Logo, foram realizadas novas análises de ITC variando a estequiometria ora dos fármacos ora da β CD, sendo observado que mesmo com o aumento da concentração do ATE em relação à β CD, o SDS continua deslocando este fármaco da cavidade da β CD. Por fim, foi realizada a análise cinética da interação do SDS e dos fármacos com a β CD utilizando o software kinITC. Assim, foi observado que o SDS possui maior velocidade de interação com a β CD em relação aos fármacos. Além disso, o valor da constante cinética de associação foi maior do que a de dissociação em todos os sistemas estudados, indicando que a presença do composto de inclusão em solução é prevalecida em relação às moléculas livres.

Palavras-chave: Calorimetria de Titulação Isotérmica; Cinética; Sistemas Supramoleculares; Termodinâmica.

ABSTRACT

Prior compatibility analysis between components in a pharmaceutical formulation is of the most relevant research to ensure the bioavailability, efficacy and safety of these, since undesirable interactions can occur between the drug and the excipients, as well as among used excipients. Thus, in the present work the competition study of the antihypertensive drugs losartan potassium (Karagiannis *et al.*) and atenolol (Patel *et al.*) with the excipient sodium dodecyl sulfate (SDS) by the interaction with beta-cyclodextrin (β CD) was carried out. For this, structural analysis of the binary compounds LOS: β CD, ATE: β CD, SDS: β CD, and ternary ones SDS:LOS: β CD and SDS:ATE: β CD, to verify the possible formation of these supramolecular systems. Isothermal titration calorimetry (ITC) technique was used in order to determine the physical and chemical interaction parameters between drugs and β CD, SDS and β CD and between the drugs and SDS, besides the competition analysis between SDS and drugs by β CD. Therefore, the correlation in the 2D-ROESY contour maps allowed us to infer about the binary inclusion compounds formation, by the interaction of the SDS alkyl chain with β CD, the aromatic rings of the LOS with the β CD and the aromatic region of the ATE with the β CD cavity. For the ternary systems, only correlations between SDS and β CD were observed, indicating the possible shift of drugs from the β CD cavity by SDS molecule, however, these results are not conclusive. Thereby, ITC results demonstrated that the SDS: β CD system obtained a higher formation constant, indicating a stronger interaction between these molecules in solution. Hence, the competition analyzes were performed titrating the SDS in the β CD:drug solutions at (1:1), and the ITC results indicated the ATE shift from β CD cavity, which was not verified for LOS supramolecular system, indicating the formation of a system supramolecular ternary. Therefore, new analyzes of ITC were carried out by varying the stoichiometry of the drugs, sometimes by β CD, and it was observed that even with the increase of the ATE concentration in relation to β CD, SDS continues to displace this drug from the β CD cavity. Finally, kinetic analysis of the interaction of SDS and drugs with β CD using the kinITC software was performed. Thus, it was observed that SDS has a higher rate of interaction with β CD in relation to the drugs. In addition, the value of the association kinetic constant was higher than that of dissociation in all systems studied, indicating that the presence of the inclusion compound in solution is prevailing in relation to the free molecules.

Keywords: *Isothermal Titration Calorimetry; Kinetics; Supramolecular Systems; Thermodynamics.*

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESTUDOS PRÉVIOS NA FORMULAÇÃO DE MEDICAMENTOS

Medicamentos são compostos por um fármaco ou um pró-fármaco, sendo que este último é transportado *in vivo* em sua forma inativa, sofrendo uma biotransformação que resulta em sua forma ativa necessária (Albert, 1958; Chin e Ferreira, 1999; Rautio *et al.*, 2008; Huttunen e Rautio, 2011). Outros componentes presentes nas formulações são os excipientes farmacêuticos, os quais não possuem atividade biológica, sendo utilizados para diferentes finalidades, como garantir o peso, consistência e volume adequados para a administração do medicamento, auxiliando no transporte e liberação do princípio ativo, podendo ser classificados como diluentes, lubrificantes, agentes edulcorantes, entre outros, mas sempre com o propósito de garantir a eficácia, segurança, funcionalidade e qualidade do medicamento (Steinberg *et al.*, 1996; Baldrick, 2000; Pifferi e Restani, 2003).

Contudo, análises prévias da formulação são necessárias a fim de assegurar a estabilidade, segurança, eficácia e biodisponibilidade dos medicamentos, uma vez que os excipientes não são substâncias inertes, podendo haver interações físico-químicas entre o fármaco ou pró-fármaco e os excipientes, bem como entre os excipientes presentes na formulação, afinal estudos com este foco são relativamente recentes, visto que por muito tempo só se era estudada a segurança e biodisponibilidade do medicamento a partir do princípio ativo (Steinberg *et al.*, 1996; Baldrick, 2000; Pifferi e Restani, 2003; Panakanti e Narang, 2012; Sbârcea *et al.*, 2015; Blajovan *et al.*, 2016).

Neste contexto, Ferreira-Nunes *et al.* (2018) avaliaram a compatibilidade da catequina (CA), que possui atividades anticancerígenas, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidante, com os excipientes lipídicos labraso (LB), plurol oleique (PL.) e oleato de etilo (OE) comumente utilizados na preparação de micro e nanoemulsões. Os autores analisaram composições contendo 50 % de CA e um dos excipientes, 50 % de CA e 25 % de dois excipientes e 50 % de CA e 16,7 % de cada lipídeo. Eles observaram que o LB e PL, em suas respectivas misturas binárias, produziu uma interação térmica intensa com o CA, reduzindo sua temperatura de fusão, mas sem comprometer a estabilidade da mistura. Entretanto, na presença do OE, houve uma interação térmica intensa com o deslocamento da fusão do fármaco para uma menor temperatura, com uma evidente perda de estabilidade do sistema. Os autores atribuíram este acontecimento ao fato de o OE sofrer facilmente oxidação, sendo

propenso a reagir com agentes oxidantes, como CA e outros componentes da formulação, o que pode causar decomposição, o que explica a antecipação da decomposição da CA sob aquecimento (Ferreira-Nunes *et al.*, 2018).

Patel *et al.* (2018) estudaram sobre a importância do estudo prévio dos excipientes a serem usados focando no processo de desproporção de sal que pode ocorrer quando há uma troca iônica entre excipientes ácidos ou básicos com o princípio ativo em sua forma salina, o convertendo para sua forma livre, geralmente menos solúvel e, portanto, menos biodisponível. Para isso, os autores utilizaram o fármaco cloridrato de pioglitazona (PIOH – hipoglicêmico) como sal e o excipiente estearato de magnésio (EM) como agente básico, produzindo misturas ternárias do EM com um diluente (polivinilpirrolidona - PVP); poli(1-vinilpirrolidona-acetato de co-vinila) – PVPVA; sílica pirogênica ou manitol) e o PIOH. A análise de espectroscopia Raman mostrou que as misturas de ternárias contendo PVP apresentaram maior taxa de desproporção em relação às contendo PVPVA, mas quando comparados com as contendo manitol, os resultados mostraram um aumento da desproporção. Os autores também observaram que o aumento da quantidade de EM de uma razão relativa de 1:9 para 1:3 gerou quase o dobro da taxa de desproporção, devido a maior razão molar do excipiente básico para o do sal. Por fim, eles destacam os resultados obtidos com a sílica pirogênica, uma vez que esta se adere as partículas da superfície formando uma pequena camada que pode diminuir o contato entre EM e PIOH, atuando como uma barreira, ou ainda, a presença de grupos silanóis tornam o microambiente ácido, reduzindo a desproporção (Patel *et al.*, 2018).

Já Ludvigsson *et al.* (2018), estudaram possíveis combinações para um medicamento contendo o fármaco AZD7986 que é o primeiro inibidor oral da classe dipeptidil peptidase 1 (DPP1) com potencial uso no tratamento da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), sendo que seu monohidrato de base livre foi selecionado para o desenvolvimento da Fase 2 de uma forma para uso oral. Eles analisaram duas combinações diferentes de manitol/celulose microcristalina (Raghavan *et al.*) ou fosfato dicálcico desidratado (DCPD), três desintegrantes diferentes (hidroxipropilcelulose de baixa substituição (L-HPC), glicolato de amido sódico (NaSG), carboximetilcelulose de sódio (NaCMC) e três lubrificantes diferentes (estearato de magnésio, estearil fumarato de sódio (PRUV) e behenato de glicerilo). Os autores observaram uma incompatibilidade entre o PRUV e o princípio ativo, devido a uma reação de adição de Michael entre o ácido fumárico e uma amina secundária do AZD7986, sendo que este ácido foi considerado como sendo o produto da hidrólise do estearil fumarato de sódio na presença de outros excipientes (mas não é evidenciado qual), demonstrando a importância dos estudos prévios de formulação (Ludvigsson *et al.*, 2018).

1.2 MOLÉCULAS ESTUDADAS

As formulações medicamentosas têm evoluído com o passar dos anos a fim de melhorar sua biodisponibilidade, eficácia e segurança. Neste contexto, sabe-se que a hipertensão é um importante fator de risco para as doenças cardiovasculares, como o enfarte agudo do miocárdio e o acidente vascular cerebral. Logo, para o tratamento desta condição, várias classes de medicamentos anti-hipertensivos vêm sendo desenvolvidos a fim de evitar a morbidade e mortalidade associadas a este fator (Karagiannis *et al.*, 2007; Jordan *et al.*, 2018; Oparil *et al.*, 2018).

Logo, para este trabalho foram escolhidos dois fármacos anti-hipertensivos (losartan potássico e atenolol) e dois excipientes farmacêuticos (dodecil sulfato de sódio e β -Ciclodextrina), uma vez que as ciclodextrinas são capazes de alterar as propriedades físico-químicas e modular a formação micelar de surfactantes (Garcia-Rio *et al.*, 2007).

1.2.1 LOSARTAN POTÁSSICO

O losartan potássico (LOS - Figura 1.1) é um sal de potássio de 2-butil-4-cloro-1- $\{[2'-(1H\text{-tetrazol-5-il})(1,1'\text{-bifenil})-4-il]metil\}$ -1H-imidazol-5-metanol, tendo o número 124750-99-8 como registro no banco de dados do *Chemical Abstracts Service* (CAS), com peso molecular de 461,00 g.mol⁻¹, solubilidade aquosa de 3,3 mg.mL⁻¹ e fórmula molecular C₂₂H₂₂ClN₆O.K, que se apresenta na forma de um pó cristalino branco, solúvel em água e etanol (Williams *et al.*, 1996; Farmacopeia Brasileira, 2010).

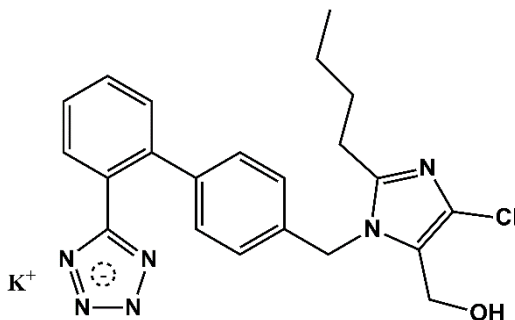


Figura 1.1 - Representação estrutural do losartan potássico (LOS).

Seu grupo farmacofórico está na sua parte derivada do ácido imidazol-5-acético. Ele é utilizado como agente anti-hipertensivo, sendo um antagonista seletivo do receptor de angiotensina II tipo 1, interferindo na liberação do hormônio aldosterona o que resulta na diminuição da resistência periférica total e retorno venoso cardíaco, culminado na redução da

pressão sanguínea. Outras pesquisas evidenciam que o LOS pode auxiliar na regressão da nefropatia diabética em pacientes com diabetes tipo 2 (Raghavan *et al.*, 1993; Xu *et al.*, 2009; De Paula *et al.*, 2011; Reddy, M. S. *et al.*, 2015; Duchene e Bochot, 2016).

1.2.2 ATENOLOL

O atenolol (ATE - Figura 1.2), 4-[2-Hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxi]benzenoacetamida, tendo o número 29122-68-7 registrado no banco de dados do CAS, com peso molecular de 266,34 g.mol⁻¹, solubilidade aquosa de 12,8 mg.mL⁻¹ e fórmula molecular C₁₄H₂₂N₂O₃, se apresenta na forma de um pó cristalino branco, sendo pouco solúvel em água, cloreto de metileno e acetona, mas possui boa solubilidade em metanol, ácido acético glacial e etanol, pouco solúvel em cloreto de metileno (Jimenez-Kairuz *et al.*, 2005; Farmacopeia Brasileira, 2010).

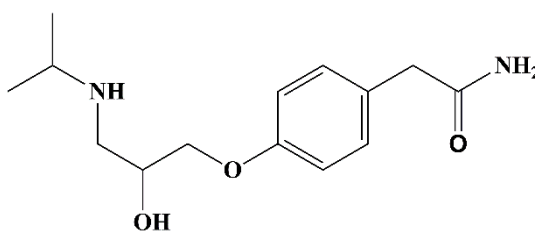


Figura 1.2 - Representação estrutural do atenolol (ATE);

Este fármaco é cardiosseletivo e lipofílico, devido a sua cadeia lateral de oxi-propranolamina na posição *para* do anel benzênico, que é o seu grupo farmacofórico. Sua lipofilicidade também é importante, pois os beta-bloqueadores hidrofílicos tendem a não ser metabolizados e, portanto, são excretados inalterados pelos rins (Kirch e Gorg, 1982). Ele é um fármaco anti-hipertensivo pertencente à classe dos β -bloqueadores, sendo um antagonista seletivo para o receptor β_1 (encontrados principalmente no miocárdio) que diminui a secreção de noradrenalina, com atividade simpaticomimética intrínseca, ou seja, estimula uma pequena vasodilatação para haver um equilíbrio entre os efeitos de vasoconstrição e vasodilatação, estabilizando a pressão arterial. Por isso, o ATE é utilizado no tratamento de hipertensão, doença coronária, arritmias e angina de peito, além do tratamento de redução do risco de complicações cardíacas após o enfarte do miocárdio (Borodi *et al.*, 2008; Buha *et al.*, 2012; Wesolowski e Rojek, 2013).

1.2.3 DODECIL SULFATO DE SÓDIO

O dodecil sulfato de sódio (*sodium dodecyl sulfate* - SDS – Figura 1.3) é um sal de sódio do éster monododecílico do ácido sulfúrico, cujo número no registro no banco de dados do CAS é 151-21-3, com peso molecular de $288,38 \text{ g.mol}^{-1}$, solubilidade aquosa maior que 130 g.L^{-1} e fórmula molecular $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{S.Na}$, o qual se apresenta como pó ou cristal, solúvel em água e pouco solúvel em etanol.

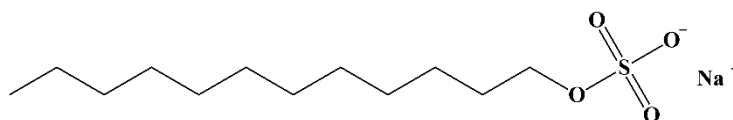


Figura 1.3 - Representação estrutural do dodecil sulfato de sódio (SDS).

O SDS é um surfactante amplamente utilizado em formulações cosméticas e em medicamentos de uso oral ou tópico, sendo classificado pelo *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2009) como surfactante aniônico, detergente, agente emulsificante, penetrante de pele e lubrificante de capsula e tablete. Ele pode estar em sua forma monomérica ou formar micelas, sabendo que sua concentração micelar crítica é de $8,2 \text{ mmol}$ ($2,365 \text{ g.L}^{-1}$) a 20° C , sendo que estas micelas podem estar na forma esférica, tubular ou de vesículas, por exemplo (Rowe *et al.*, 2009; Brasil, 2010; Nguyen *et al.*, 2016).

1.2.4 CICLODEXTRINAS

As ciclodextrinas (Figura 1.4 - CDs) são oligossacarídeos cíclicos formados pela união de unidades glicosídicas por meio de ligações α -1,4 sendo produzidas a partir da degradação do amido. Suas formas naturais conhecidas como alfa-ciclodextrina (αCD), beta-ciclodextrina (βCD) e gama-ciclodextrina (γCD), possuem 6, 7 e 8 unidades de glicose em sua constituição, respectivamente. Além disso, outras características estão presentes na Tabela 1.1.

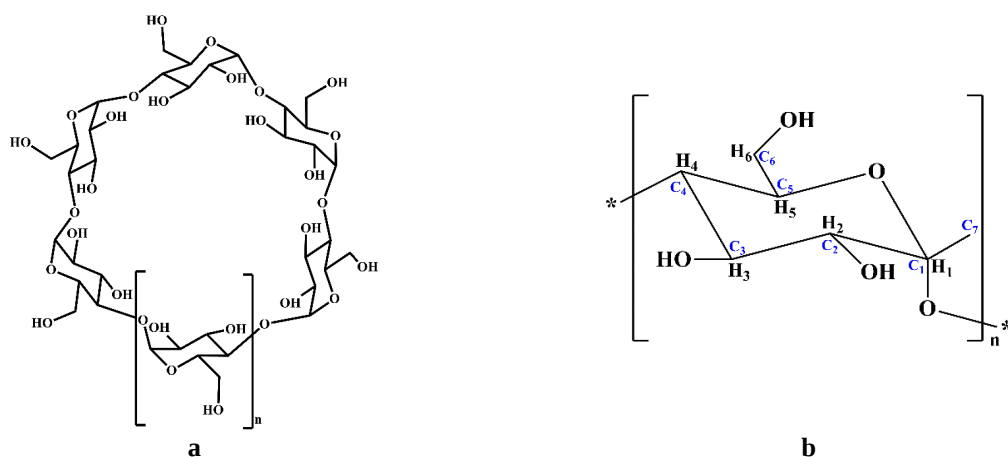


Figura 1.4 - Representação estrutural: (a) α -Ciclodextrina (CD); (b) Monômero da ciclodextrina, com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos. n = número de unidade de glicose

Tabela 1.1 - Características das ciclodextrinas.

Característica	α CD	β CD	γ CD
Número de unidades de glicose	6	7	8
Peso molecular (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidade em água a 25°C (% m/v)	14,50	1,85	23,20
Volume da cavidade ($\text{\AA}^3$)	174	262	427

As características das CDs variam conforme o seu tipo, suas modificações e via de administração. Em geral, como estas moléculas são formadas a partir de precursores de amido, que é um produto natural, elas apresentam boa biocompatibilidade e solubilidade, uma baixa toxicidade, além de um relativo baixo custo de produção quando comparada à γ CD, por exemplo. Estruturalmente as CDs apresentam a forma de um cone truncado, com as hidroxilas secundárias (ligadas aos carbonos C_2 e C_3) e a hidroxila primária (ligada ao carbono C_6) voltadas para o exterior da molécula, e os hidrogênios (H_3 e H_5) juntamente com os oxigênios da ligação C-O-C em seu interior, o que as confere um caráter anfifílico, com um interior hidrofóbico e um exterior hidrofílico, sendo que o tamanho de sua cavidade varia conforme o número de unidades glicosídicas presentes em sua constituição. Tal característica faz das CDs uma molécula capaz de formar compostos de inclusão (CIs) com um amplo número de moléculas hóspedes, por meio de interações não covalentes como ligação de hidrogênio, efeito hidrofóbico e forças de van der Waals. A diferença de solubilidade mostrada na Tabela 1.1 é explicada pelas ligações de hidrogênio entre as hidroxilas dos carbonos C_2 e C_3 dos monômeros da β CD, a qual não ocorre na α CD devido à distorção de uma de suas unidades glicosídicas, e nem na γ CD que apresenta uma estrutura mais flexível (Szejtli, 1989; Hedges,

1998; Rekharsky e Inoue, 1998; Szejtli, 1998a; b; Del Valle, 2004; Loftsson e Duchene, 2007; Mura, 2015; Duchene e Bochot, 2016).

Os CIs são utilizados estrategicamente para modificar propriedades físico-químicas das moléculas hóspedes, tais como alterar sua solubilidade, conferir proteção da luz, calor e oxidação, diminuir efeitos fisiológicos indesejados de fármacos, mascarar sabores desagradáveis, entre outros, sendo utilizadas em segmentos diversos, como na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética e na agricultura, por exemplo. Por serem formados a partir de interações não covalentes estes CIs são dinâmicos e reversíveis em solução, sendo formados e dissociados com baixo custo energético de maneira geral, quando comparado com a formação e quebra de ligações químicas, o que os torna mais atrativos na aplicação de entrega de fármacos (Hedges, 1998; Del Valle, 2004; Ma e Zhao, 2015; Duchene e Bochot, 2016; Kolesnichenko e Anslyn, 2017).

No processo de formação dos CIs, diferentes formas de interação podem ser observadas. De forma geral, duas moléculas interagem formando um CI binário, que possui características físicas e químicas diferentes das moléculas puras. Contudo, também existe a possibilidade da obtenção de um composto ternário, o qual ocorre quando duas moléculas são incluídas ou interagem com a molécula hóspede, resultando em um CI com características diferentes das moléculas puras e dos CIs binários. No entanto, esses diferentes sistemas podem ocorrer em equilíbrio químico, assim CIs binários e ternários podem ocorrer simultaneamente (Figura 1.5). Por isso, estudos vem sendo realizados a fim de analisar a influência de uma terceira molécula no CI binário visando a obtenção de melhores características, como aumento de solubilidade, por exemplo, ou ainda para verificar incompatibilidades entre as moléculas, e até mesmo para analisar a incompatibilidade com o solvente que pode interagir no lugar da molécula hóspede ou hospedeira (Andreaus *et al.*, 1997; Goubet *et al.*, 2001; Pacioni *et al.*, 2008; Biedermann *et al.*, 2012; Poorghorban *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 2015; De Melo *et al.*, 2016; Sherje *et al.*, 2017).

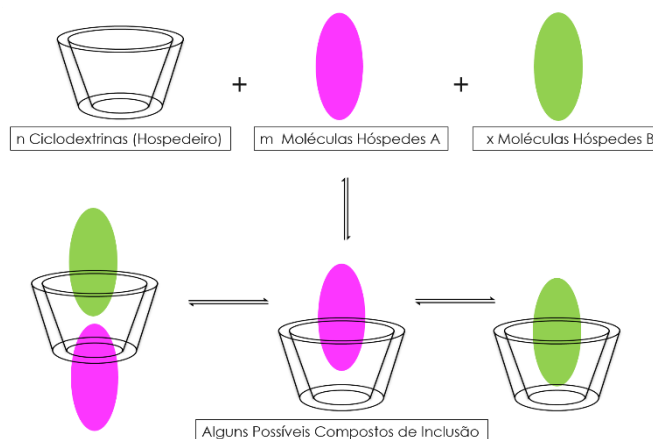


Figura 1.5 - Representação de alguns tipos de compostos de inclusão que podem ser formados em equilíbrio.

Neste contexto, se pode citar o estudo realizado por Andreaus *et al.* (1997) que analisou a influência do SDS na solubilidade de compostos de inclusão envolvendo a metil-alfaciclodextrina (M- α CD) e as moléculas de *p*-xileno e *o*-xileno. Como resultado, foi observado que o SDS diminuiu a solubilidade do CI M- α CD:*p*-xileno, ao passo que tornou o CI M- α CD:*o*-xileno mais solúvel. Tal resultado foi atribuído à formação de CI ternário entre CI M- α CD:*o*-xileno:SDS, o qual não ocorreu para o CI com o *p*-xileno, que foi provavelmente deslocado da cavidade da M- α CD na presença do SDS. Recentemente, Sherje *et al.* (2017), realizaram uma pesquisa para avaliar o efeito da L-arginina no incremento da solubilidade do CI etodolac:HP β CD, utilizando as técnicas de caracterização estrutural, *molecular docking* e estudo de dinâmica molecular. Os autores obtiveram como resultado a formação de um composto ternário, com maior solubilidade quando comparado ao sistema binário. Já De Melo *et al.* (2016) demonstraram que os cossolventes trietanolamina (TEA) and 1-metil-2-pirrolidona (NMP), formam um CI ternário com o fármaco benzonidazol e a HP β CD, auxiliando no aumento da solubilidade do fármaco, contudo diminuindo a eficiência da complexação do composto binário benzonidazol:HP β CD, não sendo indicados para produção do medicamento final.

Brocos, Díaz-Vergara *et al.* (2010), utilizaram a simulação computacional de dinâmica molecular para caracterizar estruturalmente a interação entre as CDs naturais e o SDS. Já Brocos, Banquy *et al.* (2011) utilizaram a calorimetria de titulação isotérmica aliada a simulação computacional de dinâmica molecular a fim de obter uma caracterização físico-química também dos sistemas SDS:CDs naturais. Por fim, Benkő e Király (2012) utilizaram também a mesma técnica de titulação a fim de obter um perfil termodinâmico da interação entre SDS e a β CD. Estas pesquisas citadas anteriormente trazem em comum a conclusão da

formação do CI entre a molécula de SDS e a β CD na estequiometria de 1:1 envolvendo a interação pela cadeia alquil do SDS (Brocos *et al.*, 2010; Brocos *et al.*, 2011; Benkő e Király, 2012).

1.2.4.1 CICLODEXTRINAS EM FORMULAÇÕES MEDICAMENTOSAS

A capacidade de formar CIs com um grande número de fármacos, modificando suas propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas, podendo, por exemplo, melhorar a solubilidade, dissolução e biodisponibilidade, além de mascarar sabores desagradáveis, modificar a volatilidade e reatividade, faz com que as CDs sejam utilizadas na formulação de medicamentos, recebendo a classificação de agente estabilizante e solubilizante pelo *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2009) (Ficarra, Ficarra, Di Bella, Raneri, Tommasini, Calabro, Villari, *et al.*, 2000; Rowe *et al.*, 2009; Loftsson e Brewster, 2012; Panakanti e Narang, 2012; Kurkov e Loftsson, 2013; Sbârcea *et al.*, 2015).

Kolesnichenko e Anslyn (2017), ressaltaram em sua revisão que o uso de CDs na liberação de fármacos tem sido bem aplicado nos últimos 20 anos em todo o mundo, sendo que no ano de 2010, cerca de 35 medicamentos já eram comercializados utilizando CDs como excipiente. Assim, tendo como foco as substâncias utilizadas neste estudo, serão citados abaixo alguns trabalhos envolvendo o estudo da inclusão entre o LOS, o ATE e o SDS com CDs, bem como estudos de compatibilidade envolvendo CDs.

Reddy, Soujanya *et al* (2015) realizaram um estudo com o objetivo de verificar possíveis melhorias na dissolução e, conseqüente, biodisponibilidade do losartan potássico utilizando β CD para formar um composto de inclusão. Os autores obtiveram um resultado satisfatório, tendo $97,10 \pm 0,59$ % de liberação de losartan, sendo que para o comprimido sem a presença da β CD a liberação era de apenas $58,13 \pm 0,46$ %. Já De Paula, Denadai *et al* (2011), analisaram o CI formado pela HP β CD e o fármaco LOS, também com o objetivo de analisar melhorias na biodisponibilidade deste fármaco, para uma possível aplicação deste CI na formulação de um medicamento de liberação sustentada. Estes autores obtiveram como resultado um aumento no tempo de liberação do fármaco.

Ficarra, Ficarra *et al.* (2000) estudaram a formação do CI entre β CD e o ATE, e a melhoria da taxa de dissolução e solubilidade deste fármaco no CI, obtendo resultados satisfatórios, com a melhoria da taxa de dissolução de 0,5 para 91% em três minutos. Wesolowski e Rojek (2013) realizaram um estudo sobre a compatibilidade do fármaco

atenolol com os excipientes farmacêuticos manitol, amido, lactose, metilcelulose, meglumina, quitosana, polivinilpirolidona, estearato de magnésio e β CD. Os autores conduziram duas análises estatísticas multivariadas, a análise de componente principal (*principal component analysis* - PCA) e a análise de *clusters* (*clusters analysis* – CA), a fim de se obter possíveis incompatibilidades dos excipientes na presença do fármaco, e concluíram que o excipiente manitol impede a interação entre o atenolol e a β CD, sendo incompatível o uso destes dois excipientes na formulação final do medicamento.

Corti *et al.* (2008) estudaram a compatibilidade entre o composto cloridrato de metformina (antidiabético) e a triacetil- β CD com os polímeros hidroxipropilmetilcelulose, goma de xantano, quitosana, etilcelulose, Eudragit L100-55 e Precirol por calorimetria diferencial exploratória (*differential scanning calorimetry* - DSC). Eles observaram uma mudança no perfil térmico com o aparecimento de uma banda exotérmica e o desaparecimento do pico de fusão da triacetil- β CD apenas com o Precirol, concluindo assim que o Precirol não deveria ser usado como excipiente numa formulação final do medicamento de liberação sustentada utilizando a triacetil- β CD.

Chadha, Bala *et al.* (2014) estudaram a compatibilidade entre o CI formado por valsartan (anti-hipertensivo) e metil- β CD com o excipiente Polissorbato 80 (surfactante) por técnicas de DSC, termogravimetria (*thermogravimetry* - TG), difração de raio-X (PXRD), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (*Fourier transform infrared spectroscopy* - FTIR), ressonância magnética nuclear (RMN), solubilidade de fase e calorimetria de solução. Os autores observaram que houve aumento da taxa de dissolução em relação ao CI binário para o composto com o Polissorbato 80 sendo mantida a eficiência para diminuição da pressão sistólica em ratos.

Sbârcea, Ledeti *et al.* (2015) avaliaram a compatibilidade entre CI formado pelo fármaco fosinopril (anti-hipertensivo) e HP β CD com estearato de magnésio, talco e amido utilizando as técnicas de TG/DTG, análise térmica diferencial (*differential thermal analysis* - DTA) e FTIR. Os autores observaram mudanças nas curvas térmicas que indicaram uma possível interação entre o composto com o talco e o estearato de magnésio, contudo a ausência de modificação nas bandas de FTIR e dos parâmetros cinéticos obtidos os levou a concluir que o composto de inclusão é compatível com os excipientes. Além disso, os autores observaram que a HP β CD confere proteção ao fosinopril, o qual quando sozinho apresenta incompatibilidade com o estearato de magnésio.

De acordo com o *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2009), a HP β CD causa a diminuição da atividade antimicrobiana de alguns conservantes. Isso ocorre pelo fato de a HP β CD ter alta afinidade para inclusão de moléculas hidrofóbicas, sendo que os ésteres de ácido p-hidroxibenzóico (parabeno), amplamente utilizados como conservantes, possuem características lipofílicas, interagindo com a HP β CD por meio do grupo aromático (Lehner *et al.*, 1993; Matsuda *et al.*, 1993; Chan *et al.*, 2000; Rowe *et al.*, 2009).

Logo nota-se que muitos estudos são realizados a fim de analisar a interação entre CDs e fármacos, contudo, há um número limitado de pesquisas sobre a interação destas moléculas com os demais excipientes utilizados nas formulações dos medicamentos, principalmente envolvendo a caracterização físico-química dos possíveis compostos de inclusão formados, bem como a competição entre fármacos e excipientes pela interação com a cavidade das CDs. Pode-se observar também que as pesquisas citadas que avaliaram a compatibilidade entre excipientes, utilizaram como técnicas a caracterização térmica por DSC, TG e DTA, aliadas ou não a técnicas estruturais como FTIR e RMN. Entretanto, tais técnicas não fornecem todos os parâmetros físico-químicos diretamente, sendo necessário inferi-los, o que aumenta o erro e a imprecisão nos valores obtidos (Corti *et al.*, 2008; Rowe *et al.*, 2009; Chadha *et al.*, 2014; Sbârcea *et al.*, 2015).

1.3 INTERAÇÕES INTERMOLECULARES NOS COMPOSTOS DE INCLUSÃO

O reconhecimento molecular é de suma importância na formação dos CIs, uma vez que este é baseado na combinação seletiva entre moléculas, a qual ocorre por meio de interações moleculares (Ariga e Kunitake, 2006). Neste contexto, as interações eletrostáticas são relevantes por serem uma força atrativa (moléculas de cargas opostas) ou repulsiva (moléculas com o mesmo tipo de carga) inversamente proporcional à constante dielétrica do meio circundante. Considerando as interações entre moléculas hidrofóbicas em meio aquoso (constante dielétrica menor), a interação eletrostática se torna mais forte. Porém se houver uma espécie com grupo funcional em suas formas ionizadas e neutras em equilíbrio, a forma neutra diminui a interação eletrostática. Contudo, quando as interações ocorrem entre moléculas neutras, as forças dipolo-dipolo e íon-dipolo apresentam comportamento semelhante devido ao seu momento de dipolo, sendo estas interações entalpicamente favoráveis (Connors, 1997; Ariga e Kunitake, 2006).

Um tipo específico de força do tipo dipolo-dipolo é a ligação de hidrogênio, a qual é significativa na estabilidade de CIs com CDs em solução aquosa, uma vez que a contribuição vem da interação dos átomos de hidrogênio polarizados positivamente de grupos hidroxila (OH – como no caso das CDs) ou grupos amino (R-NH-R'), com outros átomos ricos em elétrons (Connors, 1997; Ariga e Kunitake, 2006).

Outra interação importante é a de Van der Waals, a qual é mais fraca e menos específica comparada com as interações eletrostáticas e de hidrogênio, mas abrange mais tipos de moléculas. Ela ocorre na interação entre uma molécula com momento de dipolo e outra neutra que terá um momento de dipolo induzido, sendo importante para sistemas em que quando a molécula hospedeira reconhece a forma da molécula hóspede. Sua contribuição é significativa quando várias interações deste tipo ocorrem de maneira cooperativa no reconhecimento molecular. Nos CIs com CDs, as forças de van der Waals quando somadas às contribuições das interações dipolares podem sobrepor a interação hidrofóbica (Connors, 1997; Ariga e Kunitake, 2006).

A interação hidrofóbica é a força que induz a agregação de moléculas hidrofóbicas em meio aquoso, onde as moléculas de água formam camadas estruturadas de hidratação entropicamente desfavoráveis (Ariga e Kunitake, 2006). Um maior detalhamento desta força nos CIs com CDs será mostrado no item 1.4.

1.4 ESTUDO TERMODINÂMICO DOS COMPOSTOS DE INCLUSÃO

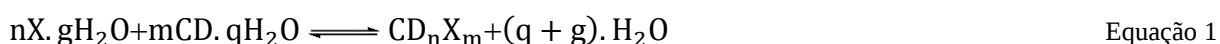
A termodinâmica tem o objetivo de estudar a relação entre as ações mecânicas (trabalho) e as transformações do calor envolvendo átomos e/ou moléculas, com base na conservação da energia interna (U), com o intuito de analisar a espontaneidade e equilíbrio dos sistemas, sendo aplicada em diversas áreas, tais como na biologia, ciência de materiais e química. Pensando em um sistema fechado, o qual não troca matéria e energia com a vizinhança, entende-se como trabalho (w), a forma de energia que realiza um movimento molecular organizado contra uma força oposta, e calor (q) como a energia resultante da diferença de temperatura (T) entre o sistema e sua vizinhança com movimento molecular desordenado (Klots e Rosemberg, 2000; Atkins, 2001).

Neste contexto, a entalpia que é uma função de estado que relaciona a energia interna do sistema com sua pressão e volume, é utilizada para análise das mudanças de calor medidas no sistema, pois em um processo isobárico, a variação da entalpia (ΔH°) reflete a variação do calor ocorrida. Contudo, esta não é capaz de explicar sozinha a espontaneidade de mudanças

no sistema, logo é necessário o estudo da variação de entropia (ΔS°), que resulta dos diferentes estados que as moléculas em um sistema podem possuir, lembrando que o sistema tem a tendência de apresentar espontaneamente maior desordem molecular no estado gasoso, aumentando, portanto, sua variação de entropia. Por fim, a relação entre as variações de entalpia e entropia gera a variação da energia livre de Gibbs (ΔG°), que corresponde à energia disponível para realização de trabalho de não-expansão a temperatura e pressão constantes, refletindo a espontaneidade do sistema (Klots e Rosemberg, 2000; Atkins, 2001; Silva, 2005; Sabadini e Bianchi, 2007).

Tendo como foco a análise termodinâmica da formação dos CIs, é importante avaliar a possibilidade do efeito hidrofóbico. Quando as CDs são a molécula hospedeira, por exemplo, em solução aquosa há a ocupação da cavidade apolar das CDs por moléculas de água, sendo que esta interação polar-apolar é desfavorecida energeticamente, fazendo com que parte das moléculas de água busquem um arranjo que favoreça a interação entre elas, diminuindo sua desordem. Por isso, com a aproximação de uma molécula hóspede apolar, há um favorecimento energético que resulta na dessolvatação de parte das moléculas presentes no sistema e na saída das moléculas de água para haver a interação entre a cavidade e a molécula apolares. Logo, parte dessas moléculas de água que são liberadas para o meio, assumem uma maior liberdade conformacional, levando ao aumento da entropia do sistema, mesmo sendo esperada sua diminuição devido à formação do CI. Já outras moléculas interagem entre si aumentando a entalpia do sistema. Assim, os parâmetros termodinâmicos obtidos na formação dos CIs são uma consequência das contribuições de todas as dissociações e associações que ocorrem no sistema (Connors, 1997; Rekharsky e Inoue, 1998; Szejtli, 1998b; Bouchemal e Mazzaferro, 2012).

Em resumo, a formação dos CIs envolvendo CDs é descrita pela saída das moléculas de água de sua cavidade e que solvatam as moléculas hospedeira e as CDs, havendo então a inclusão total ou em parcial na CD, conforme a Equação 1 (Hedges, 1998; Szejtli, 1998b; Bouchemal e Mazzaferro, 2012; Kurkov e Loftsson, 2013).



Sendo que X representa a molécula hóspede, CD a ciclodextrina, CD_nX_m o composto de inclusão, tendo n, m, q e g como índices estequiométricos. Para a formação dos CIs, deve-se também analisar a constante de afinidade (K_a), a qual reflete a energia das interações entre as moléculas do sistema, através de um equilíbrio termodinâmico entre a associação e a

dissociação de todas as espécies envolvidas. As Equações simplificadas 2 e 3 referem-se à formação do CI considerando as interações entre CD e a molécula hospedeira (Szejtli, 1998a; Ondo, 2016).



$$K_a = \frac{[\text{CD} \cdot \text{X}]}{[\text{CD}][\text{X}]} \quad \text{Equação 3}$$

Ainda é importante salientar que a K_a entre as moléculas hóspede e hospedeira nos CIs é diretamente proporcional à variação da energia livre de Gibbs (Equação 4), logo ela está relacionada às variações de entalpia e entropia do sistema (Equação 5). As interações intermoleculares dipolares e de van der Waals são entalpicamente favoráveis, mas desfavorecidas pela dessolvatação dos grupos polares. Já efeito hidrofóbico favorece a entropia, a qual é desfavorecida pela formação das interações intermoleculares (Bouchemal e Mazzaferro, 2012).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_a \quad \text{Equação 4}$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad \text{Equação 5}$$

Em que R é a constante dos gases ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e T é a temperatura em que o experimento foi conduzido na unidade Kelvin.

É importante analisar também a compensação entre entalpia e entropia conforme ocorra perturbações no sistema, como a mudança de temperatura, por exemplo. Para isso é feito um gráfico de ΔH° por $-T\Delta S^\circ$ com ajuste linear entre os pontos, se os pontos estiverem dentro do ajuste da reta (Equação 6) há a compensação, se não estiverem o sistema não possui compensação entálpica-entrópica. Além disso, os valores do intercepto e da inclinação são proporcionais à dessolvatação e mudança conformacional ocorrida no sistema, respectivamente (Inoue *et al.*, 1993; Connors, 1997; Swaminathan *et al.*, 1998; Freire, 2008; 2009; Bouchemal e Mazzaferro, 2012; Ondo, 2016).

$$T\Delta S^\circ = \alpha \Delta H^\circ + b \quad \text{Equação 6}$$

Em que α está relacionado com o ganho entálpico do sistema em relação a todas as interações de associação e dissociação ocorridas, sendo que $1-\alpha$ reflete o quanto deste ganho contribui para estabilidade do CI e b, quando positivo, indica que formação do CI acontece mesmo quando não há ganho entálpico, o que ocorre quando a contribuição entrópica do processo de dessolvatação é o principal fator na formação do CI independente da entalpia (Inoue *et al.*, 1993; Bouchemal e Mazzaferro, 2012; Ondo, 2016).

Esta análise ajuda a compreender as relações termodinâmicas com a constante de associação na formação dos CIs, possibilitando, por exemplo, o estudo para melhoramento de medicamentos uma vez que superar esta compensação significa melhorar a K_a (Freire, 2008; Ondo, 2016).

Inoue e colaboradores (1993), estudaram o efeito da compensação entálpica/entrópica no estudo termodinâmico da interação entre β CD e seus quelato de cobre (II) com alguns derivados do naftaleno. Eles observaram que a maior inclinação foi de 1,07 e o intercepto de 5,00 o que indica que a formação dos CIs com as CDs modificadas é favorável mesmo na ausência da estabilização entálpica, pois há ganho entrópico devido à mudança conformacional do substituinte lateral da cavidade, além da dessolvatação das moléculas hóspede e hospedeira. Os autores também puderam concluir que este resultado coincidiu com a forma como a interação das CDs modificadas ocorre corroborando que o processo de formação dos CIs pode ser entendido em um contexto geral sob o ponto de vista da compensação entre entalpia e entropia quanto aos tipos de interações não-covalentes estão ocorrendo.

Freire (2008) mostra em seu estudo que a análise da compensação entálpica/entrópica fornece informações para determinar, locais para modificação ou inserção de grupamentos que aumentam as interações de fármacos com a proteína de interesse, ocasionando um maior ganho entálpico devido à maior afinidade. Além disso, este ganho não pode ser compensado pela entropia, assim deve-se evitar a reestruturação proteica direcionando as interações para regiões específicas da proteína.

Connors (1997), mostra em seu trabalho que a variação de energia livre total do processo de formação do CI tendo a CD como molécula hóspede está de acordo com as Equações 7 e 8.

$$\Delta G_{CI} = \Delta G_{inter} + \Delta G_{hidro} + \Delta G_{solv} \quad \text{Equação 7}$$

$$\Delta G_{solv} = \Delta G_{solv.CI} - \Delta G_{solv.hóspede} - \Delta G_{solv.hospedeiro} \quad \text{Equação 8}$$

Em que ΔG_{CI} corresponde à variação de energia livre total do sistema, a qual é composta por ΔG_{inter} que se relaciona com a interação entre a molécula hóspede e a CD contribuindo para estabilização do CI, também pelo termo ΔG_{hidro} , o qual reflete a interação hidrofóbica que desestabiliza a formação do CI e pelo ΔG_{solv} , que corresponde ao efeito da dessolvatação, a qual pode contribuir para estabilização ou desestabilização do CI, sendo que normalmente contribui para desestabilização. Isto porque o ΔG_{solv} pode apresentar valores positivos dependendo da combinação de seus termos, de modo que a solvatação geralmente é desestabilizadora. Contudo pode acontecer que $\Delta G_{solv.CI}$, que corresponde ao efeito da dessolvatação do CI, seja suficientemente negativa fazendo com que a solvatação contribua para estabilização. Os termos $\Delta G_{solv.hóspede}$ e $\Delta G_{solv.hospedeiro}$, se referem ao efeito da dessolvatação das moléculas hóspede e hospedeira, respectivamente (Connors, 1997).

1.5 CALORIMETRIA DE TITULAÇÃO ISOTÉRMICA

A calorimetria de titulação isotérmica (*isothermal titration calorimetry* - ITC), vem sendo estudada em diversas áreas, Falconer (2016) estimou que cerca de 600 a 700 artigos que utilizam esta técnica são publicados anualmente. Esta técnica se baseia na troca de energia térmica entre as celas de amostra e de referência, resultante da interação entre moléculas que ocorre na cela de amostra, em função do tempo, permitindo a caracterização termodinâmica e cinética de sistemas de alta ou baixa afinidade (detecção da mudança de calor na ordem de 10^{-8} calorias por segundo) em um único experimento de forma rápida, precisa, sensível e confiável, a partir de quantidades pequenas de material, sendo utilizada em vários segmentos da pesquisa, tais como a interação com alimentos, células sanguíneas, fármacos, excipientes e ciclodextrinas (Freire *et al.*, 1990; O'Neill, 2005; Bouchemal, 2008; Freire, 2014; Brautigam *et al.*, 2016; Falconer, 2016).

