

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

Bianca Bonifácio Monteiro Vieira

Sistemas Híbridos Supramoleculares Utilizando Ciclodextrinas para
Liberação de Cloridrato de Amitriptilina

Bianca Bonifácio Monteiro Vieira

Sistemas Híbridos Supramoleculares Utilizando Ciclodextrinas para
Liberação de Cloridrato de Amitriptilina

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

Orientador: Prof. Dr. Frederico Barros de Sousa

Itajubá, 2026

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por ter me guiado e abençoado durante a caminhada, sempre me proporcionando força e saúde para superar cada dificuldade encontrada.

Ao meu orientador Fred pela confiança, apoio, pela impecável orientação e por ser um exemplo de dedicação e competência.

Ao Professor Dr. Artur Valente da Universidade de Coimbra, por me receber em seu laboratório, me proporcionado uma oportunidade de viver a experiência do doutorado sanduíche.

Um agradecimento especial também à Professora Dra. Dina Maria Bairrada Murinho, da Universidade de Coimbra, pelo auxílio durante todo o processo de sínteses orgânicas. Ressalto a minha gratidão pela atenção e carinho com que me recebeu.

A todos os colegas de laboratório da Universidade de Coimbra, em especial à Ana, Joana, Talles e Pedro, meu obrigado pela amizade e apoio durante o período que estive em Portugal.

Aos meus colegas de laboratório do LSPS, em especial ao Diego, Flávio, Jorge, Daniel, Eline e Mônica, pelo apoio durante todo o desenvolvimento da minha pesquisa e por tornarem dias difíceis mais agradáveis.

À minha família, em especial aos meus pais Rita e Volnei por todo apoio, carinho, confiança e paciência durante este período de dificuldades e conquistas.

Ao meu namorado Alexandre pelo incentivo, paciência, pelas palavras de conforto, por entender os momentos de ausência, e principalmente por seu amor.

Às minhas melhores amigas Isadora e Jucimara por serem companheiras, protetoras e apesar da distância e dificuldade de nos encontrarmos com frequência, sempre se mantiveram presentes, me apoiando e torcendo pela minha felicidade.

À Dra. Ivana Silva Lula, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pelas medidas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear. Ressalto minha gratidão pela atenção, empenho em nos ajudar e principalmente pela contribuição para os dados obtidos.

A UNIFEI e ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, por toda estrutura disponibilizada para a concretização deste trabalho.

E à CAPES, CNPq e a FAPEMIG pelo fomento à pesquisa, em especial à CAPES pela bolsa recebida durante o doutorado e pela bolsa de doutorado sanduíche.

Resumo

O Cloridrato de Amitriptilina (AMT) é um antidepressivo tricíclico utilizado no tratamento da depressão, porém apresenta diversos efeitos colaterais associados à administração oral, além de biodisponibilidade limitada. Nesse contexto, sistemas híbridos de liberação baseados em interações supramoleculares que utilizam ciclodextrinas (CDs), têm se mostrado estratégias promissoras para modular a liberação de fármacos e minimizar essas limitações. Esses sistemas combinam compostos à base de CDs, como compostos de inclusão (CIs) e nanoesponjas (NECDs), com matrizes poliméricas biocompatíveis. Neste estudo, investigaram-se as interações entre o AMT e diferentes CDs naturais e modificadas. Os CIs no estado sólido foram obtidos por liofilização e caracterizados por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR-ATR). Em solução, as interações foram avaliadas por calorimetria de titulação isotérmica (ITC) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). Os resultados de ITC indicaram maior afinidade e estabilidade para o sistema AMT:βCD, enquanto os experimentos de RMN confirmaram a inclusão, justificando a escolha da βCD como precursora para a síntese das NECDs. Foram preparadas duas NECDs utilizando hexano-1,6-diamina (am₆) e dodecano-1,12-diamina (am₁₂) como agentes reticulantes. As NECDs foram caracterizadas por técnicas espectroscópicas, térmicas e coloidais. A incorporação do AMT foi confirmada por ensaios de adsorção e microscopia eletrônica de varredura (MEV), e os estudos de dessorção demonstraram liberação superior a 90% do fármaco em água. Hidrogéis de poli(álcool vinílico) (PVA) foram utilizados como matriz polimérica, sendo avaliadas diferentes concentrações de polímero quanto à morfologia, intumescimento e cinética de liberação. Os sistemas híbridos contendo NECDs em hidrogéis de PVA 20% apresentaram redução do efeito *burst* e liberação prolongada do AMT, evidenciando o potencial desses materiais como sistemas de liberação controlada.

Palavras-chave: Compostos de Inclusão; Termodinâmica; Nanoesponjas; Polímeros Reticulados; Hidrogéis de PVA; Liberação Controlada.

Abstract

Amitriptyline hydrochloride (AMT) is a tricyclic antidepressant used in the treatment of depression; however, it presents several side effects associated with oral administration, in addition to limited bioavailability. In this context, hybrid drug delivery systems based on supramolecular interactions with cyclodextrins (CDs) have emerged as promising strategies to modulate drug release and mitigate these limitations. These systems combine CD-based compounds, such as inclusion complexes (ICs) and cyclodextrin-based nanosponges (CDNSs), with biocompatible polymeric matrices. In this study, the interactions between AMT and different natural and modified CDs were investigated. Solid-state ICs were obtained by lyophilization and characterized by Fourier-transform infrared spectroscopy in attenuated total reflectance mode (FTIR-ATR). In solution, the interactions were evaluated by isothermal titration calorimetry (ITC) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. ITC results indicated higher affinity and stability for the AMT: β CD system, while NMR experiments confirmed the inclusion compound formation, justifying the selection of β CD as a precursor for CDNS synthesis. Two CDNSs were prepared using hexane-1,6-diamine (am_6) and dodecane-1,12-diamine (am_{12}) as crosslinking agents. The CDNSs were characterized using spectroscopic, thermal, and colloidal techniques. AMT incorporation was confirmed by adsorption assays and scanning electron microscopy (SEM), and desorption studies demonstrated that more than 90% of the drug was released in water. Poly(vinyl alcohol) (PVA) hydrogels were used as polymeric matrices, and different polymer concentrations were evaluated in terms of morphology, swelling behavior, and release kinetics. Hybrid systems containing CDNSs incorporated into 20% PVA hydrogels exhibited a reduction in the burst effect and prolonged AMT release, demonstrating the potential of these materials as controlled drug delivery systems.

Keywords: Inclusion compounds; Thermodynamics; Nanosponges; Crosslinked polymers; PVA hydrogels; Controlled release.

Lista de Figuras

Figura 2.1 – Representação estrutural do fármaco Cloridrato de Amitriptilina (AMT).....	7
Figura 2.2 – Representação estrutural (a) β -ciclodextrina; (b) monômero glicosídico com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos.....	12
Figura 2.3 – Representação estrutural das principais ciclodextrinas naturais, α CD, β CD e γ CD.....	13
Figura 2.4 – Representação esquemática da formação de um composto de inclusão ilustrando possibilidades de diferentes modos de inclusão.....	15
Figura 2.5 – Representação esquemática da liberação do fármaco, incluído na cavidade da CD, no organismo, por deslocamento competitivo com substâncias lipofílicas endógenas.	16
Figura 2.6 – Representação esquemática de um calorímetro de titulação isotérmica.	17
Figura 2.7 – Representação estrutural esquemática de uma NECD.	20
Figura 2.8 – Representação estrutural do monômero de PVA.	23
Figura 3.1 – Representação esquemática da reação de síntese da β CD-I.....	30
Figura 3.2 – Representação esquemática da reação de síntese da β CDam ₁₂ e da β CDam ₆	31
Figura 3.3 – Representação esquemática da reação de síntese das nanoesponjas β CDam ₁₂ β CD e da β CDam ₆ β CD. (Figura adaptada de UTZERI,2022).	32
Figura 4.1 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 30,0 mmol·L ⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em α CD 0,5 mmol·L ⁻¹ ; ■ AMT 30,0 mmol·L ⁻¹ em α CD 0,5 mmol·L ⁻¹ . (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação.....	44
Figura 4.2 – Perfil de titulação a 25 °C de AMT 10,0 mmol·L ⁻¹ em β CD 0,5 mmol·L ⁻¹	46
Figura 4.3 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em β CD 0,5 mmol·L ⁻¹ ; ■ AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em β CD 0,5 mmol·L ⁻¹ . (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear.....	47
Figura 4.4 – Fórmula estrutural do (a) Cloridrato de Imipramina e (b) Cloridrato de Amitriptilina (AMT).	49
Figura 4.5 – Curva final para o sistema AMT: β CD após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear a (a) 15 °C (b) 35 °C e (c) 45 °C.	50
Figura 4.6 – Gráfico de compensação entálpica/entrópica correspondente ao sistema AMT 5,0 mol·L ⁻¹ e β CD 0,5 mmol·L ⁻¹ nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C.....	52

Figura 4.7 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em MβCD 0,5 mmol·L ⁻¹ ; ■ AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em MβCD 0,5 mmol·L ⁻¹ . (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear.	54
Figura 4.8 – Curva final para o sistema AMT:MβCD após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear a (a) 15 °C (b) 35 °C e (c) 45 °C.	55
Figura 4.9 – Gráfico de compensação entálpica/entrópica correspondente ao sistema AMT 5,0 mol·L ⁻¹ e MβCD 0,5 mmol·L ⁻¹ nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C.	57
Figura 4.10 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em HPβCD 0,5 mmol·L ⁻¹ ; ■ AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em HPβCD 0,5 mmol·L ⁻¹ . (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear.	58
Figura 4.11 – Curva final para o sistema AMT:HPβCD após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear a (a) 15 °C (b) 35 °C e (c) 45 °C.	59
Figura 4.12 – Gráfico de compensação entálpica/entrópica correspondente ao sistema AMT 5,0 mol·L ⁻¹ e HPβCD 0,5 mmol·L ⁻¹ nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C.	61
Figura 4.13 – Perfil de titulação a 25 °C de (a) AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em γCD 0,5 mmol·L ⁻¹ ; (b) AMT 10,0 mmol·L ⁻¹ em γCD 0,5 mmol·L ⁻¹	62
Figura 4.14 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 30,0 mmol·L ⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em γCD 0,5 mmol·L ⁻¹ ; ■ AMT 30,0 mmol·L ⁻¹ em γCD 0,5 mmol·L ⁻¹ . (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear.	63
Figura 4.15 – Curva final para o sistema AMT: γCD após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear a (a) 15 °C (b) 35 °C e (c) 45 °C.	64
Figura 4.16 – Gráfico de compensação entálpica/entrópica correspondente ao sistema AMT 30,0 mol·L ⁻¹ e γCD 0,5 mmol·L ⁻¹ nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C.	66
Figura 4.17 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para βCD.	68
Figura 4.18 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para γCD.	69
Figura 4.19 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para MβCD.	69
Figura 4.20 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para HPβCD.	70

Figura 4.21 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para o fármaco AMT.....	72
Figura 4.22 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) AMT, (b) β CD, (c) CI AMT: β CD e (d) MF AMT: β CD.....	74
Figura 4.23 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) AMT, (b) γ CD, (c) CI AMT: γ CD e (d) MF AMT: γ CD.....	75
Figura 4.24 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) AMT, (b) M β CD, (c) CI AMT:M β CD e (d) MF AMT:M β CD.....	76
Figura 4.25 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) AMT, (b) HP β CD, (c) CI AMT:HP β CD e (d) MF AMT:HP β CD.....	77
Figura 4.26 – Expansão da região de 3000 – 1500 cm ⁻¹ dos espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) MF AMT:M β CD e (b) MF AMT:HP β CD.....	79
Figura 4.27 – Representação estrutural do monômero glicosídico da CD com respectiva identificação dos hidrogênios (azul) e carbonos (vermelho).....	80
Figura 4.28 – Espectro de RMN de ¹ H do AMT a 600 MHz em D ₂ O.....	81
Figura 4.29 – Espectros de RMN de ¹ H do (a) CI AMT: β CD e do (b) AMT a 600 MHz em D ₂ O, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.....	83
Figura 4.30 – Expansões dos espectros de RMN de ¹ H (600 MHz em D ₂ O) do (a) CI AMT: β CD e do (b) AMT livre, na região correspondente aos hidrogênios metilênicos.....	84
Figura 4.31 – Mapa de correlação de RMN 2D-NOESY ¹ H – ¹ H do CI AMT: β CD a 600 MHz em D ₂ O.....	85
Figura 4.32 – Representação esquemática dos modos de inclusão e das estequiometrias sugeridas para o sistema AMT: β CD.....	86
Figura 4.33 – Espectros de RMN de ¹ H do (a) composto de inclusão AMT:M β CD e do (b) AMT a 600 MHz em D ₂ O, com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.....	87
Figura 4.34 – Expansões dos espectros de RMN de ¹ H (600 MHz em D ₂ O) do (a) CI AMT:M β CD e do (b) AMT livre, na região correspondente aos hidrogênios metilênicos.....	88
Figura 4.35 – Mapa de correlação de RMN 2D-NOESY ¹ H – ¹ H do CI AMT:M β CD a 600 MHz em D ₂ O.....	89
Figura 4.36 – Representação esquemática dos modos de inclusão e da estequiometria sugerida para o sistema AMT:M β CD.....	90

Figura 4.37 – Espectro de RMN de ^1H do (a) composto de inclusão AMT:HP β CD e do (b) AMT a 600 MHz em D_2O , com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.	91
Figura 4.38 – Expansões dos espectros de RMN de ^1H (600 MHz em D_2O) do (a) CI AMT:HP β CD e do (b) AMT livre, na região correspondente aos hidrogênios metilênicos.	92
Figura 4.39 – Mapa de correlação de RMN 2D-NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ do CI AMT:HP β CD a 600 MHz em D_2O	93
Figura 4.40 – Representação esquemática dos modos de inclusão e da estequiometria sugerida para o sistema AMT:HP β CD.	94
Figura 4.41 – Espectro de RMN de ^1H do (a) composto de inclusão AMT: γ CD e do (b) AMT a 600 MHz em D_2O , com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.	95
Figura 4.42 – Expansões dos espectros de RMN de ^1H (600 MHz em D_2O) do (a) CI AMT: γ CD e do (b) AMT livre, na região correspondente aos hidrogênios metilênicos.	96
Figura 4.43 – Mapa de correlação de RMN 2D-NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ do CI AMT: γ CD a 600 MHz em D_2O	97
Figura 4.44 – Representação esquemática dos modos de inclusão sugeridos para o sistema AMT: γ CD.	98
Figura 5.1 – Representação estrutural do monômero glicosídico da CD com respectiva identificação dos hidrogênios (azul) e carbonos (vermelho).	102
Figura 5.2 – Espectros de RMN de ^1H a 400 MHz em DMSO-d_6 da (a) β CD e (b) β CD-I.	103
Figura 5.3 – Espectros de RMN de ^1H a 400 MHz em DMSO-d_6 da (a) β CDam $_6$ e (b) β CDam $_{12}$	105
Figura 5.4 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR para β CD e para β CD-I, utilizando pastilhas de KBr.	108
Figura 5.5 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) am $_6$ e (b) am $_{12}$	109
Figura 5.6 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) β CDam $_6\beta$ CD e β CDam $_6$; (b) β CDam $_{12}\beta$ CD e β CDam $_{12}$	111
Figura 5.7 – Curvas TG e dTG para (a) β CD (b) β CD-I.	113
Figura 5.8 – Curvas TG e dTG para (a) β CDam $_6$ (b) β CDam $_{12}$ (c) β CDam $_6\beta$ CD e (d) β CDam $_{12}\beta$ CD.	114
Figura 5.9 – Efeito do pH sobre o potencial ζ da β CDam $_{12}\beta$ CD e β CDam $_6\beta$ CD.	119

Figura 5.10 – (a) Espectros de absorção da região do UV-Vis do fármaco AMT nas concentrações variando de 0,072 (A1) a 0,0008 mmol·L ⁻¹ (A16); (b) Curva de calibração com ajuste linear utilizada para determinar a concentração de AMT nas amostras.	120
Figura 5.11 – Gráfico de eficiência de encapsulação (EE%) do fármaco AMT, variando a massa de βCDam ₆ βCD e βCDam ₁₂ βCD, utilizando o Método 1 para promover a adsorção.	122
Figura 5.12 – Gráfico de eficiência de encapsulação (barra) e capacidade de carregamento (linha) do fármaco AMT, variando a massa de βCDam ₆ βCD e βCDam ₁₂ βCD, utilizando o Método 2 para promover a adsorção.	123
Figura 5.13 – Micrografias obtidas por MEV com ampliação de 20.000 × para βCDam ₆ βCD (a) antes e (b) após o processo de adsorção.	126
Figura 5.14 – Micrografias obtidas por MEV com ampliação de 20.000 × para βCDam ₁₂ βCD (a) antes e (b) após o processo de adsorção.	127
Figura 5.15 – Gráfico de eficiência de liberação do fármaco AMT, utilizando 50,0 mg de βCDam ₆ βCD e βCDam ₁₂ βCD carregadas com o fármaco.....	128
Figura 5.16 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para os hidrogéis de PVA 14 e 20%.	130
Figura 5.17 – Micrografias obtidas por MEV com ampliação de 1.000 × para os hidrogéis de PVA a (a) 14 e (b) 20%.	132
Figura 5.18 – Grau de intumescimento dos hidrogéis de PVA 14 e 20%, em água.	133
Figura 5.19 – Perfil de liberação de AMT para os hidrogéis PVA 14%/AMT e PVA 20%/AMT.	136
Figura 5.20 – (a) Perfis de liberação de AMT em meio aquoso a partir dos sistemas híbridos; (b) ampliação destacando o comportamento na fase inicial de liberação.....	140