O aparelho é composto por uma cela de referência, que contém o mesmo solvente ou um de características físico-químicas semelhantes ao usado no preparo das soluções de titulante e titulado, uma cela de amostra, onde é colocada a solução de titulado e uma seringa de titulação, que é carregada com a solução de titulante (Figura 1.6).

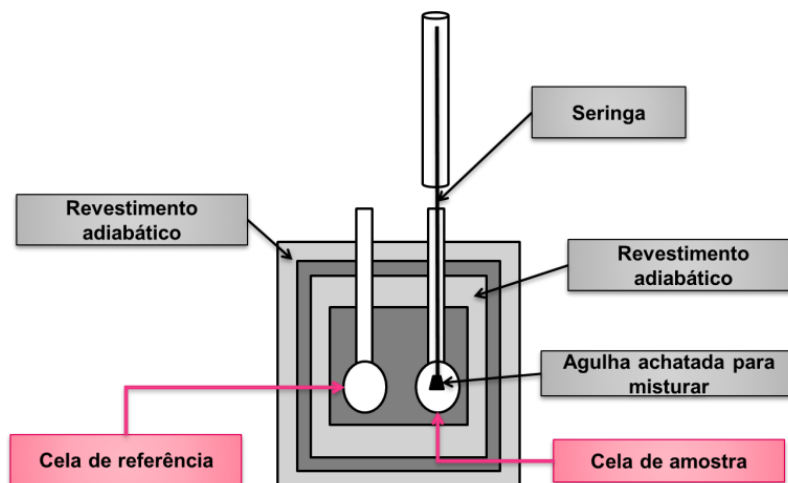
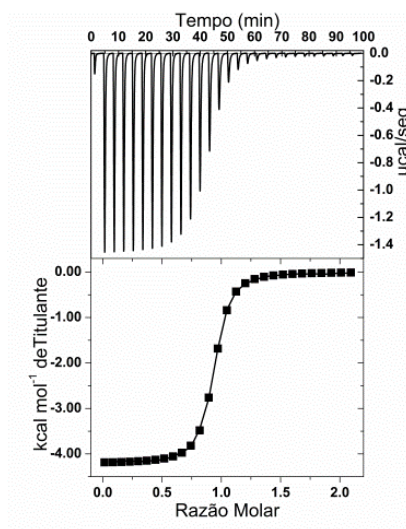


Figura 1.6 – Representação esquemática de um calorímetro de titulação isotérmica.

A diferença de temperatura é resultante da interação entre as moléculas de interesse que ocorre durante as injeções de quantidades pré-determinadas e em tempo controlado de titulante na cela contendo o titulado a uma temperatura constante. Cada injeção gera um sinal de diferença de temperatura distinto, o qual é integrado e utilizado para a formação de uma isoterma (Figura 1.7).



Condições do experimento:

- Linha de base de 10
- Espaçamento de 200 segundos
- 25 pontos
- Primeira injeção de 1 μL
- Demais injeções de 10 μL
- Temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$

Figura 1.7 - Resultado obtido para a titulação de CaCl_2 1 mmol.L^{-1} em EDTA 0,1 mmol.L^{-1} .

Os gráficos obtidos são analisados pelo modelo de regressão não linear dos mínimos quadrados no ajuste das curvas, sendo aplicado posteriormente a isoterma de Wiseman para obtenção constante de associação (K_a) e variação de entalpia (ΔH°), (Equações 9, 10 e 11) (Wiseman *et al.*, 1989; Turnbull e Daranas, 2003; Freire, 2014).

$$\frac{dQ}{d[X]_t} = \Delta H^\circ V_0 \left[\frac{1}{2} + \frac{1-X_R-r}{2\sqrt{1+X_R+r^2-4X_R}} \right] \quad \text{Equação 9}$$

Sendo:

$$\frac{1}{r} = K_a [M]_t \quad \text{Equação 10}$$

$$X_R = \frac{[X]_t}{[M]_t} \quad \text{Equação 11}$$

Tem-se que V_0 corresponde o volume total da cela calorimétrica, $[X]_t$ é a concentração molar total de titulante livre para interação, Q é o calor absorvido ou liberado, K_a é a constante de associação, $[M]_t$ é a concentração molar do titulado e o coeficiente de determinação (r) é obtido conforme o perfil da curva de titulação, sendo esperado um perfil sigmóide (Wiseman *et al.*, 1989; Turnbull e Daranas, 2003). O valor de n se dá pelo ponto de inflexão da isoterma, e os valores para variação de entropia (ΔS°) e variação da energia livre de Gibbs (ΔG°) são então obtidos pelas equações 2 e 3, apresentadas anteriormente.

A técnica de ITC também permite prever uma possível competição entre moléculas pela cavidade da CD. Para isso, devem ser realizadas titulações entre cada molécula de interesse e a CD a fim de se conhecer a molécula que possui maior afinidade (maior k_a) pela CD. A partir desses dados, realiza-se uma titulação entre a molécula de maior afinidade como titulante em uma solução composta pela CD e a molécula de menor afinidade (Sigurskjold, 2000; Krainer e Keller, 2015). Assim, é possível avaliar se o titulante pode deslocar a molécula que está interagindo na cavidade da CD no CI, através da análise do perfil da curva calorimétrica obtida, bem como dos valores termodinâmicos e, então, analisar e comparar com as curvas e valores da interação de cada molécula com a CD obtidos anteriormente. Com isso, pode-se inferir sobre possíveis incompatibilidades do CI na presença de outras moléculas, sendo uma análise importante para diversas áreas, como na preparação de formulações farmacêuticas, por exemplo.

1.6 ANÁLISE CINÉTICA

Uma das formas de obtenção de dados cinéticos é a utilização dos dados de ITC utilizando o software kinITC (Burnouf *et al.*, 2012; Dumas *et al.*, 2016). Este método utiliza as curvas obtidas para obtenção dos dados cinéticos, utilizando o modelo baseado na

associação/dissociação dos compostos (Equação 12), o qual considera a mudança da concentração após cada injeção do titulante.



Na equação 12, A corresponde a solução contida na cela de amostra, B representa a solução de titulado e C o composto formado.

Os sinais obtidos na curva de titulação após cada injeção de titulante são resultado da cinética de equilíbrio dada pela Equação 13, a qual considera tanto o tempo de injeção e mistura finitos.

$$\frac{dC}{dt} = k_{on}[A]_0AB - k_{off}C \quad \text{Equação 13}$$

Sendo k_{on} a constante cinética de associação e k_{off} de dissociação ($K_a = \frac{k_{off}}{k_{on}}$), e A, B e C as concentrações reduzidas ($\frac{A}{A_0}; \frac{B}{A_0}; \frac{C}{A_0}$).

A integração da Equação 13 permite o cálculo do calor gerado teórico de cada injeção ($P_s(t)$ - Equação 14) retirando o tempo de resposta do equipamento (δt). Assim, com os valores do calor medido previamente em cada injeção ($P_m(t)$), é calculado δt pela integral da equação 15.

$$P_s(t) = V_{cel}\Delta H^\circ[A]_0 \frac{dC}{dt} \quad \text{Equação 14}$$

Na equação 14, V_{cel} corresponde ao volume da cela de titulação.

$$P_s(t) = P_m(t) + \tau_{ITC}P_m(t) \quad \text{Equação 15}$$

Logo, o software calcula uma curva de ITC teórica e a compara com a experimental pelo método não linear dos mínimos quadrados, permitindo o ajuste e obtenção dos parâmetros. cinéticos e termodinâmicos

1.7 OBJETIVOS GERAIS

A partir do exposto objetivou-se neste trabalho estudar o comportamento termodinâmico e a cinética da interação entre os fármacos atenolol ou losartan potássico, bem como do excipiente dodecil sulfato de sódio, com a β CD, e a possível competição entre os fármacos e o excipiente pela interação com a cavidade da β CD.

1.7.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a possível formação dos compostos de inclusão entre LOS: β CD, ATE: β CD e SDS: β CD, bem como dos sistemas ternários LOS: β CD:SDS e ATE: β CD:SDS, utilizando as técnicas de espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear.
- Estudar o comportamento termodinâmico da interação entre o fármaco losartan potássico e a β CD, entre o fármaco atenolol e a β CD e entre o excipiente dodecil sulfato de sódio e a β CD, bem como da interação entre os fármacos losartan potássico e atenolol com o excipiente dodecil sulfato de sódio em diferentes temperaturas.
- Avaliar a possível competição entre os fármacos losartan potássico e atenolol com o excipiente dodecil sulfato de sódio pela cavidade da β CD em diferentes temperaturas, além de avaliar o perfil termodinâmico desta competição.
- Estudar o efeito da variação da estequiometria nos parâmetros termodinâmicos das interações estudadas, bem como na possível competição entre os fármacos e o SDS pela cavidade da β CD.
- Analisar a cinética da interação entre o fármaco losartan potássico e a β CD, entre o fármaco atenolol e a β CD e entre o excipiente dodecil sulfato de sódio e a β CD em diferentes temperaturas.

CAPÍTULO 2

MATERIAIS E MÉTODOS

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram realizadas na Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) as análises de calorimetria de titulação isotérmica, espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada e cinética de inclusão. Os experimentos de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , *Distortioneless Enhancement by Polarization Transfer* - DEPT-135, *Heteronuclear Single Quantum Correlation* - HSQC ($^1\text{Hx DEPT}$), *Heteronuclear multiple bond correlation* - HMBC ($^1\text{Hx DEPT}$) e *correlation sprectroscopy* – COSY ($^1\text{Hx}^1\text{H}$), foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federam de Minas Gerais (UFMG).

2.1 CALORIMETRIA DE TITULAÇÃO ISOTÉRMICA

Foram preparadas soluções de dodecil sulfato de sódio (Sigma-Aldrich), atenolol (Pharmanostra®), losartan potássico (Sigma-Aldrich), βCD (Sigma-Aldrich), LOS: βCD (1:1) e ATE: βCD (1:1) utilizando água tipo I como solvente (Milli-Q®)

As titulações foram realizadas em microcalorímetro VP-ITC (Microcal®) com 25 pontos cada, 200 segundos de espaçamento entre esses e 220 rpm de agitação, nas temperaturas de 25, 37 e 45 °C. A primeira injeção de cada titulação foi de 1 μL , a fim de se retirar os efeitos de dispersão, e as demais de 10 μL . Foram realizadas titulações entre cada titulante e água tipo I, bem como a água tipo I e o titulado, para subtrair os efeitos da interação entre os compostos e o solvente.

Os gráficos obtidos foram analisados utilizando o modelo de um sítio de interação, no software ORIGIN 7.0, que utiliza o modelo de regressão não linear dos mínimos quadrados no ajuste das curvas, aplicando posteriormente a isoterma de Wiseman, já descrita anteriormente.

2.1.1 Experimento de interação entre duas moléculas

As titulações foram realizadas para determinar os parâmetros físico-químicos das possíveis interações entre βCD e SDS, βCD e ATE, SDS e ATE, βCD e LOS e entre SDS e LOS. As Tabelas 2.1 e 2.2 contêm as relações das concentrações utilizadas para titulantes e titulados. A Tabela 2.1 possui as concentrações referentes às titulações realizadas para o

ajuste das concentrações, até serem encontradas as concentrações que gerassem os gráficos que se encaixassem melhor no perfil sigmoide necessário para análise. Já a Tabela 2.2 apresenta os valores de concentrações ideais encontrados para os sistemas analisados.

Tabela 2.1 - Relação titulante e titulado para ajuste das concentrações

Titulante	Concentração (mmol.L ⁻¹)	Titulado	Concentração (mmol.L ⁻¹)	Repetições
βCD	12,00	SDS	1,00	1
βCD	12,00	SDS	0,50	2
SDS	10,00	βCD	0,50	1
βCD	10,00	ATE	1,00	1
βCD	10,00	ATE	0,50	1
ATE	10,00	βCD	1,00	1
ATE	10,00	βCD	2,00	1
ATE	8,00	βCD	2,00	1
LOS	30,00	βCD	1,00	1
LOS	20,00	βCD	1,00	2

Tabela 2.2- Relação titulante e titulado

Titulante	Concentração (mmol.L ⁻¹)	Titulado	Concentração (mmol.L ⁻¹)	Repetições
βCD	10,00	SDS	0,50	2
SDS	10,00	βCD	1,00	2
SDS	10,00	ATE	1,00	2
ATE	20,00	βCD	1,00	2
SDS	10,00	ATE:βCD (1:1)	1,00	2
SDS	10,00	LOS	1,00	2
LOS	25,00	βCD	1,00	2
SDS	10,00	LOS:βCD (1:1)	1,00	2

2.1.2 Experimento de competição pela cavidade da βCD

Estas titulações foram realizadas com objetivo de determinar os parâmetros físico-químicos da provável competição entre o SDS e os fármacos pela cavidade da βCD. A Tabela 2.3 traz a relação das concentrações utilizadas para o titulante SDS, o qual obteve maior constante de associação com a molécula de βCD, e as soluções 1:1 dos titulados LOS:βCD e

ATE: β CD, a fim de se analisar um possível deslocamento dos fármacos da cavidade da β CD na presença do SDS, através do perfil termodinâmico encontrado.

Tabela 2.3- Relação titulante e titulado para o experimento de competição

Titulante	Concentração (mmol.L ⁻¹)	Titulado	Concentração (mmol.L ⁻¹)	Repetições
SDS	10,00	ATE: β CD (1:1)	1,00	2
SDS	10,00	LOS: β CD (1:1)	1,00	2

2.2 COMPOSTOS DE INCLUSÃO

Os compostos de inclusão foram preparados para se avaliar a possível inclusão das moléculas de ATE, LOS e SDS na cavidade da β CD, através das técnicas de FTIR-ATR e RMN, bem como auxiliar na análise da competição entre os fármacos e o SDS pela β CD.

2.2.1 Método de Liofilização

A liofilização foi utilizada com o objetivo de se obter amostras dos compostos de inclusão no estado sólido (Del Valle, 2004). Para isso, foi realizado o seguinte procedimento:

- Foram pesadas em balança analítica (Shimadzu), a qual pesa no mínimo 10 mg e no máximo 220g, em béqueres separados quantidades calculadas (Tabela 2.4) das moléculas de interesse para obtenção de CI na estequiometria 1:1 ou 1:1:1 (mol/mol).
- Após serem solubilizadas em 10 mL de água destilada, as amostras foram vertidas em um tubo tipo Falcon de 50 mL, e a solução foi deixada sob agitação por cerca de 2 horas para se garantir a formação do CI em equilíbrio.
- Logo após, as amostras foram congeladas rapidamente em nitrogênio líquido, e levadas para o congelador.
- Por fim, as amostras foram colocadas no liofilizador LJJ04 (JJ Científica) por cerca de 48 horas a $-51\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabela 2.4 - Quantidades pesadas para os compostos de inclusão

Molécula	Composto de Inclusão	Quantidade pesada (mg)	Quantidade em mol
β CD	β CD:SDS (1:1)	118,07	$1,04.10^{-4}$
SDS		30,00	
β CD	β CD:ATE (1:1)	128,30	$1,13.10^{-4}$
ATE		30,00	
β CD	β CD:LOS (1:1)	73,90	$6,51.10^{-5}$
LOS		30,00	
β CD	β CD:ATE:SDS (1:1:1)	30,00	$2,64.10^{-5}$
ATE		7,03	
SDS		7,61	
β CD		73,90	
LOS	β CD:LOS:SDS (1:1:1)	30,00	$6,51.10^{-5}$
SDS		18,80	

2.2.2 Método de Mistura Mecânica

A metodologia de preparo dos CIs utilizando a mistura mecânica foi realizada com o intuito de se comparar a efetividade da inclusão com os resultados obtidos pelo método de liofilização, o qual ocorre partindo de uma solução. Para isto, as amostras em pó foram pesadas (Tabela 5) e colocadas em um mesmo béquer, onde foram submetidas a agitação para promover a mistura (Del Valle, 2004), com posterior análise em FTIR-ATR. Os CIs preparados foram β CD:SDS, β CD:ATE e β CD:LOS, nas razões molares 1:1.

2.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER E REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (FTIR-ATR)

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier com reflectância total atenuada (FTIR-ATR) pode fornecer indícios sobre a inclusão da molécula hóspede na cavidade da CD através de modificações nos modos vibracionais dos espectros das moléculas puras, quando comparadas ao espectro do CI, através do desaparecimento, ampliação e/ou variações na intensidade das bandas entre $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$. Tais modificações podem ocorrer devido à restrição das vibrações de alongamento, como também podem indicar uma possível diminuição da intensidade das ligações interatômicas, por consequência da inclusão na cavidade da CD. Dentre os benefícios do uso desta técnica se pode ressaltar o baixo custo

comparado a outras técnicas como RMN, a sensibilidade e seletividade (Hedges, 1998; Pavia *et al.*, 2010; Silverstein *et al.*, 2012; Mura, 2015).

Os espectros foram feitos no espectrofotômetro Spectrum 100 Perkin Elmer utilizando cristal de Seleneto de Zinco. Os experimentos foram realizados com resolução de 4 cm^{-1} , em intervalos de 1 cm^{-1} , com 32 varreduras por amostra à temperatura ambiente. Todos os espectros foram obtidos em porcentagem de transmitância para a região de $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$ e analisados no programa Spectrum 6.3.

2.4 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) foi utilizada com o intuito de avaliar a possível formação dos compostos de inclusão formados entre a CD e as moléculas analisadas, pois por meio do espectro fornecido por esta técnica se pode propor a estrutura do composto de inclusão, bem como a orientação das interações entre a molécula hóspede e a CD, através da modificação dos deslocamentos químicos e da correlação entre os elementos moleculares (Pavia *et al.*, 2010; Silverstein *et al.*, 2012; Mura, 2014).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer* - DEPT-135, *Heteronuclear Single Quantum Correlation* - HSQC ($^1\text{Hx DEPT}$), *Heteronuclear multiple bond correlation* - HMBC ($^1\text{Hx DEPT}$) e *correlation spectroscopy* - COSY foram realizadas a 200,00 (RMN ^1H) e 100,00 (RMN ^{13}C) MHz em espectrômetro Bruker DRX 400 AVANCE do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, utilizando como padrão interno e solvente a água deuterada (D_2O).

2.5 VARIAÇÕES ESTEQUIOMÉTRICAS

Esta análise foi realizada com o intuito de avaliar possíveis alterações nos parâmetros termodinâmicos e no perfil da competição entre fármacos e SDS pela βCD .

Assim, foram feitas análises em duplicata no ITC a $25\text{ }^\circ\text{C}$, tendo como titulante a solução de SDS $10,00\text{ mmol.L}^{-1}$ e como titulado soluções de βCD :fármaco nas estequiometrias de 1:2; 1:3; 1:4; 2:1; 3:1 e 4:1. Também foram realizadas análises da interação do SDS (titulante $10,00\text{ mmol.L}^{-1}$) com os fármacos (titulado) nas concentrações de

2, 3 e 4 mmol.L⁻¹, a 25 °C, temperatura em que a estequiometria foi próxima de 1 na análise dos sistemas binários, e em duplicata.

2.6 CINÉTICA

Esta análise foi realizada utilizando o software kinITC (Burnouf *et al.*, 2012), disponível para uso por 30 dias no site <https://www.affinimeter.com/site/kinitc-2/>, mas os resultados obtidos continuam disponíveis para acesso. Os dados de entrada utilizados foram as curvas obtidas nas titulações dos sistemas binários e da análise de competição, após a subtração das curvas de diluição, nas três temperaturas estudadas (25, 37 e 45 °C), descrito nos itens 2.1.1 e 2.1.2

CAPÍTULO 3
RESULTADOS E DISCUSSÃO
CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO - CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos pelas técnicas na região do infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (FTIR-ATR) e ressonância magnética nuclear (RMN). Estas foram utilizadas com o objetivo de caracterizar a estrutura das moléculas estudadas e dos CIs, além de analisar a possível formação dos sistemas supramoleculares binários e ternários.

3.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER E REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (FTIR-ATR)

A análise dos compostos de inclusão preparados pela técnica de liofilização foi realizada para avaliar possíveis modificações nos modos vibracionais em relação aos espectros das moléculas isoladas, que podem indicar interações intermoleculares (Mura, 2015). Assim, a Figura 3.1 mostra os espectros de FTIR-ATR das moléculas de β CD, SDS e do CI β CD:SDS.

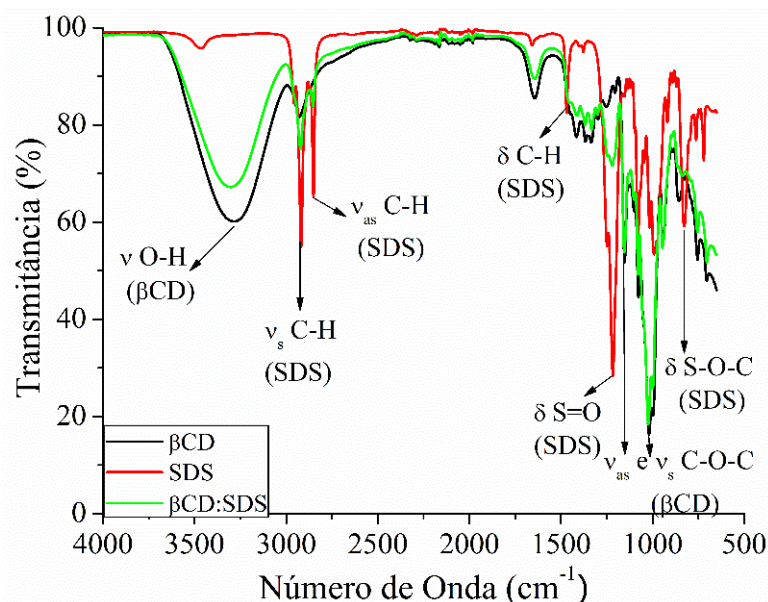


Figura 3.1 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR do SDS, da β CD e do CI SDS: β CD (1:1).

Com base na estrutura da molécula de SDS nota-se que no espectro de FTIR-ATR para o CI com a β CD há um sutil deslocamento da banda de 1214 para 1220 cm^{-1} referente à

deformação angular no plano (δ) de S=O. Também foi possível perceber que as bandas em 827 e 1475 cm^{-1} referente a δ de S-O-C e C-H, respectivamente, não são mais observadas no espectro do CI. Já para molécula de β CD observa-se um pequeno deslocamento do estiramento (ν) O-H de 3290 para 3301 cm^{-1} no espectro do CI. Esses valores mostram que a interação entre as moléculas de SDS e β CD pode ocorrer tanto pela cadeia alquil, quanto pela região do sulfato do SDS (Meira *et al.*, 2018). Neste contexto, os estudos realizados por Tang *et al.*(2006) e Kittirisawai e Romero-Zerón (2015) utilizando a técnica de FTIR-ATR para analisar a possível interação entre o SDS e a β CD, demonstraram resultados semelhantes aos aqui observados, com modificações nos mesmos estiramentos indicando a ocorrência da interação entre essas moléculas (Tang *et al.*, 2006; Kittirisawai e Romero-Zerón, 2015b; Moreira *et al.*, 2016; Nguyen *et al.*, 2016). Os espectros obtidos para o sistema LOS: β CD, bem como das moléculas isoladas, estão apresentados na Figura 3.2.

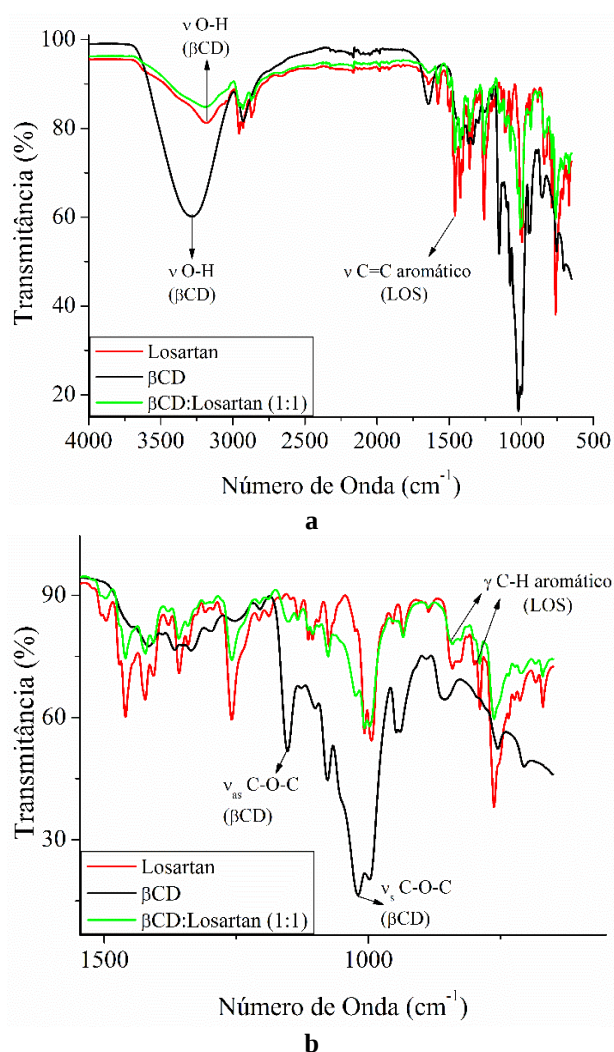


Figura 3.2 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR do LOS, da β CD e do CI LOS: β CD (1:1): a) espectro inteiro; b) expansão da região de 1540 a 650 cm^{-1} .

Analisando as bandas referentes à molécula de LOS é possível perceber um pequeno deslocamento do ν C=C de aromático de 1455 para 1463 cm^{-1} e da deformação angular fora do plano (γ) de C-H de aromático em 792 para 786 cm^{-1} . Além disso, a banda referente ao ν O-H da β CD (3290 cm^{-1}), é provavelmente deslocada para região de 3190 cm^{-1} , sendo sobreposta pela banda de ν O-H de LOS no CI. Estas modificações demonstraram a interação da região aromática da molécula de LOS com a β CD no estado sólido (Meira *et al.*, 2018). Reddy *et al.* (2015) também apresentaram resultado semelhante em seu estudo ao compararem os espectros de FTIR-ATR das moléculas de LOS e β CD puras com seu respectivo CI, onde se pode observar modificações semelhantes as aqui encontradas (Raghavan *et al.*, 1993; Reddy, M.S. *et al.*, 2015; Teixeira e Siqueira, 2016). Já a Figura 3.3 traz o espectro referente à molécula de ATE, sendo comparado aos espectros da molécula de β CD e do CI ATE: β CD.

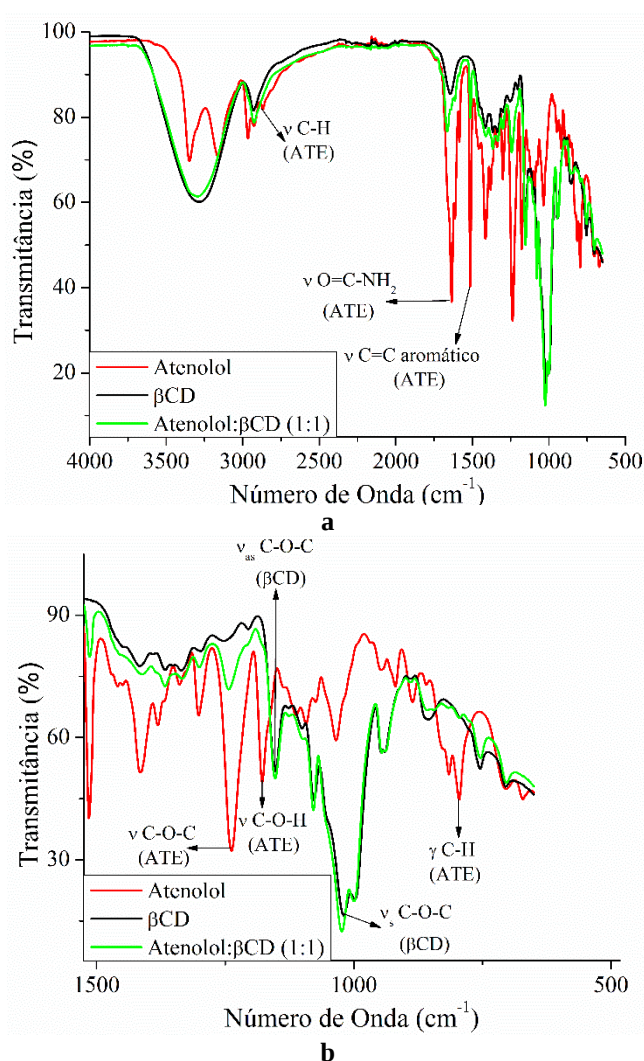


Figura 3.3 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR do ATE, da β CD e do CI ATE: β CD (1:1): a) espectro inteiro; b) expansão da região de 1520 a 650 cm^{-1} .

A partir destes espectros foi possível atribuir para a molécula de ATE um deslocamento das bandas referentes ao ν O=C-NH₂ de 1635 para 1665 cm⁻¹, como também um sutil deslocamento do ν C-O-C de 1238 para 1244 cm⁻¹. Além disso, ocorreu o desaparecimento das bandas de ν CH em 2874 cm⁻¹, γ CH em 800 cm⁻¹ e do ν C-O-H em 1177 cm⁻¹. Ainda foi notado um sutil deslocamento do estiramento simétrico (ν_s) de C-O-C de 1020 para 1028 cm⁻¹ da β CD no CI. Tais mudanças mostram a ocorrência da interação da molécula de ATE com a β CD pela região onde se encontram os grupos funcionais amida, éter e anel aromático do ATE (Meira *et al.*, 2018). Outros estudos, como os realizados por Ficarra *et al.* (2000) e Prabhu *et al.* (2012), apresentaram modificações semelhantes no espectro de FTIR-ATR do CI ATE: β CD, sugerindo que a interação da molécula de ATE ocorre através da região de seu anel aromático com a β CD (Ficarra, Ficarra, Di Bella, Raneri, Tommasini, Calabro, Villari, *et al.*, 2000; Prabhu *et al.*, 2012; Rojek e Wesolowski, 2016).

Logo, a análise da mistura mecânica foi realizada com o intuito de promover uma comparação com os resultados obtidos pelo método de liofilização, para verificar a eficiência do método de preparo dos compostos de inclusão (Del Valle, 2004).

Para o sistema SDS: β CD (1:1), apresentado na Figura 3.4, os espectros obtidos pelo método de liofilização e mistura mecânica não apresentaram diferenças relevantes, somente foi observado uma pequena diminuição da intensidade de algumas bandas pelo método de mistura mecânica. Isso pode ter ocorrido devido a pressão realizada sobre esta amostra durante a realização da análise de FTIR-ATR, que promoveu a interação entre as moléculas de SDS e β CD, ou ainda por se tratar de um método quantitativo.

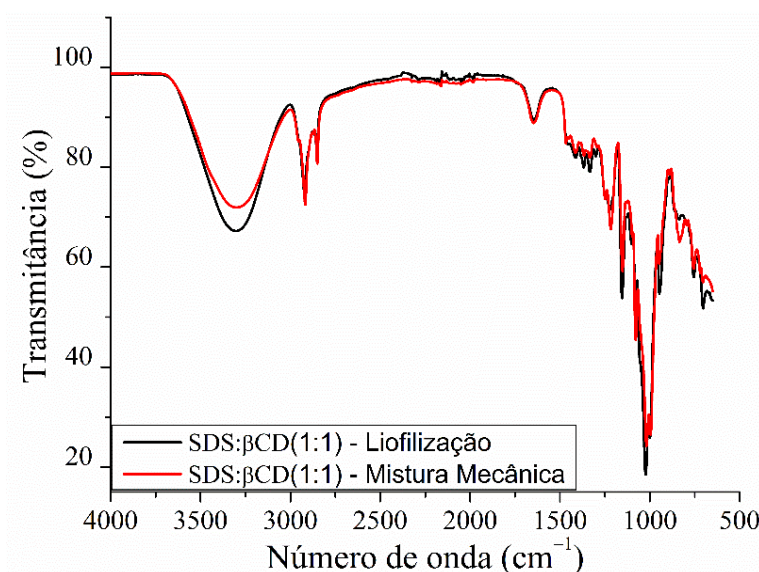


Figura 3.4 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR comparando os métodos de liofilização e mistura mecânica para o sistema SDS: β CD (1:1)

Já no sistema LOS:βCD (1:1), apresentado na Figura 3.5, nota-se que os espectros obtidos pelo método de liofilização (linha preta) e mistura mecânica (linha vermelha) são diferentes, sendo que quando comparado ao espectro da molécula de βCD pura (Figura 3.6), a mistura mecânica possui um perfil muito semelhante, apresentando as mesmas bandas. Isso mostra que o método de liofilização levou a uma maior interação da molécula hóspede com a βCD, o que pode ser confirmado pela redução da intensidade do modo C–O–C referente à ligação glicosídica da βCD.

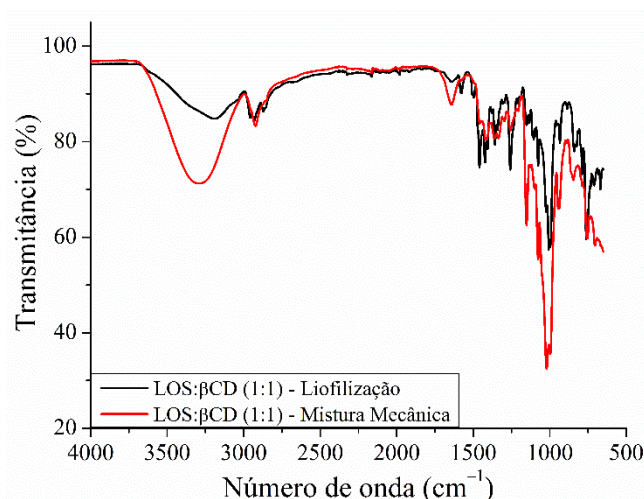


Figura 3.5 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR comparando os métodos de liofilização e mistura mecânica para o sistema LOS:βCD (1:1).

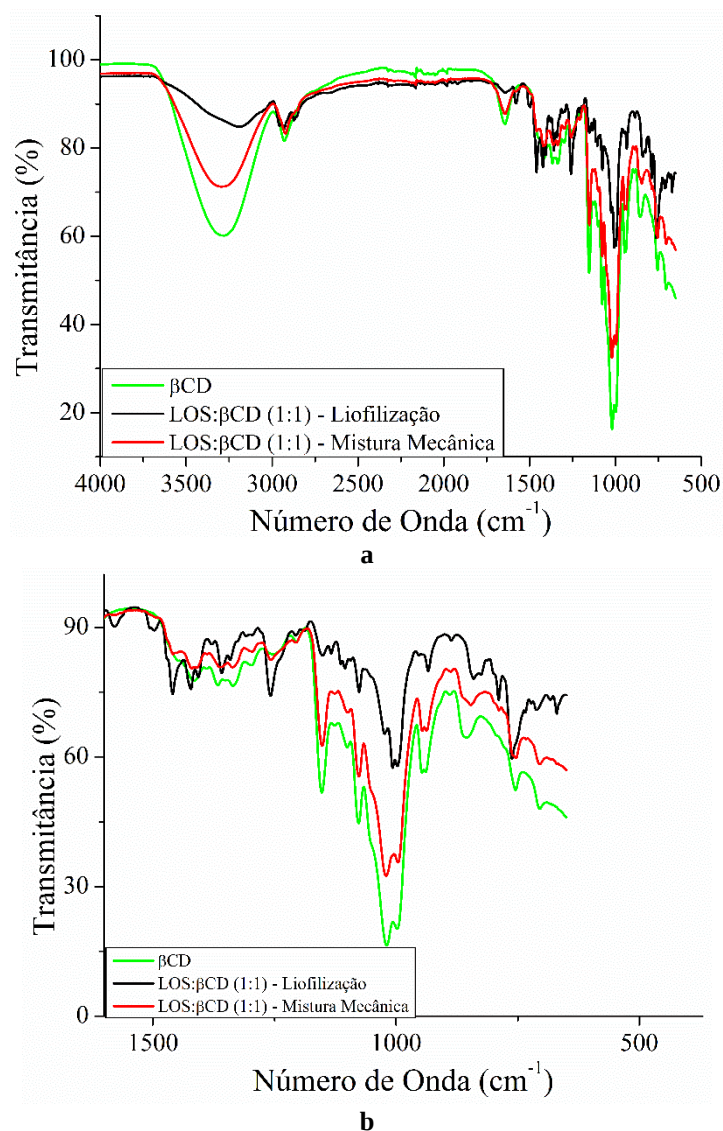


Figura 3.6 - Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR comparando os métodos de liofilização e mistura mecânica para o sistema LOS:βCD (1:1): a) comparação com espectro da βCD; b) comparação com espectro da βCD expansão da região de 1550 a 650 cm^{-1} .

Para o CI ATE:βCD (1:1), Figura 3.7, os espectros obtidos pelos diferentes métodos foram semelhantes. Entretanto, o obtido pelo método de mistura mecânica apresenta mais sinais semelhantes ao espectro da molécula de βCD pura. Logo, para este sistema também foi demonstrado que o método de liofilização apresentou melhor resultado para formar o sistema supramolecular.

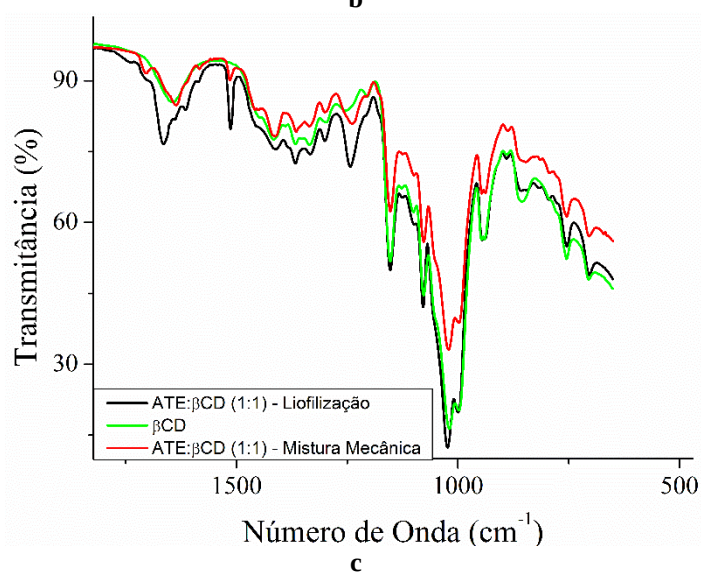
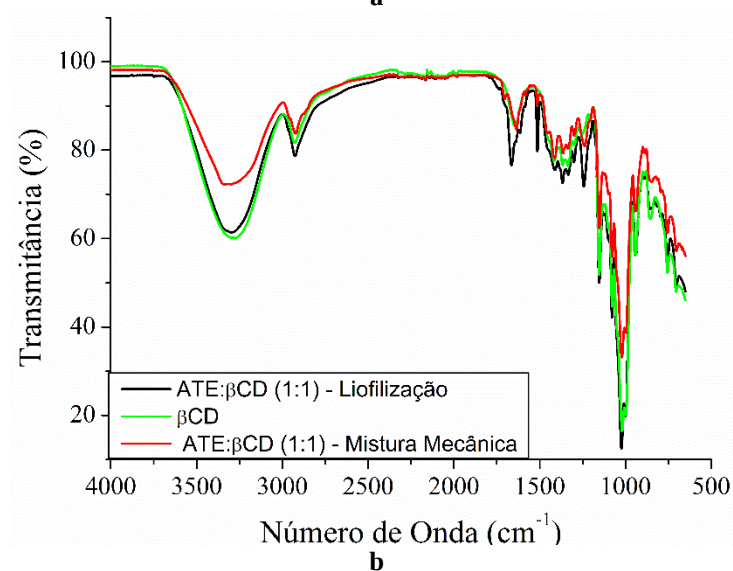
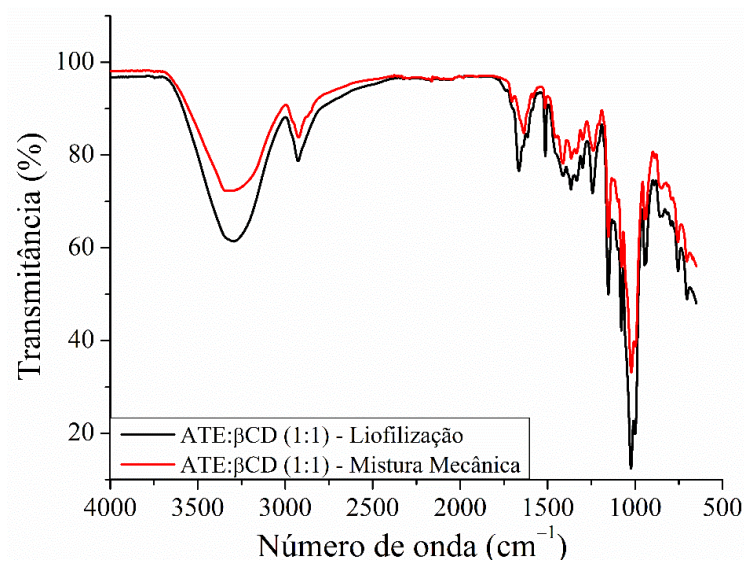


Figura 3.7- Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR comparando os métodos de liofilização e mistura mecânica para o sistema ATE:βCD (1:1): a) comparação entre os sistemas; b) comparação com espectro da βCD; c) comparação com espectro da βCD expansão da região de 1200 a 650 cm^{-1} .

Por fim, os resultados de FTIR-ATR foram úteis para indicar a existência de interações intermoleculares nos sistemas supramoleculares, sendo uma técnica barata, rápida e relativamente fácil de ser executada. Contudo, os sistemas supramoleculares são formados por interações intermoleculares geralmente fracas, assim a técnica de FTIR-ATR não é suficientemente precisa para determinar a estrutura destes sistemas (Passos *et al.*, 2011a), se fazendo necessário o uso de outras técnicas, como a ressonância magnética nuclear.

3.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Para as moléculas estudadas não foi necessário a discussão dos espectros de RMN ^{13}C , uma vez que estas foram obtidas comercialmente e a análise do RMN de ^1H , os quais não apresentaram sinais de contaminação, associado aos dados obtidos na literatura comprovaram a pureza das moléculas (Ficarra, Ficarra, Di Bella, Raneri, Tommasini, Calabro, Gamberini, *et al.*, 2000; De Paula *et al.*, 2011; Prabhu *et al.*, 2012(De Paula, 2011 #28; Zervou *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2016). Além disso, o efeito da interação intermolecular entre as espécies hóspede e hospedeira não são suficientemente grandes para que haja variação no deslocamento dos núcleos de carbono (Schneider *et al.*, 1998).

3.2.1 SISTEMA SDS:βCD (1:1)

A Figura 3.8 traz as estruturas do SDS e do monômero da βCD com a identificação dos hidrogênios e carbonos utilizados para as análises.

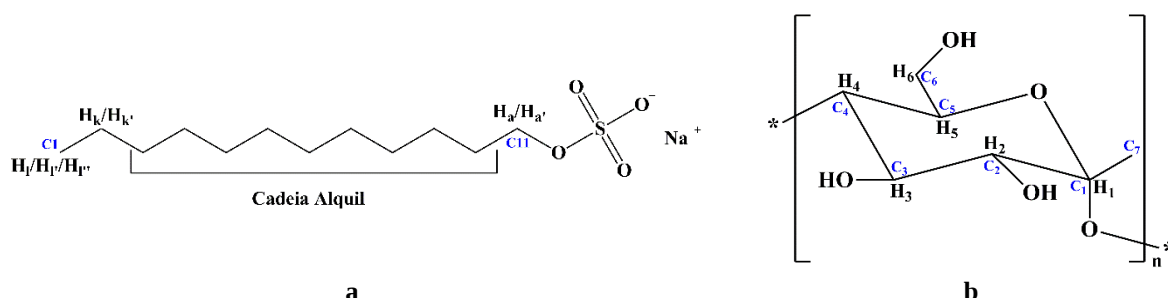


Figura 3.8 – Representação estrutural com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos: a) dodecil sulfato de sódio (SDS); b) monômero da ciclodextrina.

A análise do espectro de RMN de ^1H para molécula de SDS (Figura 3.9) permitiu atribuir o sinal de deslocamento químico (δ) em 0,98 ppm aos hidrogênios metílicos $\text{H}_\text{h}/\text{H}_\text{h}'/\text{H}_\text{h}''$ mais blindados da extremidade desta molécula. Também nota-se um multipeto em δ 1,77 ppm, o qual foi atribuído aos hidrogênios metilênicos $\text{H}_\text{j}/\text{H}_\text{j}'$. Já $\text{H}_\text{a}/\text{H}_\text{a}'$ foram

atribuídos ao tripleto em δ 4,11 ppm, isso porque a proximidade destes hidrogênios com o grupo sulfato faz com eles sejam mais desblindados e tenham deslocamento químico maior do que os outros hidrogênios metilênicos do SDS. Além disso, em δ 1,40 ppm é notada a presença de um sinal de integral referente a 18 hidrogênios, correspondendo ao número de hidrogênios presentes na denominada cadeia alquil, os quais não puderam ser diferenciados por possuírem um ambiente químico equivalente.

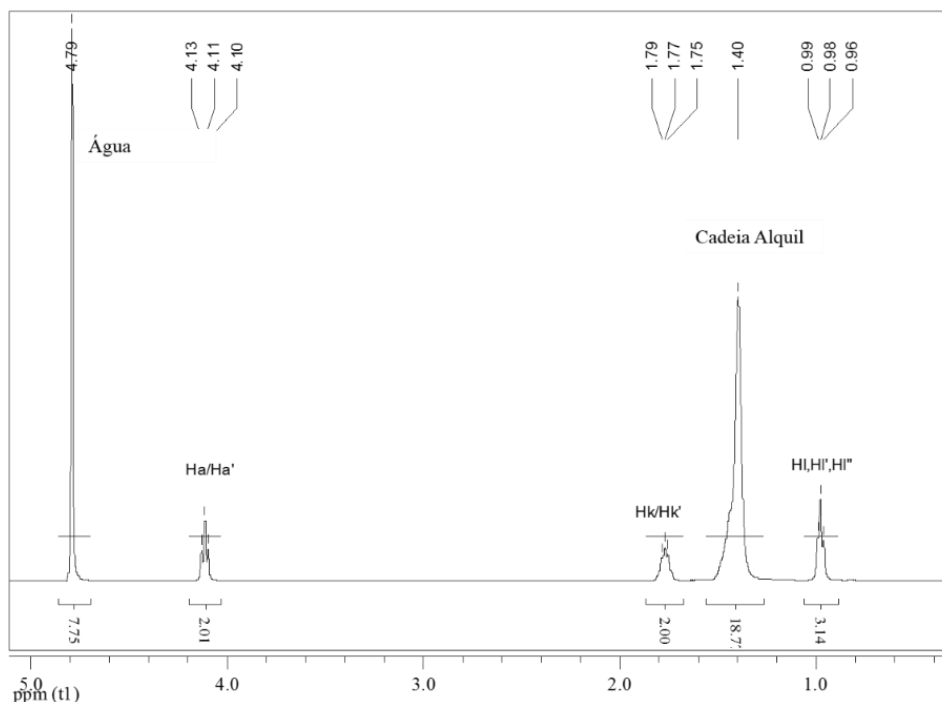


Figura 3.9 – Espectro de RMN ^1H do dodecil sulfato de sódio, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

Analisando o espectro de RMN ^1H para o CI SDS: β CD (1:1) (Figura 3.10) nota-se que o sinal referente aos hidrogênios da cadeia alquil do SDS se torna um multipeto com δ em 1,44 ppm, tendo uma variação de deslocamento de $-0,04$ ppm em relação ao composto puro ($\Delta\delta = \delta_{\text{composto puro}} - \delta_{\text{CI binário}}$). Os sinais referentes aos hidrogênios Ha/Ha', Hk/Hk' e Hl/Hl'/Hl'', mantiveram seu perfil de multiplicidade, sendo observado uma $\Delta\delta$ de $-0,04$; $0,01$ e $-0,09$ ppm, respectivamente. Em relação à β CD, se tem que o H1 aparece em δ 5,14 ppm no CI, já os demais hidrogênios aparecem na forma de um multipeto em δ 3,77 ppm.

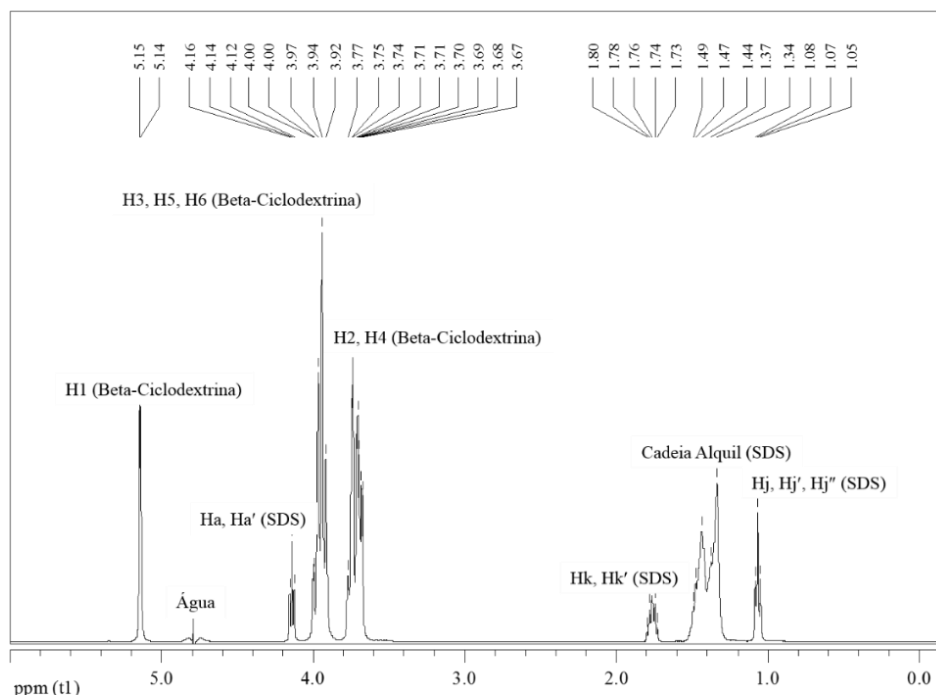


Figura 3.10 – Espectro de RMN ^1H do CI SDS: β CD (1:1), a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

A análise de 2D-ROESY foi realizada por ser uma das principais técnicas para determinação estrutural de sistemas supramoleculares (Schneider *et al.*, 1998; Mura, 2014). Na Figura 3.11 é apresentado o mapa de contorno para este CI, no qual pode ser observada correlação dipolar entre os hidrogênios internos e externos da β CD (exceto H1) com os hidrogênios indicados como da cadeia alquil e H1/H1'/H1'' do SDS, o que demonstra uma possível interação destes hidrogênios com a β CD. Contudo uma maior intensidade de correlação é observada para os hidrogênios da cadeia alquil do SDS, demonstrando que estes estão mais próximos dos hidrogênios da β CD na formação do CI. Este resultado está de acordo com as modificações observadas nos espectros de FTIR-ATR. Resultados semelhantes foram encontrados em outras pesquisas que estudaram a interação do SDS com β CD, α CD, metil-betaciclodextrina (M β CD) e dimetil-betaciclodextrina (DM β CD) utilizando as técnicas de RMN ^1H e 2D-ROESY, onde foi verificado que a interação ocorre pela região alquil do SDS dentro da cavidade da β CD (Zheng e Lu, 1992; Sehgal *et al.*, 2006; Melani *et al.*, 2011).

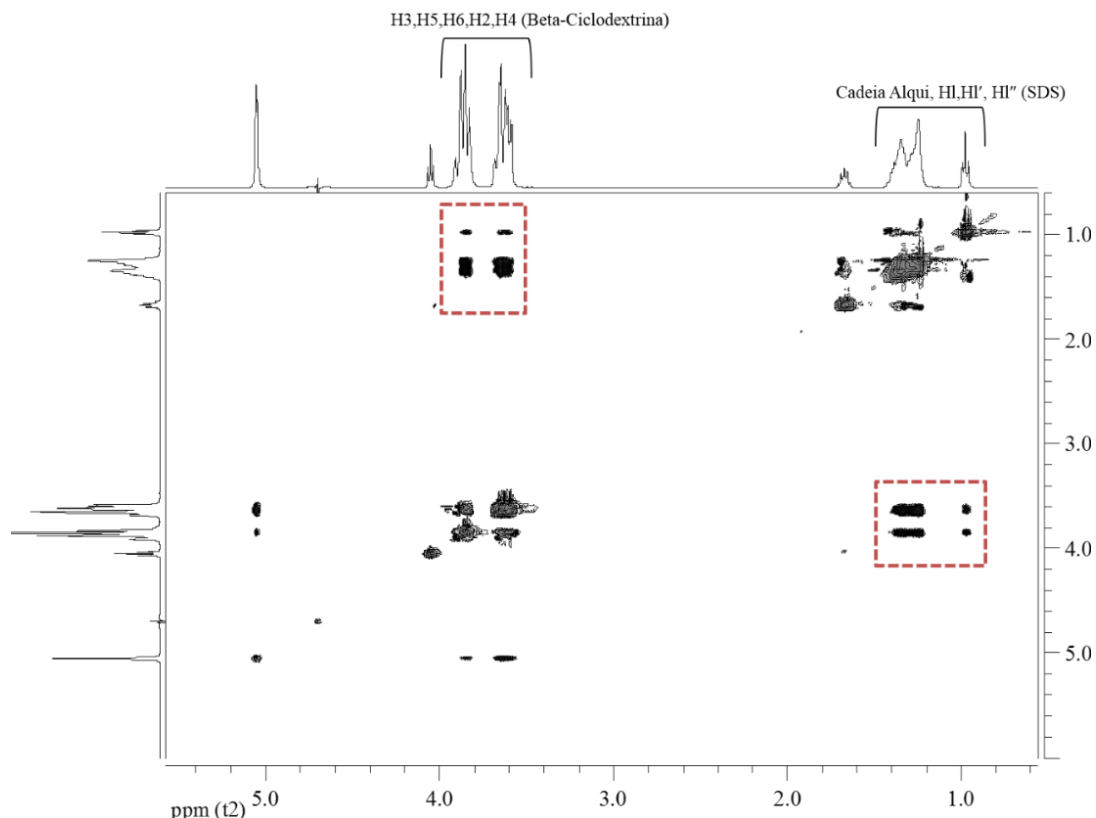


Figura 3.11 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do CI SDS:βCD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D₂O.

3.2.2 SISTEMA LOS:βCD (1:1)

A Figura 3.12 traz as estruturas do LOS e do monômero da βCD com a identificação dos hidrogênios e carbonos utilizados para as análises.

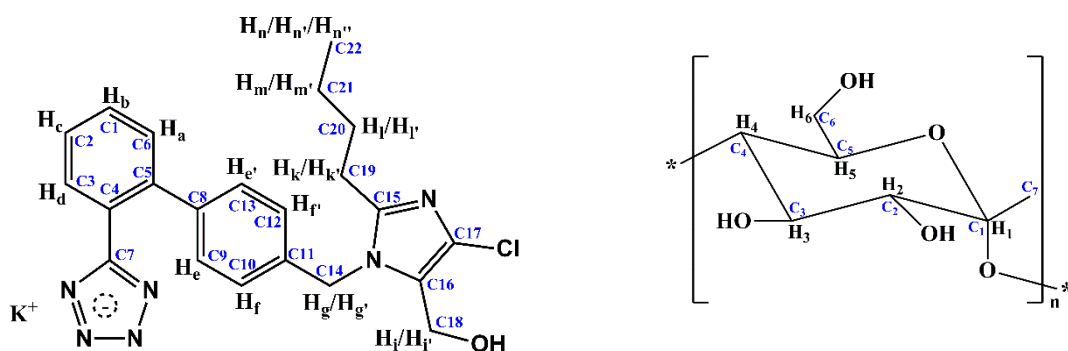


Figura 3.12– Representação estrutural com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos: a) losartan potássico (LOS); b) monômero da ciclodextrina.

Com a análise do espectro de RMN ¹H (Figuras 3.13 e 3.14) foram atribuídos aos sinais em δ 6,71; 6,85, 7,10; 7,31; 7,41 e 7,61 ppm os hidrogênios aromáticos Hf/Hf', He/He', Ha, Hb, Hc e Hd, respectivamente, visto que estes deslocamentos químicos estão em uma região típica de hidrogênios aromáticos (Pavia *et al.*, 2010; Silverstein *et al.*, 2012), e as

multiplicidades dos sinais corroboram com tal atribuição. Os hidrogênios Hg/Hg' e Hi/Hi' foram atribuídos aos singletos em δ 5,06 e 4,35 ppm, respectivamente, já os hidrogênios metílicos Hn/Hn'/Hn'' foram atribuídos ao tripleto em δ 0,65 ppm e os metilênicos Hm/Hm', Hl/Hl' e Hk/Hk' aos sinais de sexteto, quinteto e tripleto de δ 1,06; 1,35 e 2,38 ppm, respectivamente. Estes sinais foram confirmados por apresentarem correlações nos espectros de RMN de $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY (Figuras 3.15 e 3.16) e $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC (Figuras 3.17 e 3.18). Isso porque a análise do $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY possibilita identificar os hidrogênios vicinais, já o $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC correlaciona os hidrogênios que estão diretamente ligados a um determinado átomo de carbono, enquanto o $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC correlaciona os hidrogênios acoplados por duas ou mais ligações a um determinado carbono (Pavia *et al.*, 2010; Silverstein *et al.*, 2012). Estes resultados foram semelhantes aos encontrados na literatura para caracterização do losartan potássico utilizando as técnicas de RMN ^1H e ^{13}C (Raghavan *et al.*, 1993; Zervou *et al.*, 2014).

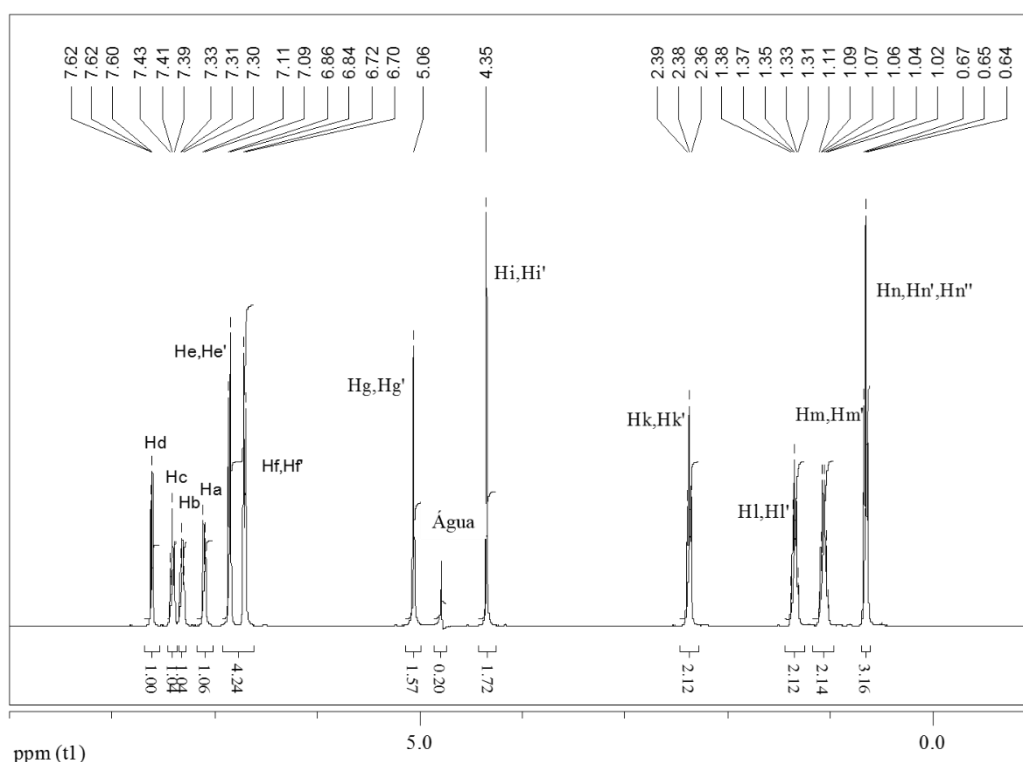


Figura 3.13 - Espectro de RMN ^1H do losartan potássico, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

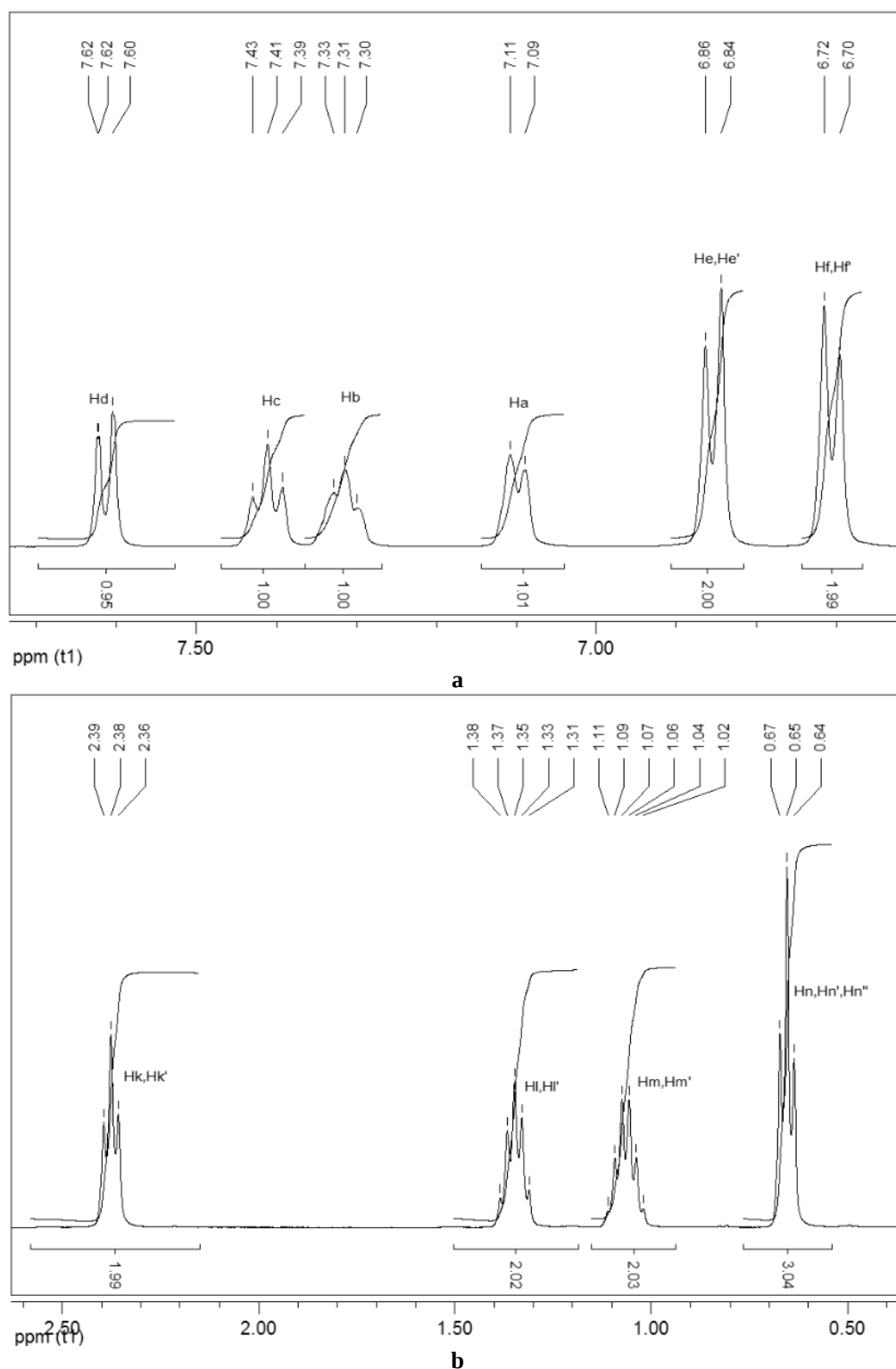


Figura 3.14 – Expansão do espectro de RMN ^1H do losartan potássico, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

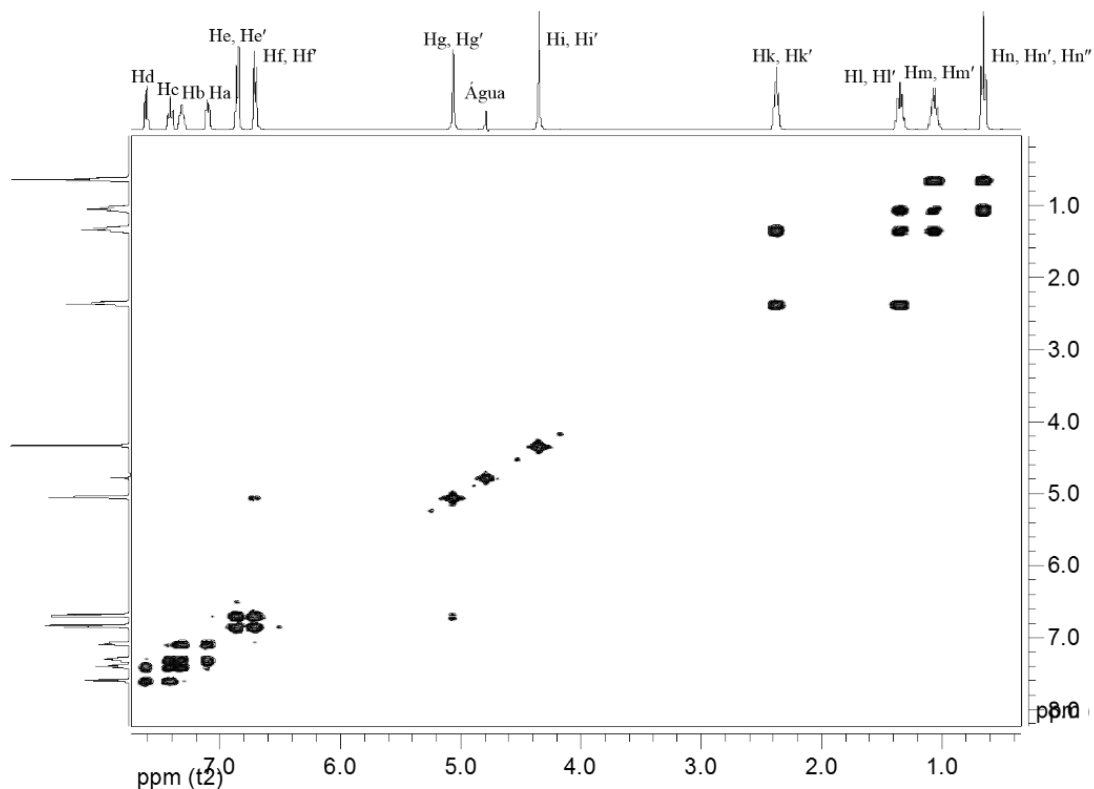


Figura 3.15 – Mapa de contorno $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

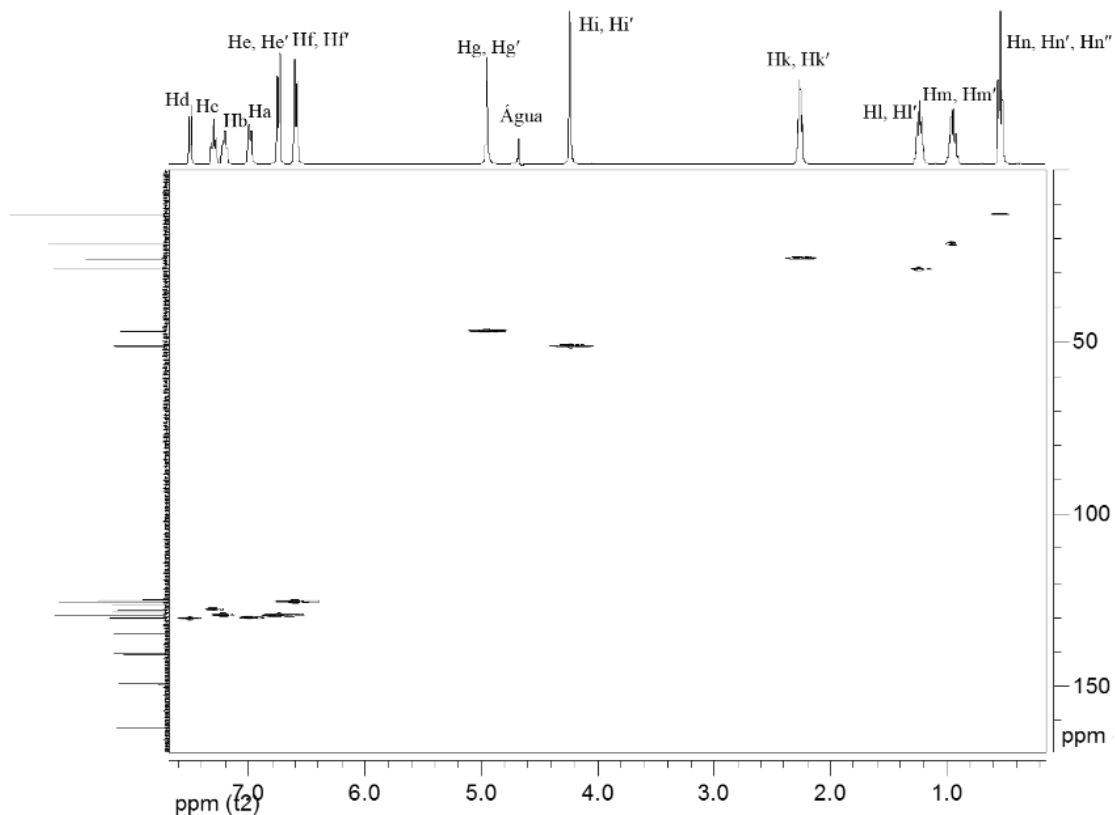


Figura 3.16 – Mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

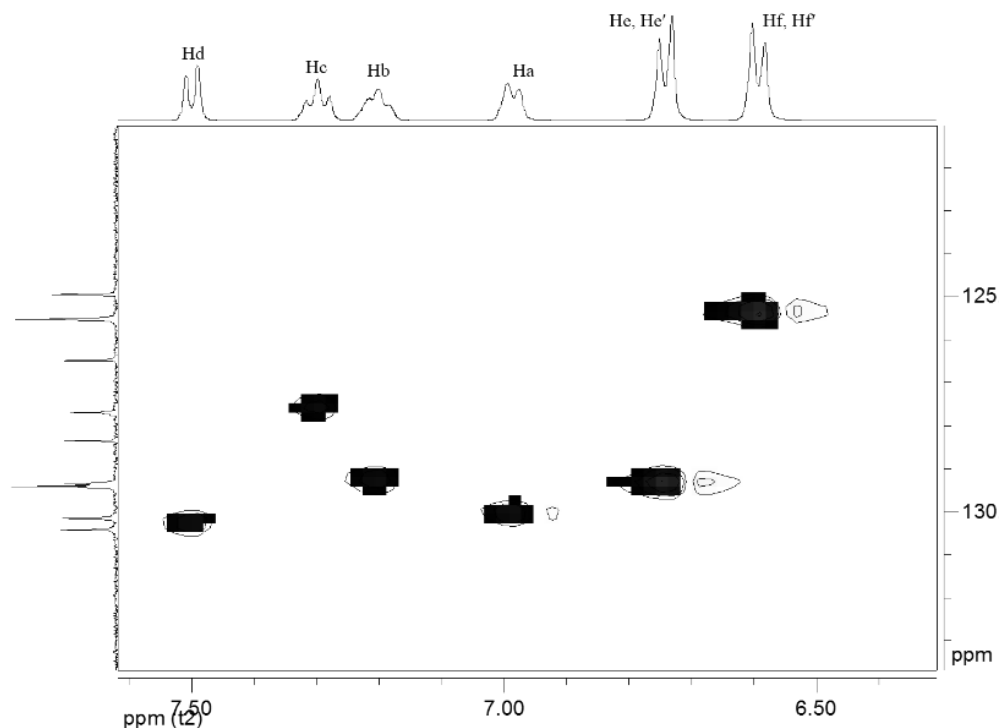


Figura 3.17 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

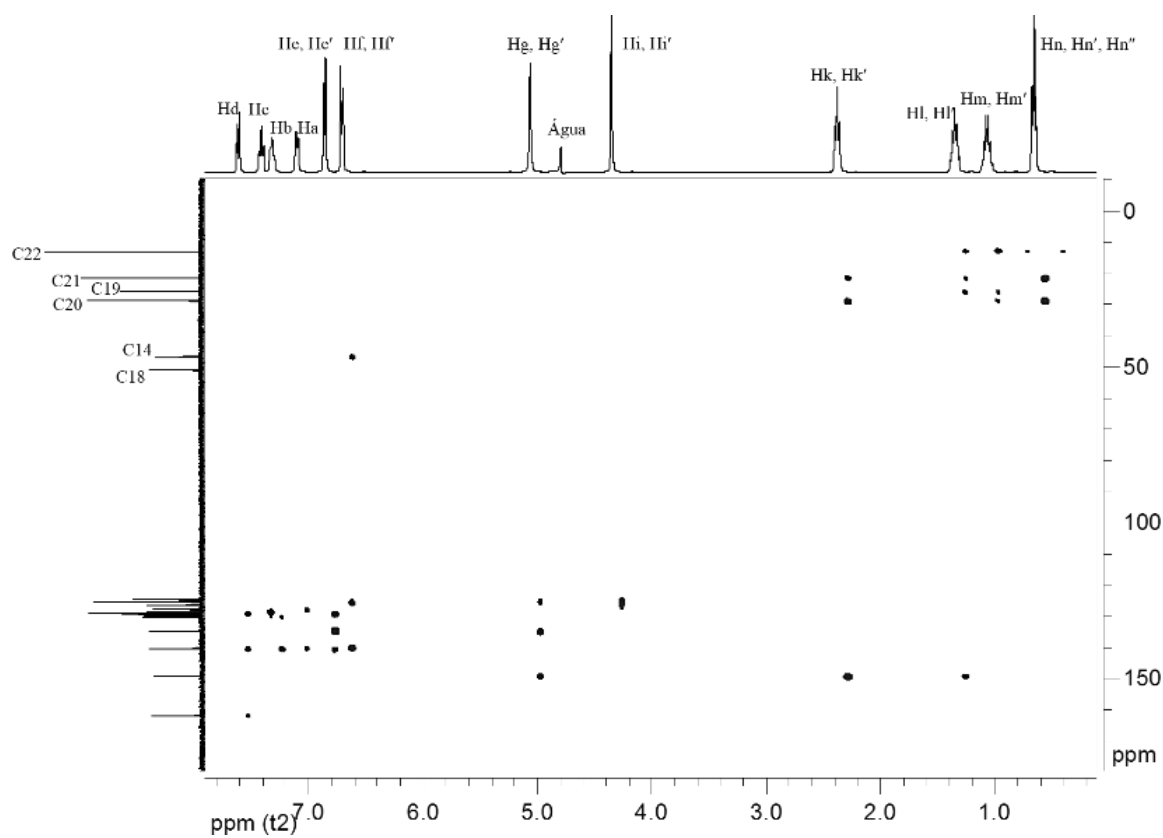


Figura 3.18 - Mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

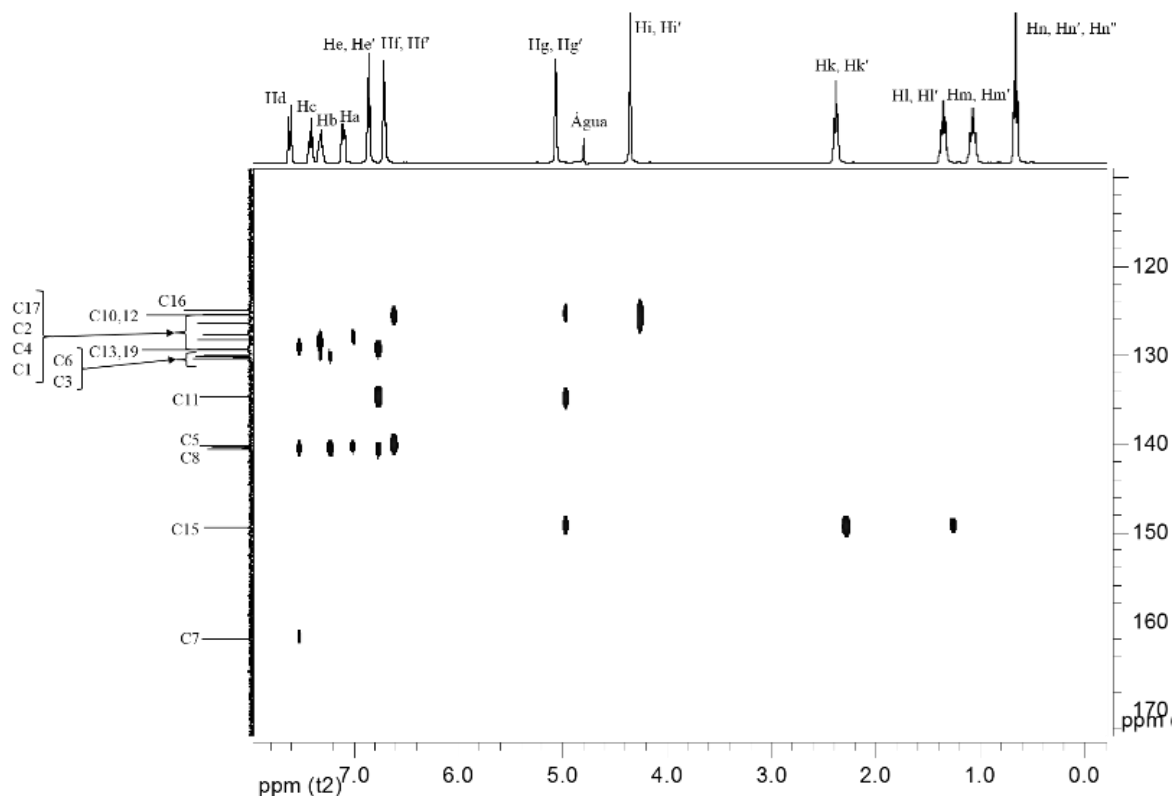


Figura 3.19 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC para o losartan potássico a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

Já para o CI LOS: β CD (1:1), com a análise do espectro de ^1H (Figura 3.20) nota-se que os sinais de hidrogênio de LOS, com exceção de Hg e Hi, perderam suas multiplicidades quando comparados ao composto puro. Os hidrogênios Hi e Hg apresentaram no CI δ de 4,46 e 5,21 ppm, respectivamente, apresentando uma $\Delta\delta$ de $-0,11$ (Hi) e $-0,15$ (Hg) ppm. A Tabela 3.1 contém todos os valores de $\Delta\delta$ para todos os hidrogênios de LOS.

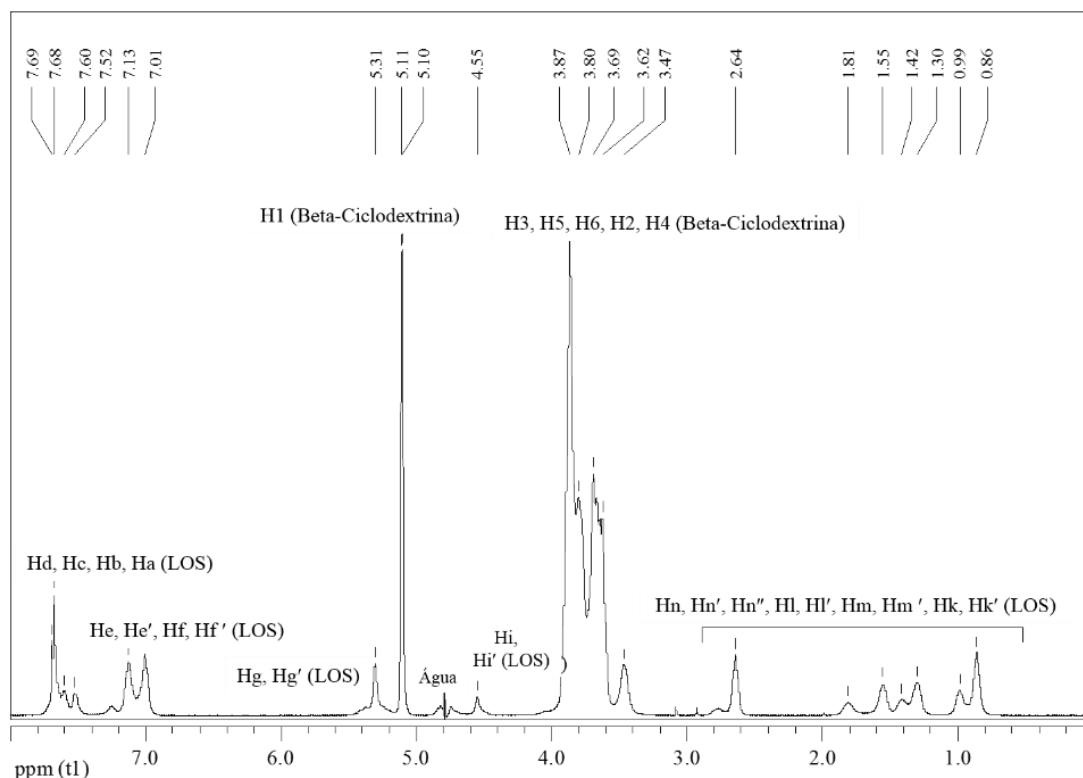


Figura 3.20 - Espectro de RMN ^1H do CI LOS:βCD (1:1), a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

Tabela 3.1 – Deslocamentos químicos (δ) para os hidrogênios da molécula de LOS e do CI LOS:βCD (1:1) e variação dos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$).

Hidrogênios	LOS (δ ppm)	LOS:βCD (δ ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
a	7,10	7,64	-0,54
b	7,31	7,64	-0,33
c	7,41	7,64	-0,23
d	7,61	7,64	-0,03
e	6,85	7,07	-0,22
f	6,71	7,07	-0,36
g	5,06	5,31	-0,25
i	4,35	4,55	-0,20
k	2,38	*	*
l	1,35	*	*
m	1,06	*	*
n	0,65	*	*

*Hidrogênios sobrepostos

O mapa de contorno 2D-ROESY (Figura 3.21) mostrou a correlação dipolar entre os hidrogênios externos e internos da βCD, exceto o H1, com os hidrogênios Hf/Hf', He/He', Ha, Hb, Hc e Hd do LOS, indicando que a interação ocorre provavelmente pela região dos anéis aromáticos de LOS com a cavidade da βCD. Este resultado está conforme ao encontrado na

análise do FTIR-ATR, que indicou mudanças nas bandas referentes aos anéis aromáticos da molécula de LOS no CI. Além disso, este resultado está de acordo com o encontrado por De Paula *et al.* (2011), que observaram correlações dipolares na análise de 2D-ROESY semelhantes entre LOS e a HP β CD, indicando que a interação entre essas moléculas envolve a inclusão da região aromática de LOS.

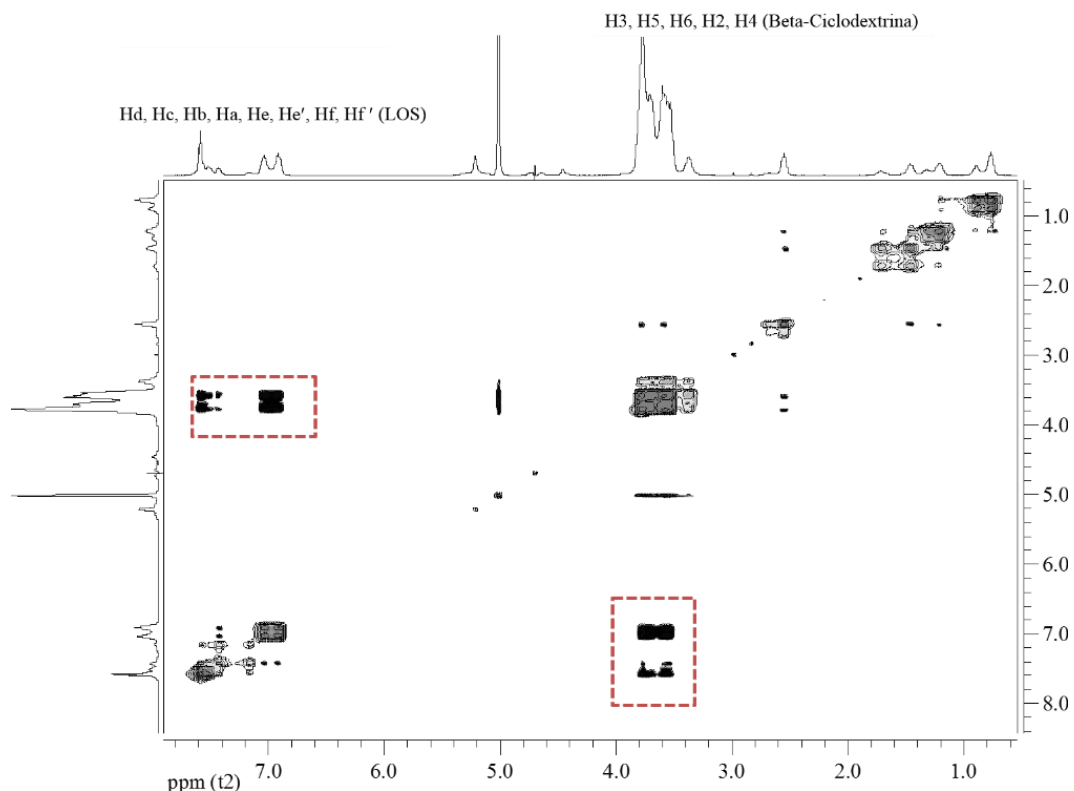


Figura 3.21 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do LOS:βCD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D₂O.

3.2.3 SISTEMA ATE:βCD (1:1)

A Figura 3.22 traz as estruturas do ATE e do monômero da βCD com a identificação dos hidrogênios e carbonos utilizados para as análises.

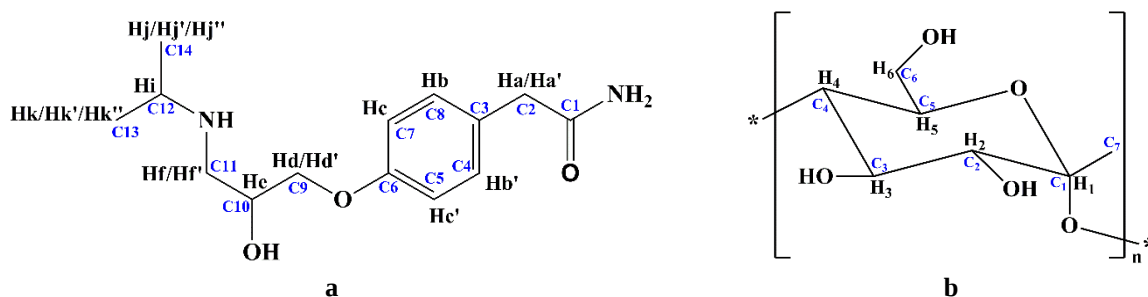


Figura 3.22– Representação estrutural com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos: a) atenolol (ATE); b) monômero da ciclodextrina.

A análise dos espectros de ^1H (Figura 3.23) permitiu atribuir os dupletos de δ 7,07 e 7,33 ppm aos hidrogênios aromáticos Hb/Hb' e Hc/Hc', sendo estes últimos mais desblindados devido à proximidade com o grupo éter. Já o singlete com δ 3,62 ppm foi atribuído aos hidrogênios metilênicos Ha/Ha'. Tais atribuições foram feitas com base na multiplicidade observada dos sinais em regiões típicas para estes grupos. A partir disso, os demais hidrogênios, que geraram multipletos, puderam ser atribuídos com o auxílio da análise de correlações observadas no $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC (Figura 3.24) e $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC (Figura 3.25). Foi necessário analisar o HSQC com cores para diferenciar CH_2 (vermelho) de CH/CH_3 (De Paula *et al.*), com o objetivo de atribuir corretamente todos os hidrogênios. Estes resultados estão de acordo com a literatura, no qual espectros com δ para hidrogênio e carbono, bem como correlações em HMBC são apresentados com valores semelhantes (Ficarra, Ficarra, Di Bella, Raneri, Tommasini, Calabro, Gamberini, *et al.*, 2000; Zielinska-Pisklak *et al.*, 2011; Prabhu *et al.*, 2012).