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 – Características adicionais das principais ciclodextrinas naturais.....	13
Tabela 3.1 – Relação das soluções de titulante e titulados utilizadas no ajuste das concentrações para cada sistema em estudo.	27
Tabela 3.2 – Modelos cinéticos empregados para a análise do grau de intumescimento e da liberação do fármaco.....	37
Tabela 4.1 – Parâmetros termodinâmicos para os sistemas AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em βCD 0,5 mmol·L ⁻¹ a 15, 25, 35 e 45 °C.	47
Tabela 4.2 – Valores de K _a para sistemas desfavorecidos pelo aumento da temperatura envolvendo a βCD obtidos no grupo de pesquisa nos últimos anos.....	51
Tabela 4.3 – Parâmetros termodinâmicos para os sistemas AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em MβCD 0,5 mmol·L ⁻¹ a 15, 25, 35 e 45 °C.....	55
Tabela 4.4 – Parâmetros termodinâmicos para os sistemas AMT 5,0 mmol·L ⁻¹ em HPβCD 0,5 mmol·L ⁻¹ a 15, 25, 35 e 45 °C.....	59
Tabela 4.5 – Parâmetros termodinâmicos para os sistemas AMT 30,0 mmol·L ⁻¹ em γCD 0,5 mmol·L ⁻¹ a 15, 25, 35 e 45 °C.....	64
Tabela 4.6 – Atribuição das principais bandas dos espectros de absorção na região do infravermelho para a βCD, γCD, HPβCD e MβCD.....	71
Tabela 4.7 – Atribuição das principais bandas do espectro de absorção na região do infravermelho para o fármaco AMT.....	72
Tabela 5.1 – Atribuição dos principais sinais de RMN de ¹ H da βCDam ₆ e da βCDam ₁₂ em DMSO-d ₆ (400 MHz), com valores experimentais e dados reportados na literatura.	104
Tabela 5.2 – Atribuição das principais bandas do espectro de absorção na região do infravermelho para as amins am ₆ e am ₁₂	110
Tabela 5.3 – Parâmetros obtidos por DLS para βCDam ₆ βCD, em pH de 2 – 12.	116
Tabela 5.4 – Parâmetros obtidos por DLS para βCDam ₁₂ βCD, em pH de 2 – 12.....	117
Tabela 5.5 – Parâmetros estatísticos determinados a partir da curva de calibração do fármaco AMT em água.	121
Tabela 5.6 – Eficiência de encapsulação (EE%), capacidade de carregamento (CC) e porcentagem de carregamento (CC%) dos materiais em diferentes R _{S-L}	124

Tabela 5.7 – Atribuição das principais bandas do espectro de absorção na região do infravermelho para os hidrogéis de PVA a 14 e 20%.....	131
Tabela 5.8 – Parâmetros cinéticos para o intumescimento em água dos hidrogéis de PVA 14 e 20%.	135
Tabela 5.9 – Parâmetros cinéticos obtidos para a liberação do fármaco AMT a partir dos hidrogéis PVA 14%/AMT e PVA 20%/AMT, ajustados aos diferentes modelos cinéticos.	138
Tabela 5.10 – Parâmetros cinéticos obtidos para a liberação de AMT a partir dos sistemas híbridos PVA/CI AMT:βCD, PVA/βCDam ₆ βCD:AMT e PVA/βCDam ₁₂ βCD:AMT.....	142

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

σ	Deformação angular fora do plano
v	Estiramento
K_a	Constante de afinidade
n	Coefficiente estequiométrico
ΔG°	Varição da energia livre de Gibbs padrão
ΔH°	Varição de entalpia padrão
ΔS°	Varição de entropia padrão
$T\Delta S^\circ$	Termo entrópico
2D	bidimensional
β CD	Beta-ciclodextrina
β CD-I	Beta-ciclodextrina iodada
β CD-am _x	Beta-ciclodextrina aminada
γ CD	Gama-ciclodextrina
α CD	Alfa-ciclodextrina
HP β CD	Hidroxipropil-beta-ciclodextrina
M β CD	Metil-beta-ciclodextrina
AMT	Cloridrato de Amitriptilina
CC	Capacidade de carregamento
CD	Ciclodextrina
CI	Composto de inclusão
EE	Eficiência de encapsulamento

EL	Eficiência de liberação
NEs	Nanoesponjas
NECDs	Nanoesponjas à base de β CD
PVA	<i>Poly(vinyl alcohol)</i>
am ₆	hexano-1,6-diamina
am ₁₂	dodecano-1,12-diamina
ATR	<i>Attenuated total reflectance</i>
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i>
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>
ITC	<i>Isothermal titration calorimetric</i>
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
RMN	Ressonância magnética nuclear
TG	Análise termogravimétrica
UV-Vis	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
2. REFERENCIAL TEÓRICO	6
2.1. Transtorno depressivo	6
2.1.1. Cloridrato de Amitriptilina	7
2.2. Química Supramolecular	8
2.3. Ciclodextrinas.....	10
2.3.1. Histórico e propriedades	10
2.3.2. Formação de composto de inclusão.....	14
2.3.3. Ciclodextrinas associadas a materiais.....	18
2.4. Nanoesponjas à base de ciclodextrinas em materiais	20
2.5. Sistemas híbridos supramoleculares	21
2.6. Objetivos	24
2.6.1. Objetivo Geral.....	24
2.6.2. Objetivos específicos.....	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1. Descrição dos experimentos	26
3.1.1. Estudos termodinâmicos	26
3.1.2. Preparo dos compostos de inclusão.....	28
3.1.3. Síntese das Nanoesponjas.....	29
3.1.4. Ensaio de adsorção do fármaco AMT	33
3.1.5. Preparo dos hidrogéis de PVA	34
3.1.6. Grau de intumescimento	35
3.1.7. Estudo de cinética de liberação	38
3.2. Descrição das técnicas de caracterização.....	39

3.2.1.	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	39
3.2.2.	Ressonância magnética nuclear.....	39
3.2.3.	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível	40
3.2.4.	Análises termogravimétricas	40
3.2.5.	Espalhamento dinâmico de luz e potencial ζ	40
3.2.6.	Microscopia eletrônica de varredura.....	41
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES: Caracterização termodinâmica e estrutural dos sistemas supramoleculares	43
4.1.	Estudos termodinâmicos	43
4.1.1.	Sistema AMT: α CD	43
4.1.2.	Sistema AMT: β CD	45
4.1.3.	Sistema AMT:M β CD.....	53
4.1.4.	Sistema AMT:HP β CD.....	57
4.1.5.	Sistema AMT: γ CD.....	62
4.2.	Liofilização dos compostos de inclusão	67
4.3.	Caracterização por espectroscopia na região do infravermelho	68
4.4.	Caracterização por espectroscopia de ressonância magnética nuclear	79
4.4.1.	Sistema AMT: β CD	82
4.4.2.	Sistema AMT:M β CD.....	86
4.4.3.	Sistema AMT:HP β CD.....	90
4.4.4.	Sistema AMT: γ CD.....	94
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES: Sistemas híbridos supramoleculares.....	100
5.1.	Síntese e caracterização das nanoesponjas à base de ciclodextrinas.....	100
5.1.1.	Ressonância magnética nuclear.....	102
5.1.2.	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	106
5.1.3.	Análise termogravimétrica	112

5.1.4.	Espalhamento dinâmico de luz e potencial ζ	115
5.2.	Estudo de adsorção do fármaco Cloridrato de Amitriptilina.....	119
5.3.	Hidrogéis de PVA.....	129
5.3.1.	Caracterização estrutural e morfológica dos hidrogéis de PVA	129
5.3.2.	Grau de intumescimento	133
5.3.3.	Estudo cinético de liberação do AMT	135
6.	CONCLUSÕES.....	146
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	149

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo é uma condição de saúde mental caracterizada por alterações emocionais, cognitivas e comportamentais que impactam diretamente a qualidade de vida dos indivíduos, configurando-se como um importante problema de saúde pública em escala global. Estima-se que a depressão afete centenas de milhões de pessoas em todo o mundo, estando associada a elevados índices de morbidade e incapacitação funcional (Cui et al., 2024; World Health Organization, 2023). O tratamento farmacológico fundamenta-se, majoritariamente, na modulação do sistema monoaminérgico, sendo os antidepressivos tricíclicos empregados devido à sua reconhecida eficácia clínica (Cui et al., 2024; Rang et al., 2016).

Dentre esses fármacos, o Cloridrato de Amitriptilina (AMT) destaca-se não apenas pela sua eficácia no tratamento da depressão, mas também por seus efeitos benéficos sobre distúrbios do sono, fadiga e diversas condições associadas à dor crônica, como a fibromialgia, além de aplicações recentes na prevenção e no tratamento da enxaqueca (Bryson; Wilde, 1996; Farag et al., 2022; Lampl et al., 2023). Apesar de sua ampla utilização clínica, o AMT apresenta limitações biofarmacêuticas relevantes, como o intenso metabolismo de primeira passagem, que compromete a biodisponibilidade e leva à necessidade de doses mais elevadas, intensificando a incidência de efeitos adversos (AMYTRIL®, 2021; Thummel; Kunze; Shen, 1997).

Essas limitações têm motivado o desenvolvimento de estratégias farmacêuticas voltadas à melhoria das propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas de fármacos já consolidados, com o intuito de modular sua liberação, aumentar a eficiência terapêutica e reduzir os efeitos adversos. Nesse contexto, sistemas de liberação controlada baseados em matrizes poliméricas, como fibras poliméricas, nanopartículas, micelas e hidrogéis, vêm sendo amplamente investigados (Kali; Haddadzadegan; Bernkop-Schnürch, 2024; Kamaly et al., 2016). Entre esses sistemas, os hidrogéis destacam-se por sua elevada capacidade de intumescimento, versatilidade na incorporação de diferentes moléculas bioativas e biocompatibilidade, uma vez que podem simular o ambiente aquoso dos tecidos biológicos (Hassan; Peppas, 2000; Huang et al., 2022; Li; Mooney, 2016).

Contudo, hidrogéis convencionais podem apresentar limitações associadas à liberação rápida e pouco controlada de fármacos. Para contornar essas restrições, estratégias de modulação cinética têm sido propostas, incluindo o ajuste da densidade de reticulação ou a adoção de sistemas de dupla encapsulação. Nessa abordagem, o fármaco é inicialmente incorporado em

nanocarreadores, que são posteriormente dispersos na matriz do hidrogel, permitindo maior controle da cinética de liberação e redução do efeito de liberação inicial abrupta (Din et al., 2024; Lavrador et al., 2021; Li; Mooney, 2016).

Entre os diferentes nanocarreadores disponíveis, sistemas baseados em ciclodextrinas (CDs) têm se destacado devido à sua capacidade de formar sistemas supramoleculares do tipo hóspede-hospedeiro. As CDs são oligossacarídeos cíclicos que apresentam uma superfície externa hidrofílica e uma cavidade interna de caráter hidrofóbico, possibilitando a formação de compostos de inclusão (CIs) com diferentes fármacos. A formação desses sistemas pode resultar em melhorias significativas na solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de fármacos, além de proteção contra degradação química e interações indesejadas (Davis; Brewster, 2004; Roy et al., 2023; Singh; Mahar, 2024).

Adicionalmente, a reticulação química de CDs levou ao desenvolvimento de nanoesponjas à base de CD (NECDs), uma classe inovadora de polímeros tridimensionais nanoparticulados e altamente porosos, que combinam a biocompatibilidade das CDs com maior robustez estrutural e múltiplos sítios de interação para a incorporação de fármacos (Caldera et al., 2017; Chilajwar et al., 2014). A integração de NECDs em hidrogéis de PVA representa, portanto, uma estratégia híbrida promissora, na qual as nanoesponjas atuam como reservatórios capazes de proteger e liberar gradualmente o fármaco, enquanto o hidrogel fornece suporte estrutural, retenção de água e um microambiente favorável à difusão controlada (Omidian; Akhzarmehr; Gill, 2025; Xu et al., 2010).

Paralelamente ao desenvolvimento de sistemas de liberação baseados em matrizes poliméricas avançadas, a compreensão fundamental das interações supramoleculares entre o fármaco e as CDs é essencial para o design racional desses materiais. Nesse sentido, a caracterização termodinâmica e estrutural de CIs envolvendo o AMT e CDs naturais e modificadas, como β -ciclodextrina (β CD), metil- β -ciclodextrina (M β CD) e hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), fornece informações cruciais sobre afinidade, estabilidade e modos de interação, contribuindo para a otimização dos sistemas de encapsulação (Bouchemal, 2008).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo obter e caracterizar compostos de inclusão entre o AMT e diferentes CDs naturais e modificadas, por meio de técnicas termodinâmicas e espectroscópicas, bem como o desenvolvimento de sistemas híbridos baseados em hidrogéis de PVA contendo NECDs para a liberação controlada do fármaco. A integração dessas abordagens

visa estabelecer uma correlação entre as propriedades supramoleculares fundamentais e o desempenho dos materiais poliméricos desenvolvidos, contribuindo para o avanço de sistemas de liberação controlada de fármacos.

CAPÍTULO 2
REFERENCIAL TEÓRICO

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Transtorno depressivo

O transtorno depressivo, ou depressão, é uma condição de saúde mental definida como um distúrbio heterogêneo, no qual os pacientes podem apresentar diferentes manifestações clínicas centrais, frequentemente associadas a outras condições, como ansiedade, distúrbios alimentares e dependência de medicamentos. Do ponto de vista clínico, os sintomas incluem componentes emocionais como humor deprimido persistente, ruminação de pensamentos negativos, apatia, sentimento de culpa, inadequação, perda de motivação e anedonia. Além dos aspectos emocionais, a depressão também se manifesta por componentes biológicos e fisiológicos, incluindo retardo do pensamento e da ação, distúrbios do sono, alterações do apetite e perda de libido. A coexistência desses fatores está associada a um aumento significativo do risco de comportamentos suicidas, evidenciando a gravidade clínica do transtorno (Rang et al., 2016; Sweetman, 2009; Walter et al., 2023).

Clinicamente, o transtorno depressivo pode se manifestar desde formas leves e moderadas até quadros graves, incluindo a depressão psicótica, caracterizada pela presença de delírios e alucinações. Sua etiologia é considerada multifatorial, envolvendo a interação de fatores genéticos, ambientais e neurobiológicos. Embora os mecanismos fisiopatológicos da depressão ainda não estejam completamente elucidados, uma das hipóteses mais aceitas é a teoria da deficiência funcional da neurotransmissão monoaminérgica no sistema nervoso central (Cui et al., 2024; Jiang et al., 2022; Rang et al., 2016; Robert; Hirschfeld, 2000).

Essa hipótese fundamenta o uso de terapias farmacológicas voltadas à modulação dos níveis de monoaminas, como serotonina e norepinefrina, neurotransmissores diretamente envolvidos na regulação do humor e do comportamento. Nesse contexto, os inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), como fluoxetina, sertralina e citalopram, representam classes mais recentes de antidepressivos amplamente prescritas, enquanto os antidepressivos tricíclicos, como imipramina, nortriptilina e amitriptilina, constituem classes mais antigas que, apesar de sua eficácia clínica, apresentam efeitos adversos mais pronunciados, o que pode limitar sua utilização em determinados pacientes (Brunton, 2012; Cui et al., 2024; Rang et al., 2016).

2.1.1. Cloridrato de Amitriptilina

O Cloridrato de Amitriptilina (Figura 2.1), denominado neste trabalho como AMT, é um fármaco antidepressivo tricíclico empregado no tratamento da depressão em suas diferentes manifestações clínicas. Seu mecanismo de ação está associado, principalmente, à inibição dos transportadores de recaptção de norepinefrina e/ou serotonina, promovendo o aumento da disponibilidade desses neurotransmissores na fenda sináptica e a intensificação da neurotransmissão monoaminérgica (AMYTRIL®, 2021; Di Pietro; Ferro; Mele, 2020; Kwon et al., 2020; Rang et al., 2016).

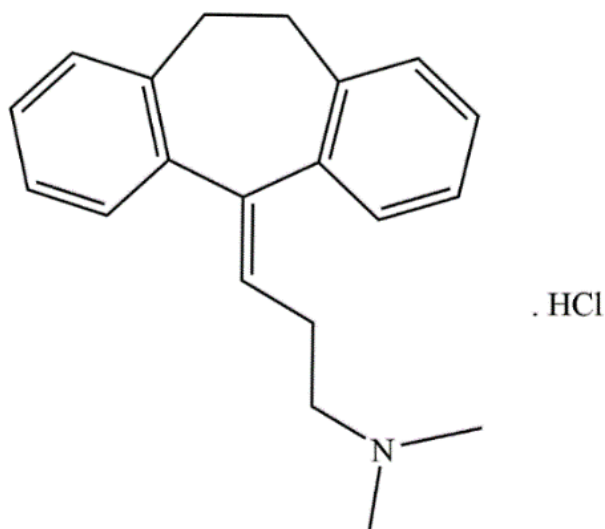


Figura 2.1 – Representação estrutural do fármaco Cloridrato de Amitriptilina (AMT).