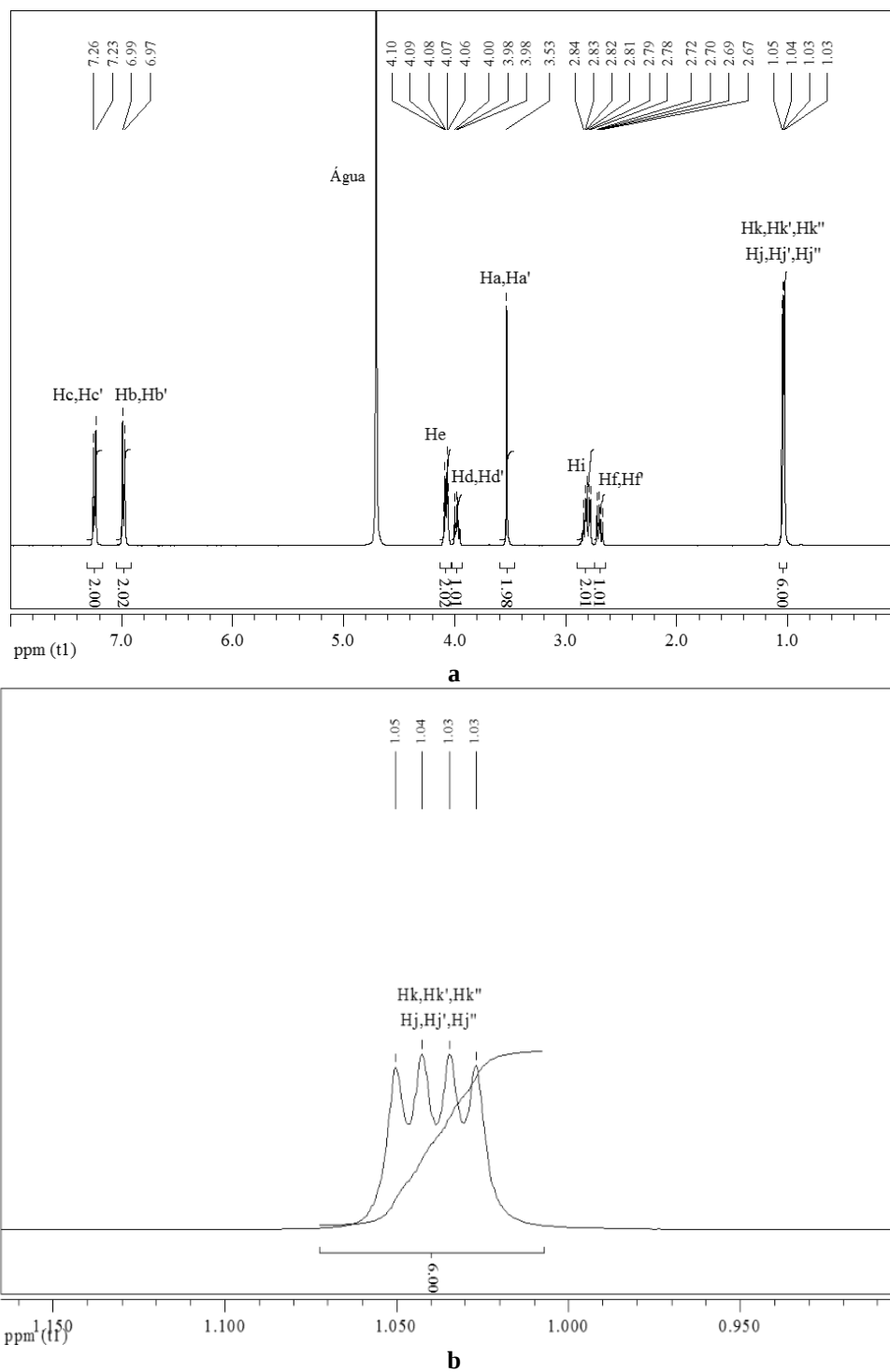


Figura 3.23 - Espectros de RMN ^1H do atenolol, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O : a) espectro inteiro; b) expansão.

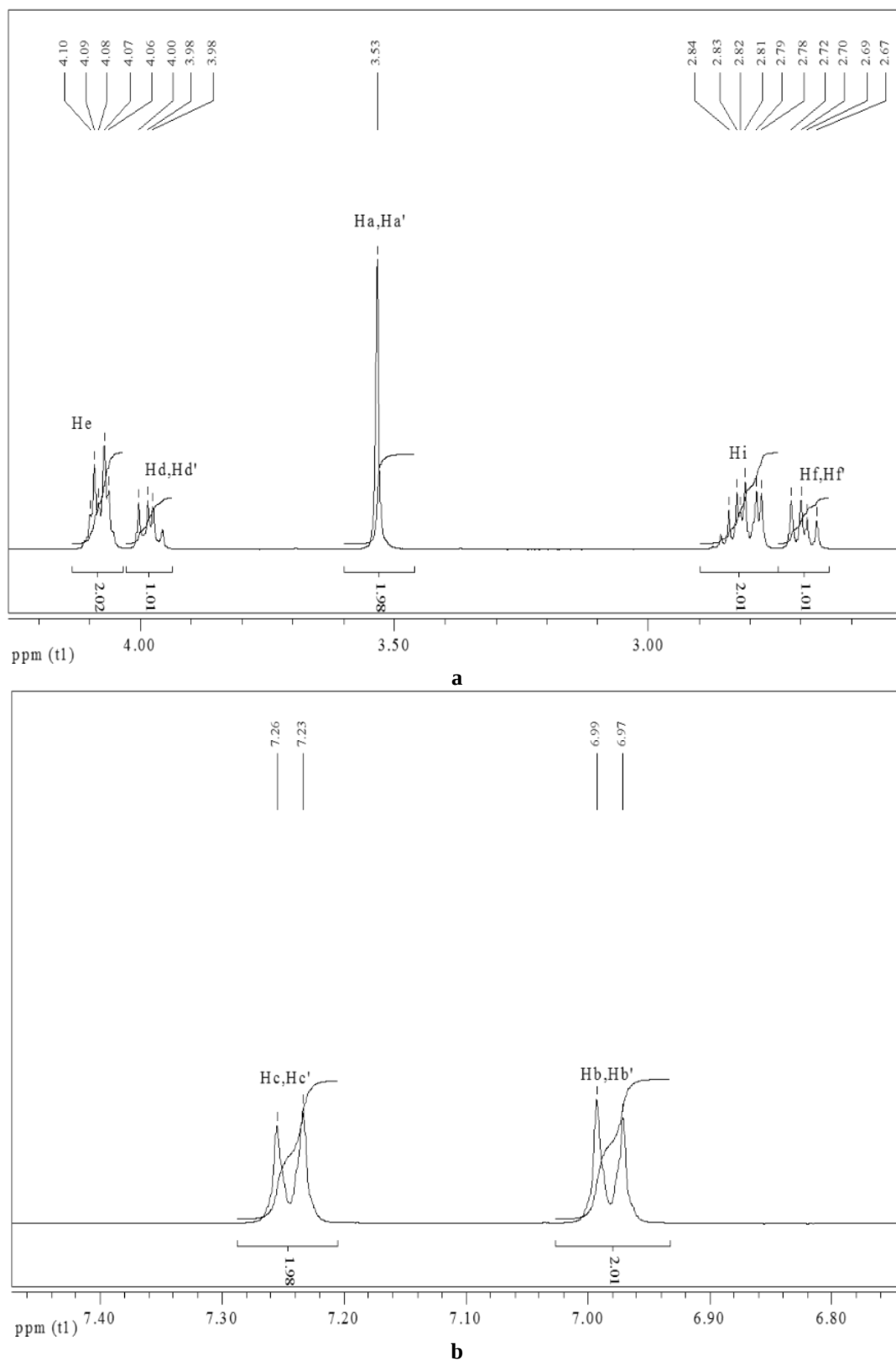


Figura 3.24 – Expansões do espectro de RMN ^1H do atenolol, a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

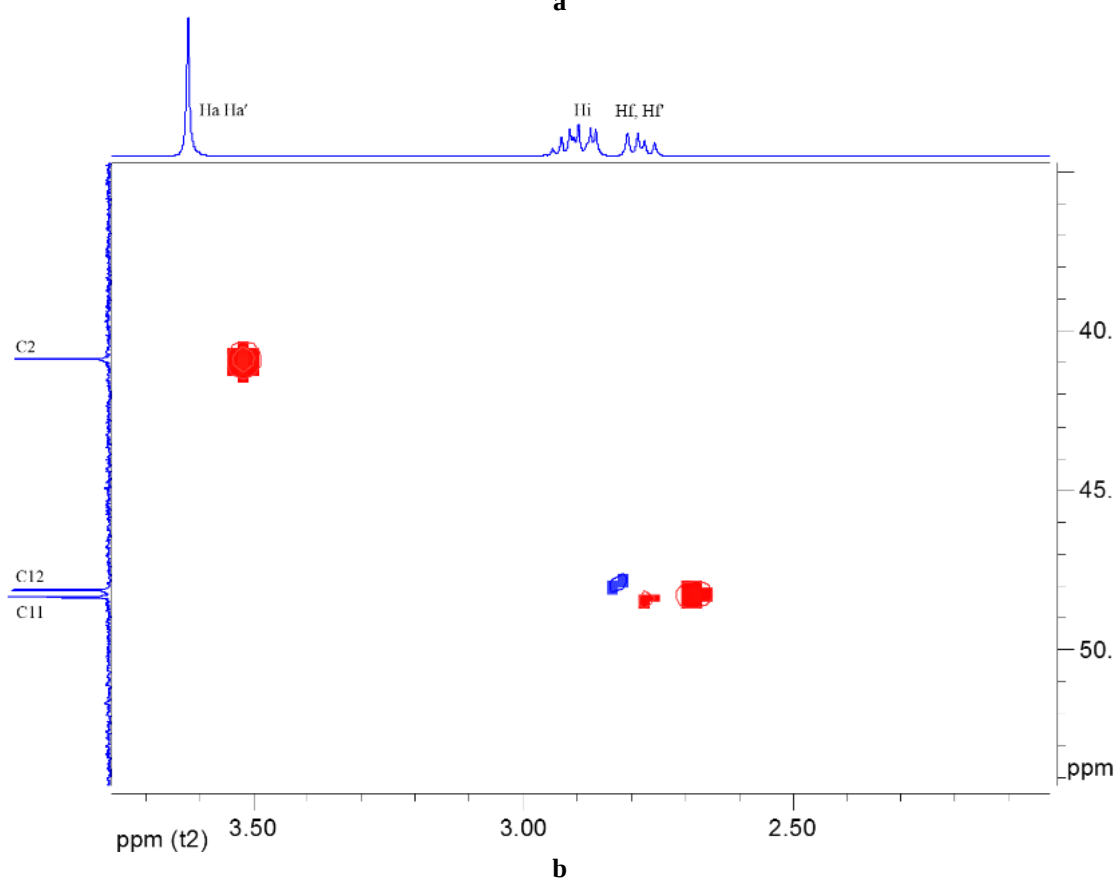
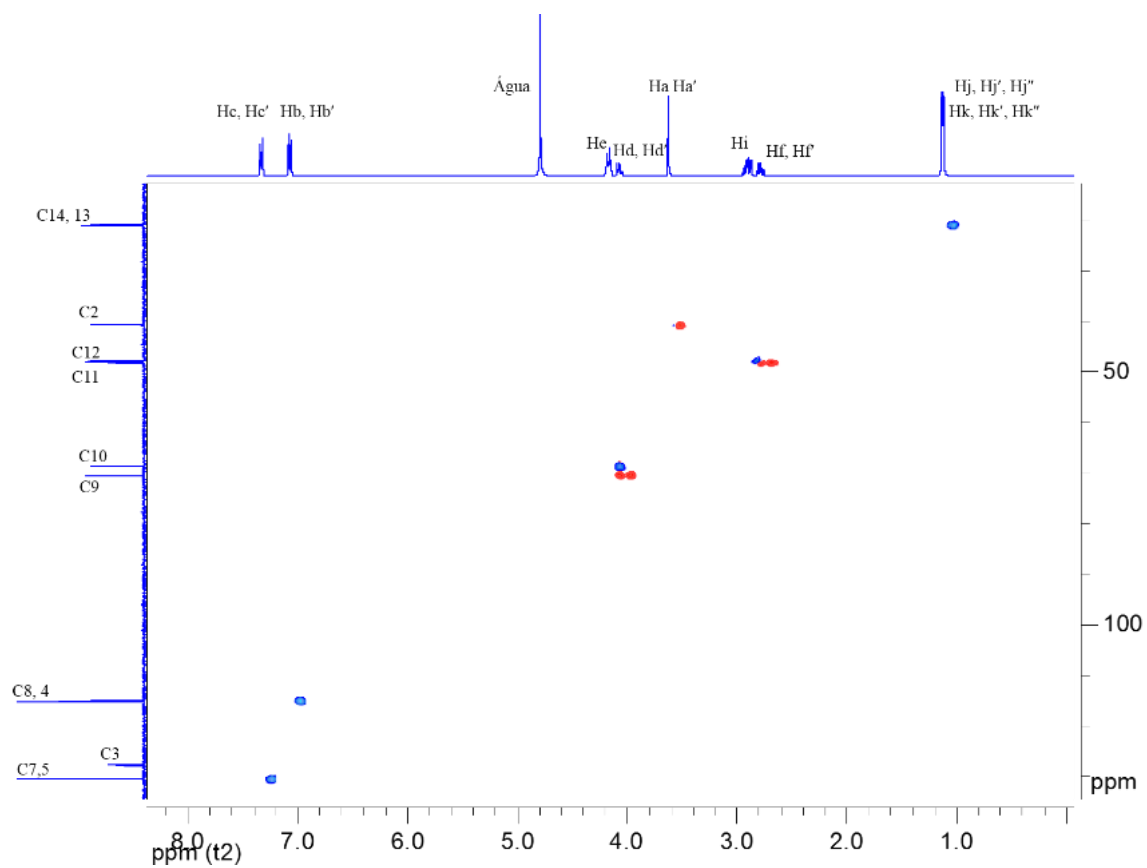


Figura 3.25 – Mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC para o atenolol a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .: a) total; b) expansão.

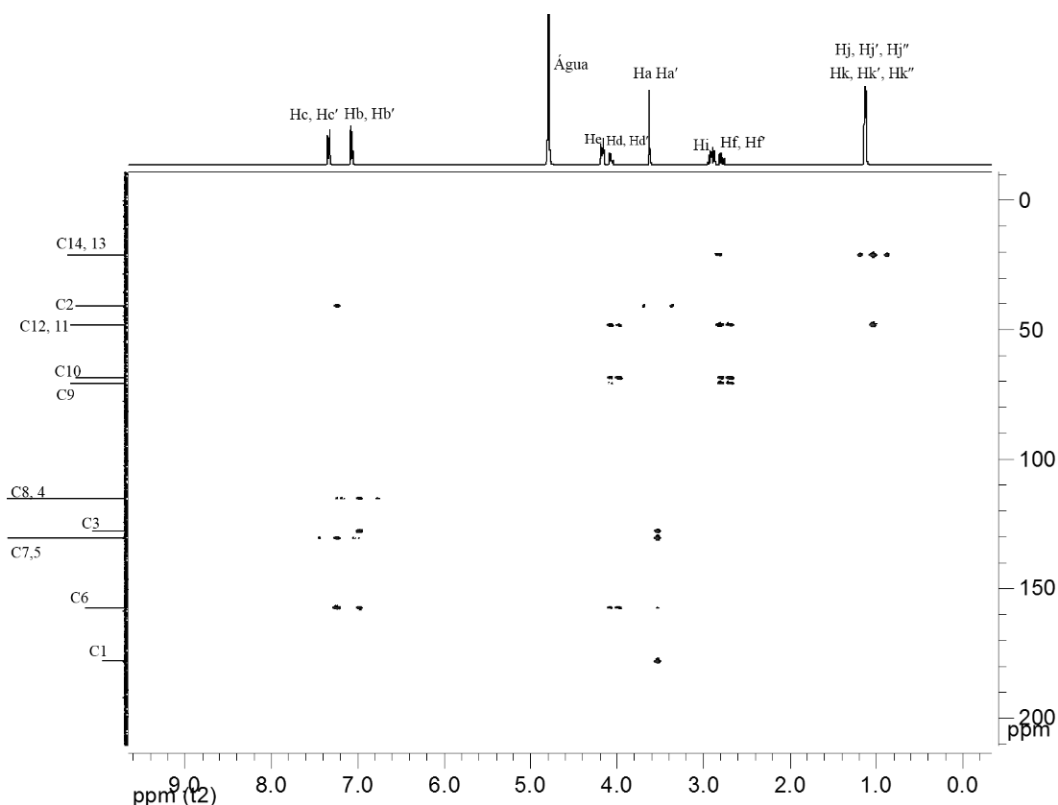


Figura 3.26 - Mapa de contorno $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC para o atenolol a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

Logo, o RMN ^1H do CI ATE: β CD (1:1) (Figura 3.27) mostra a sobreposição dos sinais dos hidrogênios Ha/Ha', Hd/Hd' e He do ATE com os hidrogênios da β CD (exceto H1). A $\Delta\delta$ observada para os demais hidrogênios do ATE (Tabela 3.2) ocorre devido a mudança do ambiente químico, indicando a interação entre as moléculas de ATE e β CD.

A análise do mapa de contorno 2D-ROESY (Figura 3.28) permitiu verificar a correlação entre os hidrogênios Ha/Ha', Hb/Hb' e Hc/Hc' com os hidrogênios internos e externos da β CD (exceto H1), indicando a inclusão da região aromática do ATE na cavidade da β CD. Estes resultados são correlatos aos encontrados na análise de FTIR-ATR para este sistema, onde modificações foram encontradas nas bandas relativas à região aromática do ATE. Além disso, os dados aqui apresentados são condizentes com os presentes na literatura que indicam que a inclusão na β CD ocorre na região do anel aromático do ATE (Borodi *et al.*, 2008; Prabhu *et al.*, 2012).

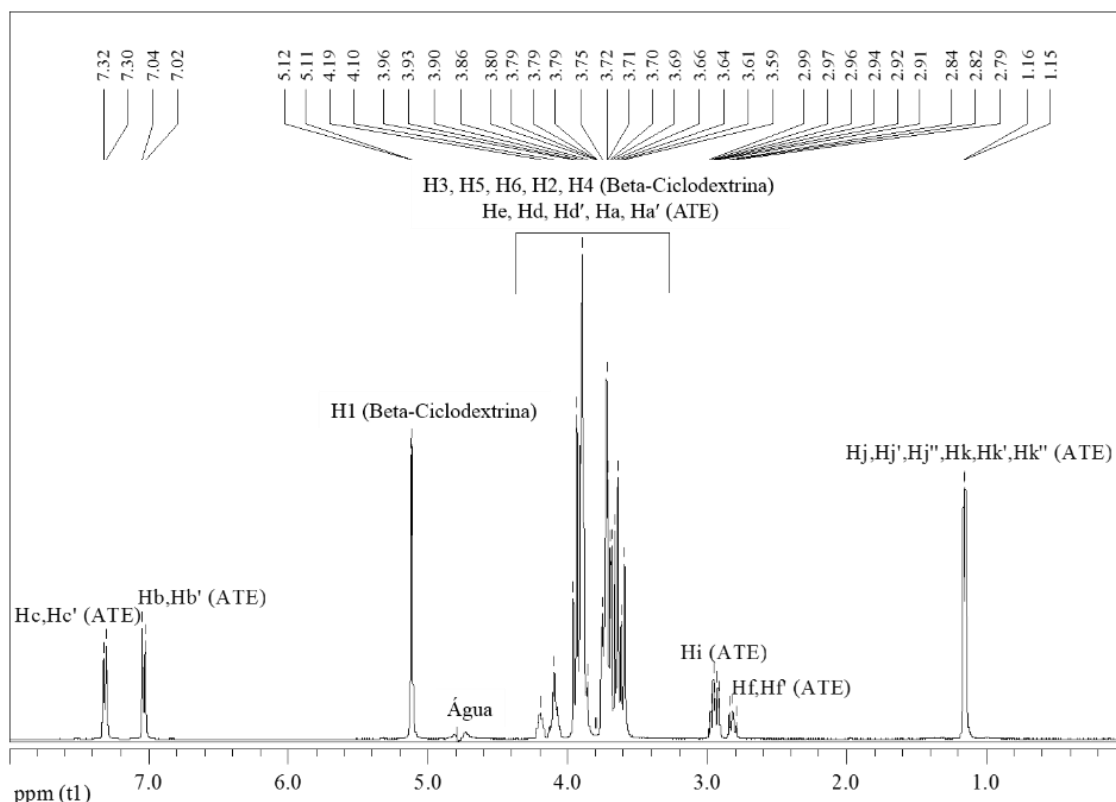


Figura 3.27 – Espectro de RMN ^1H do CI ATE:βCD (1:1), a 400 MHz e a 25 °C, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D₂O.

Tabela 3.2 – Variação dos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$) dos hidrogênios de ATE no CI ATE:βCD (1:1)

Hidrogênios	ATE δ (ppm)	ATE:βCD δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
a	3,62	*	*
b	7,07	7,03	-0,04
c	7,33	7,31	0,02
d	4,06	*	*
e	4,17	*	*
f	2,78	2,82	-0,04
i	2,91	2,95	-0,04
j	1,12	1,15	-0,03
k	1,12	1,15	-0,03

*Hidrogênios sobrepostos

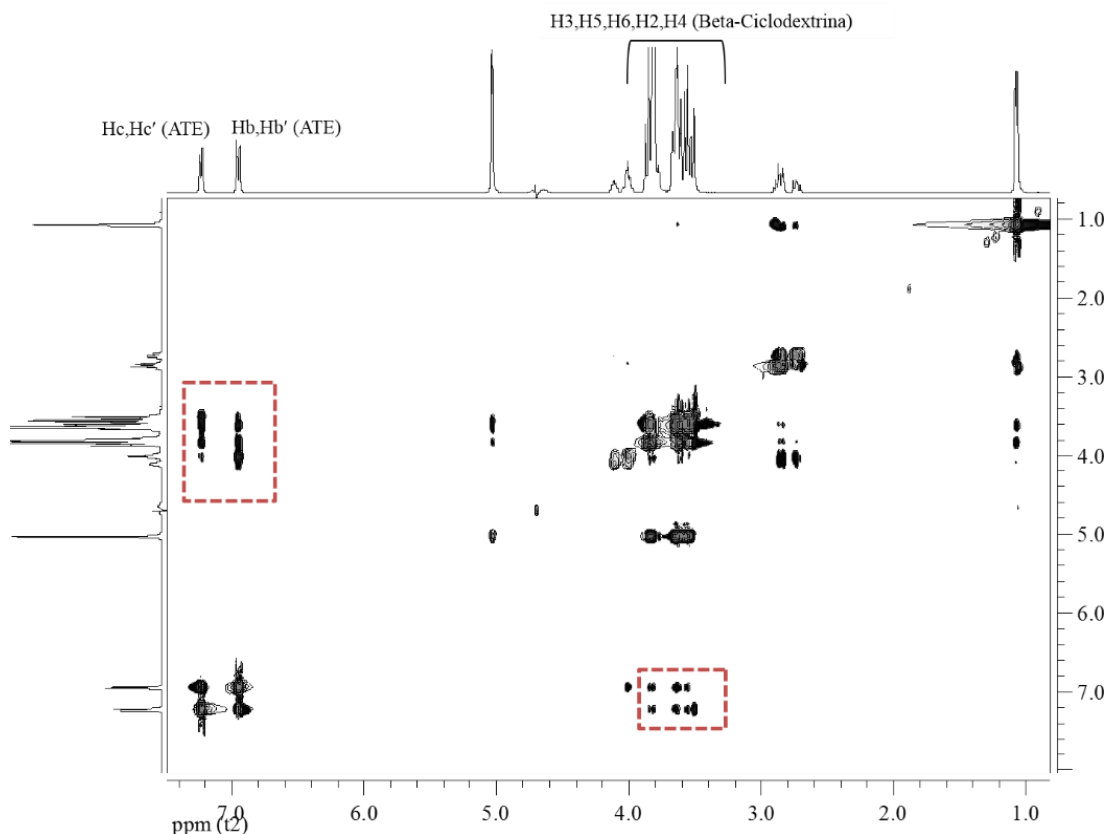


Figura 3.28 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do ATE:βCD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D₂O.

3.2.4 SISTEMAS TERNÁRIOS

Para verificar a possível competição entre os fármacos e o SDS pela cavidade da βCD, os compostos ternários foram analisados com o objetivo de verificar modificações nas multiplicidades e deslocamentos nos espectros de RMN de ¹H quando comparados aos obtidos para as moléculas puras e aos CIs binários. Além disso, buscou-se também verificar quais correlações seriam observadas no mapa de contorno 2D-ROESY.

Assim, analisando o RMN de ¹H do CI SDS:LOS:βCD (1:1:1) foi possível atribuir os sinais dos hidrogênios conforme ilustrado na Figura 3.29, com base nas multiplicidades e deslocamentos encontrados para as moléculas puras. Nota-se que os hidrogênios Ha, Hd, He/He', Hf/Hf', Hk/Hk' e Hn/Hn'/Hn'' da molécula de LOS, voltam a apresentar as mesmas multiplicidades observadas para a molécula pura (na ausência de βCD), assim como os hidrogênios Hl/Hl'/Hl'' da molécula de SDS que também voltam a apresentar o mesmo δ visto para a molécula pura. Os valores de δ encontrados para este sistema ternário, bem como da variação do deslocamento neste em relação ao binário ($\Delta\delta\delta = \delta_{\text{CIbinário}} - \delta_{\text{CIterciário}}$) são apresentados na Tabela 3.3. A partir destes valores, se tem que os hidrogênios aromáticos de

LOS, exceto Hd, bem como os hidrogênios do SDS, exceto Hl/Hl'/Hl'', apresentam um δ menor do encontrado no sistema binário, indicando a presença de um ambiente químico diferente pela possível formação de um composto ternário.

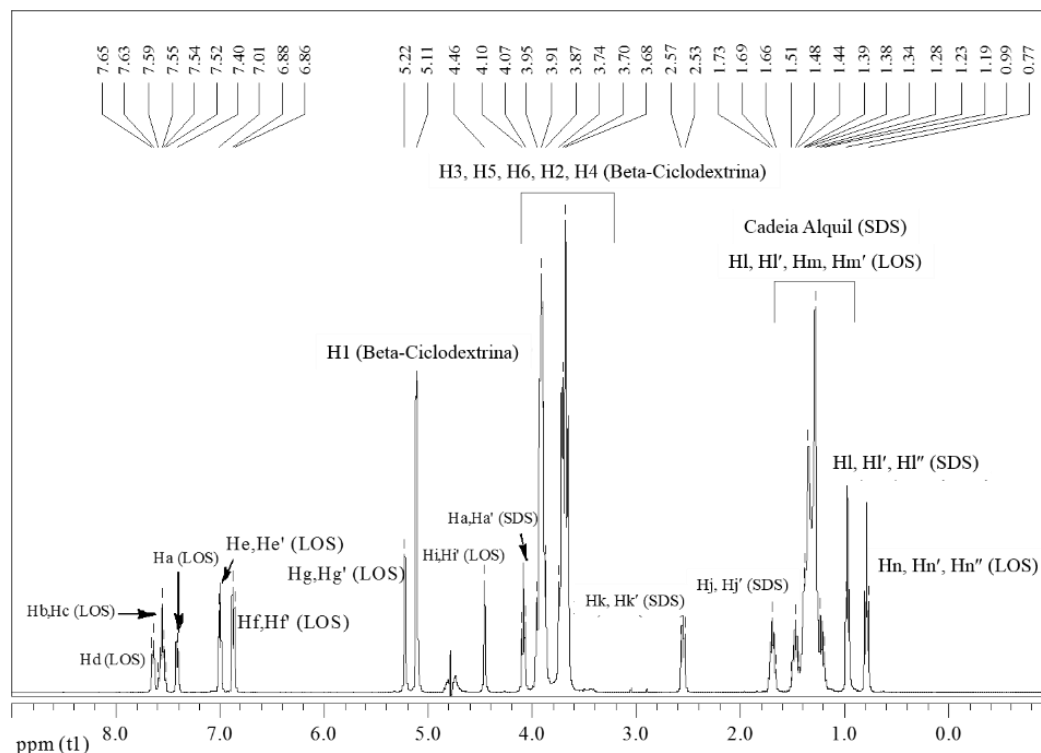


Figura 3.29 - Espectro de RMN ^1H do CI SDS:LOS:βCD (1:1:1), a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

Tabela 3.3 – Variação dos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$) do CI SDS:LOS:βCD (1:1:1)

Hidrogênios	δ LOS @	$\Delta\delta$	δ SDS @	$\Delta\delta$
	LOS:SDS:βCD (ppm)	(LOS) (ppm)	LOS:SDS:βCD (ppm)	(SDS) (ppm)
a	7,41	0,23	4,09	0,06
b	7,56	0,08	1,38	0,02
c	7,56	0,08	1,38	0,02
d	7,64	0,00	1,38	0,02
e	7,00	0,07	1,38	0,02
f	6,87	0,20	1,38	0,02
g	5,23	-0,08	1,38	0,02
h	---	---	1,38	0,02
i	4,46	0,09	1,38	0,02
j	---	---	1,38	0,02
k	2,56	*	1,70	0,06
l	*	*	0,98**	0,09
m	*	*	---	---
n	0,79	*	---	---

*Hidrogênios sobrepostos. **Valores iguais a molécula pura ($\pm 0,01$ ppm)

O sinal em δ 1,38 ppm foi atribuído aos hidrogênios da cadeia alquil do SDS, Hm/Hm' e Hl/Hl' do LOS, contudo a região central deste apresenta uma maior similaridade com o observado para os hidrogênios do SDS no sistema binário com a β CD, sendo que esta região apresenta uma correlação dipolar com o sinal dos hidrogênio da β CD (exceto H1), conforme visto no 2D-ROESY (Figura 3.30). Logo, há um forte indício que a interação ocorra entre SDS e β CD, visto que os hidrogênios que participavam da interação no sistema LOS: β CD, não apresentam mais correlação na presença do SDS, indicando que o LOS seja deslocado da cavidade da β CD.

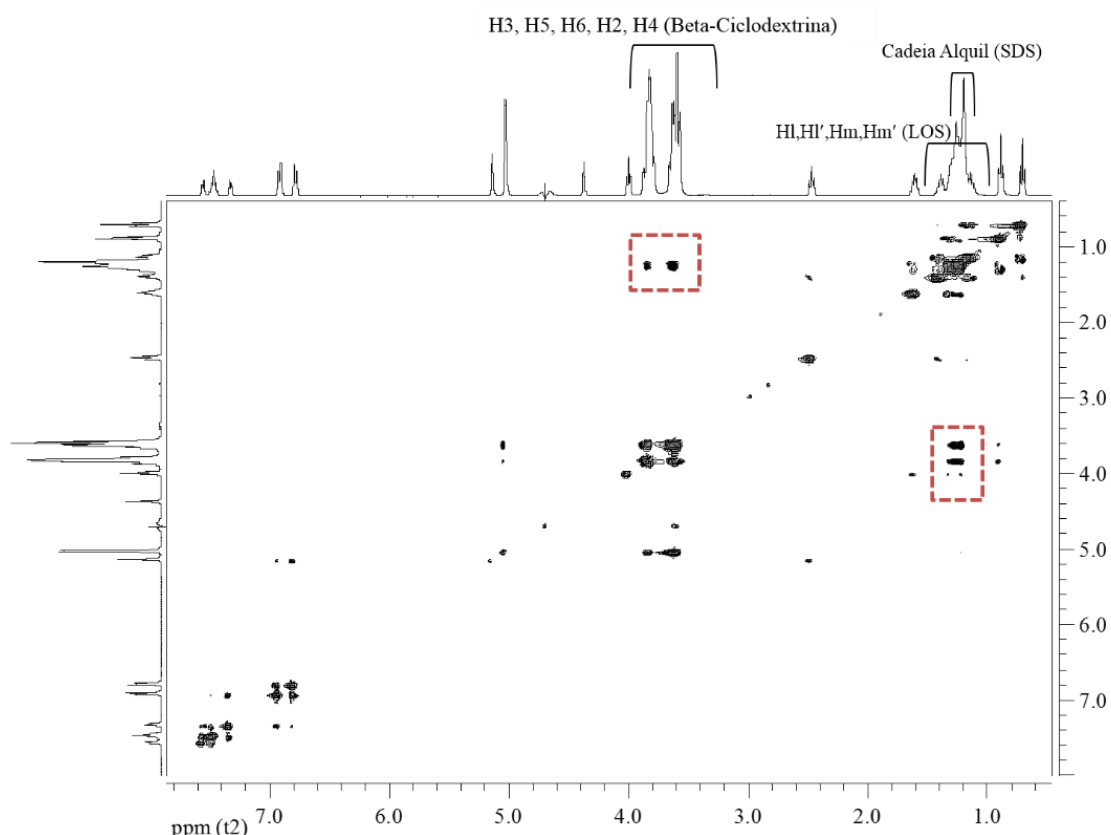


Figura 3.30 - Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do SDS:LOS: β CD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

Logo, analisando o sistema ternário SDS:ATE: β CD (1:1:1), o espectro de RMN 1H permitiu atribuir os hidrogênios com base nas multiplicidades e δ observados para os compostos puros (Figura 3.31). Os resultados de δ encontrados para este sistema, bem como os valores de $\Delta\delta$ estão na Tabela 3.4. Com base nestes valores, se tem que os hidrogênios do SDS tiveram um menor δ em relação ao composto binário, exceto Ha/Ha' cujo δ foi maior. Já os hidrogênios metilênicos e Hi da molécula de ATE apresentam um δ maior do encontrado no sistema binário, enquanto Hf/Hf' mantiveram o valor de δ . Além disso, notou-se que os hidrogênios Ha/Ha', Hb/Hb' e Hc/Hc' voltaram a ter um valor de δ igual ou muito próximo

($\pm 0,01$ ppm) do encontrado para a molécula pura, sugerindo que o SDS desloque a molécula de ATE da cavidade da β CD, uma vez que tal mudança foi verificada para os hidrogênios aromáticos da molécula de ATE que estavam incluídos no sistema binário.

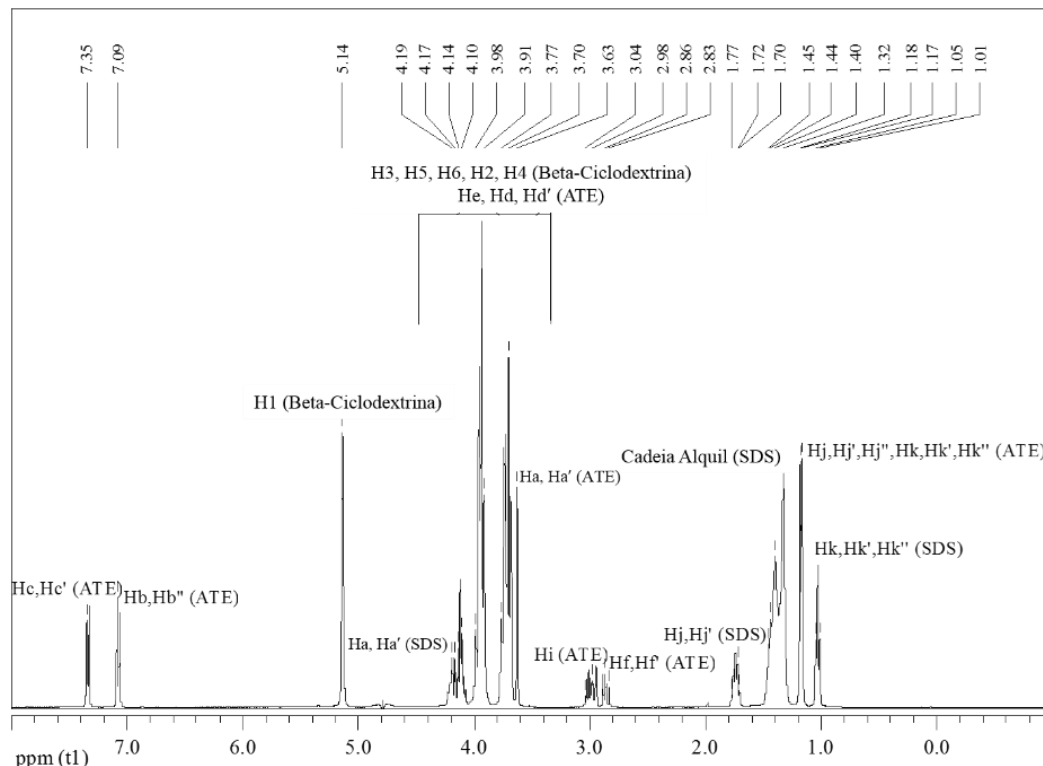


Figura 3.31 – Espectro de RMN ^1H do CI SDS:ATE: β CD (1:1:1), a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

Tabela 3.4 – Variação dos deslocamentos químicos ($\Delta\Delta\delta$) no CI SDS:ATE: β CD (1:1:1)

Hidrogênios	δ ATE @ ATE:SDS: β CD (ppm)	$\Delta\Delta\delta$ (ATE) (ppm)	δ SDS @ ATE:SDS: β CD (ppm)	$\Delta\Delta\delta$ (SDS) (ppm)
a	3,63**	*	4,19	-0,04
b	7,07**	-0,04	1,42	0,02
c	7,33**	-0,02	1,42	0,02
d	*	*	1,42	0,02
e	*	*	1,42	0,02
f	2,82	0,00	1,42	0,02
g	---	---	1,42	0,02
h	---	---	1,42	0,02
i	2,99	-0,04	1,42	0,02
j	1,17	-0,02	1,42	0,02
k	1,17	-0,02	1,74	0,02
l	---	---	1,03	-0,04

*Hidrogênios sobrepostos. **Valores iguais a molécula pura ($\pm 0,01$ ppm)

Já análise do mapa de contorno 2D-ROESY para este sistema ternário (Figura 3.32) mostrou uma correlação entre os hidrogênios da β CD (exceto H1) com os hidrogênios da cadeia alquil do SDS. Já a correlação que era observada no sistema binário ATE: β CD (1:1), não é mais notada, corroborando com os resultados de δ obtidos pelo RMN ^1H descritos acima, reforçando o possível deslocamento da molécula de ATE da cavidade da β CD na presença do SDS, o qual teria preferência pela inclusão na cavidade da β CD.

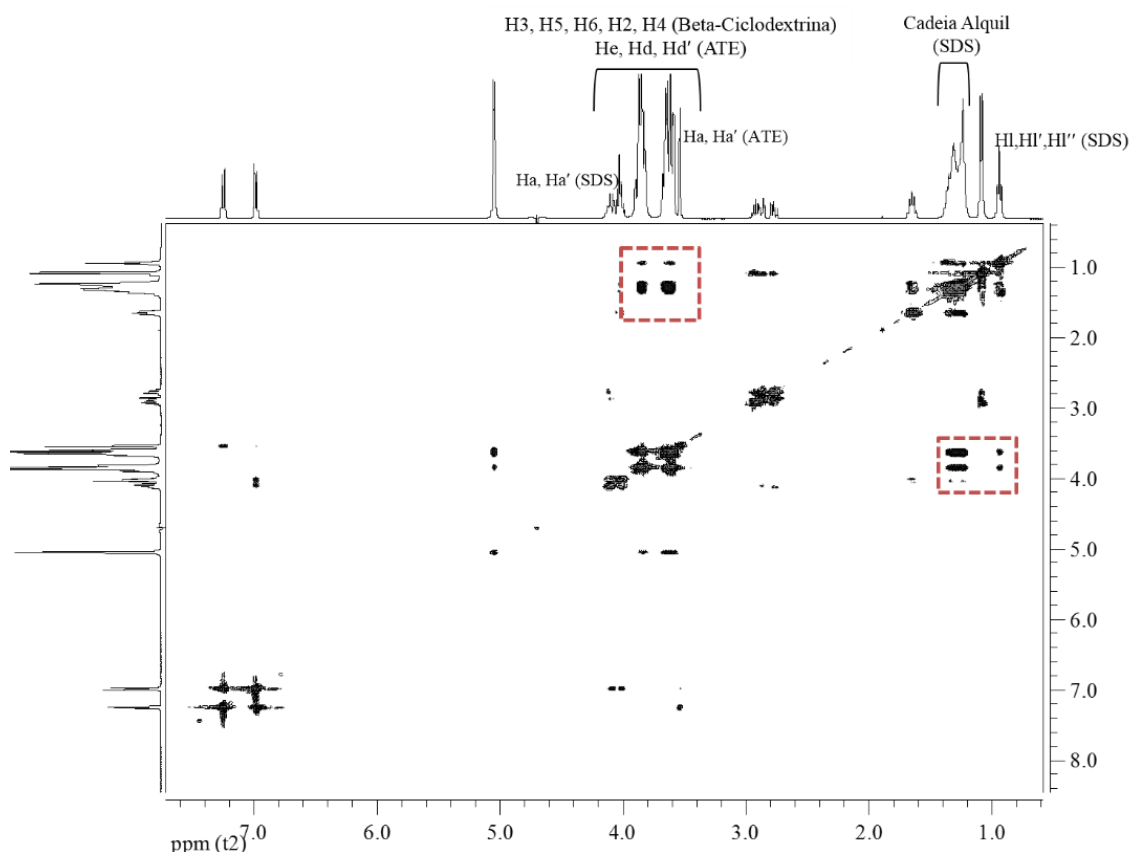


Figura 3.32 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY do SDS:ATE: β CD (1:1) a 400 MHz, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio utilizando-se como solvente D_2O .

A partir dos resultados obtidos pelas técnicas utilizadas para caracterização estrutural (FTIR-ATR e RMN), foi verificada a formação dos CIs binários entre os fármacos e o SDS com a β CD, sendo que os resultados de RMN, principalmente os de 2D-ROESY, permitiram elucidar quais as regiões das moléculas participam desta interação (Figura 3.33).

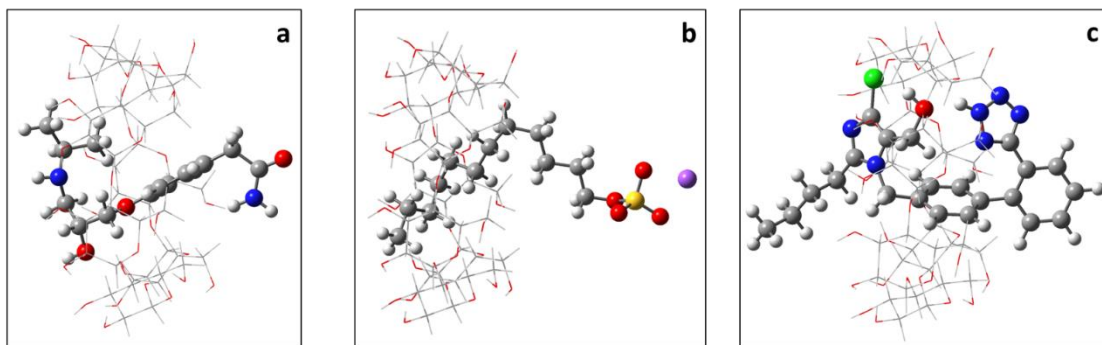


Figura 3.33 – Representação das prováveis estruturas dos CIs binários. Fonte: Meira, *et al.*, 2018.

Já para os CIs ternários, foi observado nos dois sistemas que o SDS provavelmente desloca os fármacos da cavidade da β CD, visto a ausência de correlação nos mapas de contorno 2D-ROESY entre os fármacos e a β CD, que foram respaldados pelos resultados de deslocamento químico e pelas multiplicidades observadas na análise de ^1H .

Entretanto para obter os dados termodinâmicos destes sistemas, a calorimetria de titulação isotérmica se mostra uma técnica eficaz e precisa, sendo seu uso importante para uma melhor compreensão físico-química sobre a formação destes sistemas supramoleculares, além de possibilitar uma análise complementar da possível competição entre os fármacos e o SDS pela interação com a β CD (Sigurskjold, 2000; Mura, 2014; Krainer e Keller, 2015).

CAPÍTULO 4
RESULTADOS E DISCUSSÃO
CARACTERIZAÇÃO TERMODINÂMICA

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO – CARACTERIZAÇÃO TERMODINÂMICA

4.1 CALORIMETRIA DE TITULAÇÃO ISOTÉRMICA

A calorimetria de titulação isotérmica (ITC) foi utilizada para obtenção dos parâmetros termodinâmicos da interação entre o SDS e os fármacos com a β CD, com o objetivo de analisar as características físico-químicas destes sistemas. Além disso, esta técnica também possibilitou estudar a possível competição entre os fármacos e o excipiente SDS pela interação com a β CD.

4.1.1 Sistemas Binários

Para a análise da interação entre a β CD e o SDS, foi utilizada inicialmente uma concentração de β CD 12,00 mmol.L⁻¹ (titulante) e uma solução de SDS 1,00 mmol.L⁻¹ (titulado). Os resultados obtidos para esta titulação mostraram que a concentração de β CD não foi suficiente para interagir com todas as moléculas de SDS do titulado, como se pode observar pela Figura 4.1 (superior), na qual temos que os sinais a partir de aproximadamente 65 minutos obtidos pela diferença de calor apresentam valores distantes de zero e não são constantes, mostrando que não houve a saturação do titulado em termos de concentração (Freire *et al.*, 1990).

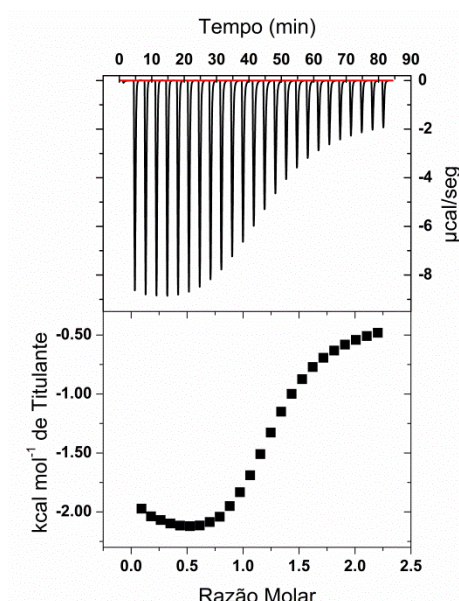


Figura 4.1 - Perfil da titulação entre β CD 12,00 mmol.L⁻¹ e SDS 1,00 mmol.L⁻¹ a 25 °C

Sendo assim, a concentração de SDS foi diluída para 0,50 mmol.L⁻¹ e a concentração de β CD foi mantida. Para essa condição, observou-se que as moléculas de β CD interagiram quase que totalmente com as moléculas de SDS presentes na cela de titulação, como é visto pelos últimos sinais da curva de titulação, a partir de aproximadamente 55 minutos, que são constantes indicando uma variação de entalpia próximo a zero nos últimos sinais da Figura 4.2 (superior). Contudo, na parte inferior desta figura, tem-se que o perfil da curva está um pouco diferente do perfil sigmoide esperado, com mais pontos ao fim da curva, demonstrando um “excesso” de titulante (β CD).

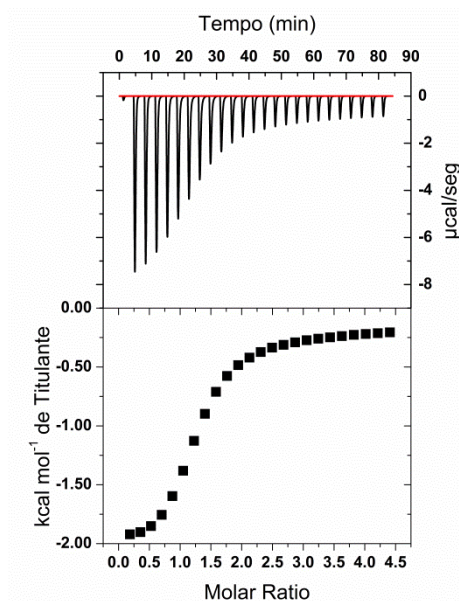


Figura 4.2 - Perfil da titulação entre β CD 12,00 mmol.L⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L⁻¹ a 25 °C

A solução de β CD foi diluída para $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$, sendo mantida a concentração do titulante. A Figura 4.3a, mostra as curvas das diluições entre a água tipo I com as soluções de titulante e titulado, as quais foram subtraídas para retirada do efeito de interação com o solvente da titulação entre β CD e SDS. Observou-se que o perfil da curva foi conforme o esperado, com sinais finais de diferença de temperatura próximo a zero a partir de aproximadamente 60 minutos da titulação, além de uma curva próxima de uma sigmoide, que podem ser vistos pela Figura 4.3b.

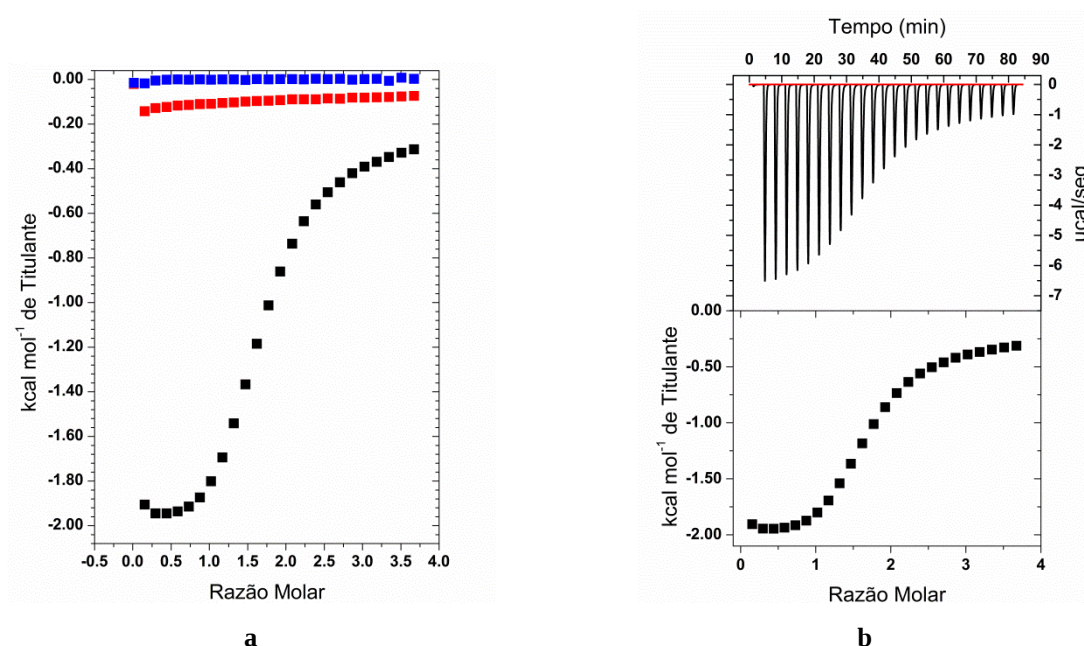


Figura 4.3 – Perfil da titulação a $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ entre: a) (■) β CD $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ e água tipo I; (■) água tipo I e SDS $0,50 \text{ mmol.L}^{-1}$; (■) β CD $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ e SDS $0,50 \text{ mmol.L}^{-1}$; b) β CD $10,00 \text{ mmol.L}$ e SDS $0,50 \text{ mmol.L}^{-1}$ após a subtração da interação com a água tipo I.

A partir do ajuste da concentração das soluções de titulante e titulado, foram realizadas outras titulações nas temperaturas de 37 e $45 \text{ }^{\circ}\text{C}$, para se ter um perfil termodinâmico em diferentes temperaturas. As Figuras 4.4 e 4.5 contêm o perfil das titulações. A Tabela 4.1 traz os valores dos parâmetros termodinâmicos obtidos a partir da interação entre a β CD $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ e o SDS $0,50 \text{ mmol.L}^{-1}$ nas três temperaturas.

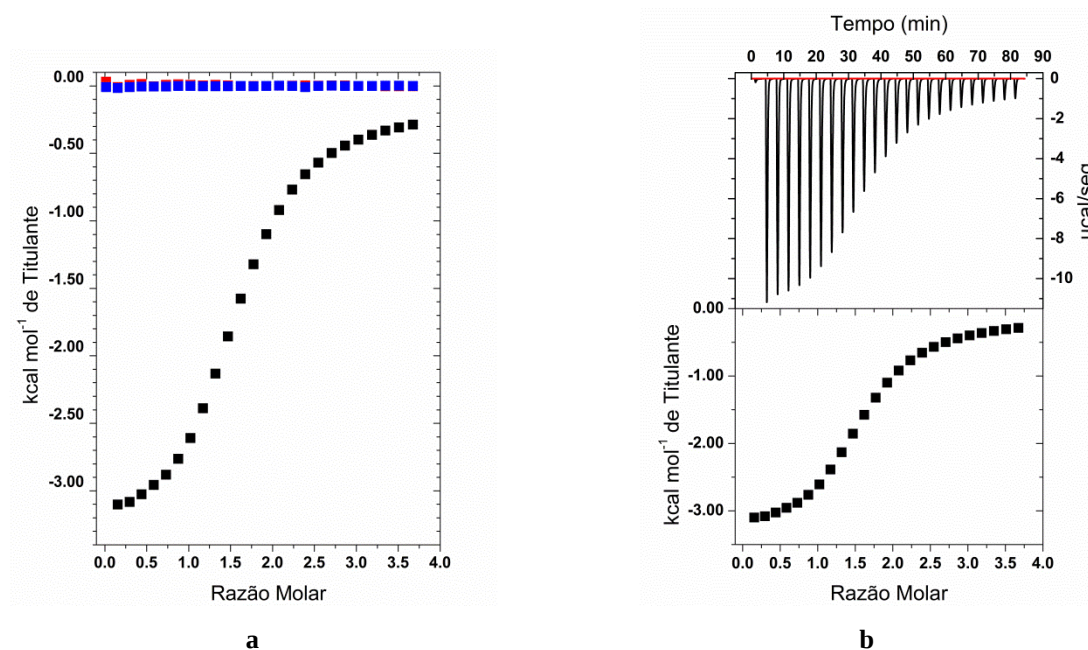


Figura 4.4 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) β CD 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e SDS 0,50 mmol.L⁻¹; (■) β CD 10,00 mmol.L⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L⁻¹; b) β CD 10,00 mmol.L⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

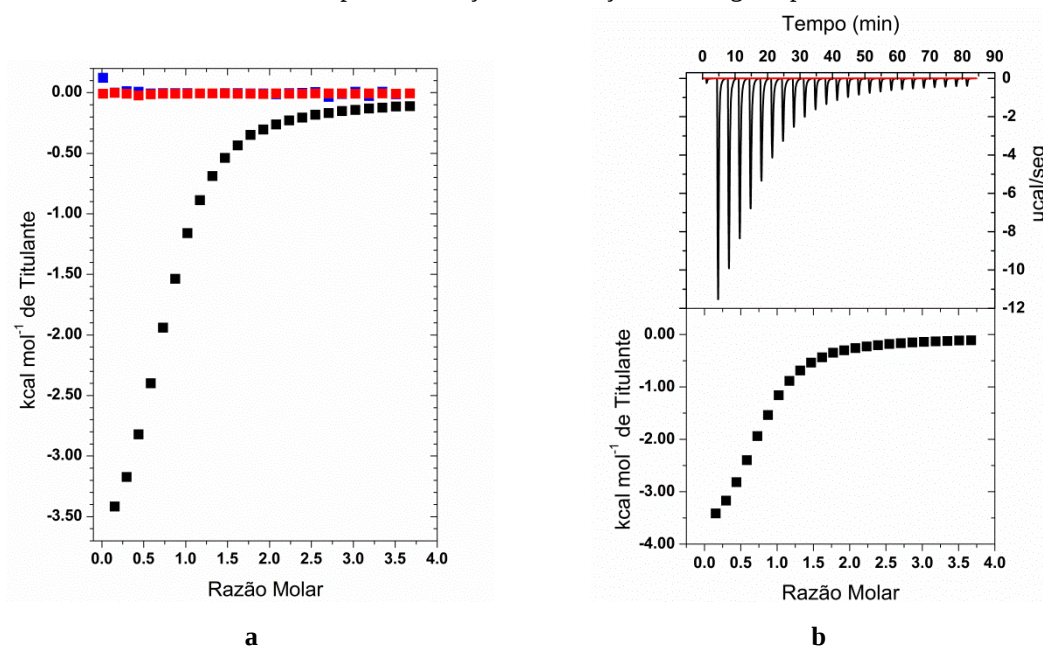


Figura 4.5 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) β CD 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e SDS 0,50 mmol.L⁻¹; (■) β CD 10,00 mmol.L⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L⁻¹; b) β CD 10,00 mmol.L⁻¹ e SDS 0,50 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

Tabela 4.1 - Parâmetros termodinâmicos do sistema β CD 10 mmol.L⁻¹ em SDS 0,5 mmol.L⁻¹

T °C	n	k _a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	$T\Delta S^\circ$ (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
25	1,70 ± 0,01	23.950,00 ± 212,13	-7,64 ± 0,04	17,34 ± 0,00	-24,99 ± 0,02
37	0,97 ± 0,00	12.150,00 ± 212,13	-14,88 ± 0,19	9,38 ± 0,23	-24,25 ± 0,05
45	0,74 ± 0,01	11.450,00 ± 353,55	-18,55 ± 0,14	6,16 ± 0,22	-24,72 ± 0,08

Todavia, ao obter os resultados da interação dos sistemas ATE: β CD e LOS: β CD, os quais serão apresentados mais adiante, notou-se que o sistema SDS: β CD era o que possuía uma maior constante de afinidade (k_a), o que leva a uma maior interação entre as moléculas deste sistema quando comparado aos outros dois. Sendo assim, foram realizadas novas titulações utilizando o SDS como titulante, porque as titulações de competição preconizam que a molécula que apresenta maior k_a para com a molécula hóspede, devem ser tituladas na solução contendo a molécula hóspede com a outra espécie que interage com uma menor k_a (Sigurskjold, 2000; Krainer e Keller, 2015). Além disso, a obtenção dos valores termodinâmicos e das curvas de titulação utilizando o SDS como titulante e a β CD como titulado, possibilitaria uma comparação mais direta com as titulações de competição que utilizam o SDS como titulante e as soluções de β CD:fármaco (1:1) como titulado.

Logo, foi realizada a titulação da solução de SDS 10 mmol.L⁻¹ em β CD 0,5 mmol.L⁻¹. Contudo, tem-se que nesta concentração utilizada de SDS, as primeiras injeções foram capazes de saturar a concentração de β CD presente na cela de titulação, como pode ser visto na Figura 4.6 (superior). Isso gerou um “excesso” de titulante, o que levou a um desvio do perfil sigmoide esperado (Figura 4.6 – inferior).

Assim, foi realizada uma nova titulação utilizando agora a solução de SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em β CD 1,00 mmol.L⁻¹, obtendo-se um resultado satisfatório com a curva em perfil sigmoide e diferença de calor próximo a zero ao fim da titulação, como pode ser observado na Figura 4.7. Adicionalmente, são apresentadas as curvas de diluição do SDS em água e titulação de água em solução de β CD a 1,00 mmol.L⁻¹.

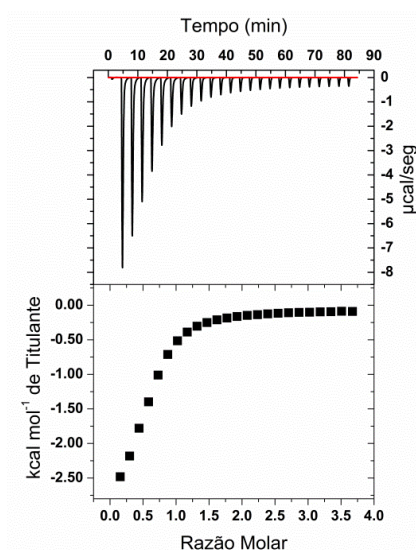


Figura 4.6- Perfil da titulação entre SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 0,50 mmol.L⁻¹ a 25 °C

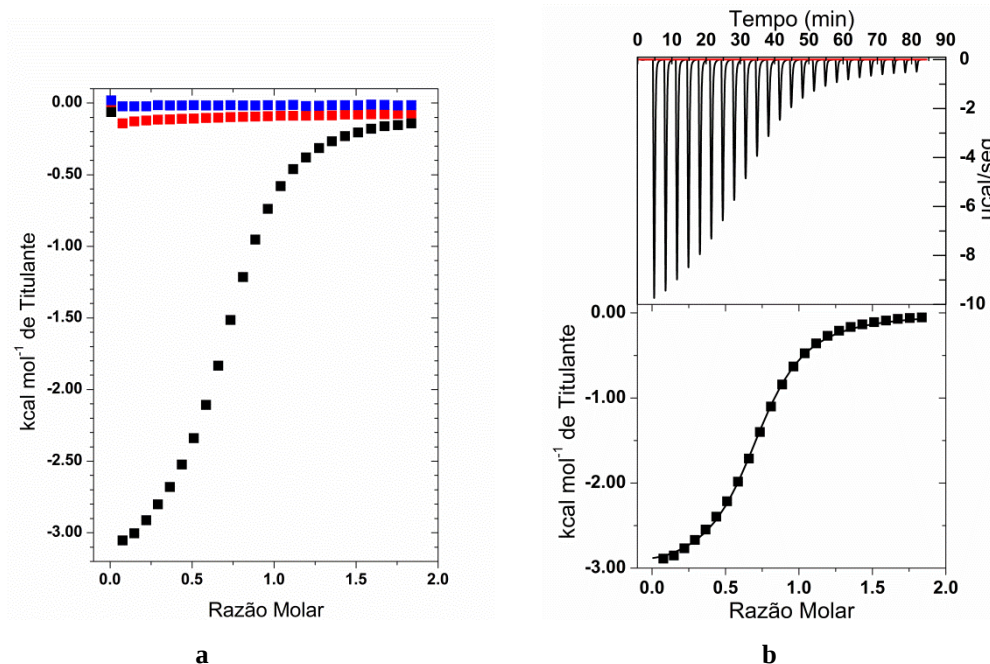


Figura 4.7 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

Com as concentrações ajustadas, foram realizadas as titulações nas temperaturas de 37 e 45 °C para verificar o efeito da temperatura nos parâmetros de interação das moléculas. As curvas obtidas estão presentes nas Figuras 4.8 e 4.9. Já os valores dos parâmetros termodinâmicos se encontram na Tabela 4.2.

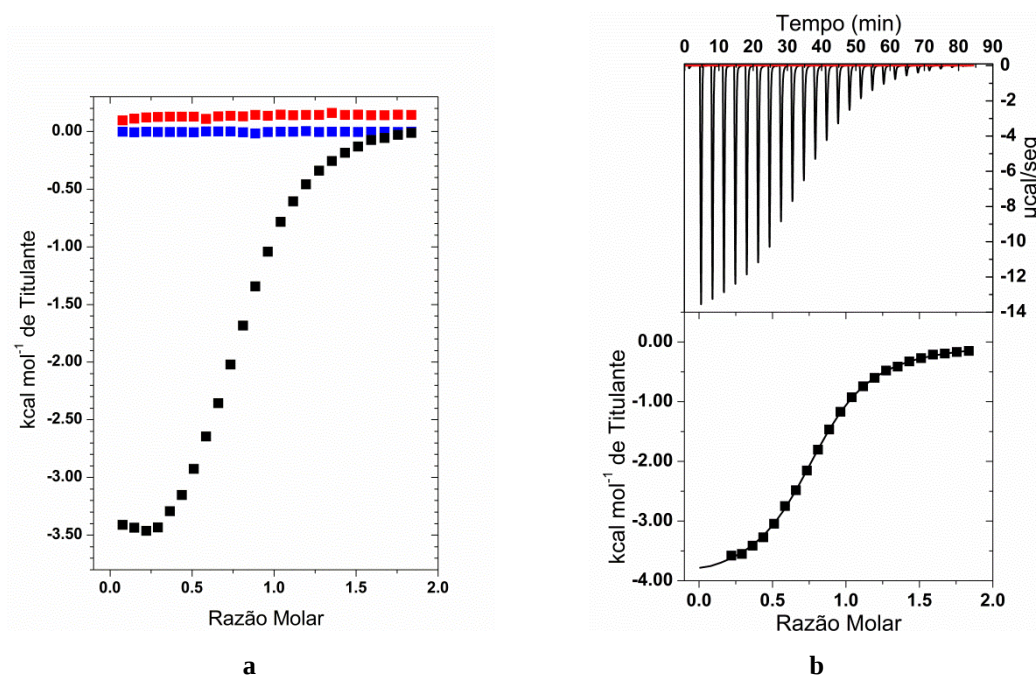


Figura 4.8 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

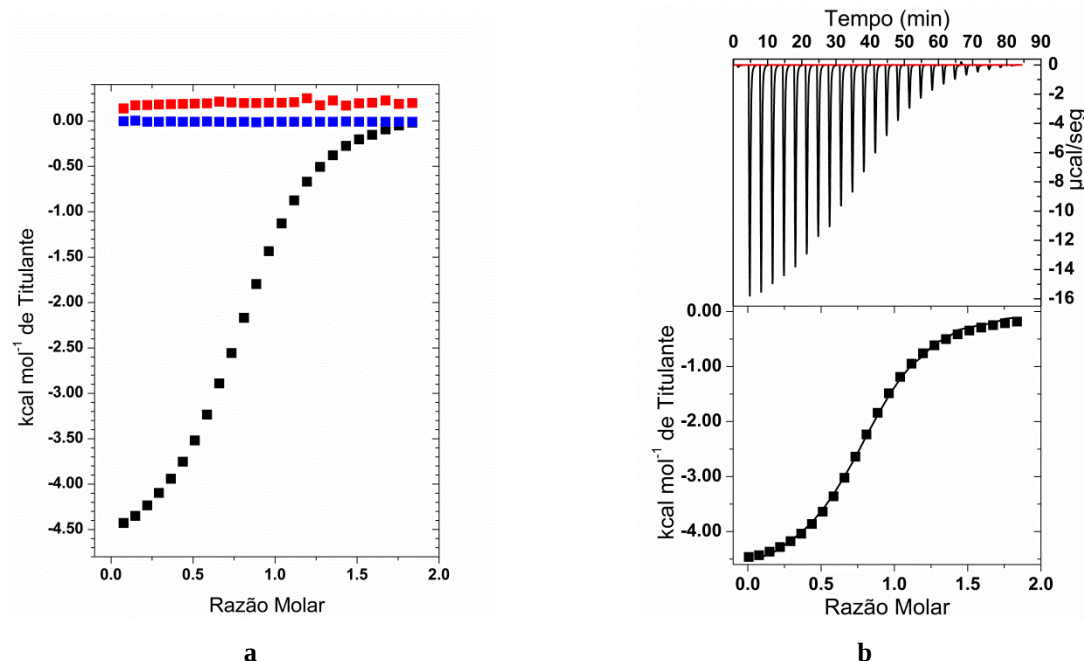


Figura 4.9 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

Tabela 4.2 - Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ β CD 1,00 mmol.L⁻¹

T °C	n	k _a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	$T\Delta S^\circ$ (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
25	0,74 ± 0,04	22.450,00 ± 1.484,92	-12,06 ± 1,00	12,76 ± 0,84	-24,81 ± 0,20
37	0,82 ± 0,04	17.600,00 ± 141,42	-17,06 ± 0,20	8,13 ± 0,20	-25,19 ± 0,00
45	0,83 ± 0,02	16.400,00 ± 1.697,06	-20,34 ± 0,50	5,31 ± 0,80	-25,65 ± 0,30

Conforme os resultados apresentados acima, sugere-se a formação de equilíbrios múltiplos devido aos valores fracionados obtidos para a estequiometria (n), indicando mais de um tipo de CI presente em equilíbrio, como exemplificado na Figura 4.10. Esses resultados têm sido descritos para outros sistemas supramoleculares envolvendo ciclodextrinas com diferentes moléculas hóspedes e tem sido identificados por diferentes técnicas de caracterização associadas, das quais podemos destacar a própria técnica de ITC, RMN e cálculos computacionais (De Sousa *et al.*, 2008; Passos *et al.*, 2011b; De Paula *et al.*, 2012; Prabhu *et al.*, 2012).

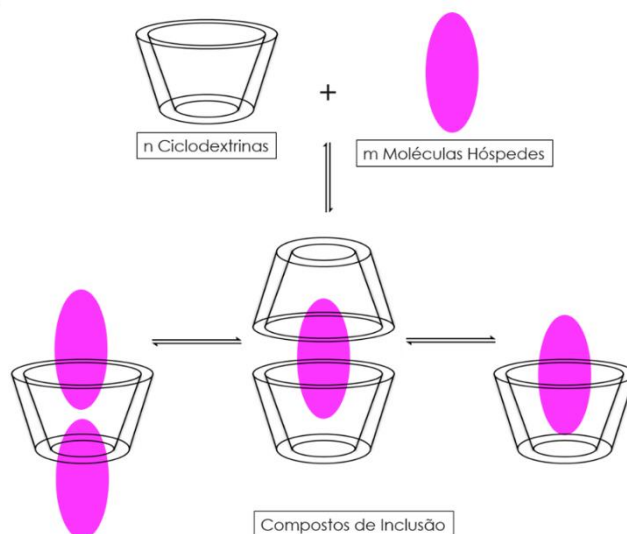


Figura 4.10 – Representação esquemática de alguns tipos de compostos de inclusão que podem existir em equilíbrio.

Analisando os valores de k_a , foi observado que o aumento da temperatura desfavorece a formação do CI. Contudo, os valores apresentados foram relativamente altos quando se comparado a outros estudos de CIs envolvendo a β CD (Tabela 4.3), indicando uma grande afinidade entre as moléculas de SDS e β CD.

Tabela 4.3 – Valores de constante de associação para CIs com ciclodextrinas à 25 °C

Sistema	k_a	Autores
Clorexidina:βCD	557,00	Denadai <i>et al.</i> , 2007
Cloridrato de Imipramina:βCD	6.832,00	De Sousa <i>et al.</i> , 2008
Cloridrato de Sertralina:βCD	4.999,30	Passos <i>et al.</i> , 2011
Isetionato de Pentamidina:βCD	758,00	De Paula <i>et al.</i> , 2012

Os valores negativos de ΔG° mostrados na Tabela 4.2 indicam que o processo é espontâneo em todas as temperaturas estudadas. Analisando os resultados de ΔH° nota-se que o processo fica mais exotérmico com o aumento da temperatura. Tal variação pode estar correlacionada com a saída das moléculas de água de alta entalpia da cavidade da β CD, aliada às novas interações intermoleculares formadas entre o SDS (molécula hospedeira) com a β CD (Liu e Guo, 2002; Brewster e Loftsson, 2007). Já para o termo da variação entrópica, observa-se que esta foi positiva para todas as temperaturas, provavelmente pelo efeito hidrofóbico. Há ainda a diminuição da entropia ocorrendo com o aumento da temperatura, o que pode estar associado a formação de um CI mais rígido, com menor liberdade conformacional. Estes resultados são semelhantes a outros relatados na literatura para sistemas com a β CD como molécula hospedeira (Denadai *et al.*, 2007; De Sousa *et al.*, 2008; Passos *et al.*, 2011b; De Paula *et al.*, 2012).

Analisando os resultados da compensação entálpica/entrópica (Figura 4.11), temos $\alpha = -1,11 \pm 0,02$ e $b = -26,16 \pm 0,21$ ($T\Delta S^\circ = -1,11 \Delta H^\circ - 26,16$), com $r = 0,99$. O valor negativo de b junto com um ganho entálpico de 2,11 ($1 - \alpha$), mostra que a formação deste CI com a variação de temperatura é favorecida entalpicamente.

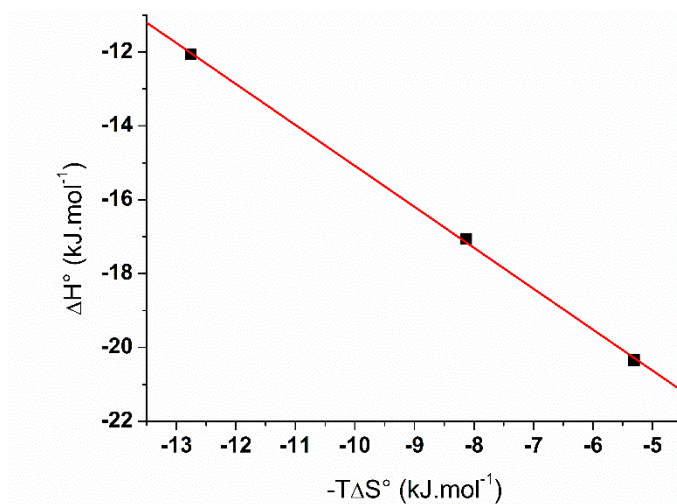


Figura 4.11 - Compensação do sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 0,50 mmol.L⁻¹.

Outros estudos sobre a interação entre o SDS e CDs também obtiveram valores termodinâmicos próximos aos aqui obtidos. Neste contexto, destaca-se a pesquisa realizada por Benkő e Király (2012), que utilizaram também o calorímetro VP-ITC (Microcal®) para obter os dados termodinâmicos da interação entre diferentes surfactantes, entre esses o SDS, com a β CD em diferentes temperaturas. Sendo assim, para o sistema SDS: β CD os autores demonstraram que o aumento da temperatura diminui os valores de k_a e $T\Delta S^\circ$, ao passo que ΔH° e ΔG° ficam mais negativos, sendo os valores encontrados por eles muito próximo aos obtidos neste trabalho, porém os valores de n relatados no artigo são próximos a 1 em todas as temperaturas analisadas. Outro trabalho foi a realizado por Brocos, *et al.*(2011), que também fizeram uso do calorímetro VP-ITC (Microcal®), mas aliada as metodologias computacionais de *Sequential Binding Sites (SBS)* e *Single Set of Identical Sites (SSIS)* para a analisar a interação entre SDS e as CDs naturais em diferentes temperaturas. Eles obtiveram inicialmente a possibilidade da formação de CIs 1:1 e 2:1 para o sistema β CD:SDS, contudo a metodologia computacional demonstrou a prevalência do sistema 1:1 no equilíbrio. Outras pesquisas já foram realizadas utilizando outras técnicas para obtenção dos termos termodinâmicos, tais como a análise de tensão superficial, concentração micelar crítica, equilíbrio de complexação conforme a concentração de salinidade e simulação de dinâmica molecular, sendo a estequiometria de 1:1 e 2:1 (SDS: β CD) encontrada nestas pesquisas, mas

com valores de k_a muito diferentes entre si, talvez pela imprecisão das técnicas utilizadas ou necessidade de aproximações (Dharmawardana *et al.*, 1993; Eli *et al.*, 1999; Sehgal *et al.*, 2008; Brocos *et al.*, 2010; Brocos *et al.*, 2011; Benkő e Király, 2012; Kittisrisawai e Romero-Zerón, 2015a).

Para avaliar o comportamento termodinâmico da interação entre o fármaco atenolol e a β CD, foram realizadas titulações utilizando inicialmente a concentração de β CD 10,00 mmol.L⁻¹ como titulante e de 1,00 mmol.L⁻¹ de atenolol (titulado). Entretanto, não foi obtido o perfil sigmoide esperado e a diferença de calor resultante da interação obteve valores pequenos e que pouco variaram no decorrer da titulação (Figura 4.12a). Logo, a solução de atenolol foi diluída para 0,50 mmol.L⁻¹ e uma nova titulação foi realizada, mas os problemas ocorridos na titulação anterior não foram resolvidos (Figura 4.12b).

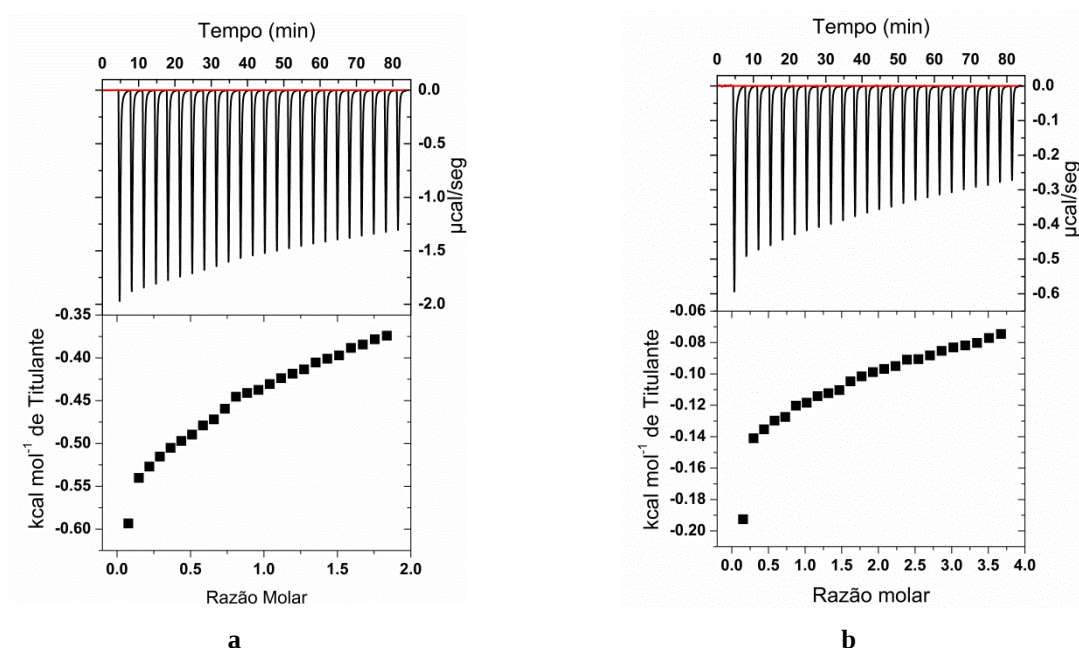


Figura 4.12 - Perfil da titulação a 25 °C para: a) β CD 10,00 mmol.L⁻¹ em ATE 1,00 mmol.L⁻¹; b) β CD 10,00 mmol.L⁻¹ em ATE 0,50 mmol.L⁻¹

Para aumentar a possibilidade de interação, titulante e titulado foram invertidos visto a limitação da solubilidade da β CD, assim foram realizadas titulações entre ATE 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ (Figura 4.13a), ATE 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD 2,00 mmol.L⁻¹ (Figura 4.13b), ATE 8,00 mmol.L⁻¹ e β CD 2,00 mmol.L⁻¹ (Figura 4.13c). Todas essas titulações apresentaram pouca interação entre as moléculas, confirmadas pela pequena diferença de calor obtida, além de não conseguir alcançar o perfil sigmoide.

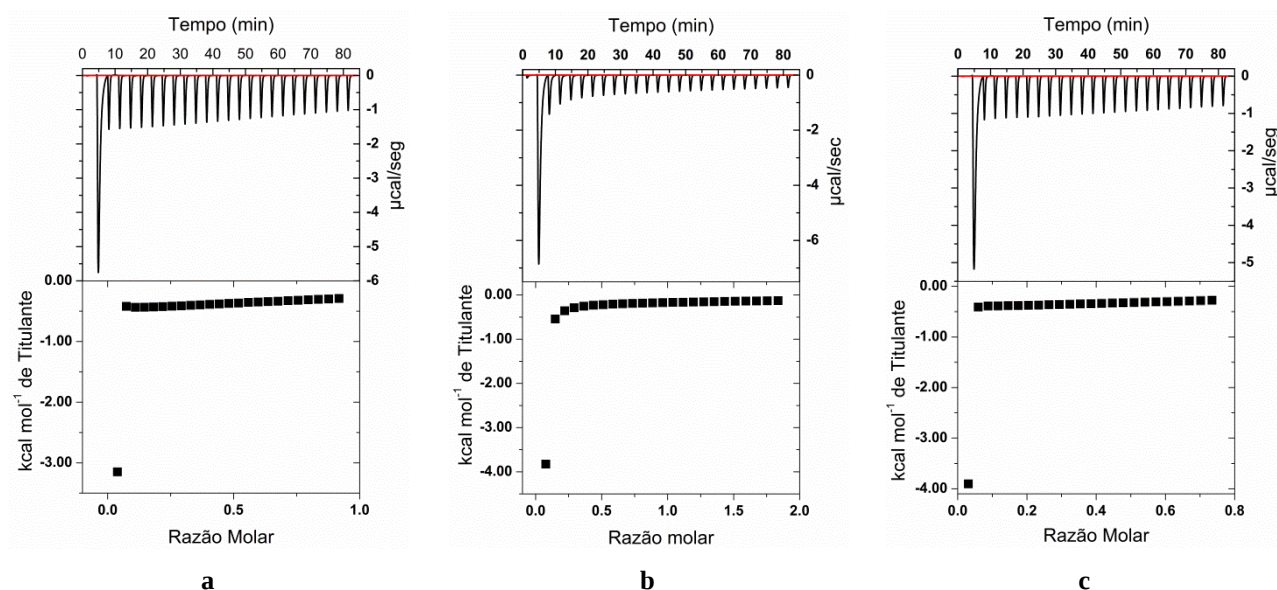


Figura 4.13 - Perfil da titulação a 25 °C: a) ATE 10,00 mmol.L⁻¹ em βCD 1,00 mmol.L⁻¹; b) ATE 10,00 mmol.L⁻¹ em βCD 2,00 mmol.L⁻¹; c) ATE 8,00 mmol.L⁻¹ em βCD 2,00 mmol.L⁻¹

Sendo assim, outra titulação foi realizada utilizando solução de ATE 20,00 mmol.L⁻¹ em βCD 1,00 mmol.L⁻¹. A curva obtida (Figura 4.14) foi fora do padrão sigmoide, porém ela se ajustou ao modelo de um sítio de interação, sendo possível obter os dados termodinâmicos.

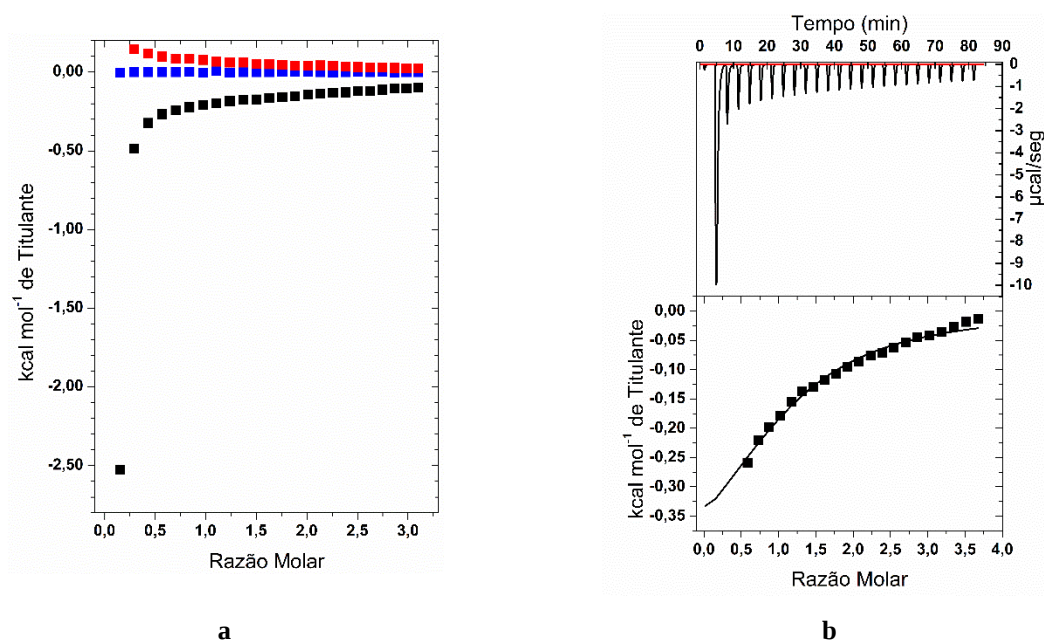


Figura 4.14 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e βCD 1,00; (■) ATE 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e βCD 1,00 mmol.L⁻¹; b) ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e βCD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

Logo, foram realizadas titulações de ATE 20,00 mmol.L⁻¹ em βCD 1,00 mmol.L⁻¹ nas temperaturas de 37 e 45 °C, cujos gráficos estão representados nas Figuras 4.15 e 4.16, respectivamente. Os dados termodinâmicos obtidos estão na Tabela 4.4.

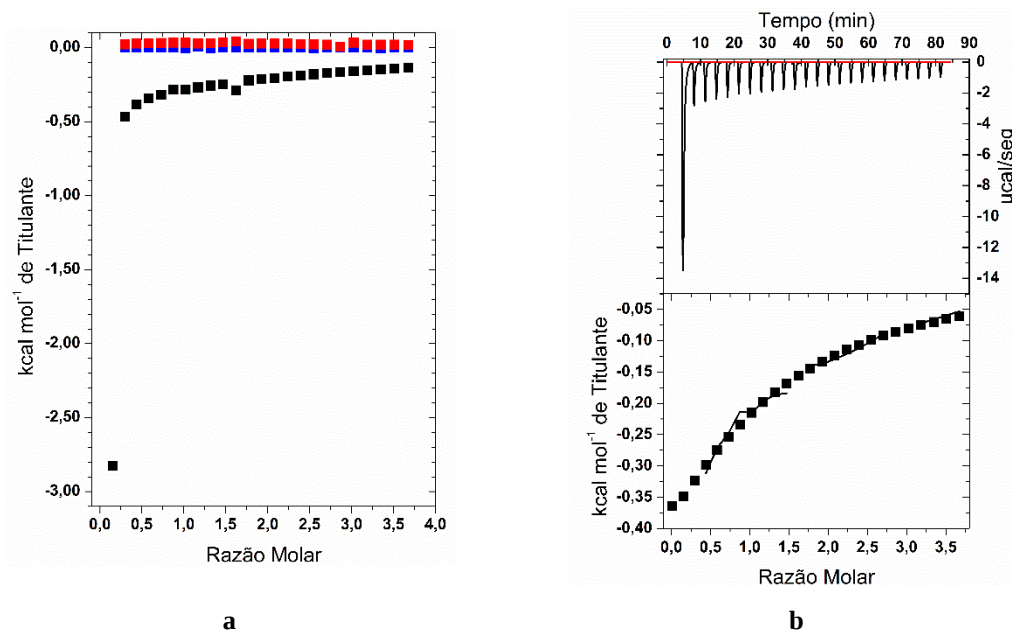


Figura 4.15 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ b) ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

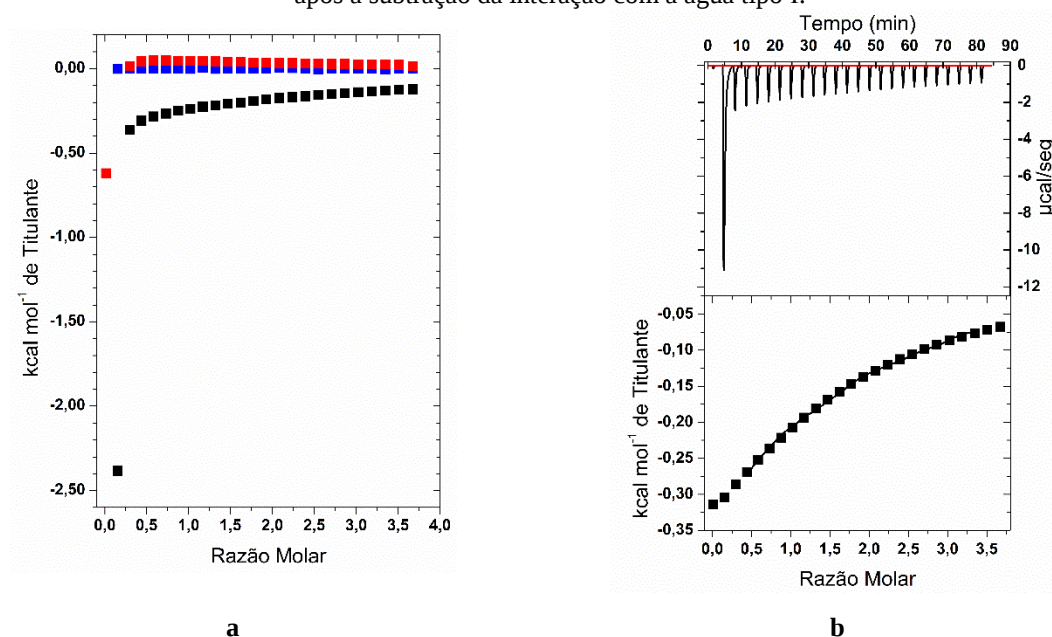


Figura 4.16 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ b) ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

Tabela 4.4 - Parâmetros termodinâmicos do sistema ATE 20,00 mmol.L⁻¹ em β CD 1,00 mmol.L⁻¹

T °C	n	k_a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	$T\Delta S^\circ$ (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
25	$0,97 \pm 0,15$	$1.505,00 \pm 35,36$	$-2,62 \pm 0,50$	$15,01 \pm 0,60$	$-17,63 \pm 0,10$
37	$1,02 \pm 0,07$	$602,00 \pm 15,56$	$-3,56 \pm 0,90$	$12,02 \pm 0,70$	$-15,58 \pm 0,10$
45	$1,36 \pm 0,02$	$515,50 \pm 48,79$	$-2,90 \pm 0,20$	$12,30 \pm 0,00$	$-15,20 \pm 0,20$

Com base nos valores termodinâmicos apresentados, verifica-se a partir da estequiometria que à 25 e 37 °C a interação é do tipo 1:1 (hóspede-hospedeiro). Entretanto à

45 °C o valor fracionado obtido para n indica a formação de equilíbrios múltiplos, como descrito para o sistemas SDS: β CD (De Sousa *et al.*, 2008; Passos *et al.*, 2011b; De Paula *et al.*, 2012; Prabhu *et al.*, 2012). Observamos também que o aumento da temperatura desfavorece a interação entre ATE e β CD, verificado pela diminuição dos valores de k_a , contudo o sistema apresenta constante de formação compatível com outros como mencionado na discussão do sistema SDS: β CD (ver Tabela 4.3, pág. 66)

Os valores negativos obtidos para ΔG° indicam que a interação é espontânea. Já os resultados de ΔH° mostram que o processo é exotérmico. Estes valores podem estar relacionados às novas interações intermoleculares formadas, além da saída das moléculas de água da cavidade da β CD, que contribuem para o aumento da entalpia. A variação entrópica pode ser atribuída ao efeito hidrofóbico resultante da liberação das moléculas de água da cavidade hidrofóbica da β CD.