Além de sua aplicação no tratamento da depressão, o AMT apresenta um amplo espectro de uso clínico. A literatura descreve sua utilização no manejo de síndromes dolorosas crônicas, como dor neuropática e fibromialgia, no tratamento de distúrbios do sono e na profilaxia da enxaqueca. Essas indicações estão associadas às suas propriedades farmacológicas centrais, incluindo a modulação de vias envolvidas na percepção da dor e na regulação do ciclo sono–vigília (Bryson; Wilde, 1996; Farag et al., 2022; Lampl et al., 2023).

Fisicamente, o AMT apresenta-se como um pó branco, facilmente solúvel em água, com fórmula molecular $C_{20}H_{24}ClN$ e massa molecular de $313,9 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (ANVISA, 2019). A via de

administração convencional é oral, sendo comercializado sob a forma de comprimidos contendo 10, 25 e 75 mg do princípio ativo (AMYTRIL®, 2021; Sweetman, 2009).

Após a administração oral, o AMT é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, entretanto, sofre intenso metabolismo de primeira passagem. Nesse processo, enzimas presentes no trato gastrointestinal e no fígado inativam uma fração do fármaco ingerido antes que ele alcance a circulação sistêmica, resultando em redução expressiva da biodisponibilidade. Como consequência, a obtenção de efeito terapêutico adequado frequentemente requer a administração de doses mais elevadas do princípio ativo, o que pode intensificar a ocorrência de efeitos adversos (AMYTRIL®, 2021; McClure; Daniels, 2021; Rudorfer; Potter, 1999; Stielow et al., 2023; Thummel; Kunze; Shen, 1997).

Os antidepressivos tricíclicos, incluindo o AMT, estão associados a um perfil amplo de efeitos adversos, decorrentes de sua baixa seletividade farmacológica. Entre os efeitos sistêmicos relatados destacam-se icterícia, hepatotoxicidade, galactorreia, alterações ponderais, trombocitopenia, eventos cerebrovasculares, tontura, convulsões, exacerbação inicial dos sintomas depressivos, hipomania e ideação suicida. Adicionalmente, a administração por via oral pode ocasionar efeitos adversos gastrointestinais, como náuseas, desconforto epigástrico, vômitos, estomatite, alteração do paladar, diarreia e refluxo gastroesofágico. Esse conjunto de efeitos adversos pode comprometer a adesão do paciente ao tratamento e limitar o uso clínico do fármaco (AMYTRIL®, 2021; Sweetman, 2009).

Neste contexto, considerando o intenso metabolismo de primeira passagem e o perfil de efeitos adversos associado à administração oral do AMT, estudos envolvendo a sua associação com diferentes ciclodextrinas configuram uma alternativa promissora no contexto da Química Supramolecular

2.2. Química Supramolecular

A Química Supramolecular é um campo da Química dedicado ao estudo de moléculas formadas pela associação de duas ou mais espécies mantidas unidas por forças intermoleculares, em contraste com as ligações covalentes que caracterizam tradicionalmente a Química molecular. O termo “Química Supramolecular” foi introduzido por Jean-Marie Lehn, agraciado com o Prêmio Nobel de Química em 1987, juntamente com os pesquisadores Donald J. Cram e Charles J.

Pedersen, em reconhecimento às contribuições fundamentais desses pesquisadores para o desenvolvimento desse domínio científico (Dodzuik, 2002; Lehn, 1985).

Ao investigar os mecanismos de interação intermolecular responsáveis pela estabilização de sistemas supramoleculares, esse campo da Química explora a capacidade das moléculas de se organizarem de forma espontânea, específica e seletiva. Tal comportamento possibilita a aplicação desses sistemas em diversas áreas, incluindo ciência de materiais, nanotecnologia e desenvolvimento de medicamentos. Entre as principais forças intermoleculares envolvidas na formação de sistemas supramoleculares destacam-se as interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals (Dodzuik, 2002; Lehn, 1985).

O reconhecimento molecular constitui um princípio central da Química Supramolecular e descreve a capacidade de interação seletiva entre duas ou mais espécies químicas, baseada em compatibilidade de forma, tamanho, carga e polaridade. Na abordagem contemporânea, esse processo é descrito pelo modelo de encaixe induzido, no qual as espécies envolvidas podem sofrer ajustes conformacionais durante a associação, de modo a maximizar as interações não covalentes e a estabilidade do composto formado. No contexto da Química Supramolecular, esse princípio é aplicado aos sistemas hóspede-hospedeiro, nos quais uma molécula hóspede interage com a cavidade de uma molécula hospedeira por meio de interações intermoleculares, resultando na formação de compostos de inclusão. Uma característica fundamental desses sistemas é a natureza geralmente reversível das interações envolvidas, permitindo a formação e dissociação dos compostos em equilíbrio dinâmico (Ariga; Kunitake, 2006; Dodzuik, 2002; Lehn, 1985).

O estudo de sistemas supramoleculares baseados em compostos de inclusão tem adquirido grande relevância no desenvolvimento e aprimoramento de formulações farmacêuticas, especialmente no contexto de novos sistemas de liberação de fármacos. Nesses sistemas, o fármaco atua como molécula hóspede e sua associação com uma molécula hospedeira visa à modulação de propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas, como solubilidade, estabilidade, perfil de absorção e mecanismos de liberação, além de contribuir para a redução de efeitos adversos (Bai et al., 2021; Namgung et al., 2014; Passos et al., 2012; Zhou et al., 2019).

Dentre as moléculas hospedeiras empregadas em sistemas supramoleculares, pode-se citar como exemplos as porfirinas, os criptofanos, os calixarenos e as ciclodextrinas (Braegelman; Webber, 2019; Davis; Brewster, 2004; Dodzuik, 2002; Wang et al., 2018; Wang; Zhang; Liu, 2015). As ciclodextrinas, por sua vez, se destacam como um dos hospedeiros mais estudados como

excipientes em formulações farmacêuticas, uma vez que essas moléculas são capazes de formar compostos de inclusão com uma variedade de fármacos. Esses sistemas permitem superar limitações de fármacos já comercializados, promovendo alterações em suas propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas sem comprometer a atividade farmacológica (Jambhekar; Breen, 2016; Kolesnichenko; Anslyn, 2017; Meira et al., 2018).

Relatórios da literatura indicam que mais de 100 produtos farmacêuticos já foram comercializados utilizando diferentes ciclodextrinas, abrangendo diferentes rotas de administração, com destaque para a via oral (Loftsson; Duchêne, 2007; Puskás et al., 2023). Os primeiros medicamentos comercializados a partir de compostos de inclusão envolvendo ciclodextrinas foram duas prostaglandinas desenvolvidas no Japão por Inaba e colaboradores, em 1984. Esses dois medicamentos são comercializados como alfa-ciclodextrina/prostaglandina E1 (PGE1- α -CD), na forma de injetáveis, e beta-ciclodextrina/prostaglandina E2 (PGE2- β CD), na forma de comprimidos (Inaba; Wakuda; Uekama, 1984). Atualmente, entre os medicamentos aprovados que utilizam ciclodextrinas como excipientes, pode-se citar como exemplos, os anti-inflamatórios CICLADOL[®] (piroxicam-betaciclodextrina) e MAXSULID[®] (nimesulida-betaciclodextrina), ambos comercializados no Brasil para administração oral (Loftsson; Duchêne, 2007; Puskás et al., 2023).

2.3. Ciclodextrinas

2.3.1. Histórico e propriedades

O primeiro registro sobre ciclodextrinas foi publicado em 1891 pelo cientista francês Villiers. Em sua publicação, o isolamento de uma substância cristalina obtida como subproduto da digestão bacteriana de amido e os resultados experimentais indicaram que essa substância correspondia a uma dextrina. Villiers determinou a composição dessa nova substância e a denominou “celulosine”, uma vez que ela apresentava características muito semelhantes às da celulose. Em 1903, o microbiologista austríaco Schardinger publicou um artigo no qual descreveu dois compostos cristalinos, também isolados a partir da digestão bacteriana do amido, sendo que um deles foi identificado como a “celulosine” previamente isolada por Villiers. Nessa mesma publicação, Schardinger sugeriu que o termo “dextrinas cristalinas” seria mais adequado para esses

compostos e, mais tarde, ele nomeou-os como alfa- e beta-dextrina. Em 1935, a gama-dextrina foi descoberta por Freudenberg e Jacobi. Durante esse período, as três principais ciclodextrinas naturais já haviam sido obtidas, contudo, suas massas moleculares, estruturas químicas e a maioria de suas propriedades físico-químicas ainda eram desconhecidas. Somente em 1938, Freudenberg e colaboradores postularam a estrutura cíclica dessas dextrinas, dando origem à nomenclatura atualmente empregada, ciclodextrinas (CDs) (Crini, 2014; Loftsson; Duchêne, 2007; Szejtli, 1998).

Desta forma, as CDs podem ser definidas como sendo oligossacarídeos cíclicos, formados pela união de unidades de glicose a partir de ligações glicosídicas do tipo α (1–4), em que cada monômero apresenta conformação de cadeira (Figura 2.2). Essas moléculas são atualmente obtidas a partir da degradação enzimática do amido, pela ação da ciclodextrina glicosil transferase (CGTase), uma enzima mais seletiva do que as utilizadas anteriormente, o que possibilita a produção dessas moléculas em escala industrial (Davis; Brewster, 2004; Del Valle, 2004; Loftsson; Duchêne, 2007; Santos et al., 2021; Szejtli, 1998).

Com base em dados cristalográficos, observa-se que as CDs possuem uma geometria descrita como um cone truncado, exibindo uma estrutura relativamente rígida em decorrência das ligações glicosídicas (C1-O-C4). Estruturalmente, as hidroxilas primárias, ligadas ao carbono C6, e as hidroxilas secundárias, ligadas aos carbonos C2 e C3, estão orientadas para o exterior da molécula, conferindo caráter hidrofílico à sua região externa. Em contraste, no interior da cavidade estão presentes os hidrogênios H3 e H5, juntamente com os oxigênios provenientes das ligações glicosídicas (C-O-C), o que confere à cavidade das CDs um caráter hidrofóbico, permitindo que outras moléculas sejam, total ou parcialmente, incluídas nessa cavidade por meio de interações intermoleculares. Além disso, no estado sólido as CDs apresentam água de cristalização. As moléculas de água podem estar localizadas tanto na cavidade quanto entre as moléculas de CD na rede cristalina (Davis; Brewster, 2004; Del Valle, 2004).

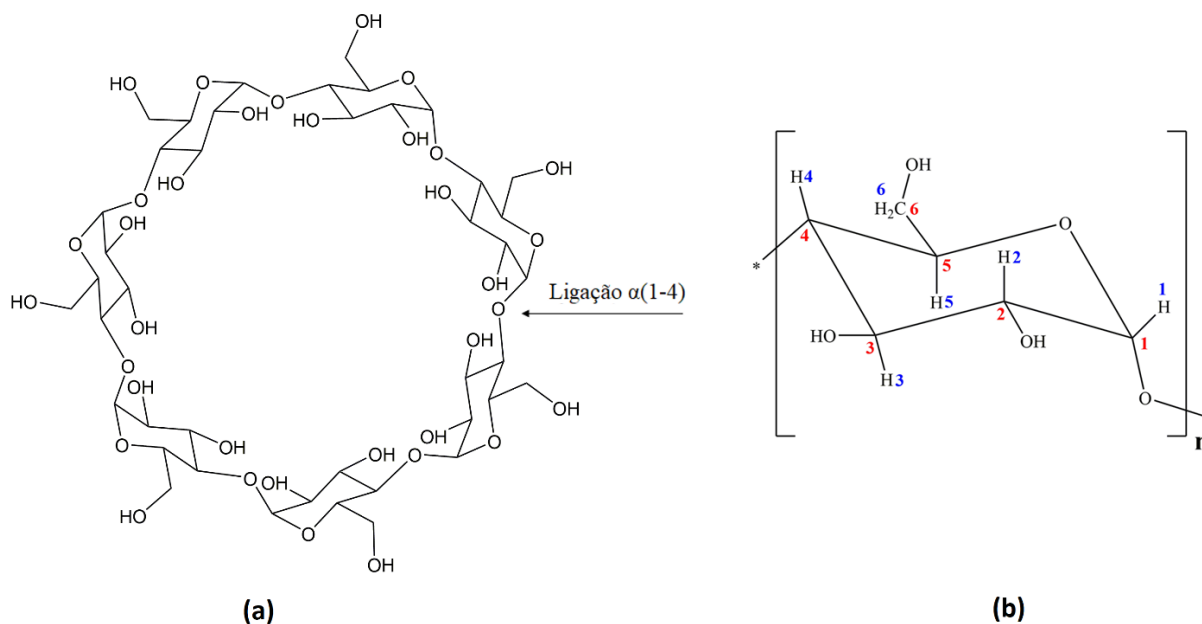


Figura 2.2 – Representação estrutural (a) β -ciclodextrina; (b) monômero glicosídico com respectiva identificação dos hidrogênios e carbonos.

As principais CDs naturais são conhecidas como α -ciclodextrina (α CD), β -ciclodextrina (β CD) e γ -ciclodextrina (γ CD), sendo constituídas por 6, 7 e 8 unidades glicosídicas, respectivamente, o que influencia diretamente o tamanho da cavidade de cada uma delas (Figura 2.3). CDs naturais com mais de 8 unidades glicosídicas também podem ser obtidas, porém, a dificuldade em sua purificação e o baixo rendimento tornam a aplicação dessas moléculas pouco viável. Além da variação no tamanho da cavidade, essas CDs naturais apresentam solubilidade distinta em água, dadas as ligações de hidrogênio estabelecidas entre as hidroxilas secundárias. Na β CD, as hidroxilas secundárias encontram-se a uma distância favorável para que todas estejam envolvidas na formação de ligações de hidrogênio, o que confere maior rigidez ao anel e reduz a solubilidade em água da molécula. Na α CD, uma das unidades glicosídicas encontra-se distorcida, resultando na formação de apenas quatro das seis ligações de hidrogênio possíveis, o que leva a uma maior solubilidade em água quando comparada à β CD. Já a γ CD apresenta a maior solubilidade entre as três CDs, uma vez que possui a estrutura mais flexível. As representações estruturais da α CD, da β CD e da γ CD podem ser observadas na Figura 2.3, e algumas de suas principais características estão descritas de forma mais detalhada na Tabela 2.1 (Szejtli, 1998, 2004).

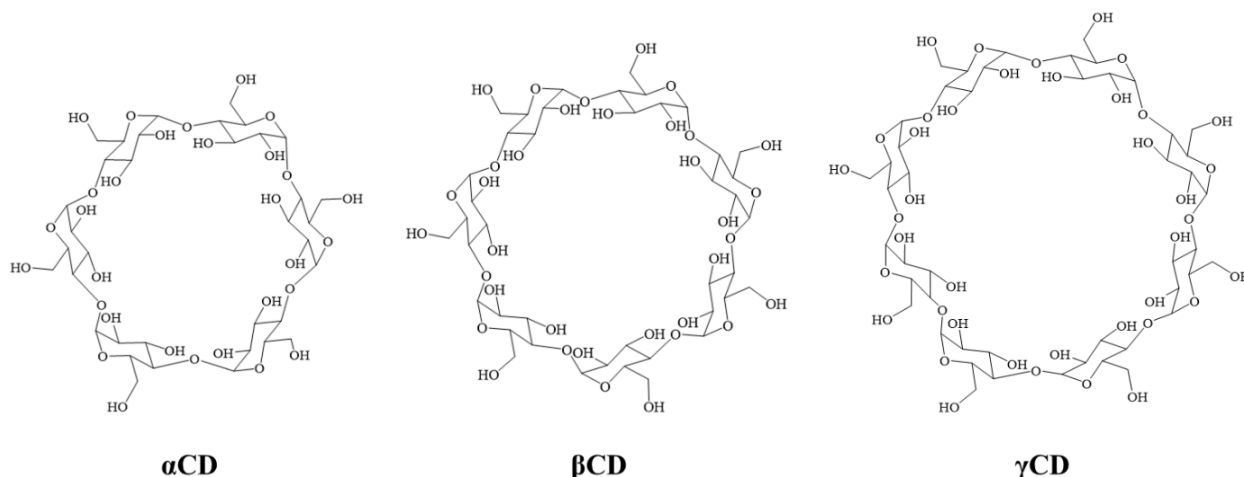


Figura 2.3 – Representação estrutural das principais ciclodextrinas naturais, α CD, β CD e γ CD.

Tabela 2.1 – Características adicionais das principais ciclodextrinas naturais.