A Figura 4.17 traz a correlação linear entre os pontos ΔH° e $-T\Delta S^\circ$ nas diferentes temperaturas estudadas. Foi obtido uma valor de $\alpha = -0,23 \pm 0,18$ e $b = -6,03 \pm 2,39$ $T\Delta S^\circ = -0,23 \Delta H^\circ - 6,03$, (com $r = 0,79$). Isso mostra que a formação deste CI com a variação da temperatura é favorecida entalpicamente, uma vez que b apresenta valores negativos e o ganho entálpico é de 1,23.

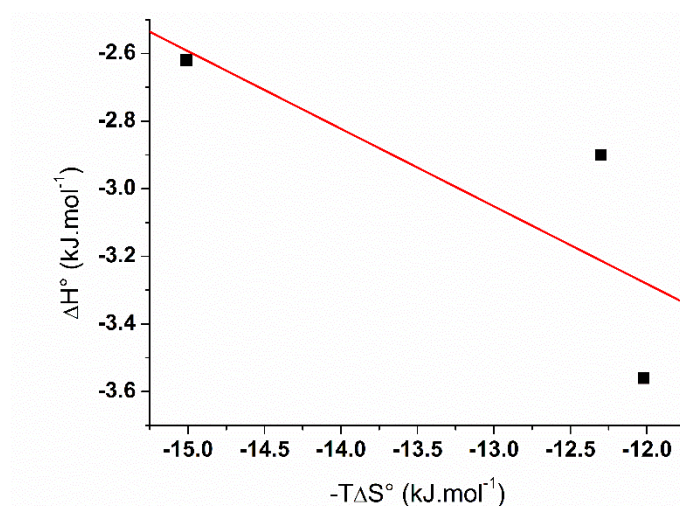


Figura 4.17 - Compensação do sistema ATE 20,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹

O estudo realizado por Buha, Baxi *et al.* (2012) utilizou a cromatografia líquida de alta eficiência com fase reversa para obter os parâmetros termodinâmicos da interação entre o atenolol e a β CD em diferentes temperaturas em pH 6,8. Os valores obtidos pelos autores estão apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Parâmetros termodinâmicos obtidos por Buha, Baxi *et al.* (2012)

T °C	k_a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	$T\Delta S^\circ$ (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
20	239,85	-42,40	-29,05	-13,35
25	179,47	-42,12	-29,26	-12,86
30	135,64	-42,05	-29,68	-12,37
35	103,54	-41,92	-30,04	-11,88
40	79,84	-41,68	-30,28	-11,40

A diferença nos resultados por eles obtidos com os apresentados neste trabalho pode ser explicado pelo fato de que os autores utilizaram o fator de retenção para cálculo de k_a e os demais valores termodinâmicos foram calculados a partir da inclinação ($\Delta H^\circ/T$) e intercepto ($\Delta S^\circ/R$), do gráfico plotado de $\ln k_a$ por $1/T$, utilizando a equação de van't Hoff. Dessa forma, estes resultados possuem um desvio vindo do fato de que a interação entre as moléculas não ocorre de maneira efetiva por não se conseguir um tempo de retenção ideal para formação do composto de inclusão. Esse fato foi discutido pelos autores, os quais também chamaram atenção para o fato de que o solvente utilizado (metanol) também interage com a β CD com k_a de 0,32. Contudo, podemos perceber tendências iguais às encontradas neste trabalho, por exemplo, o aumento da temperatura diminui os valores de k_a , ou seja, desfavorece a interação entre estas moléculas, mas o processo continua sendo espontâneo e exotérmico. Além disso, os autores também avaliaram que o aumento de entalpia é acompanhado pela diminuição da entropia, mas não o bastante para que haja uma compensação capaz de manter ΔG° praticamente constante.

Logo, no presente estudo, para avaliar a interação entre as moléculas de losartan potássico e β CD foi realizada inicialmente uma titulação utilizando uma solução de LOS 20,00 mmol.L⁻¹ como titulante em solução de β CD 1,00 mmol.L⁻¹ (Figura 4.18a), seguindo como exemplo as concentrações utilizadas para o sistema ATE: β CD. Entretanto, o perfil sigmoide não foi encontrado. Uma nova titulação foi conduzida com LOS 30,00 mmol.L⁻¹ como titulante e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ como titulado, porém o perfil da curva se manteve e a diferença de calor ficou menor devido a um excesso de titulante no sistema (Figura 4.18b).

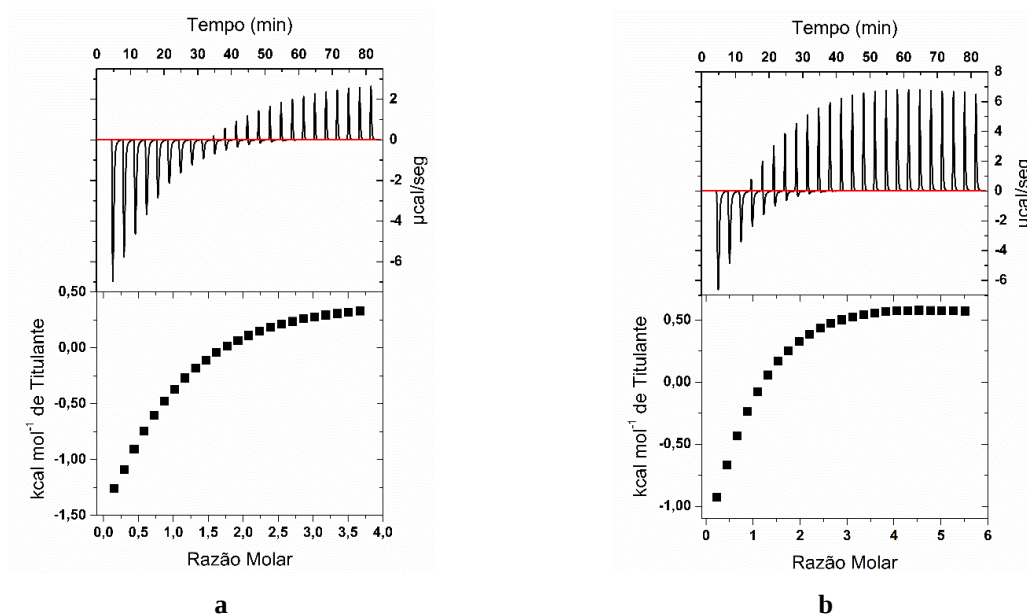


Figura 4.18 - Perfil da titulação a 25 °C: a) LOS 20,00 mmol.L⁻¹ em βCD 1,00 mmol.L⁻¹; b) LOS 30,00 mmol.L⁻¹ em βCD 1,00 mmol.L⁻¹

Assim, uma nova titulação foi feita tendo como titulante uma solução de LOS 25,00 mmol.L⁻¹, e como titulado uma solução de βCD 1,00 mmol.L⁻¹ (Figura 4.19). Como resultado, foi obtida uma curva ainda fora do perfil sigmoide, mas ajustável ao modelo de um sítio de interação de forma satisfatória. Por isso, essas concentrações também foram utilizadas para as titulações à 37 e 45 °C (Figuras 4.20 e 4.21, respectivamente). A Tabela 4.6 traz os resultados dos parâmetros termodinâmicos obtidos.

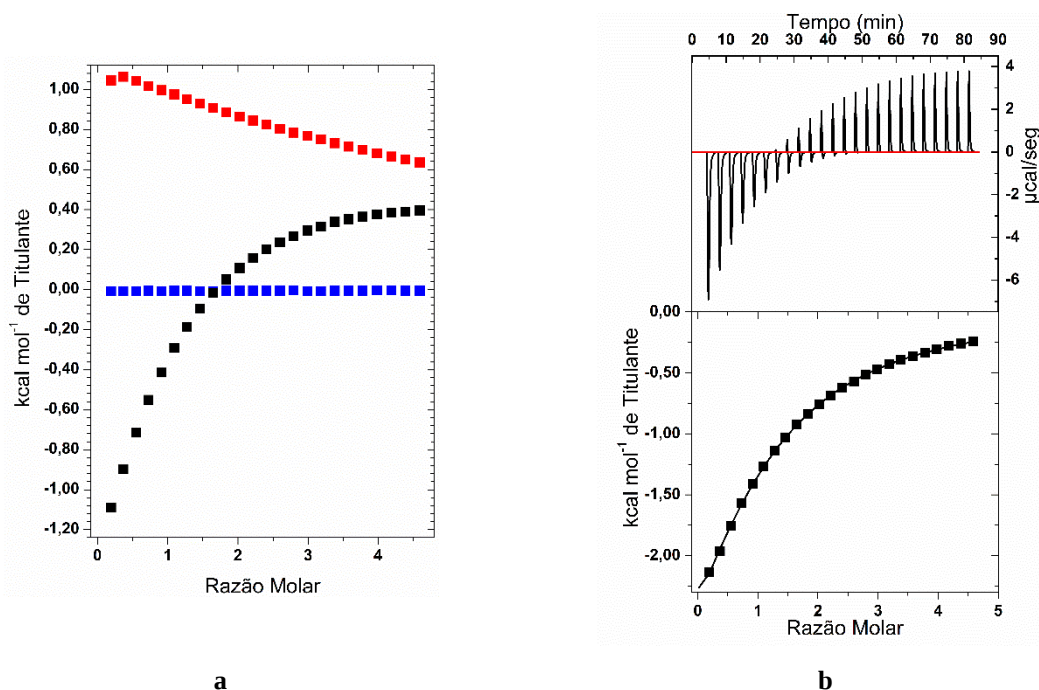


Figura 4.19 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e βCD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e βCD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

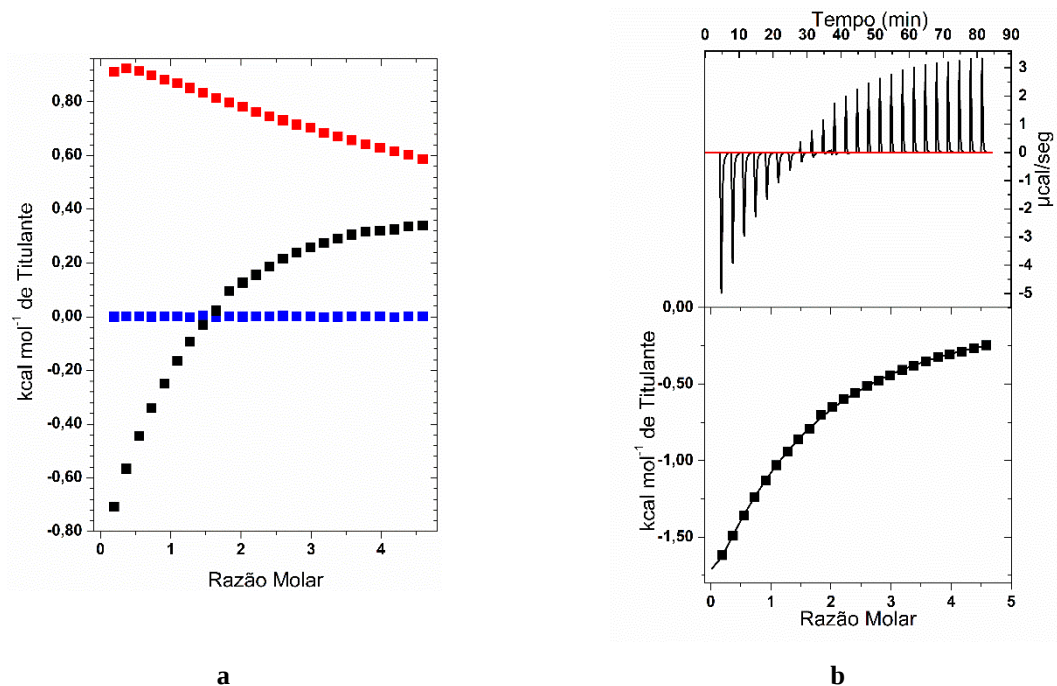


Figura 4.20 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

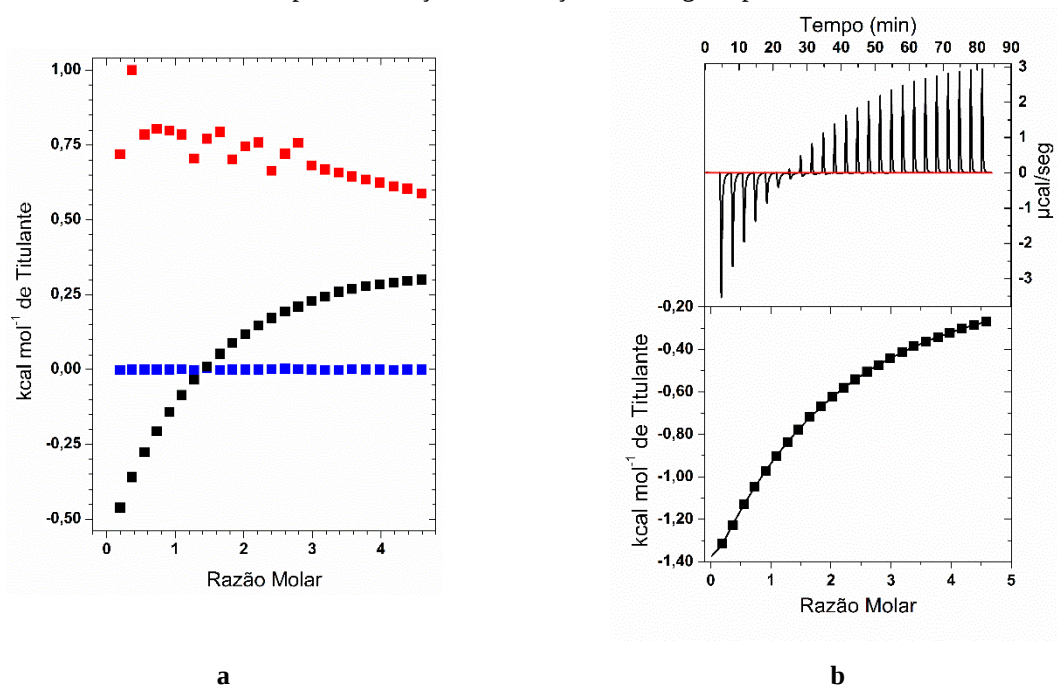


Figura 4.21 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

Tabela 4.6 - Parâmetros termodinâmicos do sistema LOS 25,00 mmol.L⁻¹ em β CD 1,00 mmol.L⁻¹

T °C	n	k _a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	T ΔS° (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
25	0,97 ± 0,01	799,50 ± 133,64	-21,94±1,90	-5,23±2,30	-16,72±0,30
37	0,98 ± 0,01	505,00 ± 2,83	-21,49±0,10	-5,07±0,10	-16,42±0,00
45	1,13 ± 0,02	385,00 ± 24,04	-18,81±1,50	-2,80±1,50	-16,01±0,00

Para este sistema, nota-se que ocorreu um processo dissociativo na titulação entre LOS e a água tipo I, o qual provavelmente acontece por a solução de LOS ser adicionada a um volume de solvente maior que o injetado a cada ponto, favorecendo a formação de interações do tipo íon-dipolo. Essa dissociação da molécula de LOS também foi observada no trabalho de De Paula *et al.* (2011) em seu estudo sobre a interação entre LOS e HP β CD. Conforme os valores apresentados na Tabela 4.6, temos que o CI formado pela interação entre LOS e β CD apresenta estequiometria 1:1 em todas as temperaturas estudadas de acordo com n. Também foi verificado que o aumento da temperatura desfavorece esta interação, devido a diminuição dos valores de k_a . Já os valores negativos de ΔG indicam que a interação é espontânea em todas as temperaturas.

Observa-se valores negativos de ΔH° , indicando que o processo é exotérmico, podendo este resultado estar associado a formação de interações intermoleculares entre LOS e β CD, além da saída das moléculas de água da cavidade da β CD, como já foi discutido anteriormente. Já para a variação de entropia, vemos que os valores pouco variam de 25 para 37 °C, contudo à 45 °C há um aumento deste. Isso ocorre provavelmente devido a dessolvatação, e a um maior número de espécies presentes no meio devido à menor interação entre as moléculas nesta temperatura. Ainda é relevante mostrar pela figura 4.22, o qual traz a correlação linear das variações de entalpia e entropia com $r = 0,99$, $\alpha = -1,24 \pm 0,09$ e $b = -15,32 \pm 0,42$ ($T\Delta S^\circ = -1,24 \Delta H^\circ - 15,32$), que a formação do CI é favorecido entálpicamente com o aumento da temperatura, uma vez que b apresentou valor negativo e o ganho entálpico foi de 2,24.

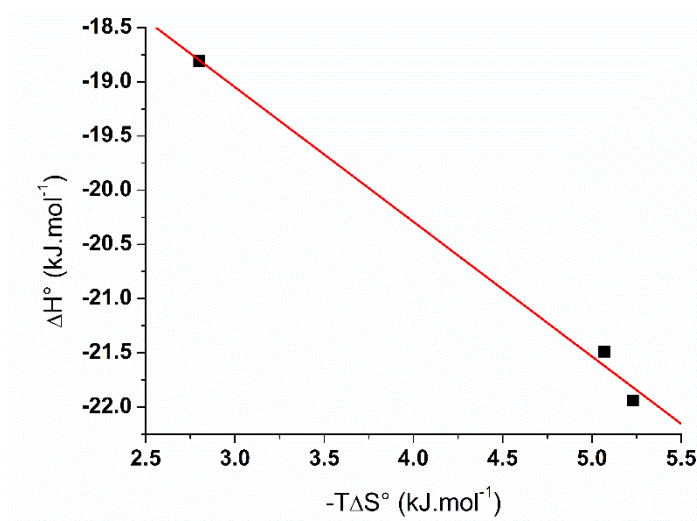


Figura 4.22 - Compensação do sistema LOS 25,00 mmol.L⁻¹ e β CD 1,00 mmol.L⁻¹

De Paula, Denadai *et al.* (2011), realizaram um estudo com a ITC como uma das técnicas para caracterizar a interação entre HP β CD (titulado) e losartan (titulante), em microcalorímetro VP-ITC (Microcal®) nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, utilizando o modelo de um sítio de interação para obter os parâmetros físico-químicos. A Tabela 4.7 traz os resultados que eles obtiveram.

Tabela 4.7 - Parâmetros termodinâmicos obtidos por De Paula, *et al.* (2011)

T °C	n	k _a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	T ΔS° (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
25	0,74	1.147,00	-11,80	5,80	-17,50
35	0,79	739,20	-13,40	3,50	-16,90
45	0,83	496,80	-14,70	1,70	-16,40

A HP β CD é uma ciclodextrina modificada que possui grupos hidroxipropil em sua estrutura, com o intuito de melhorar a solubilidade da β CD, logo a presença deste grupo faz com que estes resultados sejam diferentes dos obtidos neste trabalho. Entretanto, notam-se semelhanças, tais como o fato de o aumento da temperatura diminuir a força da interação, visto pela diminuição de k_a. Além de a interação ser exotérmica e espontânea com valores de ΔG° muito próximos aos encontrados neste presente trabalho, com variações de entalpia e entropia não muito grandes.

Por fim, comparando os valores termodinâmicos obtidos para os três sistemas apresentados até agora, vimos que todos os processos são exotérmicos e espontâneos, contudo temos que a molécula de SDS é a que possui maior força de interação com a β CD, quando comparada aos fármacos, devido aos valores de k_a maiores por ele obtidos nas diferentes temperaturas estudadas, além de ser o processo mais espontâneo (menores valores de ΔG°).

Outro ponto importante está nas equações obtidas pelo ajuste linear dos gráficos de ΔH° por $-T\Delta S^\circ$, pois o valor do intercepto está correlacionado a dessolvatação ocorrida após a formação do CI e a inclinação da reta reflete o ganho entálpico (1- α). Os valores obtidos estão na Tabela 4.8 traz os valores do intercepto e da inclinação obtidos.

Tabela 4.8 - Valores da equação da reta para os sistemas binários

Sistema	Intercepto	Ganho entálpico (1- α)
SDS: β CD	-26,17	2,11
ATE: β CD	-6,03	1,23
LOS: β CD	-15,32	2,24

Conforme estes valores nota-se que o CI formado com o SDS possui uma maior dessolvatação em seu sistema, pois além da dessolvatação da cavidade da β CD, o SDS é um surfactante e necessita perder as moléculas de água que o circundam para interagir com a β CD. Agora quando se compara os valores referentes a dessolvatação dos CIs envolvendo os fármacos, se tem que provavelmente há uma maior saída de água da cavidade da β CD para haver a interação com LOS, inferindo que pode haver uma maior interação deste fármaco com a β CD, visto que para os dois sistemas a concentração de β CD utilizada foi de 1 mmol.L⁻¹. Além disso, a formação dos CIs é favorecido entálpicamente, com menor ganho entálpico para o CI ATE: β CD, o que mostra que para neste sistema menos interações intermoleculares estão sendo formadas.

Meira, *et al.* (2018) apresentaram em seu trabalho as distâncias entre hidrogênios que participam das interações intermoleculares dos sistemas ATE: β CD (Figura 4,23 a), SDS: β CD (Figura 4,23 b) e LOS: β CD (Figura 4,23 c), reproduzindo os mapas de correlação 2D ROESY, mas com a frequência de ocorrência dessas distâncias específicas em solução. A cor azul reflete uma distância de até 4 Å entre os hidrogênios, enquanto o tamanho da circunferência é proporcional à frequência que estas interações ocorreram durante a análise.

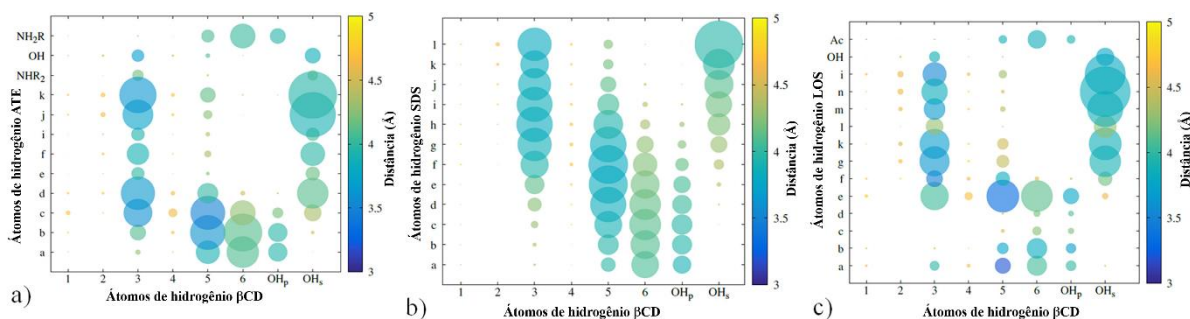


Figura 4.23 - Distância entre os hidrogênios nos sistemas: a) ATE: β CD; b) SDS: β CD e c) LOS: β CD.

Estes resultados mostram que para o sistema SDS: β CD realmente há uma maior ocorrência de interações intermoleculares, quando comparado às interações dos fármacos com esta molécula hospedeira, como discutido anteriormente. Além disso, há a confirmação que as interações realmente ocorrem nas regiões apresentadas ao fim do Capítulo 3.

4.1.2 Sistemas Ternários

Como o SDS apresentou maior k_a na interação com a β CD, foram realizadas titulações de SDS em solução 1:1 fármaco: β CD, nas temperaturas de 25, 37 e 45 °C (Figuras 4.24, 4.25

e 4.26, respectivamente) para avaliar se a maior interação do SDS seria forte o bastante para deslocar o fármaco da cavidade da β CD.

Assim, para as titulações de SDS 10,00 mmol.L⁻¹ na solução ATE: β CD (1:1) 1,00 mmol.L⁻¹, temos os valores termodinâmicos obtidos apresentados na Tabela 4.9. Já a Figura 4.27 mostra uma comparação entre as curvas finais obtidas das titulações de SDS em β CD, SDS em ATE e SDS em ATE: β CD (1:1), nas temperaturas estudadas.

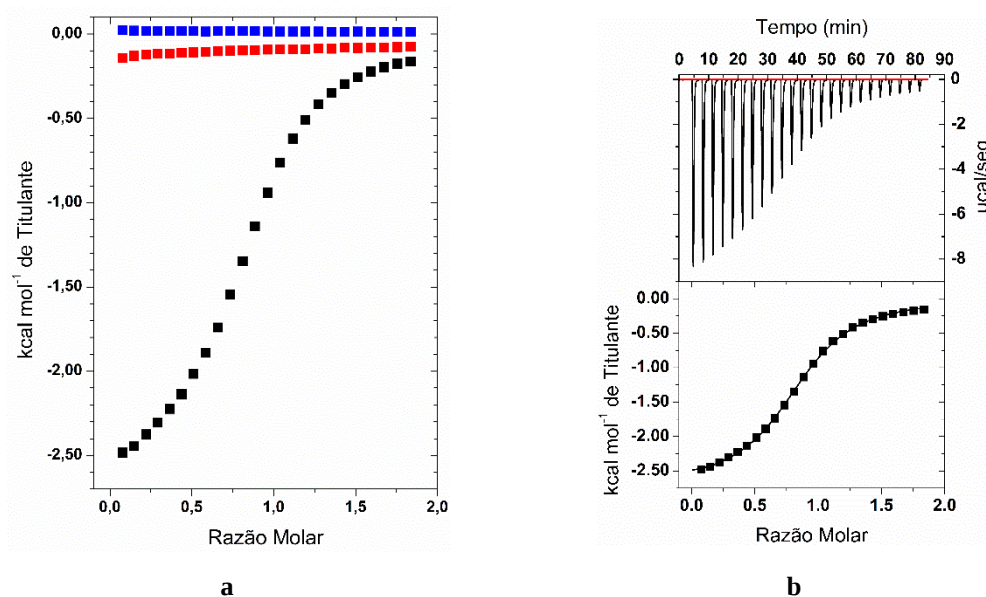


Figura 4.24 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

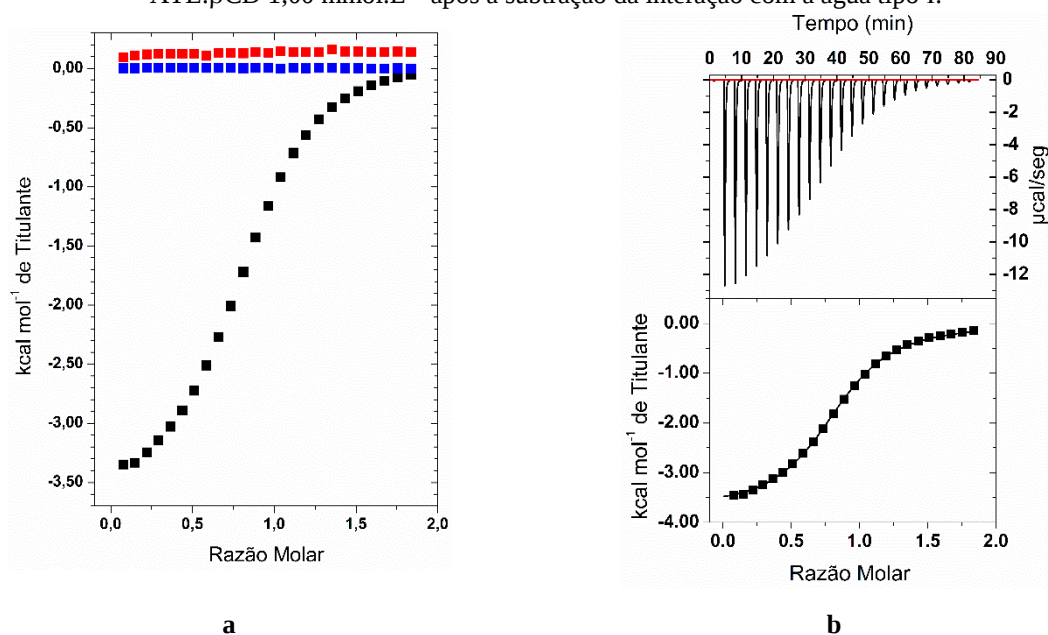


Figura 4.25 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE: β CD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

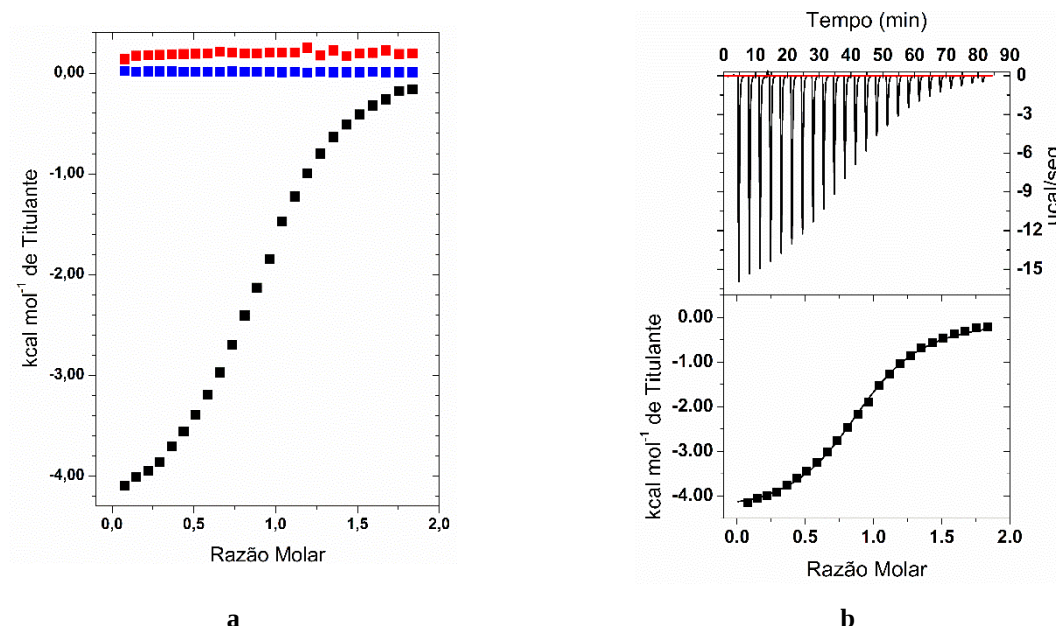


Figura 4.26 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e ATE:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE:βCD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

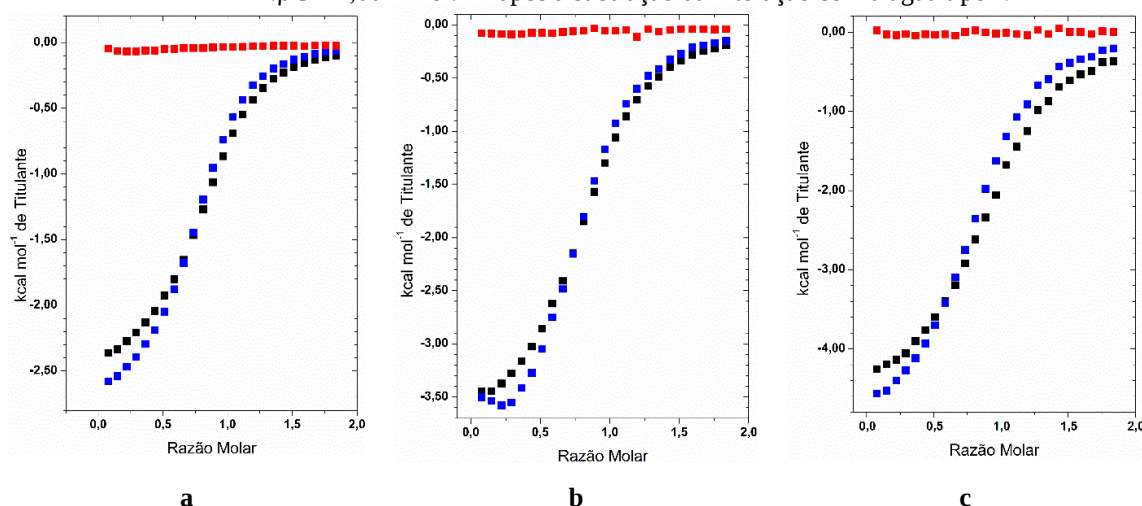


Figura 4.27 – Comparação das titulações: (■) água tipo I e ATE:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e ATE:βCD 1,00 mmol.L⁻¹: a) 25 °C; b) 37 °C; c) 45 °C.

Tabela 4.9 - Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em ATE:βCD 1,00 mmol.L⁻¹

T °C	n	k _a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	TΔS° (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
25	0,84 ± 0,01	17.150,00 ± 494,97	-11,00 ± 0,23	13,02 ± 0,28	-24,17 ± 0,07
37	0,84 ± 0,01	15.700,00 ± 1.555,63	-13,40 ± 3,55	10,51 ± 2,67	-24,91 ± 0,26
45	0,93 ± 0,03	12.000,00 ± 0,00	-19,50 ± 0,01	4,80 ± 0,01	-24,84 ± 0,00

Observou-se que a o perfil das curvas obtidas na titulação entre SDS e ATE:βCD (1:1), bem como os valores de k_a, ΔH°, TΔS° e ΔG°, foram mais próximos aos obtidos para o sistema SDS:βCD em todas as temperaturas, o que indica um deslocamento da molécula de

ATE da cavidade da β CD na presença do SDS, visto que praticamente não há interação entre SDS e ATE, como visto pelo seu perfil de interação com diferença de calor muito próximo a zero. Além disso, os valores de n indicam a existência de mais de um tipo de equilíbrio no sistema. Estes resultados associados aos obtidos no RMN mostram o deslocamento pela ausência de correlação observada no 2D-ROESY entre os hidrogênios aromáticos de ATE com β CD no sistema ternário, além do retorno dos deslocamentos químicos destes hidrogênios do ATE para os valores encontrados desta molécula pura. Por fim, o 2D-ROESY também mostrou a correlação entre o hidrogênios do SDS com a β CD no sistema ternário.

A Figura 4.28 traz os resultados da dinâmica molecular estudada por Meira, *et al.* (2018) para este sistema. Observa-se que o SDS (amarelo) inicialmente fora da cavidade da β CD, desloca o ATE (cinza) que estava inicialmente incluído na cavidade da molécula hospedeira, mostrando que há a competição entre o SDS e ATE pela cavidade da β CD, sendo o fármaco deslocado na presença do excipiente.

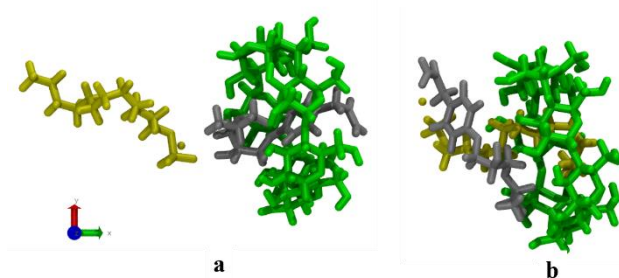


Figura 4.28 – Dinâmica molecular do sistema SDS:ATE: β CD: a) início em $t = 0,00$ ns; b) final em $t = 9,35$ ns. SDS = amarelo, ATE = cinza e β CD = verde.

A análise da capacidade do SDS competir com os fármacos pela cavidade da β CD, foram realizadas novas titulações entre SDS $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ e uma solução de LOS: β CD $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ (1:1), nas temperaturas de 25, 37 e 45 °C, Figuras 4.29, 4.30 e 4.31, respectivamente. A Tabela 4.10 contém os valores termodinâmicos obtidos a partir das curvas finais destas titulações. Sendo que na Figura 4.32 se encontram os gráficos para comparação entre os perfis da interação dos sistemas binários SDS:LOS, SDS: β CD e o sistema ternário SDS:LOS: β CD.

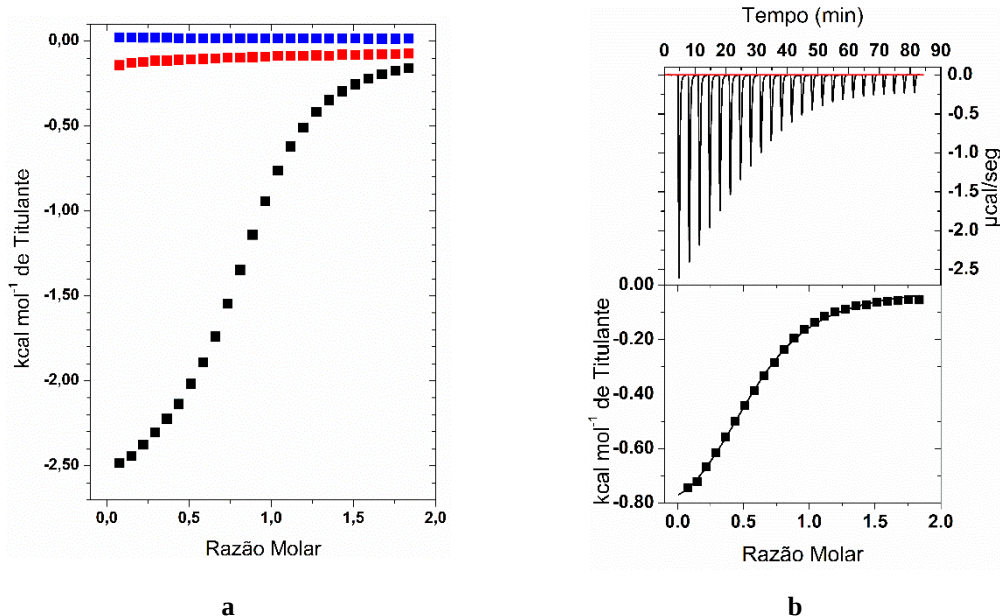


Figura 4.29 - Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) água tipo I e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

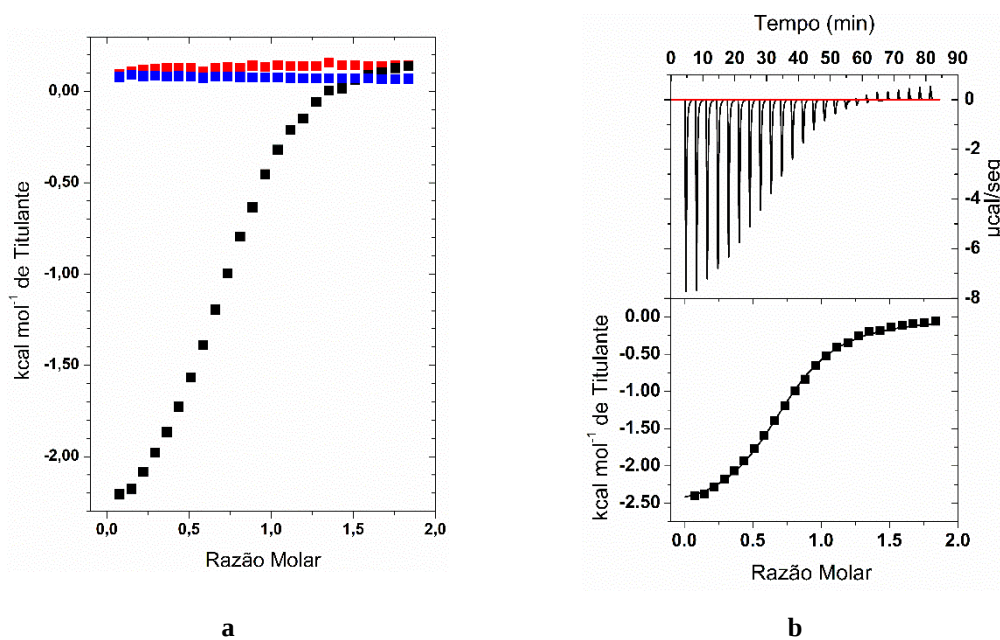


Figura 4.30 - Perfil da titulação a 37 °C entre: a) (■) água tipo I e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

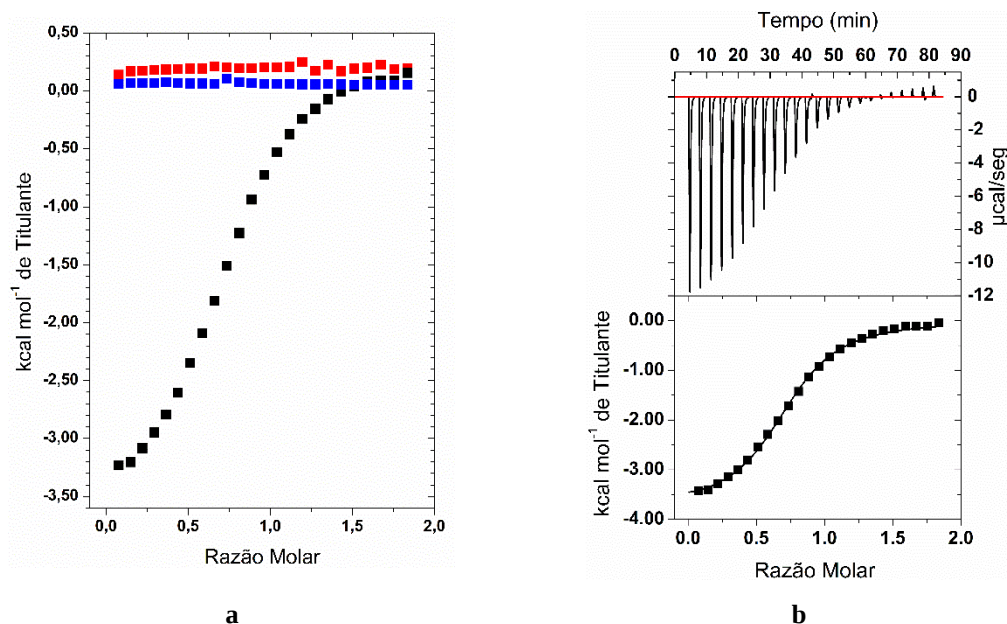


Figura 4.31 - Perfil da titulação a 45 °C entre: a) (■) água tipo I e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹ após a subtração da interação com a água tipo I.