Característica	αCD	βCD	γCD
Número de unidades glicosídicas	6	7	8
Massa molecular ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	972	1135	1297
Solubilidade em água, a 25 °C ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	145,0	18,5	232,0
Diâmetro da cavidade (Å)	4,7	6,0	7,5
Diâmetro externo (Å)	14,6	15,4	17,5
Altura (Å)	7,9	7,9	7,9

Além das CDs naturais, CDs quimicamente modificadas também podem ser preparadas, resultando em derivados com propriedades físico-químicas distintas em relação às moléculas precursoras. De modo geral, essas modificações envolvem a substituição dos hidrogênios ligados às hidroxilas, principalmente aquelas ligadas ao carbono C6, por grupos substituintes específicos, como metila, etila, hidroxipropila e sulfobutila. A escolha do tipo e do grau de substituição influencia diretamente parâmetros como solubilidade, estabilidade e interação com moléculas convidadas. Embora as hidroxilas primárias apresentem maior reatividade, as hidroxilas secundárias também podem ser funcionalizadas, dependendo da estratégia sintética adotada (Khan et al., 1998; Loftsson; Brewster, 2010; Szejtli, 2004).

Entre as CDs modificadas, a hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) apresenta elevada solubilidade em água, superior a 600 g·L⁻¹ a 25 °C, além de menor toxicidade quando comparada à sua precursora. Em função dessas propriedades, a HP β CD tem sido empregada como excipiente em formulações farmacêuticas já comercializadas, destinadas a diferentes vias de administração, incluindo as vias oral, intravenosa e oftálmica (Brewster; Loftsson, 2007; Puskás et al., 2023; Szejtli, 2004; Uekama; Hirayama; Irie, 1998). Derivados metilados de β CD também são descritos na literatura, com produtos farmacêuticos aprovados nos quais atuam como excipientes. Exemplos incluem o repositor de estrogênio AERODIOL[®], administrado por via nasal, e o CLOROCIL[®], um colírio antibiótico contendo cloranfenicol na sua formulação, comercializado na Polônia (Davis; Brewster, 2004; Horváth et al., 2021; Puskás et al., 2023).

As características supracitadas conferem às CDs, tanto naturais quanto modificadas, a capacidade de formar compostos de inclusão com uma ampla variedade de fármacos, aspecto que será abordado na seção seguinte.

2.3.2. Formação de composto de inclusão

Os compostos de inclusão são formados a partir da interação entre moléculas hóspedes e a cavidade de moléculas hospedeiras, formando uma única estrutura com diferentes possibilidades de modos de inclusão. Esse processo é reversível e, em solução, as espécies livres se encontram em equilíbrio dinâmico com o composto formado, o que permite que esses equilíbrios coexistam (Figura 2.4). No processo de formação de um composto de inclusão, envolvendo CDs como molécula hospedeira, primeiramente ocorre a saída das moléculas de água do interior da cavidade, seguida da inclusão total ou parcial do hóspede. Esse processo ocorre de forma espontânea, pois a presença das moléculas de água no interior de caráter hidrofóbico da cavidade é energeticamente desfavorável, permitindo que elas sejam substituídas por moléculas com maior afinidade (Davis; Brewster, 2004; Dodzuik, 2002; Loftsson; Másson; Brewster, 2004; Szejtli, 1998).

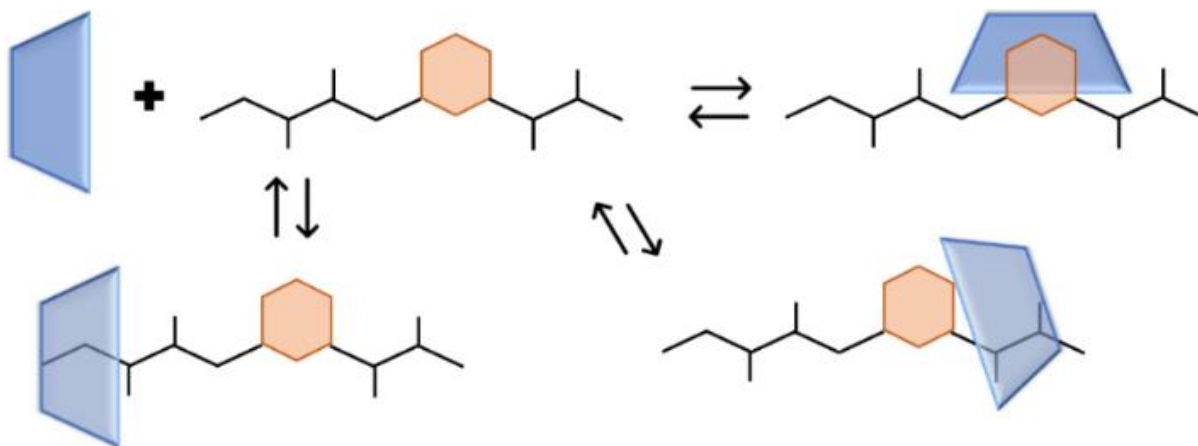


Figura 2.4 – Representação esquemática da formação de um composto de inclusão ilustrando possibilidades de diferentes modos de inclusão.

A reversibilidade do processo de inclusão implica que o equilíbrio entre as espécies pode ser deslocado pela presença de outras moléculas com maior afinidade pela cavidade das CDs, caracterizando um mecanismo de deslocamento competitivo (Figura 2.5). Em sistemas administrados por via oral, a associação do fármaco às CDs pode modificar seu comportamento biofarmacêutico, uma vez que a inclusão favorece o aumento da solubilidade e contribui para a estabilização da molécula durante sua passagem pelo trato gastrointestinal. Além disso, considerando que as CDs não são absorvidas através das membranas biológicas, a liberação do fármaco ocorre previamente à absorção, enquanto a CD permanece no lúmen intestinal e é posteriormente metabolizada pela microbiota local. Esses fatores podem resultar em maior disponibilidade do fármaco para absorção, bem como em redução de efeitos adversos associados à administração oral (Loftsson; Másson; Brewster, 2004; Uekama; Hirayama; Irie, 1998).

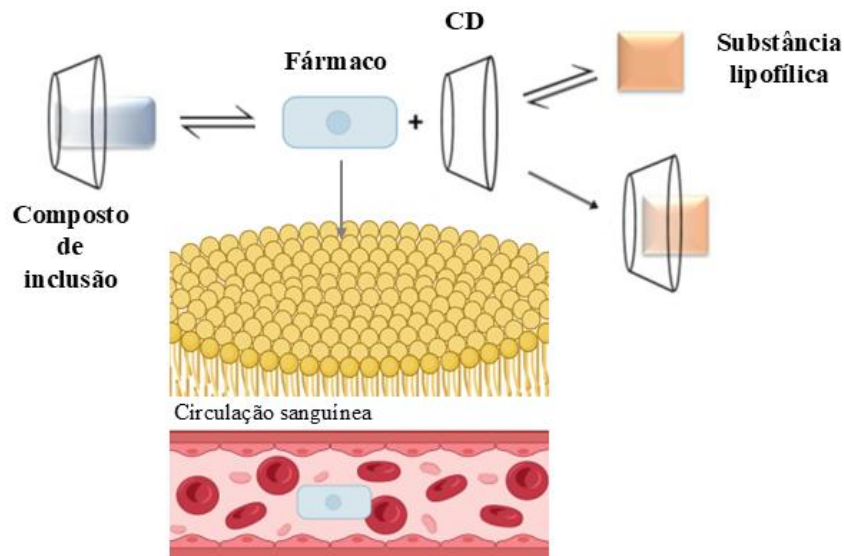


Figura 2.5 – Representação esquemática da liberação do fármaco, incluído na cavidade da CD, no organismo, por deslocamento competitivo com substâncias lipofílicas endógenas.

A formação do composto de inclusão está atrelada a dois fatores principais, a existência de compatibilidade dimensional entre a molécula hóspede e a cavidade da CD e a ocorrência de interações energeticamente favoráveis entre as espécies. Assim, a caracterização termodinâmica do sistema é fundamental para a compreensão dos mecanismos de associação, tanto em condições estabelecidas quanto conforme ocorram perturbações no sistema, como, por exemplo, variações de temperatura.

Além de conhecer os parâmetros termodinâmicos que regem o sistema formado, a obtenção da constante de associação é igualmente relevante, uma vez que permite mensurar a extensão da interação entre as espécies envolvidas, estabelecendo o grau de afinidade entre a CD e a molécula hóspede. Deste modo, a determinação conjunta dos parâmetros termodinâmicos e da constante de associação do sistema investigado contribui para uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos de associação entre a CD e o fármaco, possibilitando a avaliação de sua real aplicabilidade em sistemas de liberação de fármacos (Bouchemal, 2008; Del Valle, 2004; Santos et al., 2021).

Do ponto de vista termodinâmico, os parâmetros associados à formação dos compostos de inclusão resultam das contribuições combinadas das etapas de dissociação das moléculas de água presentes na cavidade da CD e da formação de novas interações entre a molécula hóspede e a cavidade hidrofóbica. Dessa forma, os parâmetros termodinâmicos obtidos refletem o balanço

energético global do sistema supramolecular formado (Bouchemal, 2008; Bouchemal; Mazzaferro, 2012; Davis; Brewster, 2004).

Na análise dos parâmetros termodinâmicos envolvidos no processo de inclusão, a calorimetria de titulação isotérmica (ITC) se destaca como uma ferramenta eficiente. Essa técnica é amplamente empregada na investigação de interações intermoleculares em sistemas supramoleculares, sendo particularmente relevante na caracterização termodinâmica de compostos de inclusão em solução (De Sousa et al., 2008a; Denadai et al., 2007; Meira et al., 2018; Morais et al., 2024; Passos et al., 2011; Vieira et al., 2023). Ela correlaciona a variação gradual do calor do sistema com a diferença de temperatura entre as celas de referência e de amostra, que são mantidas em condições isotérmicas à medida que alíquotas do titulante são injetadas na cela contendo o titulado (Figura 2.6). Nessas condições, a diferença de temperatura registrada entre as celas está diretamente associada à variação do fluxo de calor decorrente das interações estabelecidas entre as espécies. Como o experimento é conduzido à pressão constante, o calor mensurado corresponde à variação da entalpia (ΔH°) (BASTOS et al., 2023; FREIRE, 2004; FREIRE; MAYORGA; STRAUME, 1990).

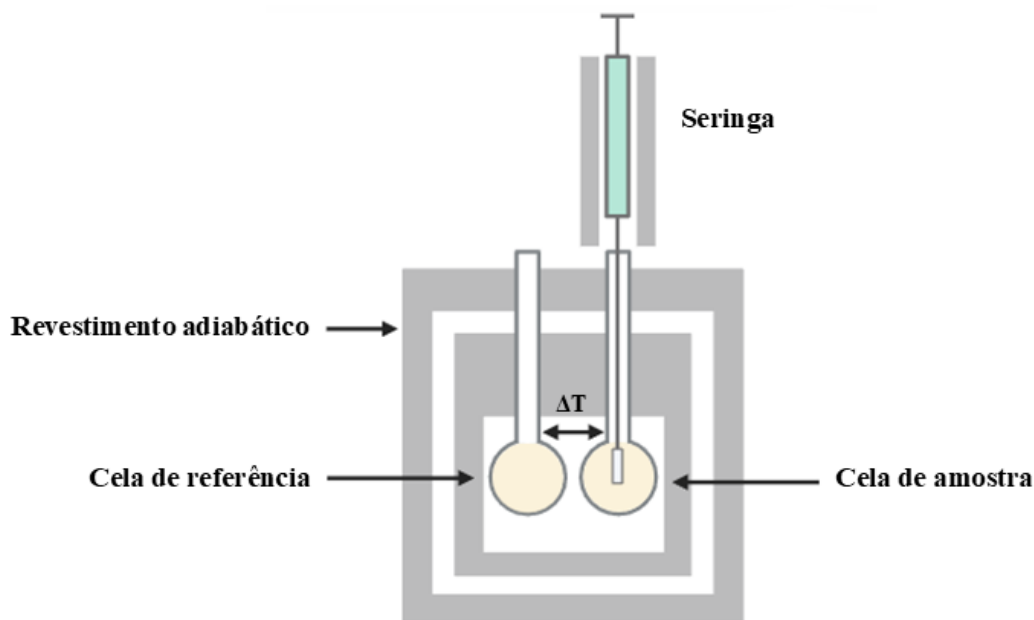


Figura 2.6 – Representação esquemática de um calorímetro de titulação isotérmica.

Durante a titulação, as injeções sucessivas do titulante promovem a interação gradual entre as espécies, gerando sinais térmicos que são integrados para a construção da isoterma de titulação. Para sistemas que apresentam interações fortes e constantes de associação elevadas, o perfil da curva obtida apresenta, de modo geral, comportamento sigmoidal (Bouchemal, 2008; Turnbull; Daranas, 2003). A partir do ajuste dos dados experimentais por modelos de regressão não linear, é possível determinar simultaneamente a ΔH° , a constante de associação (K_a) e a estequiometria (n) do composto formado. Adicionalmente, os valores de variação de energia livre de Gibbs (ΔG°) e do termo entrópico ($T\Delta S^\circ$) podem ser calculados a partir das equações termodinâmicas clássicas, permitindo uma análise abrangente do equilíbrio supramolecular estabelecido entre a CD e a molécula hóspede (Bouchemal, 2008; Freire; Mayorga; Straume, 1990; Klotz; Rosenberg, 2008; Turnbull; Daranas, 2003).

2.3.3. Ciclodextrinas associadas a materiais

Com base nas propriedades das CDs, como anfifilicidade e biocompatibilidade, essas moléculas têm sido amplamente investigadas para aplicações farmacêuticas, principalmente no desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármaco (Boczar; Michalska, 2022; Dai et al., 2025; Pandey, 2021). A incorporação estrutural dessas moléculas a outros materiais, como diferentes polímeros, modifica suas propriedades, lhes conferindo características supramoleculares e ampliando sua aplicabilidade na área farmacêutica. Diversos polímeros biocompatíveis combinados com CDs têm sido empregados como materiais capazes de controlar a liberação de fármacos e prolongar sua ação terapêutica (Beach et al., 2024; Dai et al., 2025; Morais et al., 2023; Sahu; Patra; Swain, 2023; Varela-Fernández et al., 2021).

Neste contexto, a nanotecnologia tem impulsionado o desenvolvimento de sistemas carreadores de fármaco a base de polímeros combinados com CDs, incluindo nanopartículas, nanogéis, nanofibras e nanoesponjas (Allahyari et al., 2021; Morais et al., 2023; Oktay et al., 2023; Varela-Fernández et al., 2021). Morais e colaboradores (2023) relataram a fabricação de matrizes poliméricas combinadas com HP β CD, obtidas por eletrofiação, conferindo características supramoleculares às fibras. As nanofibras foram produzidas a partir dos polímeros polimetilmetacrilato (PMMA) e poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), incorporando o sistema supramolecular envolvendo a HP β CD e o fármaco sulfadiazina de sódio (SDS), com o

objetivo de investigar seu potencial como sistema de liberação tópica. Os resultados indicaram que os materiais PMMA SDS/HP β CD e PLGA SDS/HP β CD não apresentaram citotoxicidade e demonstraram eficácia no combate a infecções cutâneas e na cicatrização acelerada (Morais et al., 2023).

De forma complementar, Varela-Fernández e colaboradores (2021) investigaram nanopartículas de quitosana combinadas à sulfo-butil-éter- β CD (SBE- β -CD), preparadas por gelificação ionotrópica e carregadas com lactoferrina, como sistema de liberação tópica de fármacos oftálmicos, visando alternativas para o tratamento de ceratocone. A matriz polimérica permitiu liberação controlada e prolongada da lactoferrina, apresentando ainda estabilidade, ausência de citotoxicidade e propriedades mucoadesivas adequadas, aumentando o tempo de permanência na superfície ocular e destacando o material como promissor nanocarreador para liberação controlada de lactoferrina (Varela-Fernández et al., 2021).

Além da incorporação em materiais poliméricos, as CDs podem compor a estrutura principal da cadeia polimérica, conectadas entre si por agentes reticulantes, como a epícloridrina. Esses materiais, denominados poli-CDs, podem formar nanoestruturas bem definidas, o que os torna interessantes para a entrega direcionada e liberação controlada de fármacos (Davis; Brewster, 2004; Gidwani; Vyas, 2014; Koopmans; Ritter, 2008; Li; Liu; Qiu, 2023; Liu et al., 2021).

Zhang e colaboradores (2022), polimerizaram β CD utilizando epícloridrina como agente reticulante, obtendo poli- β CD, aplicada como hospedeira para o pró-fármaco Pt(IV)ADA2, derivado de cisplatina modificada com adamantano. Nanopartículas supramoleculares (Pt(IV)-SSNPs) foram então preparadas, incorporando um grupo adamantano ligado a um polietilenoglicol ADA-mPEG para prolongar o tempo de circulação sanguínea. O sistema apresentou acúmulo eficiente em tumores, inibição significativa do crescimento tumoral e baixa citotoxicidade em órgãos principais, demonstrando potencial como sistema de liberação controlada em terapias antitumorais (Zhang et al., 2022b).

Embora a epícloridrina seja amplamente utilizada como agente reticulante, outros agentes podem ser empregados para formar variadas nanoestruturas poliméricas à base de CD. Dentre essas estruturas, destacam-se as nanoesponjas à base de ciclodextrinas (NECDs), que apresentam uma rede tridimensional porosa capaz de interagir com diferentes moléculas (Caldera et al., 2017; Krabicová et al., 2020; Peimanfard et al., 2022; Sherje et al., 2017; Utzeri et al., 2022c).