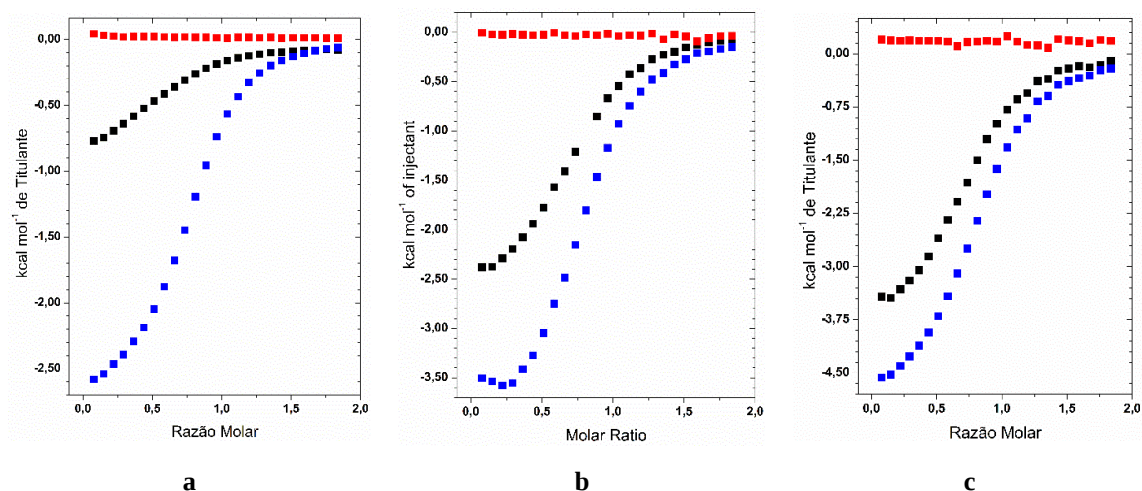


Figura 4.32 – Comparação das titulações: (■) água tipo I e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS 1,00 mmol.L⁻¹; (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹: a) 25 °C; b) 37 °C; c) 45 °C.

Tabela 4.10 - Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em LOS:βCD 1,00 mmol.L⁻¹

T °C	n	k _a	ΔH°	TΔS°	ΔG°
			(kJ.mol ⁻¹)	(kJ.mol ⁻¹)	(kJ.mol ⁻¹)
25	0,58 ± 0,00	8.215,00 ± 77,78	-3,80 ± 0,04	17,90 ± 0,09	-22,34 ± 0,02
37	0,73 ± 0,01	13.915,00 ± 1.435,43	-11,34 ± 0,01	12,30 ± 0,17	-23,64 ± 0,18
45	0,74 ± 0,00	12.750,00 ± 70,71	-16,08 ± 0,19	8,42 ± 0,18	-24,50 ± 0,01

Analisando as curvas obtidas notou-se que os perfis obtidos nas titulações entre SDS e LOS:βCD (1:1), assim como os valores de k_a, ΔH°, TΔS° e ΔG°, ficam mais próximos aos do

sistema SDS: β CD de acordo com o aumento da temperatura, o que indica um deslocamento da molécula de LOS da cavidade da β CD na presença do SDS, sendo que a interação entre SDS e LOS é praticamente nula, verificado pela diferença de calor próxima a zero. Outro ponto interessante a ser notado, está no fato de os valores de $T\Delta S^\circ$ que eram negativos para o sistema LOS: β CD, se apresentarem positivos, indicando que o efeito hidrofóbico passa a ser maior neste sistema, provavelmente pela dessolvatação das moléculas de SDS. Já os valores de n indicam a existência de equilíbrios múltiplos no sistema. Estes resultados vão de encontro ao que foi observado pela técnica de RMN, onde foi verificado no 2D-ROESY a correlação entre SDS e β CD no sistema ternário, e apesar de não haver mais indícios da correlação entre LOS e β CD, os valores de deslocamento químico da molécula de LOS indicaram que estes estão em um ambiente químico diferente da molécula pura e do composto binário, demonstrando a presença de um possível sistema ternário.

A Figura 4.33 traz os resultados da dinâmica molecular estudada por Meira, *et al.* (2018) para este sistema. Observa-se que o SDS (amarelo) inicialmente fora da cavidade da β CD (verde), forma um sistema ternário com LOS (vermelho – inicialmente incluído) e β CD após o rearranjo do fármaco na molécula hospedeira.

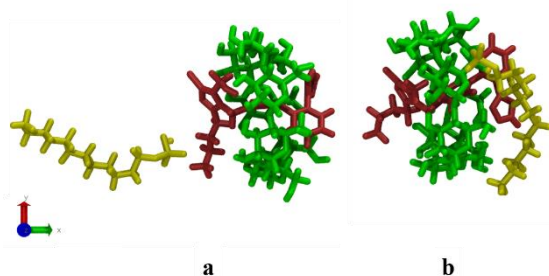


Figura 4.33 - Dinâmica molecular do sistema SDS:LOS: β CD: a) início em $t = 0,00$ ns; b) final em $t = 9,35$ ns. SDS = amarelo, LOS = vermelho e β CD = verde.

A partir dos resultados apresentados para os sistemas ternários, foi possível perceber que a molécula de ATE, apesar de apresentar uma maior k_a com a β CD no composto binário quando comparada a molécula de LOS, é deslocada da cavidade da β CD na presença da molécula competidora SDS. Enquanto que a molécula de LOS parece formar um composto ternário com SDS e β CD. Estes resultados podem ser comparados aos obtidos por Andreus *et al.* (1997) que analisaram a influência do SDS na solubilidade de compostos de inclusão envolvendo a Metil-AlfaCiclodextrina (M- α CD) e as moléculas de *p*-xileno e *o*-xileno. Assim, a partir dos valores de solubilidade obtidos para os compostos binários M- α CD:*p*-xileno e M- α CD:*o*-xileno, os autores obtiveram valores de constante de associação de 141

M^{-1} e $48 M^{-1}$, respectivamente, e melhor solubilidade para as moléculas de *p*-xileno e *o*-xileno. O interessante foi que o SDS diminuiu a solubilidade do CI M- α CD:*p*-xileno, ao passo que tornou o CI M- α CD:*o*-xileno mais solúvel. Tal resultado foi atribuído à formação de CI ternário entre CI M- α CD:*o*-xileno:SDS, o qual não ocorreu para o CI com o *p*-xileno, que foi provavelmente deslocado da cavidade da M- α CD na presença do SDS, mesmo tendo uma maior constante de afinidade quando comparado ao *o*-xileno. Os autores justificaram o ocorrido pelo fato de o CI entre M- α CD e *o*-xileno possuir menor constante de associação, a interação era menos efetiva, logo mais moléculas de água estavam presentes dentro do CI, assim a molécula de SDS aumentou a saída das moléculas de água da cavidade da M- α CD no CI, aumentando a interação hidrofóbica entre M- α CD e *o*-xileno e formando um CI ternário. Já Sherje *et al.* (2017), realizaram uma pesquisa para avaliar o efeito da L-arginina no incremento da solubilidade do CI etodolac:HP β CD, utilizando as técnicas de FT-IR, DSC, PXDR, 1H RMN, *molecular docking* e estudo de dinâmica molecular. Os autores obtiveram como resultado a formação de um composto ternário, onde a L-arginina promoveu o aumento da solubilidade em relação ao composto binário, além disso a mudança no perfil dos sinais do DSC indicaram uma menor quantidade de água presente no composto ternário, já os resultados de 1H RMN mostraram novos deslocamentos químicos no composto ternário, indicando a formação de um novo ambiente químico. Com os resultados teóricos a maior solubilidade observada para o CI ternário foi atribuída a um aumento da área hidrofóbica disponível para interação entre o etodolac e a HP β CD na presença da L-arginina, permitindo a formação de novas interações eletrostáticas e hidrofóbicas, o que levou, também, a uma maior eficiência de complexação.

Estes estudos mostram que a presença de uma terceira molécula capaz de promover a saída de mais moléculas de água do CI binário gera um aumento da área hidrofóbica disponível para interação, o que pode levar a formação de um CI terciário. Sendo assim, a figura 4.34 nos mostra a relação da compensação entálpica/entrópica dos sistemas ternários estudados neste trabalho. A Tabela 4.11 traz os valores de intercepto e ganho entálpico ($1-\alpha$) obtidos a partir da equação da reta de cada sistema. Nota-se o valor do intercepto é maior, em módulo, para o sistema LOS:SDS: β CD, indicando uma maior dessolvatação neste CI ternário, que pode favorecer a interação entre as moléculas dentro da cavidade da β CD. Além disso, observa-se que os processos são favorecidos entalpicamente, com um ganho entálpico um pouco maior para o sistema LOS:SDS: β CD, indicando a possível formação de mais interações intermoleculares.

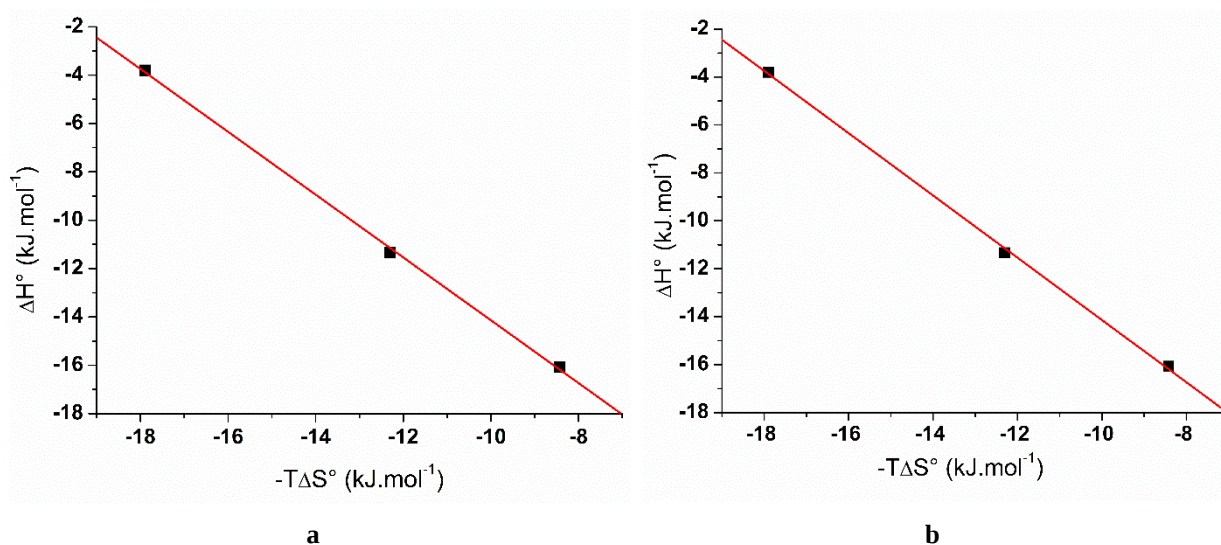


Figura 4.34 - Compensação do sistema: a) ATE:SDS:βCD; b) LOS:SDS:βCD

Tabela 4.11 – Valores da equação da reta para os sistemas ternários

Sistema	Intercepto	Ganho entálpico (1-α)
ATE:SDS:βCD	-24,45	2,04
LOS:SDS:βCD	-27,13	2,30

$r = 0,99$, para os dois sistemas.

A Figura 4.35 traz os resultados apresentados por Meira, *et al.* (2018) das distâncias entre hidrogênios do SDS aos hidrogênios da βCD na presença dos fármacos ATE e LOS. A cor azul reflete uma distância de até 4 Å entre os hidrogênios, enquanto o tamanho da circunferência é proporcional à frequência que estas interações ocorreram durante a análise.

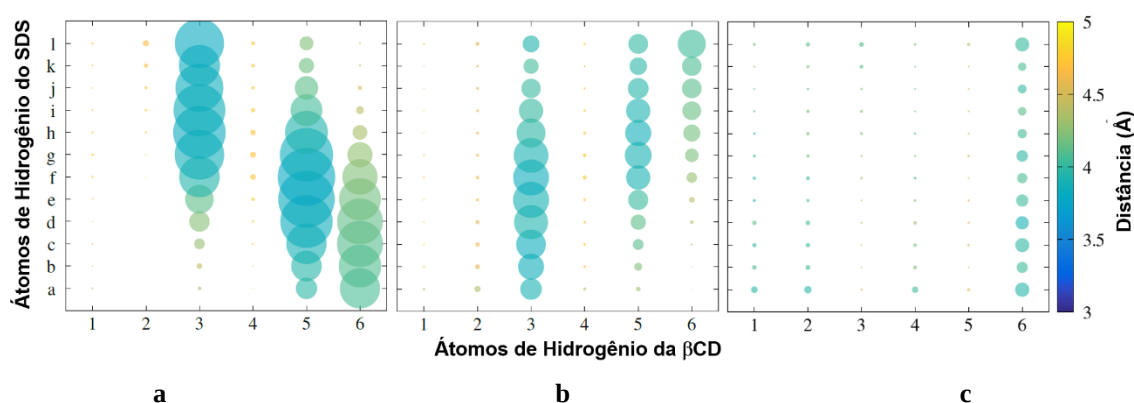


Figura 4.35 - Distância entre os hidrogênios do SDS e da βCD nos sistemas: a) SDS:βCD; b) SDS:ATE:βCD e c) SDS:LOS:βCD.

Estes resultados mostram que mesmo na presença do ATE ainda ocorre interação entre os hidrogênios do SDS e da βCD com uma frequência maior do observado na presença do fármaco LOS. Mostrando que o LOS forma um sistemas ternário SDS:LOS:βCD, enquanto que o ATE é deslocado da cavidade da βCD, sendo incompatível o uso destas moléculas na formulação de um medicamento.

CAPÍTULO 5
RESULTADOS E DISCUSSÃO
VARIAÇÕES ESTEQUIOMÉTRICAS E CINÉTICA

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO – VARIAÇÕES ESTEQUIOMÉTRICAS E CINÉTICA

Neste capítulo serão discutidos os resultados obtidos nas titulações com variações nas estequiometrias dos fármacos ou da β CD com intuito de analisar possíveis alterações nos parâmetros termodinâmicos e na competição entre fármacos e SDS pela cavidade da β CD. Isso será realizado a partir de uma comparação com os resultados apresentados no Capítulo 4, item 4.1.2. Serão apresentados também os resultados da cinética de inclusão dos fármacos (LOS ou ATE) e do SDS com a β CD, obtidos no software kinITC, utilizado para avaliar a cinética em estudos enzimáticos e da interação de fármacos com RNA (Burnouf *et al.*, 2012; Dumas *et al.*, 2016), mas até então não aplicado em sistemas com CDs.

5.1 VARIAÇÕES ESTEQUIOMÉTRICAS

A análise com diferentes razões molares entre os fármacos e a β CD, bem como do SDS com a β CD e do SDS com fármaco: β CD foram realizadas com a finalidade de comparar o efeito do aumento da concentração do fármaco (LOS ou ATE) ou da β CD na competição com o SDS com os resultados obtidos na análise apresentada no capítulo 4, item 4.1.2, na qual o SDS 10,00 mmol.L⁻¹ foi titulado na solução β CD:LOS 1:1 e β CD:ATE 1:1.

Para o sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em β CD:LOS 1:1 (Capítulo 4), foi observada a provável formação de um sistema ternário, no qual SDS e LOS seriam incluídos na cavidade da β CD simultaneamente. Logo, foram realizadas novas titulações de SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em β CD:LOS nas razões molares 1:2, 1:3 e 1:4 (Figuras 5.1, 5.2 e 5.3, respectivamente), para analisar se este processo ainda é observado com excesso de fármaco.

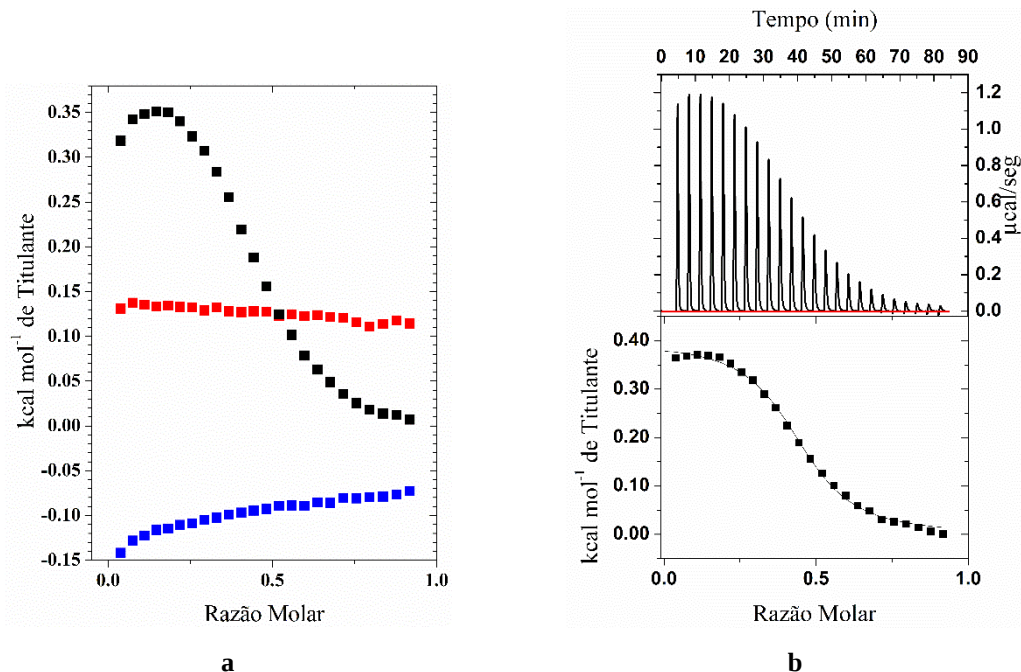


Figura 5.1– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (1:2); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (1:2); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (1:2) após a subtração da interação com a água tipo I.

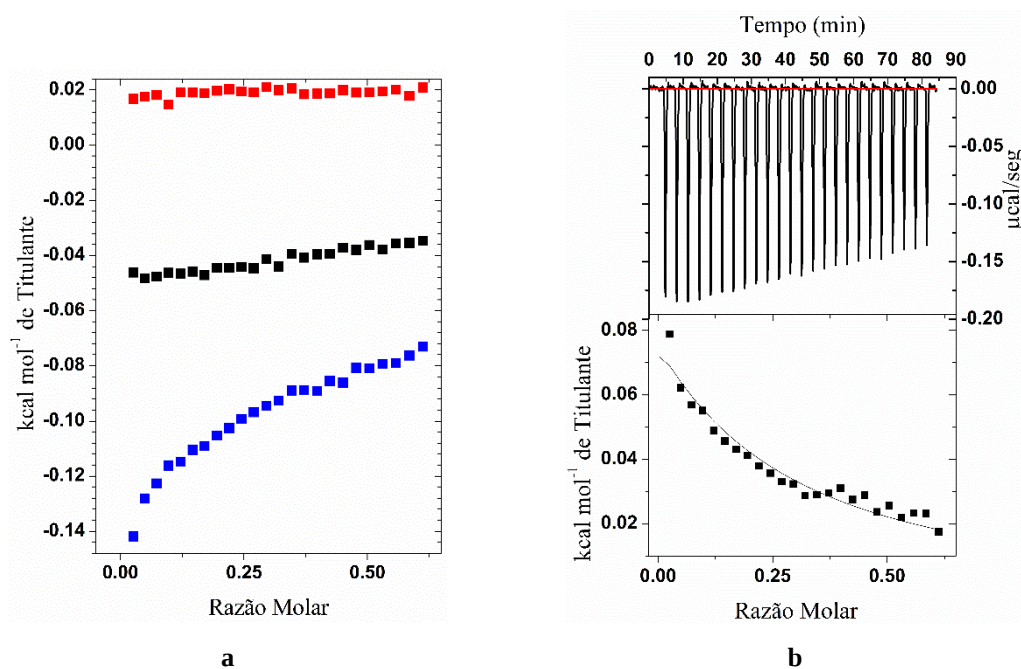


Figura 5.2– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (1:3); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (1:3); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (1:3) após a subtração da interação com a água tipo I.

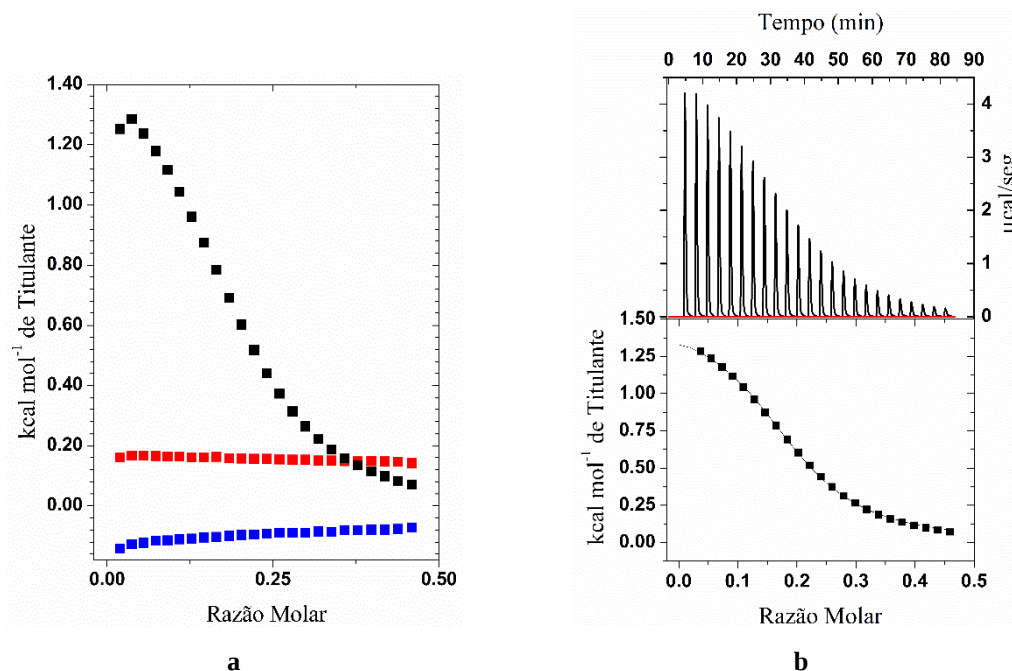


Figura 5.3– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (1:4); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (1:4); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (1:4) após a subtração da interação com a água tipo I.

Foi observado que o aumento da concentração deste fármaco gerou a formação de agregados moleculares, com liberação do calor relacionado a dissociação do mesmo como pode ser visto pelo perfil endotérmico das curvas de titulação. De Paula *et al.* (2011) avaliaram em sua pesquisa um perfil endotérmico e dissociativo semelhante para LOS em seu experimento de ITC, no qual a concentração de LOS na cela de amostra variou de 0 para 11,1 mmol.L⁻¹, eles observaram a formação de agregados de LOS utilizando a técnica de espectrometria de massa para analisar com uma concentração de 5,00 mmol.L⁻¹ do fármaco.

No presente estudo a observação da dissociação do fármaco foi observada em menores concentrações, uma vez que para os sistemas cujo titulado foi βCD:LOS 1:2, βCD:LOS 1:3 e βCD:LOS 1:4 a concentração de LOS na cela de amostra variou de 2,00 para 1,71 mmol.L⁻¹, de 3,00 para 2,56 mmol.L⁻¹ e 4,00 para 3,41 mmol.L⁻¹, respectivamente. Nota-se para βCD:LOS 1:4 uma maior variação de entalpia, indicando a possível presença de uma maior quantidade de agregados do fármaco sendo dissociado. É interessante notar que para o sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em βCD:LOS 1:1 (Capítulo 4), esta dissociação não foi observada, sendo que a concentração de LOS na cela de amostra variou de 1,00 para 0,85 mmol.L⁻¹, o que pode indicar que nesta concentração não havia um excesso de fármaco, estando ele incluído na cavidade da βCD, ou que naquela concentração não há formação de agregados.

A Tabela 5.1 contém os resultados termodinâmicos obtidos destas titulações e da análise do sistema ternário apresentado no Capítulo 4. A curva referente ao sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em β CD:LOS 1:3 não foi possível de ser ajustada pelo software, sendo que o mesmo perfil da curva foi obtido em todas as repetições.

Tabela 5.1 – Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em β CD:LOS em diferentes estequiometrias a 25 °C

Sistema	k_d	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	$T\Delta S^\circ$ (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
β CD:LOS (1:1)	8.215,00 $\pm$ 77,78 (k_a)*	-3,80 $\pm$ 0,04	17,90 $\pm$ 0,09	-22,34 $\pm$ 0,02
β CD:LOS (1:2)	23.000,00 $\pm$ 2.828,43	1,68 $\pm$ 0,03	25,68 $\pm$ 0,34	-24,89 $\pm$ 0,31
β CD:LOS (1:3)	—	—	—	—
β CD:LOS (1:4)	9.340,00 $\pm$ 381,84	6,36 $\pm$ 0,03	25,64 $\pm$ 3,30	-22,66 $\pm$ 0,10

*Para o sistema com titulado β CD:LOS (1:1) foi observado o processo de associação.

Os valores apresentados dos novos sistemas são resultados do processo dissociativo do LOS, como visto pelos valores de k_d que são maiores do que de k_a obtido no sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em β CD:LOS 1:1, indicando que a maior quantidade deste fármaco em relação a β CD aumenta a propensão deste se dissociar espontaneamente, uma vez que a ΔG° é negativa. Além disso, os valores positivos de ΔH° indicam que o processo é endotérmico e refletem a dissociação do sistema com a quebra de interações intermoleculares, sendo acompanhado do aumento da $T\Delta S^\circ$, que corrobora com a ideia de um maior número de moléculas livres no meio. Logo, não foi possível observar a possível formação do sistema ternário entre SDS: β CD:LOS com o excesso do fármaco, uma vez que seu processo de desagregação molecular foi mais pronunciado do que o de associação.

Considerando ainda o sistema contendo losartan, as Figuras 5.4, 5.5 e 5.6 apresentam as curvas obtidas das titulações entre SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD:LOS nas razões molares de 2:1, 3:1 e 4:1, respectivamente.

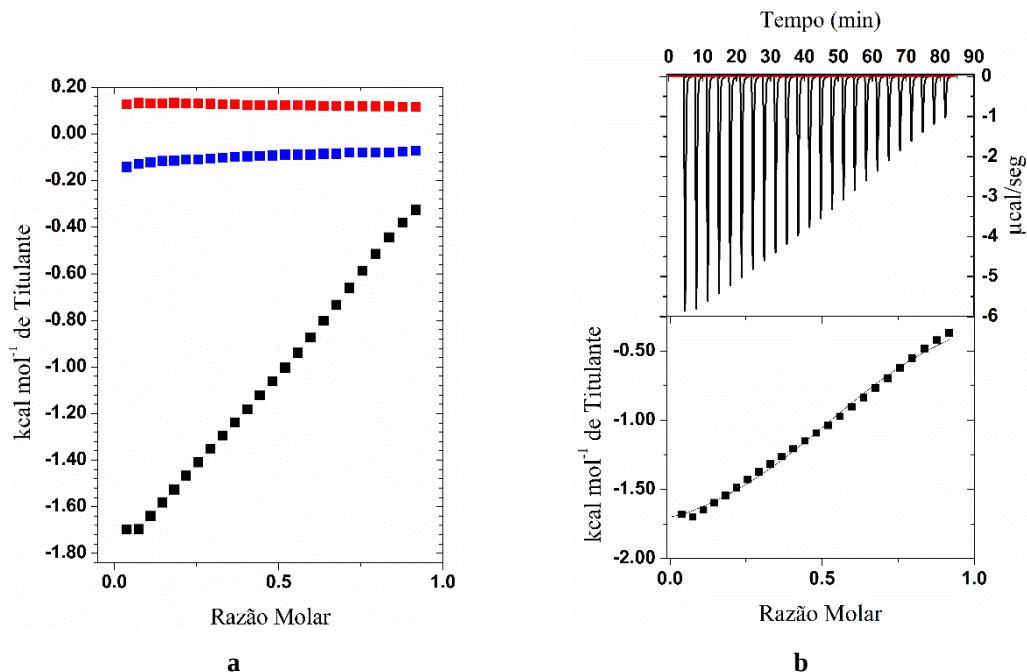


Figura 5.4– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (2:1); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (2:1); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (2:1) após a subtração da interação com a água tipo I.

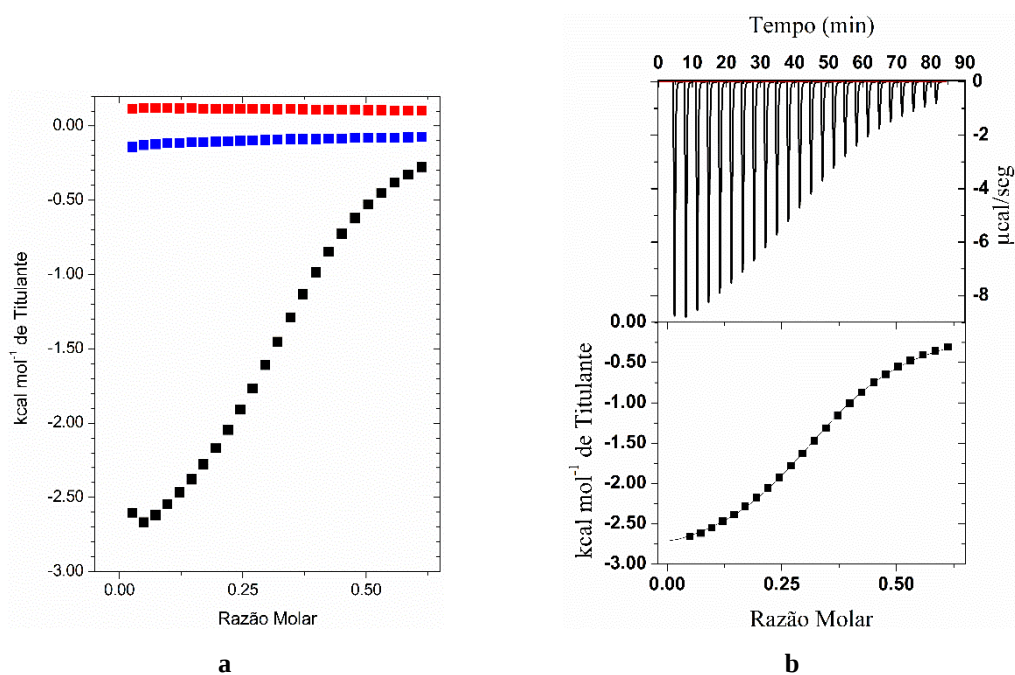


Figura 5.5– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (3:1); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (3:1); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (3:1) após a subtração da interação com a água tipo I.

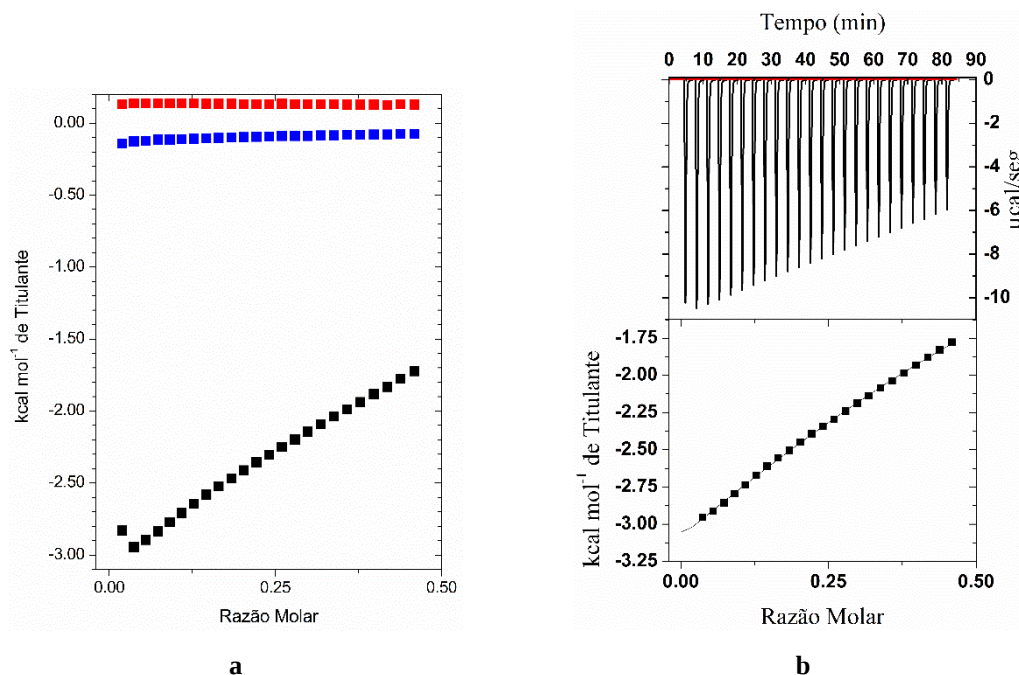


Figura 5.6– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:LOS (4:1); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (4:1); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS (4:1) após a subtração da interação com a água tipo I.

A Tabela 5.2 contém os resultados termodinâmicos das titulações entre SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:LOS em diferentes estequiometrias de βCD e da análise do sistema ternário apresentado no Capítulo 4.

Tabela 5.2– Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em βCD:LOS em diferentes estequiometrias a 25 °C

Sistema	k _a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	TΔS° (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
βCD:LOS (1:1)	8.215,00 ± 77,78	-3,80 ± 0,04	17,90 ± 0,09	-22,34 ± 0,02
βCD:LOS (2:1)	4.400,00 ± 254,56	-8,35 ± 0,08	11,01 ± 1,65	-20,79 ± 0,14
βCD:LOS (3:1)	9.020,00 ± 127,28	-12,56 ± 7,97	8,84 ± 1,13	-22,57 ± 0,03
βCD:LOS (4:1)	347,50 ± 34,65	-26,04 ± 2,15	-10,07 ± 0,74	-15,97 ± 1,40

O aumento da concentração de βCD provavelmente fez com que a quantidade livre desta molécula fosse maior, tornando possível a formação de agregados como já relatado na literatura (De Sousa *et al.*, 2008; Loftsson e Brewster, 2012). Este fato é respaldado pela considerável diminuição da constante de associação no sistema βCD:LOS 4:1, uma vez que as moléculas em excesso de βCD estejam interagindo entre si, a interação com o SDS fica impossibilitada até que haja a dissociação do agregado de βCD. Esta hipótese é sustentada pelos valores mais negativos de ΔH° que indicam a ocorrência de mais interações

intermoleculares e um valor negativo de $T\Delta S^\circ$ que pode estar correlacionado a maior dessolvatação das moléculas de β CD (Figura 5.7). Assim como para o excesso de LOS, o aumento da β CD gerou um efeito que se sobrepôs a associação entre SDS, β CD e LOS.

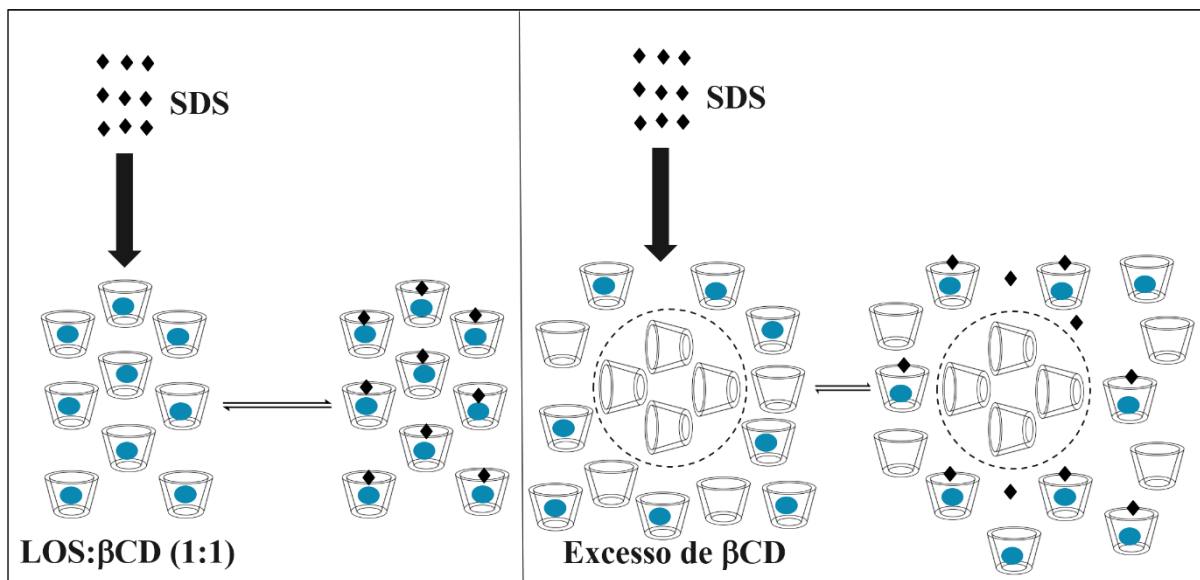


Figura 5.7– Representação esquemática da formação de agregados moleculares de β CD.

• = Molécula de losartan potássico. ♦ = Molécula de SDS.

Estes resultados para o excesso de LOS e de β CD levam a concluir que a possível formação do sistema ternário SDS: β CD:LOS só é possível de ser observada quando a proporção molar de β CD e LOS é 1:1, pois qualquer excesso de uma das espécies faz com que os efeitos de agregação/desagregação molecular sejam mais pronunciados. Logo, para produção de um fármaco contendo estas moléculas a proporção molar de β CD:LOS é 1:1 mais indicada.

Para o sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em β CD:ATE 1:1 (Capítulo 4), foi observado que este fármaco era deslocado da cavidade da β CD na presença do SDS. Logo, foram realizadas novas titulações de SDS 10,00 mmol.L⁻¹ agora em β CD:ATE nas razões molares de 1:2, 1:3 e 1:4 (Figuras 5.8, 5.9 e 5.10, respectivamente), para analisar com excesso de uma das espécies o SDS continuaria a deslocar o ATE da β CD.

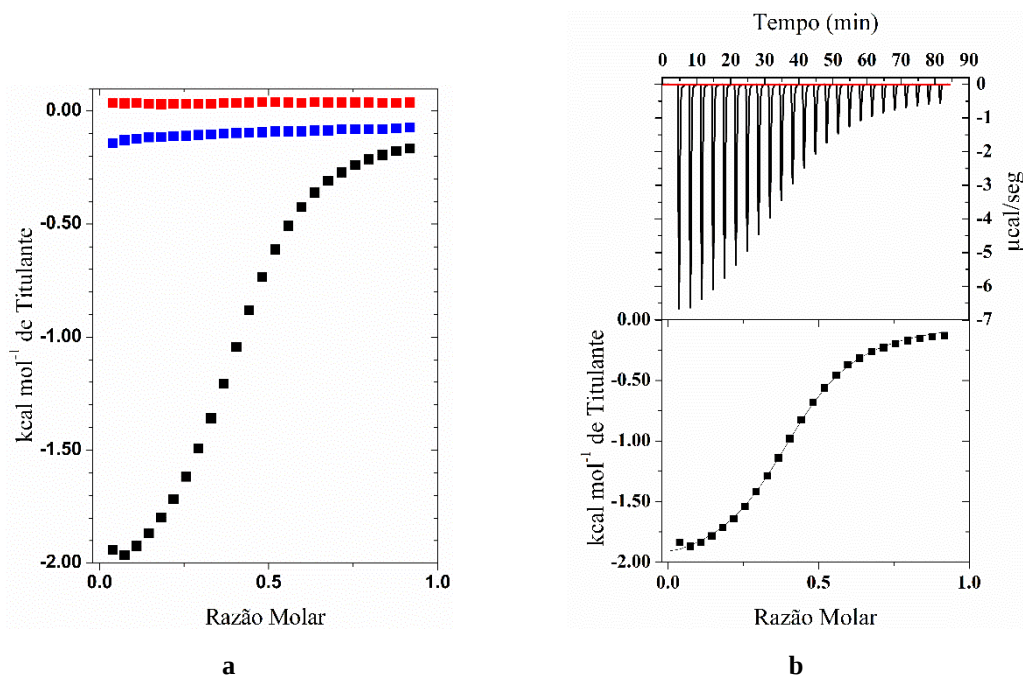


Figura 5.8– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água gua tipo I; (■) água tipo I e βCD:ATE (1:2); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE (1:2); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE (1:2) após a subtração da interação com a água tipo I.

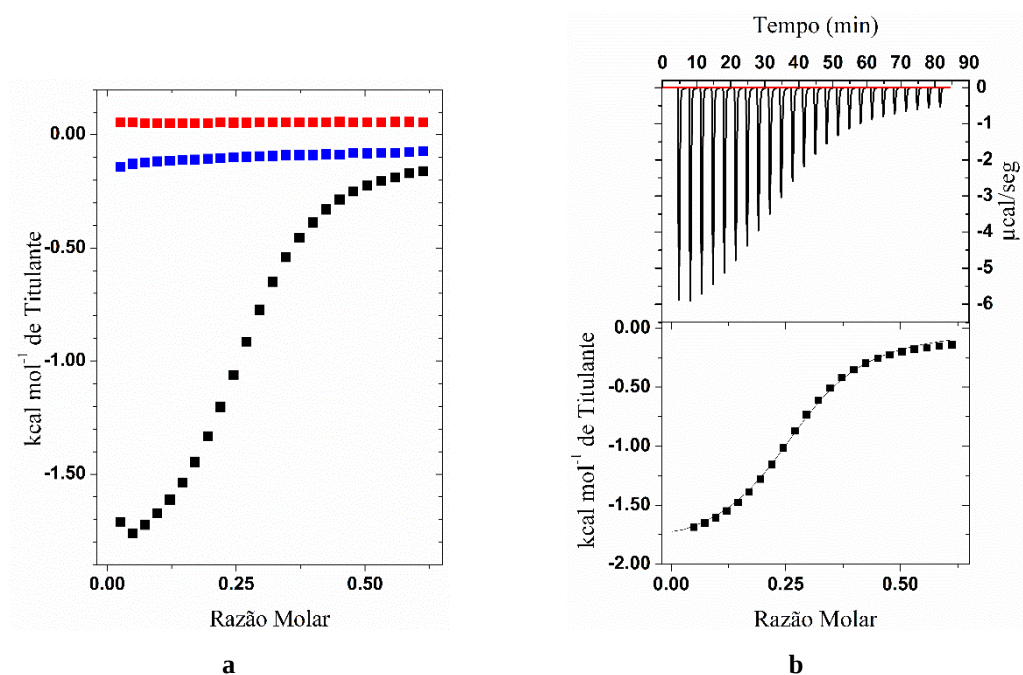


Figura 5.9– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:ATE (1:3); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE (1:3); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE (1:3) após a subtração da interação com a água tipo I.

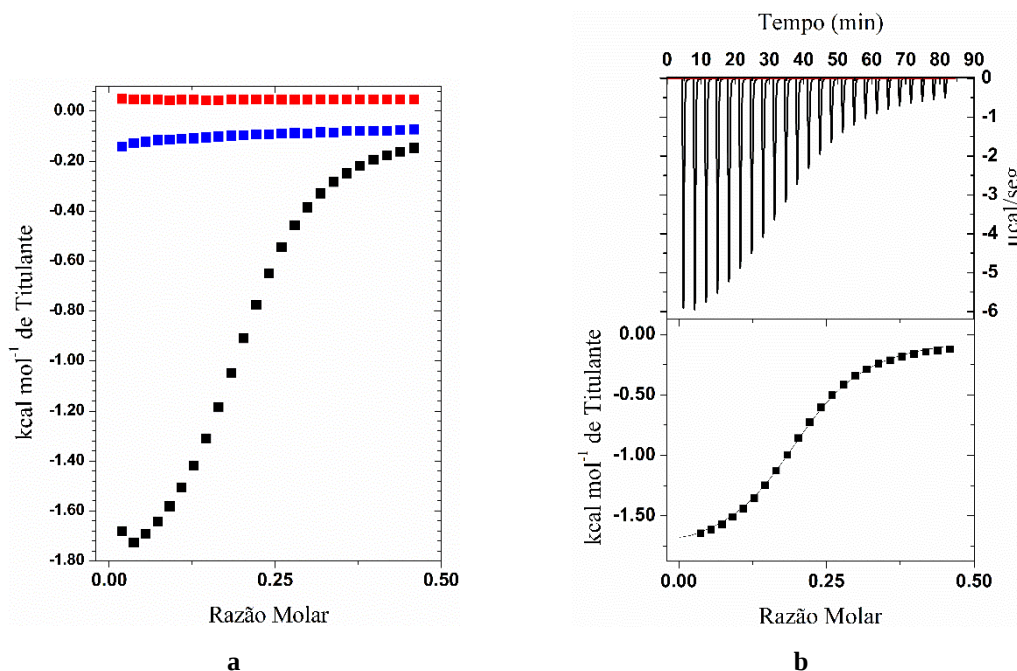


Figura 5.10– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:ATE (1:4); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE (1:4); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE (1:4) após a subtração da interação com a água tipo I.

A Tabela 5.3 contém os valores dos parâmetros termodinâmicos obtidos pela análise das curvas anteriormente apresentadas para os sistemas com ATE, e os valores obtidos na análise do sistema ternário apresentado no Capítulo 4.