2.4. Nanoesponjas à base de ciclodextrinas em materiais

As nanoesponjas (NEs) constituem uma classe inovadora de polímeros, caracterizadas como estruturas tridimensionais supramoleculares nanoporosas, altamente reticuladas e insolúveis em água. Elas demonstram estabilidade em uma extensa faixa de temperatura e valores de pH. Essas estruturas porosas podem ser projetadas para incluir, transportar e liberar diferentes moléculas de forma controlada, o que as torna atrativas para aplicações farmacêuticas. Atualmente, diferentes NEs podem ser sintetizadas, variando desde os agentes reticulantes empregados na síntese até o tipo de monômero copolimerizado. Poliestireno hiper-reticulado e diferentes CDs são exemplos de materiais utilizados no preparo de NEs (Gowda et al., 2024; Sherje et al., 2017; Subramanian et al., 2012).

Dentre as NEs atualmente conhecidas, destacam-se as nanoesponjas à base de ciclodextrinas (NECDs) (Figura 2.7). Esses materiais podem ser aplicados em diferentes áreas, como remoção de poluentes de água, catálise heterogênea e liberação de fármacos (Allahyari et al., 2021; Kumari; Singh; Singhal, 2020; Sadjadi; Koohestani, 2021). Em sistemas farmacêuticos, as NECDs combinam a biocompatibilidade e baixa citotoxicidade das CDs com a estabilidade térmica e insolubilidade conferidas pela reticulação. Além disso, podem interagir com diferentes fármacos, tanto na cavidade das CDs quanto nos poros formados pela reticulação, constituindo um veículo terapêutico promissor na liberação de fármacos (Allahyari et al., 2021; Caldera et al., 2017; Peimanfard et al., 2022; Taleb et al., 2024; Utzeri et al., 2022c).

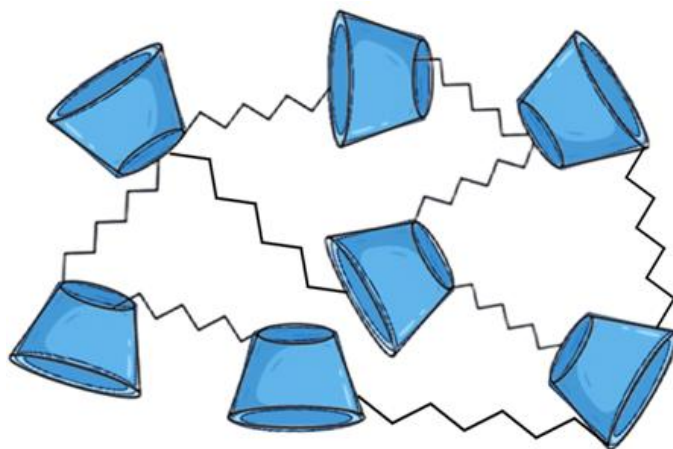


Figura 2.7 – Representação estrutural esquemática de uma NECD.

As NECDs são sintetizadas a partir do método de copolimerização, utilizando como estratégias sintéticas a química úmida, envolvendo uma reação única ou reações de múltiplas etapas, processos de síntese mecânica, com uso mínimo ou inexistente de solvente, ou ainda processos assistidos por ultrassom ou micro-ondas, que possibilitam uma expressiva redução no tempo de reação. O processo de copolimerização das CDs, para a formação dessas estruturas reticuladas, consiste na sua reação com um agente reticulante, que pode pertencer a diferentes classes, como epóxidos, carbonatos, ácidos carboxílicos, amidas e aminas (GOWDA et al., 2024; SUBRAMANIAN et al., 2012; UTZERI et al., 2022b).

Nesse contexto, Dai e colaboradores (2021) desenvolveram NECDs duplamente responsivas (pH/GSH), a partir de uma CD aminada e uma mistura de monômeros reticulantes, para a liberação controlada de doxorubicina (DOX). O material apresentou boa capacidade de carga e foi eficaz na entrega intracelular da DOX em células tumorais, respondendo ao pH endossomal e ao GSH citoplasmático, potencializando a atividade antitumoral (Dai et al., 2021).

As NECDs, portanto, constituem uma plataforma versátil para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos, combinando a capacidade de inclusão das CDs com a robustez estrutural conferida pela reticulação. Apesar de suas propriedades promissoras, o controle mais preciso da liberação e a modulação da difusão do fármaco podem ser aprimorados quando as NECDs são integradas a matrizes poliméricas adicionais, como hidrogéis. Essa abordagem híbrida permite combinar as vantagens de diferentes materiais, criando sistemas supramoleculares capazes de liberar fármacos de maneira controlada (Caldera et al., 2017; Trotta; Zanetti; Cavalli, 2012; Vashist et al., 2014).

2.5. Sistemas híbridos supramoleculares

Os sistemas híbridos de liberação de fármacos consistem em matrizes multifuncionais capazes de integrar mecanismos físico-químicos associados à incorporação, retenção e transporte de substâncias bioativas. Nesse cenário, a associação de estruturas supramoleculares, como ciclodextrinas (CDs) e nanoesponjas de ciclodextrinas (NECDs), com matrizes poliméricas contínuas, tem sido amplamente investigada como estratégia para superar limitações intrínsecas a sistemas isolados. Enquanto as CDs e NECDs atuam como sítios de inclusão molecular e reservatórios do fármaco, regulando sua disponibilidade por meio de interações supramoleculares,

a matriz polimérica impõe barreiras adicionais ao transporte, alongando o caminho difusional e conferindo estabilidade estrutural ao sistema. Como resultado, a liberação do fármaco passa a ser governada por múltiplos processos acoplados, incluindo a dissociação do composto supramolecular, a difusão através da rede polimérica e, em alguns casos, fenômenos de intumescimento ou relaxamento da matriz. Essa arquitetura hierárquica permite ampliar o controle cinético da liberação, minimizar efeitos de liberação inicial abrupta e contornar o controle difusional restrito frequentemente observado em sistemas de arquitetura simples, resultando em perfis de liberação mais previsíveis e sustentados (Lavrador et al., 2021; Omidian; Akhzarmehr; Gill, 2025; Zhao et al., 2024).

Do ponto de vista estrutural, os hidrogéis destacam-se como matrizes poliméricas particularmente adequadas para a constituição de sistemas híbridos de liberação de fármacos, em virtude de sua arquitetura tridimensional reticulada e elevada afinidade por água. Essas redes poliméricas são capazes de absorver grandes quantidades de fluido sem perda de integridade estrutural, dando origem a um microambiente aquoso semelhante ao dos tecidos biológicos, o que favorece a compatibilidade com meios fisiológicos. No contexto da liberação controlada, os hidrogéis atuam como barreiras difusionais macroscópicas, nas quais o transporte do fármaco é determinado por processos físico-químicos acoplados, incluindo a difusão através da fase aquosa da rede, o intumescimento progressivo da matriz e o relaxamento conformacional das cadeias poliméricas. A contribuição relativa de cada um desses mecanismos é diretamente influenciada pelas características químicas do polímero e pelo grau de reticulação da rede, permitindo o ajuste racional da cinética de liberação e a obtenção de perfis sustentados, previsíveis e reprodutíveis (Hoare; Kohane, 2008; Li; Mooney, 2016; Peppas et al., 2000).

Entre os polímeros utilizados na obtenção de hidrogéis para aplicações farmacêuticas, o poli(álcool vinílico) (PVA) destaca-se como uma matriz de amplo interesse, em razão de sua elevada biocompatibilidade, natureza hidrofílica e estabilidade química em condições fisiológicas. Do ponto de vista estrutural, o PVA é constituído por monômeros com grupos hidroxila ao longo da cadeia polimérica (Figura 2.8), os quais favorecem a formação de extensas interações intermoleculares por meio de ligações de hidrogênio, tanto entre cadeias adjacentes quanto entre o polímero e o meio aquoso. Essas interações atuam como pontos físicos de reticulação, desempenhando papel central na formação e estabilização das redes tridimensionais características dos hidrogéis de PVA, especialmente em sistemas obtidos por reticulação física. Como

consequência, a organização supramolecular da rede influencia diretamente propriedades fundamentais do material, como o grau de intumescimento, a permeabilidade ao transporte de solutos e a resistência mecânica, permitindo o ajuste racional dessas características em função da arquitetura da rede e das condições de processamento, com impacto direto sobre o desempenho do sistema em aplicações de liberação controlada de fármacos (Adelnia et al., 2022; Hassan; Peppas, 2000; Peppas et al., 2006).

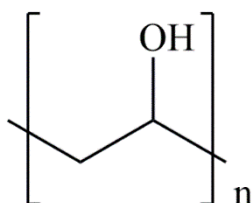


Figura 2.8 – Representação estrutural do monômero de PVA.

A obtenção desses hidrogéis pode ocorrer por reticulação física induzida por ciclos de congelamento–descongelamento. Por esse mecanismo, a formação de regiões cristalinas ao longo das cadeias poliméricas atua como pontos físicos de reticulação, promovendo a interconexão entre cadeias e conferindo estabilidade estrutural à rede. A natureza física dessa reticulação influencia diretamente propriedades como porosidade, grau de intumescimento e transporte difusional de fármacos, além de preservar a biocompatibilidade do material, em razão da ausência de agentes reticulantes químicos. Adicionalmente, a possibilidade de ajuste da estrutura do hidrogel por meio de parâmetros como concentração polimérica e número de ciclos de congelamento–descongelamento confere maior grau de controle sobre a arquitetura da rede, permitindo a modulação controlada do transporte de fármacos através da matriz polimérica (Hassan; Peppas, 2000; Stauffer; Peppast, 1992; Waresindo et al., 2023).

Com base nos fundamentos apresentados, os sistemas híbridos supramoleculares podem ser compreendidos como plataformas nas quais a liberação de fármacos é determinada pela estrutura da rede polimérica, pelas interações supramoleculares e pelos processos difusionais. Dessa forma, a combinação de uma matriz polimérica tridimensional contínua com reservatórios supramoleculares permite ajustar os processos de incorporação, retenção e liberação do fármaco. Esse conjunto de conceitos sustenta a abordagem adotada neste trabalho e orienta a definição dos objetivos apresentados a seguir.

2.6. Objetivos

2.6.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo desenvolver e avaliar sistemas híbridos supramoleculares utilizando ciclodextrinas (CDs), visando à liberação controlada do fármaco Cloridrato de Amitriptilina (AMT).

2.6.2. Objetivos específicos

- Estudar o comportamento termodinâmico da interação entre o fármaco AMT e as moléculas α CD, β CD, HP β CD, M β CD e γ CD, em diferentes temperaturas, com o intuito de selecionar a CD mais adequada para a síntese dos materiais poliméricos;
- Preparar compostos de inclusão (CIs) envolvendo o fármaco AMT como molécula hóspede e as CDs β CD, HP β CD, M β CD e γ CD como moléculas hospedeiras, utilizando o método de liofilização;
- Caracterizar os CIs formados por meio de técnicas de calorimetria de titulação isotérmica, espectroscopia vibracional na região do infravermelho e espectroscopia de ressonância magnética nuclear;
- Sintetizar nanoesponjas à base de ciclodextrina (NECDs) e caracterizá-las por meio das técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, análises termogravimétricas, espalhamento dinâmico de luz, potencial ζ e microscopia eletrônica de varredura;
- Avaliar a viabilidade da aplicação das NECDs sintetizadas como componentes de possíveis sistemas de liberação de fármaco por meio de estudos na adsorção e dessorção do AMT;
- Preparar hidrogéis de PVA pelo método de congelamento-descongelamento e caracterizá-los quanto à sua estrutura e morfologia;
- Desenvolver os sistemas híbridos constituídos pela incorporação de NECDs nos hidrogéis de PVA, avaliando sua aplicabilidade como sistemas de liberação controlada do fármaco AMT.

CAPÍTULO 3

METODOLOGIA

3. MATERIAIS E MÉTODOS

As técnicas de caracterização utilizadas no desenvolvimento deste trabalho foram realizadas na Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI), no Departamento de Química da Universidade de Coimbra (DQ-UC) e na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Todos os reagentes e solventes utilizados, assim como suas respectivas procedências, encontram-se descritos de forma detalhada ao longo do capítulo.

3.1. Descrição dos experimentos

3.1.1. Estudos termodinâmicos

Foram realizados estudos termodinâmicos da interação entre o fármaco AMT ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich) e as CDs α CD, β CD, M β CD, HP β CD e γ CD (todas $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich), em solução, utilizando a técnica de calorimetria de titulação isotérmica (ITC). Essa técnica permite obter, de forma direta e em um único experimento, os parâmetros termodinâmicos da interação entre as moléculas hóspede e hospedeira, bem como a constante de associação e a estequiometria dos sistemas supramoleculares formados (Turnbull; Daranas, 2003).

Para a construção das curvas de titulação, foi necessário ajustar as concentrações das soluções de titulante e titulado para cada sistema em estudo, até que se obtivessem curvas que apresentassem um perfil sigmoide ou em que não fosse mais observada variação de entalpia, permitindo, assim, o ajuste dessas curvas ao modelo matemático aplicado. A Tabela 3.1 apresenta a relação das soluções de titulante e titulado utilizadas no ajuste das concentrações para cada sistema em estudo.

Tabela 3.1 – Relação das soluções de titulante e titulados utilizadas no ajuste das concentrações para cada sistema em estudo.

Titulante	Concentração (mmol·L⁻¹)	Titulado	Concentração (mmol·L⁻¹)
AMT	30,0	αCD	0,5
AMT	10,0	βCD	0,5
	5,0*		0,5
AMT	5,0	MβCD	0,5
AMT	5,0	HPβCD	0,5
AMT	5,0	γCD	0,5
	10,0		0,5
	30,0*		0,5

* Concentrações utilizadas nas titulações por ITC, após os ajustes.

Após o ajuste das concentrações, as titulações calorimétricas foram realizadas em duplicata, com 25 pontos cada, e intervalo de 200 segundos entre as injeções para o sistema AMT:βCD e de 300 segundos para os demais sistemas, nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C. A primeira injeção de cada titulação, de 1 μL, foi descartada com o intuito de eliminar os efeitos de dispersão, enquanto as demais injeções, de 10 μL, foram utilizadas para a construção das curvas de titulação. Os experimentos foram realizados utilizando soluções aquosas do fármaco AMT (5,0 e 30,0 mmol·L⁻¹) como titulantes e soluções aquosas de βCD, MβCD, HPβCD e γCD (todas a 0,5 mmol·L⁻¹) como titulados. Adicionalmente, para subtrair os efeitos da interação entre os compostos e o solvente, foram realizadas titulações entre cada titulado e a água tipo I (Milli-Q®) bem como entre a água tipo I e o titulante. Todas as soluções utilizadas neste experimento foram preparadas com água tipo I como solvente.

As curvas de titulação calorimétrica, utilizadas nos estudos termodinâmicos dos CIs em solução, foram obtidas utilizando um microcalorímetro VP-ITC (Microcal®), pertencente à UNIFEI. Os gráficos obtidos foram analisados no software ORIGIN 7.0 para ITC, que utiliza o

modelo de regressão não linear no ajuste das curvas, aplicando a isoterma de Wiseman (Turnbull; Daranas, 2003).

A partir do ajuste matemático das curvas, foram determinados simultaneamente os valores do coeficiente estequiométrico (n), da constante de associação (K_a), da variação de entalpia (ΔH°) e da variação de entropia (ΔS°) dos sistemas. Com base nesses dados, foi possível calcular a variação de energia livre de Gibbs (ΔG°) e o termo entrópico ($T\Delta S^\circ$) dos sistemas, conforme as Equações 3.1 e 3.2 (Del Valle, 2004; Klotz; Rosenberg, 2008).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (\text{Equação 3.1})$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (\text{Equação 3.2})$$

3.1.2. Preparo dos compostos de inclusão

Os CIs no estado sólido, envolvendo a molécula hospedeira (AMT) e as moléculas hóspedes (β CD, $M\beta$ CD, $HP\beta$ CD e γ CD), foram preparados utilizando o método de liofilização. O referido método consiste na solubilização da molécula hospedeira e da molécula hóspede em água, para cada sistema, unindo as duas soluções. A solução resultante é mantida sob agitação até que o sistema entre em equilíbrio dinâmico. Após o período de agitação, a solução é congelada e submetida ao processo de liofilização, até a obtenção de um sólido (Del Valle, 2004).

Para definir a estequiometria dos CIs preparados no estado sólido, considerou-se os valores de n obtidos a partir da técnica de ITC. Deste modo, o CI AMT: β CD foi preparado na razão molar de 1:1, os CIs AMT: $M\beta$ CD e AMT: $HP\beta$ CD foram preparados na razão molar de 1:2, e o CI AMT: γ CD foi preparado na razão molar de 5:1.

Para o preparo do CI AMT: β CD (1:1) adicionou-se 27,7 mg de AMT (88,0 μ mol), solubilizados em 12,0 mL de água tipo I, em um béquer de 25,0 mL contendo uma solução aquosa com 100,0 mg de β CD (88,0 μ mol). O sistema foi mantido sob agitação em uma chapa magnética em temperatura ambiente por aproximadamente 16 h, com o intuito de garantir que o sistema atingisse o equilíbrio. Após o período de agitação, a solução foi congelada imediatamente com nitrogênio líquido e a solução congelada foi submetida ao processo de liofilização, utilizando um liofilizador JJ Científica do modelo LJJ104 pertencente à UNIFEI, por cerca de 72 h a -50°C

(Passos et al., 2011; Vieira et al., 2023). Para o preparo dos CIs AMT:M β CD, AMT:HP β CD e AMT: γ CD, repetiu-se o experimento descrito acima, considerando as estequiometrias indicadas anteriormente, adicionando-se 12,0 (38,4 μ mol), 11,2 (35,7 μ mol), e 121,0 (385,5 μ mol) mg de AMT solubilizados em 12,0 mL de água, em béqueres de 25,0 mL contendo uma solução aquosa de 100,0 mg de M β CD (76,8 μ mol), HP β CD (71,4 μ mol) e γ CD (77,1 μ mol), respectivamente.

De forma adicional, foram preparadas misturas físicas, mediante a mistura direta do fármaco AMT com cada molécula hospedeira (β CD, M β CD, HP β CD e γ CD) utilizando um equipamento Vortex IKA MS3 (UNIFEI). As misturas físicas foram preparadas na razão molar dos CIs preparados por liofilização e foram denominadas MF(AMT: β CD), MF(AMT:M β CD), MF(AMT:HP β CD), e MF(AMT: γ CD). Tais misturas físicas foram preparadas com o intuito de uma futura comparação com os compostos preparados utilizando o método de liofilização (Mura, 2015).

3.1.3. Síntese das Nanoesponjas

Para a síntese das nanoesponjas à base de β CD, primeiramente foi realizada a modificação da β CD em β CD-iodada (β CD-I), conforme descrito previamente na literatura (Ashton et al., 1996). Inicialmente, adicionou-se 7,87 g (30,00 mmol) de trifetilfosfina (PPh₃, \geq 99%, Thermo Scientific) a um balão de fundo redondo de 100 mL contendo 30 mL de N,N-dimetilformamida anidra (DMF, \geq 99,8%, Honeywell Research Chemicals), mantendo-se sob agitação, à temperatura ambiente, até completa dissolução. Na sequência, 7,97 g de I₂ (31,37 mmol, \geq 99,8%, PanReac Applichem) foram adicionados gradualmente à solução. Por fim, foram adicionados 2,27 g de β CD (\geq 99%, Sigma-Aldrich) e a solução resultante permaneceu sob agitação, em atmosfera inerte, a uma temperatura de 70 °C por 21 h (Figura 3.1). Após esse período, a solução foi concentrada à metade do volume, utilizando um evaporador rotativo.

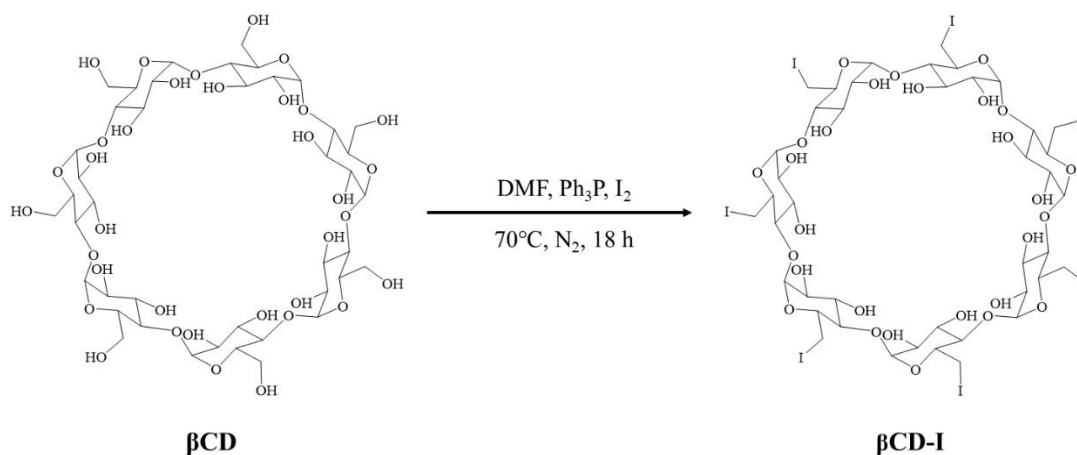


Figura 3.1 – Representação esquemática da reação de síntese da $\beta\text{CD-I}$.

Posteriormente, foram preparados 20 mL de solução de metóxido de sódio ($3,0\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), adicionando-se 1,38 g de sódio metálico ($\geq 99\%$, Chem-Lab NV) a um Erlenmeyer de 50 mL, contendo 20 mL de metanol anidro (99,8%, Chem-Lab). O sódio metálico foi adicionado gradualmente, até a dissolução completa. Este processo foi realizado em banho de gelo sob agitação. Em seguida, adicionou-se à solução concentrada 12 mL do metóxido de sódio preparado. O processo foi realizado em banho de gelo, mantendo a solução sob agitação por 30 min. Passados 30 min, a solução foi transferida para um Erlenmeyer de 250 mL, contendo 160 mL de metanol e deixada em repouso para precipitação. Após a precipitação, o sólido foi recuperado por filtração a vácuo, lavado com metanol e deixado para secar na capela. O sólido seco foi submetido à extração Soxhlet com metanol, a $95\text{ }^\circ\text{C}$, até que a coloração do solvente não fosse mais detectada. Por fim, o produto foi retirado do extrator Soxhlet, seco e armazenado em dessecador. O produto foi recuperado como um pó branco e encaminhado para RMN, para confirmar a formação da $\beta\text{CD-I}$.

A partir da $\beta\text{CD-I}$ foram preparadas βCDs funcionalizadas com amina (βCDam_x), por adaptação do método descrito por Utzeri e colaboradores (2022), que se baseia na substituição nucleofílica do iodo na posição C6 da $\beta\text{CD-I}$ pelo grupo amina (Figura 3.2) (Utzeri et al., 2022b). As sínteses foram realizadas utilizando duas diaminas, a dodecano-1,12-diamina (am_{12} , $\geq 98\%$, Tokyo Chemical Industry – TCI) e a hexano-1,6-diamina (am_6 , 98%, Sigma-Aldrich). Para a síntese da βCDam_{12} e da βCDam_6 , 0,76 g de $\beta\text{CD-I}$ (0,2 mmol) foram misturados com um excesso de 20 equivalentes de am_{12} (11,23 g) e de am_6 (6,51 g), respectivamente. Para ambas as sínteses foi necessária a adição de 2 mL de DMF e aquecimento para garantir a dissolução completa do

excesso de amina. As reações foram realizadas em um micro-ondas CEM DISCOVER, pertencente ao DQ-UC, usando um método de temperatura fixa a 95 °C, por 45 min e 10 bar. Em seguida, tanto para β CDam₁₂ quanto para β CDam₆ foram adicionados 30 mL de metanol, e a solução resultante foi adicionada, gota a gota, a um Erlenmeyer de 250 mL contendo 150 mL de éter dietílico frio ($\geq 99,8\%$, Honeywell Research Chemicals), sob agitação. A solução foi deixada em repouso para decantar. O produto foi filtrado a vácuo, dissolvido em 20 mL de metanol e precipitado mais uma vez em éter dietílico frio. Os ciclos de dissolução-precipitação foram repetidos até ser obtido um sólido solto de coloração amarelo-pálida. Os produtos foram coletados por centrifugação a 4500 rpm durante 20 min, colocados em estufa a 50 °C para secar e encaminhados para RMN.

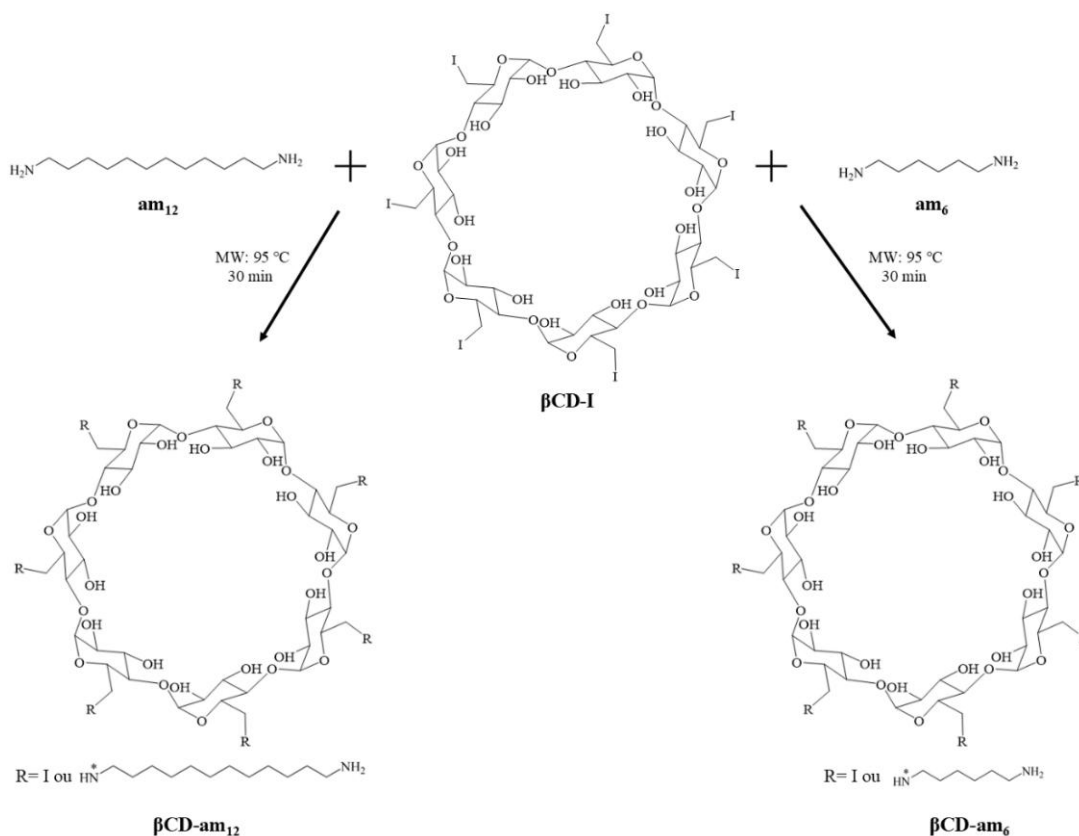


Figura 3.2 – Representação esquemática da reação de síntese da β CDam₁₂ e da β CDam₆.

Por fim, a síntese das nanoesponjas à base de CD aminada, β CDam₁₂ β CD e β CDam₆ β CD, foi realizada a partir da reação de β CD-I com β CDam₁₂ e β CDam₆, respectivamente, utilizando a razão molar de 1:1 (Russo et al., 2016; Utzeri et al., 2022b). Para a β CDam₁₂ β CD, 0,323 g de

β CDam₁₂ foi misturada mecanicamente com 0,255 g de β CD-I, e o sólido foi transferido para um balão de fundo redondo de 25 mL. Na sequência, adicionou-se 250 μ L de dimetilsulfóxido anidro (DMSO, $\geq 99,9\%$, Sigma-Aldrich) gota a gota, umedecendo o sólido. A mistura foi aquecida a 60 °C por 48 h em banho de glicerina sob agitação. Após as 48 h, o produto, com aparência de goma marrom, foi transferido para um béquer contendo 20 mL de água destilada. A solução contendo o produto foi transferida para um tubo Falcon de 50 mL e centrifugada a 8000 rpm por 20 min. O sobrenadante foi retirado, e o sólido coletado foi lavado com 10 mL de metanol e deixado em banho ultrassônico por 10 min. Passados os 10 min, a solução foi novamente centrifugada a 8000 rpm por 20 min. Foram realizados três ciclos de lavagem com metanol e uma lavagem final com 10 mL de éter dietílico. Para a síntese de β CDam₆ β CD, foi realizado o mesmo procedimento descrito acima, utilizando 0,4586 g de β CDam₆ e 0,4797 g de β CD-I. Os produtos foram colocados em estufa a 50 °C para secar e, após a secagem, foram armazenados em dessecador.

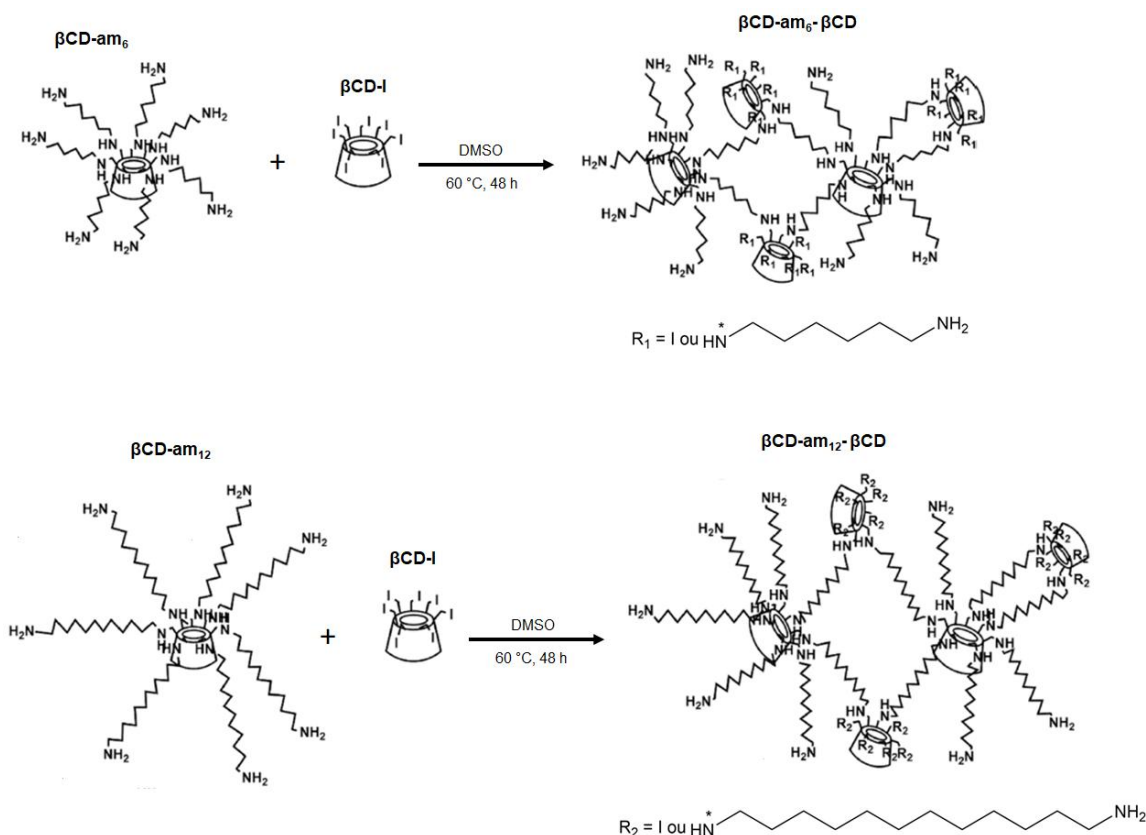


Figura 3.3 – Representação esquemática da reação de síntese das nanoesponjas β CDam₁₂ β CD e da β CDam₆ β CD. (Figura adaptada de UTZERI,2022).

3.1.4. Ensaios de adsorção do fármaco AMT

Experimentos preliminares de adsorção foram realizados para verificar a existência de interação entre o fármaco AMT ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich) e as NECDs, bem como para determinar o método mais adequado para promover a adsorção do fármaco nessas estruturas porosas. Os ensaios de adsorção foram realizados por meio de dois métodos. Em ambos 1,0, 10,0 e 50,0 mg de cada material foram colocados em contato com 1,0 mL de uma solução aquosa do fármaco AMT ($40,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). No primeiro método, as soluções em contato com as NECDs foram mantidas sob agitação em incubadora, a 150 rpm por 24h, em temperatura ambiente. Já no segundo método, as soluções em contato com as NECDs foram colocadas em banho ultrassônico por 8h, a aproximadamente $45 \text{ }^\circ\text{C}$. O fármaco AMT adsorvido foi quantificado por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), a 239 nm, aplicando-se a equação da reta obtida a partir da curva de calibração. As soluções utilizadas para a construção da curva de calibração foram preparadas a partir da diluição sucessiva de uma solução estoque de AMT em água, abrangendo uma faixa de concentração de $0,004$ a $0,072 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. A curva de calibração foi determinada a partir da média das análises realizadas em triplicata, cujo coeficiente de correlação linear foi próximo de 1 ($R^2 = 0,9997$). Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados com base no desvio padrão da resposta (σ) e na inclinação da curva analítica (S), conforme descrito nas Equações 3.3 e 3.4, respectivamente (Awotwe-Otoo et al., 2012). O desvio padrão da resposta foi obtido a partir dos resíduos da regressão linear da curva de calibração.

$$LOD = \frac{3,3\sigma}{S} \quad (\text{Equação 3.3})$$

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S} \quad (\text{Equação 3.4})$$

Após a quantificação do fármaco adsorvido, a eficiência de encapsulamento (EE%), a capacidade de carregamento (CC) e a capacidade de carregamento em porcentagem (CC%) dos materiais foram calculadas por meio das Equações 3.5, 3.6 e 3.7 respectivamente.

$$EE (\%) = \left(\frac{C_0 - C_f}{C_0} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 3.5})$$

$$CC (mmol. g^{-1}) = \left(\frac{C_0 - C_f}{m_M} \right) \times V \quad (\text{Equação 3.6})$$

$$CC (\%) = \left(\frac{m_E}{m_E + m_M} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 3.7})$$

A concentração inicial do fármaco (C_0) corresponde à concentração da solução antes do contato com as NECDs, enquanto a concentração final (C_f) representa a concentração residual do fármaco em solução após o contato com as NECDs, ambas determinadas por UV-Vis. V é o volume da solução (L), m_M é a massa do material (g) e m_E corresponde à massa do fármaco encapsulado (Akolade et al., 2018; Hussien; Işıklan; Türk, 2018; Pyrak et al., 2024).