Tabela 5.3– Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em βCD:ATE em diferentes estequiometrias a 25 °C

Sistema	k _a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	TΔS° (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
βCD:ATE (1:1)	17.150,00±494,97	-11,00±0,23	13,02±0,28	-24,17±0,07
βCD:ATE (1:2)	17.500,00± 565,69	-8,19± 0,11	15,27± 0,81	-24,22± 0,08
βCD:ATE (1:3)	17.700,00± 848,53	-7,30 ± 0,19	16,62± 0,14	-24,24± 0,12
βCD:ATE (1:4)	16.600,00± 141,42	-7,15± 0,10	16,62± 0,31	-24,09± 0,02

A partir dos dados apresentados na Tabela 5.3 e das curvas mostradas anteriormente, é possível inferir que o aumento da concentração de ATE não ocasionou mudanças consideráveis nos parâmetros termodinâmicos quando comparados aos obtidos na análise do SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em βCD:ATE 1:1, demonstrando que ainda assim o fármaco pode ser deslocado da cavidade da βCD na presença do SDS, mesmo o fármaco em maior concentração molar que a molécula hospedeira.

Foram realizadas também análises das variações estequiométricas para os sistemas contendo atenolol com excesso de βCD. Assim, as Figuras 5.11, 5.12 e 5.13 mostram as

curvas obtidas das titulações entre SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD:ATE nas razões molares de 2:1, 3:1 e 4:1, respectivamente.

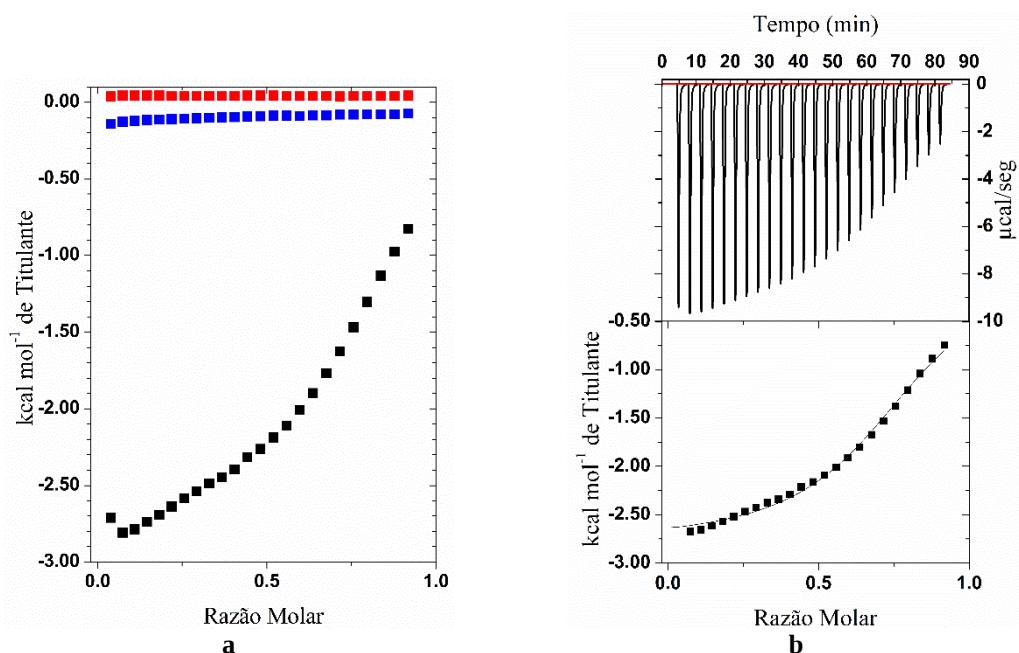


Figura 5.11– Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e β CD:ATE (2:1); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD:ATE (2:1); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD:ATE (2:1) após a subtração da interação com a água tipo I.

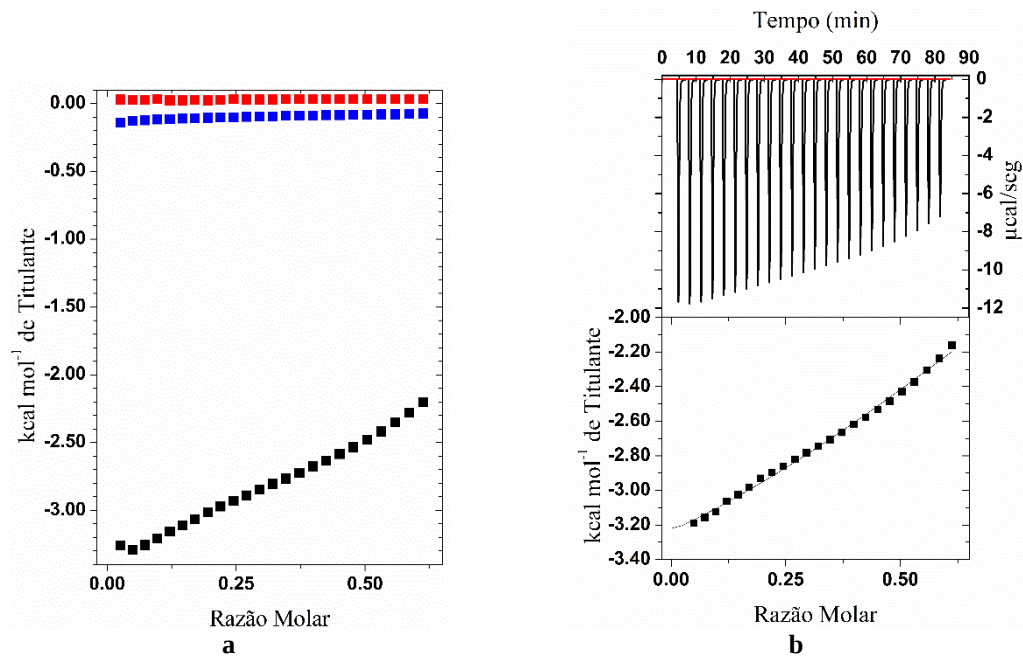


Figura 5.12 – Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e β CD:ATE (3:1); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD:ATE (3:1); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e β CD:ATE (3:1) após a subtração da interação com a água tipo I.

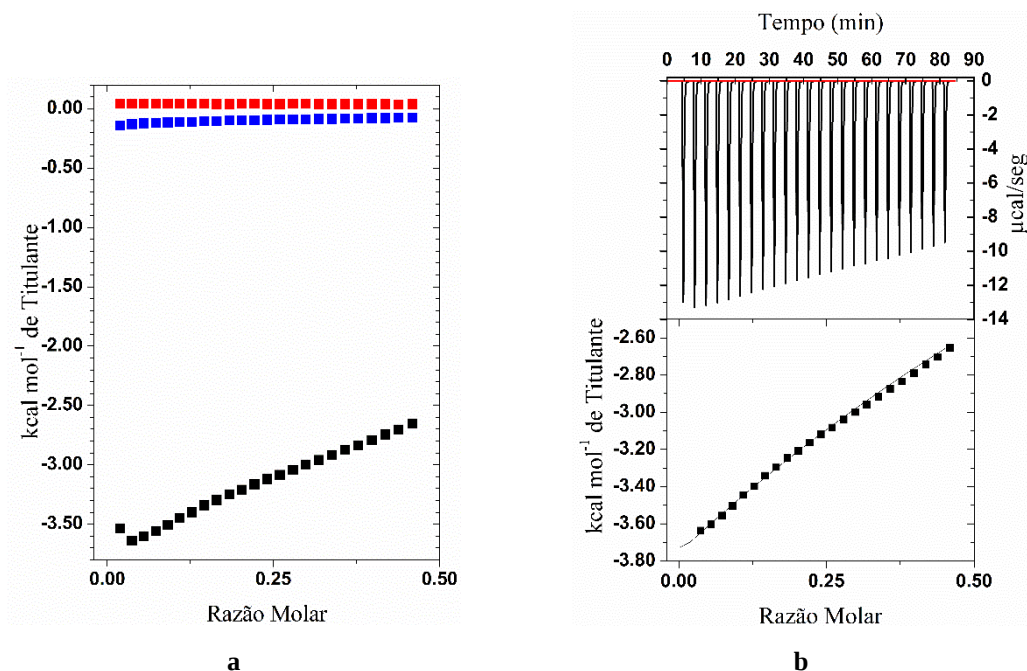


Figura 5.13— Perfil da titulação a 25 °C entre: a) (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e água tipo I; (■) água tipo I e βCD:ATE (4:1); (■) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE (4:1); b) SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE (4:1) após a subtração da interação com a água tipo I.

Os resultados termodinâmicos das titulações entre SDS 10,00 mmol.L⁻¹ e βCD:ATE em diferentes estequiometrias de βCD e da análise do sistema ternário apresentado no capítulo 4 estão apresentados na tabela 5.4. A curva referente ao sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em βCD:ATE 4:1 não foi possível de ser ajustada pelo software, sendo que o mesmo perfil da curva foi obtido em todas as repetições.

Tabela 5.4 – Parâmetros termodinâmicos do sistema SDS 10,00 mmol.L⁻¹ em βCD:LOS em diferentes estequiometrias a 25 °C

Sistema	k _a	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	TΔS° (kJ.mol ⁻¹)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)
βCD:ATE (1:1)	17.150,00 ± 494,97	-11,00 ± 0,23	13,02 ± 0,28	-24,17 ± 0,07
βCD:ATE (2:1)	12.600,00 ± 0,00	-11,62 ± 0,07	11,57 ± 0,20	-23,40 ± 0,00
βCD:ATE (3:1)	1.059,00 ± 171,12	-17,31 ± 0,74	-0,09 ± 1,12	-17,25 ± 0,40
βCD:ATE (4:1)	—	—	—	—

Observou-se a possível a formação de agregados com o aumento da concentração de βCD (De Sousa *et al.*, 2008; Loftsson e Brewster, 2012). Essa hipótese é suportada pela considerável diminuição da constante de associação no sistema βCD:ATE 3:1, uma vez que as moléculas de βCD em excesso estão interagindo entre si, não é possível a interação com o SDS, como mostrado anteriormente na Figura 5.7. Além disso, os valores mais negativos de

ΔH° indicam a ocorrência de mais interações intermoleculares e um valor negativo de $T\Delta S^\circ$ que pode estar correlacionado a maior dessolvatação das moléculas de β CD.

Estes resultados para o excesso de ATE e de β CD levam a concluir que mesmo com o excesso do fármaco o SDS ainda o desloca da cavidade da β CD, o que indica a possível incompatibilidade destas moléculas para uma formulação medicamentosa. Já para o excesso da β CD, o efeito observado da agregação molecular é pronunciado, não sendo possível inferir sobre o deslocamento do fármaco.

5.2 CINÉTICA

O software kinITC utiliza as curvas obtidas pelo ITC para obtenção dos dados cinéticos, utilizando um modelo baseado na associação/dissociação dos compostos (Burnouf *et al.*, 2012). Assim, ele foi utilizado com o objetivo de avaliar a cinética da interação dos fármaco (LOS ou ATE) e do SDS com a β CD, uma vez que este tipo de análise utilizando dados calorimétricos vem sendo aplicado em estudos enzimáticos, mas é pouco explorado em outras áreas. Além disso, o estudo cinético da associação/dissociação dos CIs traz informações mecanicistas do processo, auxiliando no estudo da dinâmica da inclusão, visto que a molécula hóspede continuamente se associa e se dissocia da molécula hospedeira em solução, sendo importante avaliar a rapidez com que está associação/dissociação ocorre (Stella *et al.*, 1999; Park, 2006).

A Tabela 5.5 contém os valores das constantes cinética de associação (k_{on}) e dissociação (k_{off}) da interação entre SDS e β CD nas temperaturas estudadas.

Tabela 5.5 – Parâmetros cinéticos da interação entre SDS e β CD em diferentes temperaturas

Temperatura	$k_{on} (M^{-1} \cdot s^{-1})$	$K_{off} (s^{-1})$
25 °C	$659,62 \pm 59,64$	$0,03 \pm 0,00$
37 °C	$306,75 \pm 17,64$	$0,02 \pm 0,00$
45 °C	$2.055,25 \pm 781,85$	$0,14 \pm 0,05$

Com base nestes dados, notamos que não há uma relação direta entre o aumento da temperatura e da velocidade da interação, uma vez que a 37 °C observamos os menores valores de k_{on} e k_{off} . Temos também que a velocidade da interação é consideravelmente maior à 45 °C. A partir destes dados, ainda se pode inferir que o CI é predominante em relação a existência das moléculas em sua forma livre, pois a formação do CI ocorre de maneira mais rápida do que a dissociação deste.

Nilsson *et al.* (2008), avaliaram a cinética de interação entre α CD e os surfactantes *bolaform* dos tipos C₈Me₆, C₁₀Me₆ e C₁₂Me₆ a 25 e 35 °C, utilizando o tempo de resposta dos resultados de ITC para obtenção dos parâmetros. Os autores observaram que o aumento da temperatura ocasionou uma maior velocidade de interação e que o processo de associação ocorre mais rápido do que o de dissociação. A Tabela 5.6 traz os valores por eles publicados.

Tabela 5.6 – Parâmetros cinéticos do estudo de Nilsson *et al.* (2008)

Temperatura	Surfactante	$k_{on} (M^{-1} \cdot s^{-1})$	$K_{off} (10^{-4} s^{-1})$
25 °C	C ₈ Me ₆	$0,16 \pm 0,01$	37,30
	C ₁₀ Me ₆	$0,14 \pm 0,00$	1,27
	C ₁₂ Me ₆	$0,12 \pm 0,00$	0,18
35 °C	C ₈ Me ₆	$0,30 \pm 0,02$	84,60
	C ₁₀ Me ₆	$0,32 \pm 0,00$	5,21
	C ₁₂ Me ₆	$0,34 \pm 0,00$	0,91

Com base nos valores cinéticos obtidos neste trabalho para o SDS, nota-se que este interage mais rapidamente com a β CD quando comparado à velocidade de interação dos surfactantes C₈Me₆, C₁₀Me₆ e C₁₂Me₆ com a α CD.

Analisando a cinética da interação entre os fármacos LOS e ATE com a β CD, observamos, conforme os dados contidos na Tabela 5.7, que a interação entre LOS e β CD ocorre de maneira mais rápida em relação a interação do ATE com a β CD em todas as temperaturas estudadas, sendo particularmente maior à 45 °C. Assim como para a interação com o SDS, não notamos uma correlação entre o aumento da temperatura e da velocidade da interação, pois a 37 °C os menores valores de k_{on} e k_{off} foram observados. Foi observado também, que a presença dos CIs é predominante em relação a existência das moléculas em sua forma livre, uma vez que a formação dos CIs ocorre de maneira mais rápida do que a dissociação destes.

Tabela 5.7 – Parâmetros cinéticos da interação entre fármacos e β CD em diferentes temperaturas

Temperatura	Losartan		Atenolol	
	$k_{on} (M^{-1} \cdot s^{-1})$	$K_{off} (s^{-1})$	$k_{on} (M^{-1} \cdot s^{-1})$	$K_{off} (s^{-1})$
25 °C	$43,81 \pm 4,60$	$0,03 \pm 0,00$	$30,88 \pm 1,67$	$0,05 \pm 0,00$
37 °C	$39,73 \pm 1,43$	$0,04 \pm 0,10$	$13,98 \pm 0,72$	$0,10 \pm 0,02$
45 °C	$24.150,00 \pm 14.778,53$	$34,50 \pm 17,54$	$18,26 \pm 7,29$	$0,08 \pm 0,01$

Um estudo realizado por Guo *et al.* (2017) apresentou os valores de k_{on} e k_{off} da interação entre HP β CD e 13 fármacos de diferentes classes utilizando uma metodologia de baseada na conjugação de microarranjos de moléculas pequenas com ressonância plasmônica de superfície, os resultados por eles obtidos estão na Tabela 5.8.

Tabela 5.8– Parâmetros cinéticos do estudo de Guo *et al.* (2017)

Fármaco	k_{on} ($M^{-1}\cdot s^{-1}$)	k_{off} (s^{-1})
Cafeína	72,10	$3,43\cdot 10^{-5}$
Cloranfenicol	3.310,00	$1,23\cdot 10^{-4}$
Cortisona	574,00	$1,74\cdot 10^{-6}$
Etossuximida	2.280,00	$2,30\cdot 10^{-5}$
Tartarato de Metoprolol	1.520,00	$2,31\cdot 10^{-5}$
Noretindrona	502,00	$1,27\cdot 10^{-5}$
Cloridrato de nortriptilina	2.370,00	$1,00\cdot 10^{-4}$
Nofloxacino	530,00	$5,47\cdot 10^{-5}$
Cloridrato de orfenadrina	1.520,00	$6,38\cdot 10^{-5}$
Penicilamina	3.900,00	$8,29\cdot 10^{-5}$
Cloridrato de propranolol	512,00	$9,83\cdot 10^{-5}$
Teobromina	3.420,00	$4,57\cdot 10^{-5}$
Teofilina	273,00	$6,03\cdot 10^{-5}$

Ao comparar os valores apresentados na Tabela 5.8 com os obtidos neste trabalho, temos que LOS e ATE possuem uma menor velocidade de interação com a β CD em relação à rapidez da interação entre os fármacos estudados por Guo e colaboradores com a HP β CD. Vale a pena ressaltar que os autores concluíram que há uma correlação direta entre k_{on} , k_{off} e k_a com a capacidade do CI com HP β CD mascarar o sabor desagradável dos fármacos, o que fornece uma estratégia na análise prévia da formulação de medicamentos.

O software kinITC também fornece os valores de k_a , da constante de dissociação (k_d), de ΔH° e da variação de entalpia de diluição (ΔH°_{dil}). Contudo estes parâmetros são obtidos da curva teórica gerada pelo software, a qual não permite ajustes. As Tabelas 5.9, 5.10 e 5.11 contém os valores dos parâmetros termodinâmicos obtidos pelo software e uma comparação com os apresentados no capítulo anterior das titulações entre SDS, LOS e ATE com a β CD, respectivamente.

Tabela 5.9 – Comparação dos parâmetros termodinâmicos - SDS 10 mmol.L⁻¹ em βCD 1 mmol.L⁻¹

T °C	k _a * (ITC)	k _a (kinITC)	ΔH°* (kJ.mol ⁻¹)	ΔH° (kJ.mol ⁻¹) (kinITC)	k _d	ΔH° _{dil} (kJ.mol ⁻¹)
25	22.450 ± 1.484,92	20.226,50 ± 1.197,13	-12,06 ± 1,00	-11,95	4,95.10 ⁻⁵ ± 0,00	-0,28
37	17.600 ± 141,42	15.485,50 ± 311,83	-17,06 ± 0,20	-17,56	6,46.10 ⁻⁵ ± 0,00	0,92
45	16.400 ± 1.697,06	14.247,00 ± 91,92	-20,34 ± 0,50	-20,52	7,02.10 ⁻⁵ ± 0,00	1,08

*Valores de média e desvio padrão obtidos das repetições.

Tabela 5.10– Comparação dos parâmetros termodinâmicos – LOS 25 mmol.L⁻¹ em βCD 1 mmol.L⁻¹

T °C	k _a * (ITC)	k _a (kinITC)	ΔH°* (kJ.mol ⁻¹)	ΔH° (kJ.mol ⁻¹) (kinITC)	k _d	ΔH° _{dil} (kJ.mol ⁻¹)
25	799,5 ± 133,64	1.418,20 ± 204,78	-21,94 ± 1,90	-11,15	1,00.10 ⁻³ ± 0,00	2,47
37	505 ± 2,83	956,01 ± 187,23	-21,49 ± 0,10	-10,67	1,00.10 ⁻³ ± 0,00	2,17
45	385 ± 24,04	677,51 ± 85,11	-18,81 ± 1,50	-10,06	1,00.10 ⁻³ ± 0,00	1,93

*Valores de média e desvio padrão obtidos das repetições.

Tabela 5.11 – Comparação dos parâmetros termodinâmicos – ATE 20 mmol.L⁻¹ em βCD 1 mmol.L⁻¹

T °C	k _a * (ITC)	k _a (kinITC)	ΔH°* (kJ.mol ⁻¹)	ΔH° (kJ.mol ⁻¹) (kinITC)	k _d	ΔH° _{dil} (kJ.mol ⁻¹)
25	1.505 ± 35,36	590,810 ± 24,32	-2,62 ± 0,50	-2,68	2,00.10 ⁻³ ± 0,00	-0,29
37	602 ± 15,56	148,160 ± 23,59	-3,56 ± 0,90	-10,43	7,00.10 ⁻³ ± 1,00.10 ⁻³	0,00
45	515,5 ± 48,79	256,465 ± 143,03	-2,90 ± 0,20	-8,87	5,00.10 ⁻³ ± 3,00.10 ⁻³	-0,09

*Valores de média e desvio padrão obtidos das repetições.

A diferença entre os valores obtidos pelos ajustes das curvas de titulação utilizando o software Origin 7.0 e os gerados pelo kinITC pode ocorrer pelo fato de o programa apenas fazer os ajustes deste último, o que fica mais evidente pelo fato de as menores diferenças ocorrerem para o sistema SDS:βCD, o qual o perfil da curva mais se aproxima de uma sigmoide, não sendo necessário muitos ajustes. Isso conota que o kinITC é um bom método para avaliação cinética, complementando a análise termodinâmica dos CIs, mas a não permissão de ajustes compromete seus resultados termodinâmicos.

Com base nos resultados apresentados e discutidos neste capítulo, foi possível observar que para os sistemas ternários, o excesso de LOS resultou em um processo de dissociação que fez concluir que a proporção molar 1:1 LOS:βCD favorece a formação de um sistema ternário com o SDS, enquanto que para o ATE o aumento de sua concentração não

modifica a possível capacidade do SDS em desloca-lo da cavidade da β CD, mostrando a incompatibilidade do uso destas moléculas juntas em uma formulação medicamentosa. Já para a velocidade da interação, notou-se que LOS interage de forma mais rápida com a β CD quando comparado com o ATE. Além disso, tem-se também que a velocidade de interação é maior para todos os sistemas estudados em relação à velocidade de dissociação, o que indica que a presença do CI deve ser predominante em relação às moléculas livres. Contudo não foi observada uma correlação direta entre o aumento da temperatura e uma maior rapidez na interação.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Para os sistemas binários, foi possível verificar que o sistema SDS: β CD apresentou uma maior constante de formação, inferindo a ideia que o SDS seria um hóspede preferencial quando comparado aos fármacos.

Assim, a análise dos sistemas ternários pela técnica de RMN indicou que o SDS deslocaria os fármacos da cavidade da β CD, visto a ausência da correlação dipolar nos mapas 2D-ROESY do ATE e do LOS com a molécula hóspede. Logo, os resultados de ITC confirmaram que o SDS desloca o ATE da cavidade da β CD, mas forma um composto ternário com o fármaco LOS. Estes resultados obtidos por calorimetria foram condizentes com os obtidos em colaboração utilizando cálculos de dinâmica molecular.

O estudo a partir das variações estequiométricas permitiu inferir que o aumento da concentração do fármaco ATE em relação à β CD não impediu que o SDS deslocasse este fármaco da cavidade da molécula hospedeira.

Observou-se que para o estudo de competição entre moléculas pela interação com a β CD, a calorimetria de titulação isotérmica se mostrou uma técnica mais eficaz quando comparada à ressonância magnética nuclear.

E relação à cinética de interação notou-se que o SDS possui uma maior velocidade de interação com a β CD quando comparado com os fármacos ATE e LOS. Além disso, para os três sistemas obteve-se uma maior velocidade de associação em relação à dissociação, demonstrando que a presença dos CIs em solução é preferencial em relação às moléculas livres.

Assim, os resultados obtidos neste estudo permitiram fazer uma análise estrutural, termodinâmica e cinética da formação dos compostos de inclusão envolvendo os fármacos atenolol e losartan potássico com a β CD, bem como do excipiente dodecil sulfato de sódio com esta em diferentes condições.

A partir das conclusões acima citadas, fica clara a importância deste tipo de estudo para a indústria farmacêutica, uma vez que a técnica de calorimetria de titulação isotérmica se mostrou eficiente para prever a compatibilidade entre componentes de uma possível formulação medicamentosa, de forma relativamente rápida e utilizando pouca quantidade de material para produção das soluções, diminuindo custos de produção.

No caso deste trabalho, observou-se a incompatibilidade do uso dos excipientes SDS e β CD na produção de um medicamento com o fármaco atenolol. Isso diminui os custos, uma

vez que evita a produção de um medicamento cuja eficácia, biodisponibilidade e segurança não serão alcançadas.

Já o composto ternário formado pelo SDS, a β CD e o losartan potássico, é necessário que testes biológicos, análise de liberação do fármaco, estudo de estabilidade, entre outros, sejam realizados. Além disso, mais análises de compatibilidade do composto LOS: β CD com outros excipientes podem ser realizadas para o estudo de uma composição medicamentosa final.

CAPÍTULO 7
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERT, A. CHEMICAL ASPECTS OF SELECTIVE TOXICITY. **Nature**, v. 182, n. 4633, p. 421-423, 1958.

ANDREAUS, J. et al. The effect of sodium dodecyl sulfate and M-alpha-cyclodextrin on the solubility and partitioning of xylenes in aqueous solutions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 185, n. 2, p. 306-312, 1997.

ARIGA, K.; KUNITAKE, T. **Supramolecular Chemistry - Fundamentals and Applications: Advanced Textbook**. Springer Berlin Heidelberg, 2006..

ATKINS, P. **Físico-Química - Fundamentos**. Terceira. 2001. 476.

BALDRICK, P. Pharmaceutical excipient development: The need for preclinical guidance. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 32, n. 2, p. 210-218, 2000.

BENKŐ, M.; KIRÁLY, Z. Thermodynamics of inclusion complex formation of beta-cyclodextrin with a variety of surfactants differing in the nature of headgroup. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 54, p. 211-216, 2012.

BIEDERMANN, F. et al. Release of High-Energy Water as an Essential Driving Force for the High-Affinity Binding of Cucurbit n urils. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 37, p. 15318-15323, 2012.

BLAJOVAN, R. et al. Study of thermal induced excipient-excipient interactions polyvinyl alcohol and polyvinylpyrrolidone with other pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 126, n. 1, p. 171-179, 2016.

BORODI, G. et al. Spectroscopic investigations and crystal structure from synchrotron powder data of the inclusion complex of beta-cyclodextrin with atenolol. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 70, n. 5, p. 1041-1048, 2008.

BOUCHEMAL, K. New challenges for pharmaceutical formulations and drug delivery systems characterization using isothermal titration calorimetry. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 21/22, p. 13, 2008.

BOUCHEMAL, K.; MAZZAFERRO, S. How to conduct and interpret ITC experiments accurately for cyclodextrin-guest interactions. **Drug Discovery Today**, v. 17, n. 11-12, p. 623-629, 2012.

BRASIL, A. N. D. V. S. **Farmacopeia Brasileira**, Brasília: 2010. 899.

BRAUTIGAM, C. A. et al. Integration and global analysis of isothermal titration calorimetry data for studying macromolecular interactions. **Nature protocols**, v. 11, n. 5, p. 882-894, 2016.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 645-666, 2007.

BROCOS, P. et al. A Critical Approach to the Thermodynamic Characterization of Inclusion Complexes: Multiple-Temperature Isothermal Titration Calorimetric Studies of Native Cyclodextrins with Sodium Dodecyl Sulfate. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 49, p. 14381-14396, 2011.

BROCOS, P. et al. Similarities and Differences Between Cyclodextrin-Sodium Dodecyl Sulfate Host-Guest Complexes of Different Stoichiometries: Molecular Dynamics Simulations at Several Temperatures. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 39, p. 12455-12467, 2010.

BUHA, S. M.; BAXI, G. A.; SHRIVASTAV, P. S. Liquid Chromatography Study on Atenolol--Cyclodextrin Inclusion Complex. **ISRN Analytical Chemistry**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

BURNOUF, D. et al. kinITC: A New Method for Obtaining Joint Thermodynamic and Kinetic Data by Isothermal Titration Calorimetry. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 1, p. 559-565, 2012.

CHADHA, R. et al. Valsartan inclusion by methyl- β -cyclodextrin: Thermodynamics, molecular modelling, Tween 80 effect and evaluation. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, p. 10, 2014.

CHAN, L. W. et al. Interaction of p-hydroxybenzoic esters with beta-cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 195, n. 1-2, p. 71-79, 2000.

CHIN, C. M.; FERREIRA, E. I. The latention process in drug design. **Quimica Nova**, v. 22, n. 1, p. 75-84, 1999.

CONNORS, K. A. The stability of cyclodextrin complexes in solution. **Chemical Reviews**, v. 97, n. 5, p. 1325-1357, 1997.

CORTI, G. et al. Sustained-release matrix tablets of metformin hydrochloride in combination with triacetyl- β -cyclodextrin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 2, p. 7, 2008.

DE MELO, P. N. et al. Interaction pathways of specific co-solvents with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complexes with benzimidazole in liquid and solid phase. **Journal of Molecular Liquids**, v. 223, p. 350-359, 2016.

DE PAULA, E. E. B. et al. Insights into the multi-equilibrium, superstructure system based on beta-cyclodextrin and a highly water soluble guest. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 439, n. 1-2, p. 207-215, 2012.

DE PAULA, W. X. et al. Supramolecular interactions between losartan and hydroxypropyl-beta-CD: ESI mass-spectrometry, NMR techniques, phase solubility, isothermal titration calorimetry and anti-hypertensive studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, n. 1-2, p. 116-123, 2011.

DE SOUSA, F. B. et al. Supramolecular self-assembly of cyclodextrin and higher water soluble guest: Thermodynamics and topological studies. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 26, p. 8426-8436, 2008.

DEL VALLE, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 9, p. 1033-1046, 2004.

DENADAI, A. M. L. et al. Supramolecular self-assembly of beta-cyclodextrin: an effective carrier of the antimicrobial agent chlorhexidine. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 15, p. 2286-2296, 2007.

DHARMAWARDANA, U. R. et al. A surface-tension method for determining binding constants for cyclodextrin inclusion complexes of ionic surfactants. **Langmuir**, v. 9, n. 9, p. 2258-2263, 1993.

DUCHENE, D.; BOCHOT, A. Thirty years with cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 514, n. 1, p. 58-72, 2016.

DUMAS, P. et al. **Extending ITC to Kinetics with kinITC**, 2016.

ELI, W. J.; CHEN, W. H.; XUE, Q. J. The association of anionic surfactants with beta-cyclodextrin. An isothermal titration calorimeter study. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 31, n. 10, p. 1283-1296, 1999.

FALCONER, R. J. Applications of isothermal titration calorimetry - the research and technical developments from 2011 to 2015. **Journal of Molecular Recognition**, v. 29, n. 10, p. 504-515, 2016.

FERREIRA-NUNES, R. et al. Mixture design applied in compatibility compounds. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 149, p. 612-617, 2018.

FICARRA, R. et al. Study of beta-blockers/beta-cyclodextrins inclusion complex by NMR, DSC, X-ray and SEM investigation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 23, n. 1, p. 33-40, 2000.

FICARRA, R. et al. Study of the inclusion complex of atenolol with beta-cyclodextrins. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 23, n. 1, p. 231-236, 2000.

FREIRE, E. Do enthalpy and entropy distinguish first in class from best in class? **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 19-20, p. 869-874, 2008.

_____. A thermodynamic approach to the affinity optimization of drug candidates. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 74, n. 5, p. 468-472, 2009.

_____. Isothermal titration calorimetry: controlling binding forces in lead optimization. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 1, n. 3, p. 5, 2014.

FREIRE, E.; MAYORGA, O. L.; STRAUME, M. Isothermal Titration. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 18, p. 10, 1990.

GARCIA-RIO, L. et al. New insights in cyclodextrin: Surfactant mixed systems from the use of neutral and anionic cyclodextrin derivatives. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 44, p. 12756-12764, 2007.

GOUBET, I. et al. Competitive binding of aroma compounds by beta-cyclodextrin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 5916-5922, 2001.

HEDGES, A. R. Industrial applications of cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, p. 2035-2044, 1998.

HEHRE, W. J.; DITCHFIELD, R.; POPLE, J. A. Self—Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian—Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. **The Journal of Chemical Physics**, v. 56, n. 5, p. 2257-2261, 1972.

HUTTUNEN, K. M.; RAUTIO, J. Prodrugs - An Efficient Way to Breach Delivery and Targeting Barriers. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 18, p. 2265-2287, 2011.

INOUE, Y. et al. Thermodynamics of molecular recognition by cyclodextrins .1. Calorimetric titration of inclusion complexation of naphthalenesulfonates with alpha-

cyclodextrin, beta-cyclodextrin, and gamma-cyclodextrin - enthalpy entropy compensation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, n. 2, p. 475-481, 1993.

JIMENEZ-KAIRUZ, A. F. et al. Swellable drug-polyelectrolyte matrices (SDPM) - Characterization and delivery properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 288, n. 1, p. 87-99, 2005.

JORDAN, J.; KURSCHAT, C.; REUTER, H. Arterial Hypertension Diagnosis and Treatment. **Deutsches Arzteblatt International**, v. 115, n. 33-34, p. 557, 2018.

KARAGIANNIS, A. et al. Atenolol: Differences in mode of action compared with other antihypertensives. An opportunity to identify features that influence outcome? **Current Pharmaceutical Design**, v. 13, n. 2, p. 229-239, 2007.

KIRCH, W.; GORG, K. G. Clinical pharmacokinetics of atenolol - a review. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 7, n. 2, p. 81-91, 1982.

KITTISRISAWAI, S.; ROMERO-ZERÓN, L. B. Complexation of Surfactant/beta-Cyclodextrin to Inhibit Surfactant Adsorption onto Sand, Kaolin, and Shale for Applications in Enhanced Oil Recovery Processes. Part I: Static Adsorption Analysis. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 18, n. 4, p. 603-613, 2015a.

_____. Complexation of Surfactant/beta-Cyclodextrin to Inhibit Surfactant Adsorption onto Sand, Kaolin, and Shale for Applications in Enhanced Oil Recovery Processes. Part II: Dynamic Adsorption Analysis. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 18, n. 5, p. 783-795, 2015b.

KLOTS, I. M.; ROSEMBERG, R. M. **Chemical Thermodynamics - Basic Theory and Methods**. Sixth. 2000. 556.

KOLESNICHENKO, I. V.; ANSLYN, E. V. Practical applications of supramolecular chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 9, p. 2385-2390, 2017.

KRAINER, G.; KELLER, S. Single-experiment displacement assay for quantifying high-affinity binding by isothermal titration calorimetry. **Methods**, v. 76, p. 116-123, 2015.

KURKOV, S. V.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 167-180, 2013.

LEHNER, S. J.; MULLER, B. W.; SEYDEL, J. K. Interactions between p-hydroxybenzoic acid-esters and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and their antimicrobial effect against candida-albicans. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 93, n. 1-3, p. 201-208, 1993.

LI, J. et al. Ionic liquids as modulators of physicochemical properties and nanostructures of sodium dodecyl sulfate in aqueous solutions and potential application in pesticide microemulsions. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 43, p. 29797-29807, 2016.

LIU, L.; GUO, Q. X. The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 42, n. 1-2, p. 1-14, 2002.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrins as functional excipients: Methods to enhance complexation efficiency. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 9, p. 3019-3032, 2012.

LOFTSSON, T.; DUCHENE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1-2, p. 1-11, 2007.

LUDVIGSSON, J. W. et al. Degradation caused by incompatibility between sodium stearyl fumarate (PRUV) and AZD7986 in the drug product. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 158, p. 82-87, 2018.

MA, X.; ZHAO, Y. L. Biomedical Applications of Supramolecular Systems Based on Host-Guest Interactions. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 15, p. 7794-7839, 2015.

MATSUDA, H. et al. Inclusion complexation of p-hydroxybenzoic acid-esters with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrins - on changes in solubility and antimicrobial activity. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, n. 8, p. 1448-1452, 1993.

MEIRA, L. H. R. et al. Thermodynamic compatibility between cyclodextrin supramolecular complexes and surfactant. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 544, n. 1, p. 203-212, 2018.

MELANI, F. et al. Evaluation of the separation mechanism of electrokinetic chromatography with a microemulsion and cyclodextrins using NMR and molecular modeling. **Electrophoresis**, v. 32, n. 21, p. 3062-3069, 2011.

MOREIRA, M. P. et al. Ternary cyclodextrin polyurethanes containing phosphate groups: Synthesis and complexation of ciprofloxacin. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 557-564, 2016.

MURA, P. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: a review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** v. 101, p. 16, 2014.

_____. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 113, p. 226-238, 2015.

NGUYEN, H. M.; PHAN, C. M.; SEN, T. Degradation of sodium dodecyl sulfate by photoelectrochemical and electrochemical processes. **Chemical Engineering Journal**, v. 287, p. 633-639, 2016.

O'NEILL, M. A. A. Recent developments for the analysis of data obtained from isothermal calorimetry. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 6, n. 3, p. 205-214, 2005.

ONDO, D. Calorimetric study on the interaction of didecyldimethylammonium and decyltrimethylammonium cations with native cyclodextrins in water. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 97, p. 242-250, 2016.

OPARIL, S. et al. Hypertension. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, 2018.

PACIONI, N. L.; BRACAMONTE, A. G.; VEGLIA, A. V. Comparative effect of cyclodextrin nanocavities versus organic solvents on the fluorescence of carbamate and indole compounds. **Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry**, v. 198, n. 2-3, p. 179-185, 2008.

PANAKANTI, R.; NARANG, A. S. Impact of Excipient Interactions on Drug Bioavailability from Solid Dosage Forms. **Pharmaceutical Research**, v. 29, n. 10, p. 2639-2659, 2012.

PARK, J. W. Kinetics and mechanism of cyclodextrin inclusion complexation incorporating bidirectional inclusion and formation of orientational isomers. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 49, p. 24915-24922, 2006.

PASSOS, J. J. et al. Multi-equilibrium system based on sertraline and beta-cyclodextrin supramolecular complex in aqueous solution. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 421, n. 1, p. 24-33, 2011a.

_____. Multi-equilibrium system based on sertraline and beta-cyclodextrin supramolecular complex in aqueous solution (vol 421, pg 24, 2011). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 444, n. 1-2, p. 201-201, 2011b.

PATEL, M. A. et al. Effect of excipient properties, water activity, and water content on the disproportionation of a pharmaceutical salt. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 546, n. 1-2, p. 226-234, 2018.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. Quarta. CENAGE Learning, 2010. 700.

PIFFERI, G.; RESTANI, P. The safety of pharmaceutical excipients. **Il Farmaco**, n. 58, p. 10, 2003.

POORGHORBAN, M. et al. A H-1 NMR Study of Host/Guest Supramolecular Complexes of a Curcumin Analogue with beta-Cyclodextrin and a beta-Cyclodextrin-Conjugated Gemini Surfactant. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 2993-3006, 2015.

PRABHU, A. A. M.; SUBRAMANIAN, V. K.; RAJENDIRAN, N. Excimer formation in inclusion complexes of beta-cyclodextrin with salbutamol, sotalol and atenolol: Spectral and

molecular modeling studies. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 96, p. 95-107, 2012.

RAGHAVAN, K. et al. A spectroscopic investigation of losartan polymorphs. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 6, p. 900-904, 1993.

RAUTIO, J. et al. Prodrugs: design and clinical applications. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 7, n. 3, p. 255-270, Mar 2008.

REDDY, M. S.; SOUJANYA, C. H.; UL HAQ, F. Enhancement of dissolution rate and solubility of losartan potassium by using solid dispersion method β -cyclodextrin as carrier. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 12, 2015.

REKHARSKY, M. V.; INOUE, Y. Complexation thermodynamics of cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, p. 1875-1917, 1998.

ROJEK, B.; WESOŁOWSKI, M. Fourier transform infrared spectroscopy supported by multivariate statistics in compatibility study of atenolol with excipients. **Vibrational Spectroscopy**, v. 86, p. 190-197, 2016.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. Sixth Edition. 2009. 917.

SABADINI, E.; BIANCHI, J. C. A. Ensino do Conceito de Equilíbrio Químico: Uma Brve Reflexão. **Química Nova na Escola**, n. 25, p. 4, 2007.

SBÂRCEA, L. et al. Fosinopril sodium-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, n. 1, p. 981-990, 2015.

SCHNEIDER, H. J. et al. NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, p. 1755-1785, 1998.

SEHGAL, P. et al. Influence of beta-cyclodextrin on the mixed micellization process of sodium dodecyl sulfate and sodium lauroyl sarcosine and formation of inclusion complexes. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 29, n. 1, p. 128-133, 2008.

SEHGAL, P. et al. Interactions between anionic mixed micelles and alpha-cyclodextrin and their inclusion complexes: conductivity, NMR and fluorescence study. **Colloid and Polymer Science**, v. 284, n. 8, p. 916-926, 2006.

SHERJE, A. P. et al. Inclusion Complexation of Etodolac with Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and Auxiliary Agents: Formulation Characterization and Molecular Modeling Studies. **Mol Pharm**, 01 2017.

SIGURSKJOLD, B. W. Exact analysis of competition ligand binding by displacement isothermal titration calorimetry. **Analytical Biochemistry**, v. 277, n. 2, p. 260-266, 2000.

SILVA, J. L. P. B. Poe Que Não Estudar Entalpia no Ensino Médio. **Química Nova na Escola**, n. 22, p. 4, 2005.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Sétima. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 490.

SMITH, L. C. et al. Sequence-Specific, Nanomolar Peptide Binding via Cucurbit 8 uril-Induced Folding and Inclusion of Neighboring Side Chains. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 10, p. 3663-3669, 2015.

STEINBERG, M. et al. A new approach to the safety assessment of pharmaceutical excipients. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 24, n. 2, p. 149-154, 1996.

STELLA, V. J. et al. Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 36, n. 1, p. 3-16, 1999.

SWAMINATHAN, C. P.; SUROLIA, N.; SUROLIA, A. Role of water in the specific binding of mannose and mannoooligosaccharides to concanavalin A. **Journal of the American Chemical Society**, v. 120, n. 21, p. 5153-5159, 1998.

SZEJTLI, J. DOWNSTREAM PROCESSING USING CYCLODEXTRINS. **Trends in Biotechnology**, v. 7, n. 7, p. 170-174, 1989.

_____. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, p. 1743-1753, 1998a.

_____. **Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry**. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, p. 12, 1998b.

TANG, B. et al. Study on the supramolecular multirecognition mechanism of beta-naphthol/beta-cyclodextrin/anionic surfactant in a tolinaftate hydrolysis system. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 17, p. 8877-8884, 2006.

TEIXEIRA, J. A.; SIQUEIRA, A. B. Thermal and spectroscopic characterization, antioxidant evaluation and pyrolysis of losartan with some bivalent metals. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 117, p. 17-24, 2016.

TURNBULL, W. B.; DARANAS, A. H. On the Value of c : Can Low Affinity Systems Be Studied by Isothermal Titration Calorimetry? **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 48, p. 8, 2003.

WESOŁOWSKI, M.; ROJEK, B. Thermogravimetric detection of incompatibilities between atenolol and excipients using multivariate techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 113, n. 1, p. 169-177, 2013.

WILLIAMS, R. C. et al. Comparison of liquid chromatography, capillary electrophoresis and super-critical fluid chromatography in the determination of Losartan Potassium drug substance in Cozaar(R) tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 14, n. 11, p. 1539-1546, 1996.

WISEMAN, T. et al. Rapid Measurement of Binding Constants and Heats of Binding Using a New Titration Calorimeter. **ANALYTICALBIOCHEMISTRY**, v. 179, p. 7, 1989.

XU, F. C. et al. Losartan Chemistry and Its Effects via AT1 Mechanisms in the Kidney. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 28, p. 3701-3715, 2009.

ZERVOU, M. et al. Insights into the molecular basis of action of the AT(1) antagonist losartan using a combined NMR spectroscopy and computational approach. **Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes**, v. 1838, n. 3, p. 1031-1046, 2014.

ZHENG, Y. X.; LU, D. H. SYNERGISTIC ENHANCEMENT OF THE FLUORESCENCE INTENSITY OF 4,5-BENZOPIASOLENOL BY SURFACTANTS AND BETA-CYCLODEXTRIN IN AQUEOUS-SOLUTION. **Mikrochimica Acta**, v. 106, n. 1-2, p. 3-9, 1992.

ZIELINSKA-PISKLAK, M. A.; PISKLAK, D. M.; WAWER, I. H-1 and C-13 NMR characteristics of beta-blockers. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 284-290, 2011.