Adicionalmente, também foram realizados ensaios preliminares de desorção do fármaco AMT para os sistemas mais eficientes, e assim, verificar a viabilidade deles em futuros estudos de liberação de fármaco. Logo, as NECDs carregadas foram colocadas em 10,0 mL de água tipo I e mantidas sob agitação em incubadora, a 150 rpm por 70h, em temperatura ambiente. Posteriormente, o fármaco libertado foi quantificado conforme descrito anteriormente para os estudos de adsorção, e a eficiência de liberação (EL%) foi calculada, conforme a Equação 3.8, onde $C_{lib.}$ é a concentração do fármaco liberada em solução e $C_{enc.}$ é a concentração do fármaco que havia sido encapsulada, previamente, nos materiais (Akolade et al., 2018; Hussien; Işıklan; Türk, 2018).

$$EL (\%) = \left(\frac{C_{lib.}}{C_{enc.}} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 3.8})$$

3.1.5. Preparo dos hidrogéis de PVA

Foram preparados hidrogéis de PVA (98% hidrolisado, 61.000 g·mol⁻¹, Aldrich Chemistry) nas concentrações de 14 e 20% m/v, contendo apenas o polímero ou incorporados com o fármaco AMT. Também foram preparados hidrogéis de PVA (20% m/v) contendo o composto

de inclusão AMT:βCD e as NECDs previamente carregadas com AMT, utilizando o método de congelamento-descongelamento (Papanca et al., 2008).

Soluções aquosas de PVA, nas concentrações de 14 e 20% m/v, foram preparadas dissolvendo-se 3,5 e 5,0 g do polímero, respectivamente, em 25,0 mL de água tipo I a 90 °C, sob agitação contínua por 4h. Os compostos a serem incorporados foram previamente dissolvidos em 1,0 mL da solução de PVA, e as misturas resultantes foram mantidas sob agitação por 1h. Após o período de agitação, as soluções foram moldadas em placa de Petri com poços de 16,25 mm de diâmetro e submetidas a ciclos de congelamento e descongelamento, em intervalos de 12h. Estes ciclos foram repetidos três vezes para a formação dos hidrogéis.

3.1.6. Grau de intumescimento

O grau de intumescimento dos hidrogéis de PVA (14 e 20% m/v) foi avaliado utilizando água como solvente, seguindo procedimentos descritos previamente na literatura (Filho et al., 2020). Cada hidrogel foi pesado e posteriormente imerso em água tipo I. Na sequência a massa do hidrogel foi medida em diferentes tempos, secando as gotículas superficiais com papel antes da pesagem. O grau de intumescimento foi calculado a partir da média de três medições independentes, utilizando a Equação 3.9:

$$Q_s = \frac{(M_s - M_x)}{M_x} \quad (\text{Equação 3.9})$$

onde, Q_s é o grau de intumescimento, M_s é massa do hidrogel intumescido e M_x é a massa do xerogel. A massa dos xerogéis foi determinada usando o peso da amostra anterior ao intumescimento, considerando o teor sólido do gel.

A diferença estatística entre os grupos de hidrogéis formulados com 14 e 20% de PVA, foi avaliada realizando o teste t de *Student* para duas amostras independentes com variâncias desiguais. As amostras consideradas representaram os valores em equilíbrio de intumescimento obtidos experimentalmente. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$). Quando o p-valor obtido foi inferior a esse limite, considerou-se que havia diferença estatística significativa entre os grupos comparados.

Por fim, para avaliar o mecanismo de sorção de água, a cinética de intumescimento foi investigada aplicando diferentes modelos cinéticos, conforme detalhado na Tabela 3.2. O ajuste dos modelos cinéticos foi avaliado usando o coeficiente de determinação (R^2) e o Critério de Informação de Akaike (AIC), calculado a partir da Equação 3.10:

$$AIC = n \log \left(\frac{s^2}{n} \right) + 2K \quad (\text{Equação 3.10})$$

onde n é o número de pontos experimentais, s^2 é a soma residual dos quadrados, e K é o número de parâmetros do modelo.

Tabela 3.2 – Modelos cinéticos empregados para a análise do grau de intumescimento e da liberação do fármaco.

Modelo	Equação	Sigla	Parâmetros – Intumescimento	Parâmetros – Liberação
Pseudo-primeira ordem	$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t})$	q_t q_e k_1 t	Grau de intumescimento no tempo t Grau de intumescimento Constante de velocidade de primeira ordem Tempo	Quantidade de fármaco liberada no tempo t Quantidade de fármaco liberado no equilíbrio Constante cinética de liberação Tempo
Pseudo-segunda ordem	$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t}$	q_t q_e K_2 t	Grau de intumescimento no tempo t Grau de intumescimento Constante de velocidade de segunda ordem Tempo	Quantidade de fármaco liberada no tempo t Quantidade total de fármaco liberado no equilíbrio Constante cinética de liberação Tempo
Peppas	$q_t = kt^n$	q_t k n t	Grau de intumescimento no tempo t Constante empírica relacionada ao intumescimento Expoente indicativo do mecanismo de intumescimento Tempo	Quantidade de fármaco liberada no tempo t Constante empírica relacionada à liberação Expoente indicativo do mecanismo de liberação Tempo
Higushi	$Q = K_H \sqrt{t}$	Q K_H t	Grau de intumescimento Constante de Higuchi associada à difusão do solvente Tempo	Quantidade de fármaco liberado Constante de Higuchi associada à difusão do fármaco Tempo

3.1.7. Estudo de cinética de liberação

O estudo cinético de liberação foi conduzido utilizando um equipamento de liberação automatizado da empresa Hsensor Equipamentos, Materiais e Acessórios LTDA. Os hidrogéis avaliados neste ensaio foram os mesmos descritos na seção 2.1.5, contendo AMT sob diferentes formas de incorporação.

Os experimentos foram realizados sob agitação constante de 150 rpm, à temperatura controlada de 25 °C, utilizando 200 mL de água tipo I como meio de liberação. As amostras de hidrogel contendo o fármaco AMT foram imersas no meio, e as medições da liberação foram realizadas automaticamente a cada 3 min, durante um período total de 14h. Em intervalos regulares, alíquotas do meio foram analisadas por espectroscopia UV-Vis, com leitura a 239 nm, para quantificação da concentração de AMT liberada ao longo do tempo.

Os dados obtidos foram utilizados para construção dos perfis de liberação e, posteriormente, ajustados aos modelos cinéticos apresentados detalhadamente na Tabela 3.2. Os dados experimentais de grau de intumescimento e de liberação do fármaco foram ajustados aos mesmos modelos cinéticos. É importante ressaltar que, embora as equações matemáticas sejam idênticas, os parâmetros assumem significados físicos distintos conforme o fenômeno avaliado, descrevendo, respectivamente, os processos de absorção de solvente pela matriz polimérica e de liberação do fármaco.

As diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste t de *Student* ou, quando apropriado, pela Análise de Variância unidirecional (one-way ANOVA). Nos casos em que a ANOVA indicou significância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas de Tukey (Tukey's Honestly Significant Difference, HSD). Adotou-se um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$), sendo consideradas estatisticamente significativas as comparações cujo valor de p foi inferior a esse limite.

3.2. Descrição das técnicas de caracterização

3.2.1. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Foram obtidos espectros de absorção na região do infravermelho dos CIs preparados por liofilização, de suas respectivas misturas físicas e dos compostos livres β CD, HP β CD, M β CD, γ CD e AMT, com 64 varreduras por amostra e uma resolução espectral de 4 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos em um espectrômetro Spectrum 100 (Perkin Elmer®) utilizando acessório de reflectância total atenuada com transformada de Fourier (FTIR-ATR), na região entre 4000 e 650 cm^{-1} , pertencente à UNIFEI.

A técnica de FTIR-ATR também foi utilizada para caracterizar as NECDs sintetizadas. Os espectros foram obtidos com 64 varreduras por amostra, resolução espectral de 4 cm^{-1} , utilizando um espectrômetro Thermo Scientific Nicolet 380 com acessório ATR, pertencente ao DQ-UC. Para caracterização da molécula β CD-I a técnica de FTIR foi empregada utilizando pastilhas de KBr como suporte. Nesse caso, os espectros foram obtidos em um espectrômetro Thermo Scientific Nicolet 6700, pertencente ao DQ-UC, na região de 4000 a 400 cm^{-1} , com 64 varreduras por amostra e resolução espectral de 4 cm^{-1} .

Adicionalmente, a estrutura química dos hidrogéis de PVA (14 e 20% m/v) foi caracterizada por FTIR-ATR. Para essa análise, os hidrogéis de PVA puro foram previamente congelados em nitrogênio líquido e posteriormente liofilizados por 24 h (FreeZone 4.5 – Labconco). Os espectros foram registrados em um espectrômetro Thermo Scientific Nicolet 380, na região de 4000 a 650 cm^{-1} .

3.2.2. Ressonância magnética nuclear

Os CIs preparados por liofilização e o fármaco AMT foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética (RMN), a partir da combinação de experimentos uni e bidimensionais. Foram conduzidos experimentos de RMN de ^1H e *Rotating Frame Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy* – ROESY (1H-1H). As amostras foram preparadas utilizando 10,0 mg de cada composto em 0,7 mL de D_2O , e os experimentos foram realizados em um equipamento Bruker AVANCE NEO 600 MHz, pertencente ao DQ-UFMG.

A técnica de RMN também foi empregada para confirmar a eficiência da substituição da β CD-I e das CDs aminadas, β CDam₆ e β CDam₁₂, para a síntese das NECDs, utilizando experimentos de RMN de ¹H. As amostras foram preparadas utilizando 10,0 mg de composto em 0,7 mL de DMSOd₆, e as análises foram realizadas em um equipamento Bruker AVANCE III HD 400 MHz, pertencente ao DQ-UC.

3.2.3. Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível

A espectrometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) foi utilizada para a construção da curva de calibração e para a quantificação do fármaco AMT nos ensaios de adsorção e dessorção do fármaco. Essa técnica também foi utilizada no estudo de cinética de liberação para a quantificação do fármaco AMT liberado dos hidrogéis. As medidas foram realizadas em espectrofotômetro UV-2600i (Shimadzu®), pertencente ao DQ-UC, utilizando cubeta de quartzo, mediante os valores de absorbância máxima no comprimento de onda 239 nm.

3.2.4. Análises termogravimétricas

A estabilidade térmica dos compostos foi determinada por análise termogravimétrica (TG/DTG) utilizando equipamento analisador termogravimétrico TG209 F3 (Netzsch Tarsus®) pertencente ao DQ-UC. A análise foi realizada usando 3,0 mg de amostra, sob atmosfera de N₂ com um fluxo de 50 mL min⁻¹. As amostras foram aquecidas em cadinho de alumina na faixa de temperatura de 20 a 600 °C, empregando uma razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹. Foram obtidas curvas TG/DTG para a β CD, a β CD-I, a β CDam₆, a β CDam₁₂ e para as NECDs, β CDam₆ β CD, β CDam₁₂ β CD, e para os hidrogéis de PVA (14 e 20% m/v).

3.2.5. Espalhamento dinâmico de luz e potencial ζ

As medidas de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial ζ utilizados na caracterização das NECDs, β CDam₁₂ β CD e β CDam₆ β CD, foram realizadas em equipamento Zetasizer ZS NanoSeries (Malvern Instruments®) pertencente ao DQ-UC, utilizando uma célula zeta capilar dobrada (Malvern Panalytical, DTS1070). As medições foram realizadas utilizando

1,0 mg de cada NECD dispersa em 2,0 mL de água tipo I (Milli-Q®), em temperatura ambiente, no intervalo de pH entre 2 e 12, e um ângulo de detecção de 173°. As amostras foram submetidas a um feixe de laser He-Ne de comprimento de onda de 632, nm e os dados obtidos foram analisados em software Zetasizer V8.02.

3.2.6. Microscopia eletrônica de varredura

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi aplicada para analisar a morfologia das NECDs livres e carregadas com AMT, bem como dos hidrogéis de PVA (14 e 20% m/v) preparados. As análises foram realizadas utilizando um microscópio eletrônico JEOL, modelo JSM 5310, operando a 15 kV, pertencente ao Laboratório de Ensaio, Desgaste e Materiais (LED&MAT) do Instituto Pedro Nunes (IPN). Para as análises, as amostras dos hidrogéis de PVA foram submetidas a tratamento criogênico, sendo mergulhadas em nitrogênio líquido e posteriormente liofilizadas (Zona Franca 4.5 – Labconco). Em seguida, todas as amostras foram revestidas com uma camada de ouro para permitir a análise superficial.

CAPÍTULO 4
RESULTADOS E DISCUSSÕES:

**Caracterização termodinâmica e estrutural dos sistemas
supramoleculares**

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES: Caracterização termodinâmica e estrutural dos sistemas supramoleculares

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos na caracterização termodinâmica e estrutural de sistemas supramoleculares formados entre o fármaco AMT e diferentes CDs, naturais e modificadas, com o objetivo de avaliar a influência do tamanho da cavidade e da presença de grupos substituintes na estrutura da molécula hospedeira sobre os parâmetros de interação com o fármaco. Os sistemas AMT: α CD, AMT: β CD, AMT:M β CD, AMT:HP β CD e AMT: γ CD foram caracterizados termodinamicamente por meio da técnica de ITC, em diferentes temperaturas, e estruturalmente por técnicas espectroscópicas (FTIR-ATR e RMN).

4.1. Estudos termodinâmicos

A calorimetria de titulação isotérmica (ITC) é uma das técnicas mais relevantes no estudo dos aspectos termodinâmicos e do processo de formação de sistemas supramoleculares, em solução, envolvendo CDs, pois nesses sistemas os processos reacionais envolvem a quebra e a formação de interações intermoleculares (TURNBULL e DARANAS, 2003; BOUCHEMAL, 2008). Deste modo, a técnica de ITC foi utilizada para a obtenção das estequiometrias (n), das constantes de associação (K_a), bem como dos parâmetros termodinâmicos (ΔH° , ΔG° e $T\Delta S^\circ$) da interação entre o fármaco AMT e diferentes CDs naturais e modificadas. Para os sistemas propostos, seguem suas respectivas siglas: AMT: α CD, AMT: β CD, AMT:M β CD, AMT:HP β CD, AMT: γ CD.

4.1.1. Sistema AMT: α CD

Para a análise da interação entre a molécula α CD e o fármaco AMT, foram realizadas titulações a 25 °C utilizando uma solução aquosa do fármaco na concentração de 30,0 mmol·L⁻¹ como titulante e uma solução aquosa de α CD, a 0,5 mmol·L⁻¹, como titulado. A Figura 4.1(a) apresenta as curvas de diluição obtidas utilizando o solvente (água do tipo I) e as soluções de AMT

e α CD, as quais foram subtraídas a fim de eliminar os efeitos das interações entre os compostos e o solvente, bem como a curva de titulação da α CD em solução aquosa do fármaco.

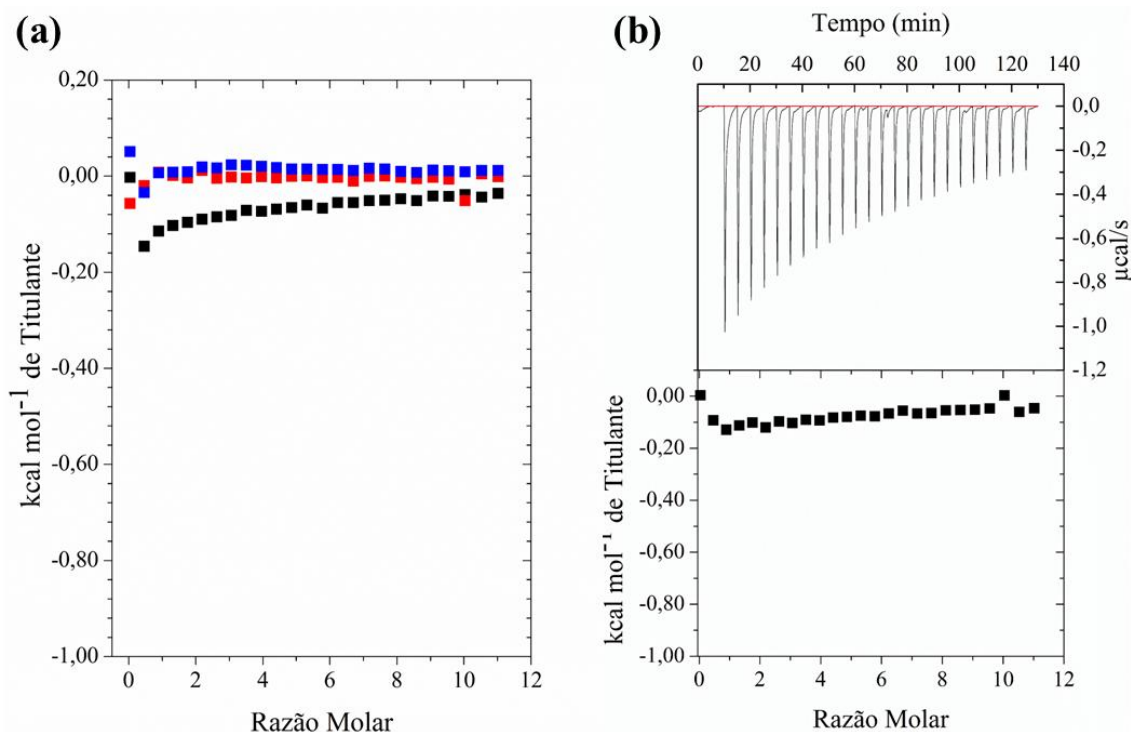


Figura 4.1 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 30,0 mmol·L⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em α CD 0,5 mmol·L⁻¹; ■ AMT 30,0 mmol·L⁻¹ em α CD 0,5 mmol·L⁻¹. (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação.

Analisando os resultados, mesmo com a elevada concentração de titulante (AMT a 30,0 mmol·L⁻¹) e a baixa concentração de titulado (α CD a 0,5 mmol·L⁻¹), correspondente a uma razão molar de 60:1 (AMT: α CD), após a subtração das curvas de diluição não foi obtido um perfil de curva que se ajustasse ao modelo matemático aplicado. A titulação indicou baixa interação entre as moléculas, evidenciada pela pequena diferença de calor resultante da interação, a qual pouco variou ao longo da titulação (Figura 4.1(b)). Logo, os resultados obtidos para esse sistema sugerem que o fármaco AMT não interage com a molécula α CD.

A ausência de interação entre as espécies pode ser atribuída ao tamanho do fármaco AMT em relação ao diâmetro da cavidade da α CD (4,7 Å). A α CD possui cavidade com menor diâmetro do que as demais CDs naturais, o que dificulta a inclusão total ou parcial de moléculas maiores,

esperando-se interações mais efetivas com moléculas pequenas (Davis; Brewster, 2004; Park et al., 2022; Santos et al., 2021).

Limitações na interação em função do tamanho da cavidade foram relatadas para outras moléculas com α CD. Por exemplo, em um estudo comparativo dos parâmetros termodinâmicos envolvendo derivados de 1,2,4-tiadiazol e diferentes CDs, naturais e modificadas, foram observados valores de K_a muito pequenos para os sistemas envolvendo a α CD. Esses resultados indicaram que a interação da α CD com a maioria das moléculas hóspedes estudadas é mais fraca em comparação com os sistemas envolvendo β CD e γ CD, sugerindo que o tamanho da cavidade pode dificultar a interação entre as espécies (Terekhova et al., 2017). De modo semelhante, uma baixa afinidade com a α CD também foi observada por Morais e colaboradores em um estudo termodinâmico entre o fármaco Cloridrato de Biperideno (BPR) e diferentes CDs, no qual o sistema α CD:BPR apresentou valor de K_a inferior a 447, reforçando que o tamanho da cavidade limita a interação entre BPR e a cavidade hidrofóbica do hospedeiro (Morais et al., 2024).

4.1.2. Sistema AMT: β CD

Com o intuito de verificar o efeito do aumento do tamanho da cavidade da molécula hospedeira (β CD) nos parâmetros de interação com o fármaco AMT, a análise pela técnica de ITC foi inicialmente realizada a 25 °C, utilizando uma solução aquosa de AMT, na concentração de 10,0 mmol·L⁻¹, como titulante, e uma solução aquosa de β CD, a 0,5 mmol·L⁻¹, como titulado. Os resultados obtidos para essa titulação indicaram um excesso de titulante, ou seja, nessa concentração de AMT, as primeiras injeções foram suficientes para saturar a solução, interagindo completamente com a β CD presente na cela de titulação. Esse efeito pode ser observado pelos últimos pontos da curva de titulação, que se mantiveram constantes, indicando uma variação de entalpia próxima de zero (Figura 4.2 – superior). O excesso de titulante é evidenciado na curva obtidas após a integração dos picos, a qual apresenta um número maior de pontos ao final, resultando em um desvio do perfil sigmoide esperado (Figura 4.2 – inferior).

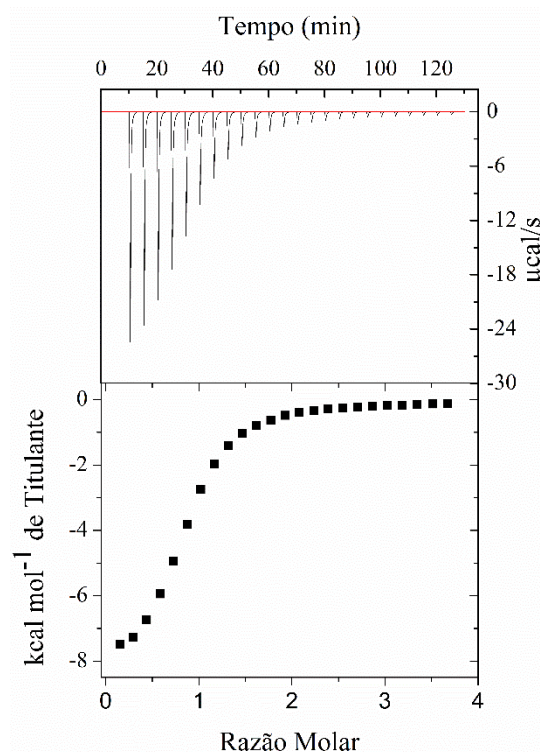


Figura 4.2 – Perfil de titulação a 25 °C de AMT 10,0 mmol·L⁻¹ em βCD 0,5 mmol·L⁻¹.

Sendo assim, com o intuito de descrever melhor a interação entre a βCD e a molécula de AMT, a solução de AMT foi diluída para 5,0 mmol·L⁻¹, mantendo-se a concentração da solução de βCD em 0,5 mmol·L⁻¹. As curvas de diluição entre a água tipo I e as soluções de AMT e βCD, as quais foram subtraídas da curva de titulação, encontram-se apresentadas na Figura 4.3(a). A curva final apresentou um perfil sigmoide, e os sinais finais de diferença de calor foram constantes e próximos de zero, conforme esperado (Figura 4.3(b)).

Os parâmetros termodinâmicos obtidos a partir do ajuste não-linear da curva estão descritos na Tabela 4.1, não apenas para o sistema a 25 °C, mas também para as outras temperaturas investigadas.

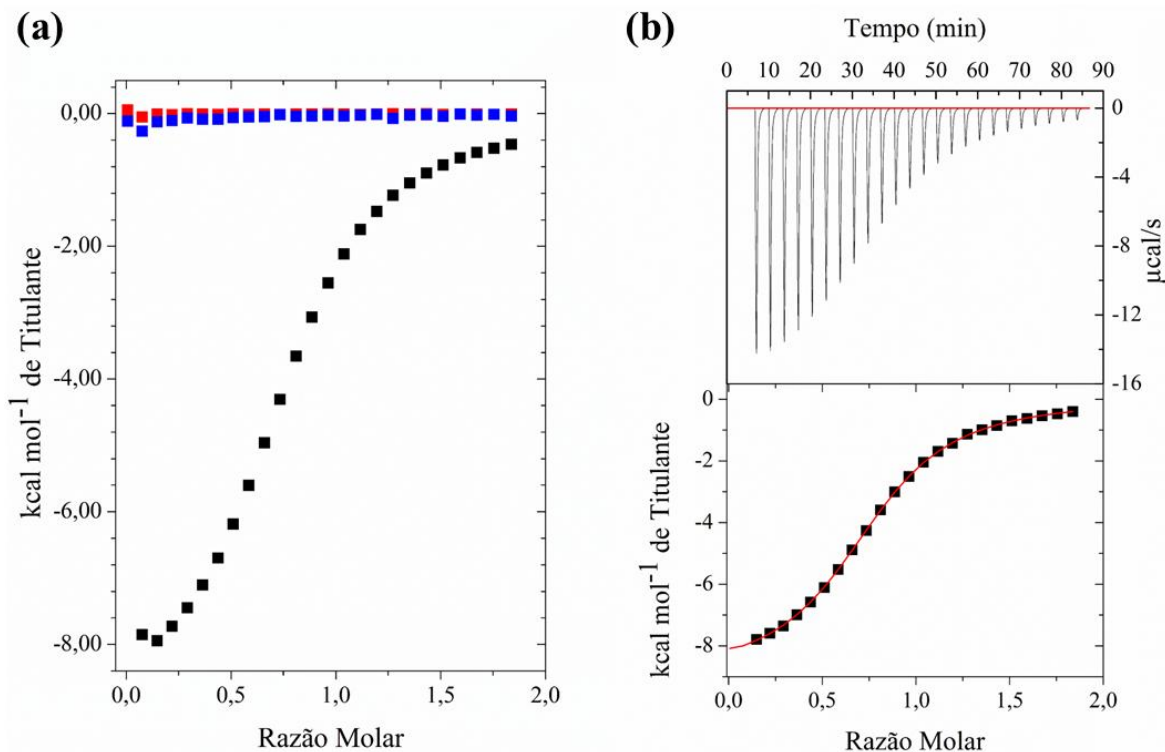


Figura 4.3 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em βCD 0,5 mmol·L⁻¹; ■ AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em βCD 0,5 mmol·L⁻¹. (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear.

Tabela 4.1 – Parâmetros termodinâmicos para os sistemas AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em βCD 0,5 mmol·L⁻¹ a 15, 25, 35 e 45 °C.

T (°C)	N	K _a	ΔH° / kJ·mol ⁻¹	TΔS° / kJ·mol ⁻¹	ΔG° / kJ·mol ⁻¹
15	0,8 ± 0,0	38.800,0 ± 141,4	-34,1 ± 0,2	-8,7 ± 0,0	-25,3 ± 0,0
25	0,8 ± 0,0	24.100,0 ± 141,4	-36,2 ± 1,7	-11,3 ± 1,6	-25,0 ± 0,0
35	0,8 ± 0,0	16.200,0 ± 282,8	-40,3 ± 0,1	-15,5 ± 0,2	-24,8 ± 0,0
45	0,8 ± 0,0	9.950,0 ± 70,7	-43,6 ± 0,2	-19,3 ± 0,1	-24,4 ± 0,0

A partir do ajuste da curva obteve-se um coeficiente estequiométrico de 0,8 ± 0,0. O valor fracionado sugere a formação de múltiplos equilíbrios em solução, o que é um indício da presença de CIs com diferentes estequiometrias coexistindo em equilíbrio. A formação de equilíbrios múltiplos em solução vem sendo relatada em outros sistemas supramoleculares envolvendo CDs e diferentes moléculas hóspedes, sendo identificados por técnicas de caracterização como ITC,

RMN, infravermelho em solução e cálculos computacionais (De Paula et al., 2012; De Sousa et al., 2008a; Meira et al., 2018; Passos et al., 2011; Vieira et al., 2023).

A curva obtida apresenta um perfil sigmoide característico de sistemas com altos valores de K_a já descritos em literatura (De Sousa et al., 2008b; Meira et al., 2018; Turnbull; Daranas, 2003; Vieira et al., 2023). Valores de K_a elevados fornecem indícios de interações efetivas entre as espécies, visto que indicam a presença de uma maior concentração de CI do que de espécies livres, em solução (Klotz; Rosenberg, 2008). O valor de K_a estimado, $24.100,0 \pm 141,4$, é relativamente alto quando comparado a outros estudos de CI envolvendo a β CD reportados em literatura (De Paula et al., 2012; Denadai et al., 2007; Meira et al., 2018; Morais et al., 2017). Logo, este alto valor de K_a sugere a existência de uma forte interação entre o fármaco AMT e a β CD.

A partir dos valores de ΔH° e ΔS° , obtidos pelo programa, foi possível calcular ΔG° e $T\Delta S^\circ$ utilizando as equações termodinâmicas descritas no capítulo 3, secção 3.1.1. O processo de formação do CI se mostrou espontâneo, dado o valor negativo de ΔG° ($-25,0 \pm 0,0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), e exotérmico ($\Delta H^\circ = -36,2 \pm 1,7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).

A contribuição entálpica (ΔH°) envolvida na formação de CIs está associada à quebra e à formação de interações. Nesse contexto, o processo exotérmico observado, com um elevado valor de ΔH° , pode ser atribuído à saída das moléculas de água do interior da cavidade da β CD, ocorrendo simultaneamente à formação de novas interações intermoleculares entre a β CD e o fármaco AMT, o que é compatível com o alto valor de K_a estimado (Klotz; Rosenberg, 2008; Liu; Guo, 2002; Rekharsky; Inoue, 1998).

O termo entrópico está relacionado com o grau de organização do sistema como um todo, deste modo, o valor negativo de $T\Delta S^\circ$ ($-11,3 \pm 1,6 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) pode estar relacionado a uma arquitetura mais rígida assumida pelas espécies após o processo de inclusão, apresentando menor liberdade conformacional do que as espécies livres (REKHARSKY e INOUE, 1998; REKHARSKY et al., 2002; DENADAI et al., 2007; KLOTZ e ROSENBERG, 2008).

O processo de formação de CI favorecido entropicamente apresenta $T\Delta S^\circ$ grande e positivo, enquanto a ΔH° do processo é pequena, $|\Delta H^\circ| < |T\Delta S^\circ|$. Já processos favorecidos pela entalpia apresentam um ganho entrópico pequeno ou negativo com alta contribuição entálpica $|\Delta H^\circ| > |T\Delta S^\circ|$ (Bouchemal, 2008; Inoue et al., 1993; Rekharsky; Inoue, 1998). Deste modo,

considerando a elevada contribuição entálpica e a redução do termo entrópico, conclui-se que o processo de formação do CI AMT: β CD é favorecido entalpicamente.

Um comportamento termodinâmico muito semelhante foi observado por De Sousa e colaboradores (2008). No referido trabalho, os autores realizaram experimentos de ITC, também a 25 °C, envolvendo a β CD e o fármaco cloridrato de imipramina, o qual possui estrutura similar à do AMT, como pode ser observado na Figura 4.4. Os dados termodinâmicos obtidos pelos autores mostraram um processo de formação espontâneo ($\Delta G^\circ = -21,9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) com elevada contribuição entálpica ($\Delta H^\circ = -30,6 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) associada a um termo entrópico negativo ($T\Delta S^\circ = -8,7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), caracterizando um processo entalpicamente favorecido. Os autores também obtiveram coeficiente estequiométrico fracionado ($n = 0,73$), sugerindo que, para o sistema em estudo, compostos com mais de uma estequiometria poderiam coexistir em solução. Quanto ao valor de K_a obtido no estudo supracitado ($K_a = 6.832,0$), embora seja inferior ao observado para a interação com o AMT, trata-se ainda de um valor relativamente alto, indicando uma forte interação entre a β CD e o fármaco cloridrato de imipramina (De Sousa et al., 2008a). Os resultados semelhantes observados corroboram os dados obtidos no estudo termodinâmico do sistema AMT: β CD, uma vez que tal semelhança é esperada, considerando a similaridade estrutural entre os dois fármacos associados à mesma CD e avaliados sob condições de temperatura idênticas.

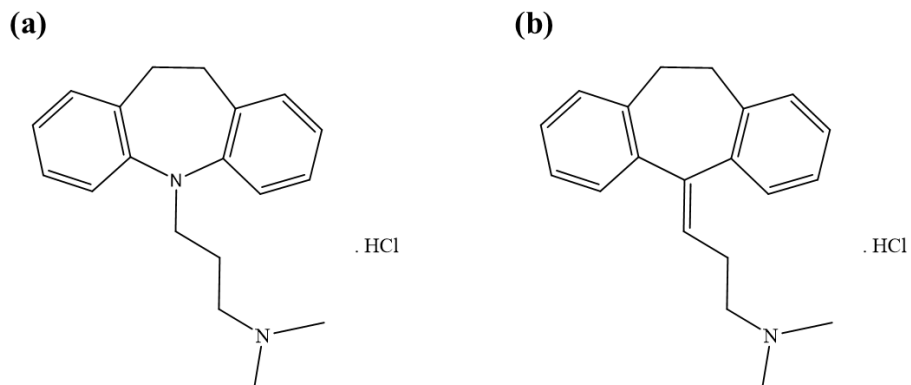


Figura 4.4 – Fórmula estrutural do (a) Cloridrato de Imipramina e (b) Cloridrato de Amitriptilina (AMT).

Adicionalmente, com o intuito de observar o perfil termodinâmico em diferentes temperaturas, também foram realizadas titulações a 15, 35 e 45 °C, nas concentrações ajustadas. O

perfil de cada titulação, após a subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear, está apresentado na Figura 4.5 e os parâmetros termodinâmicos obtidos estão descritos na Tabela 4.1.

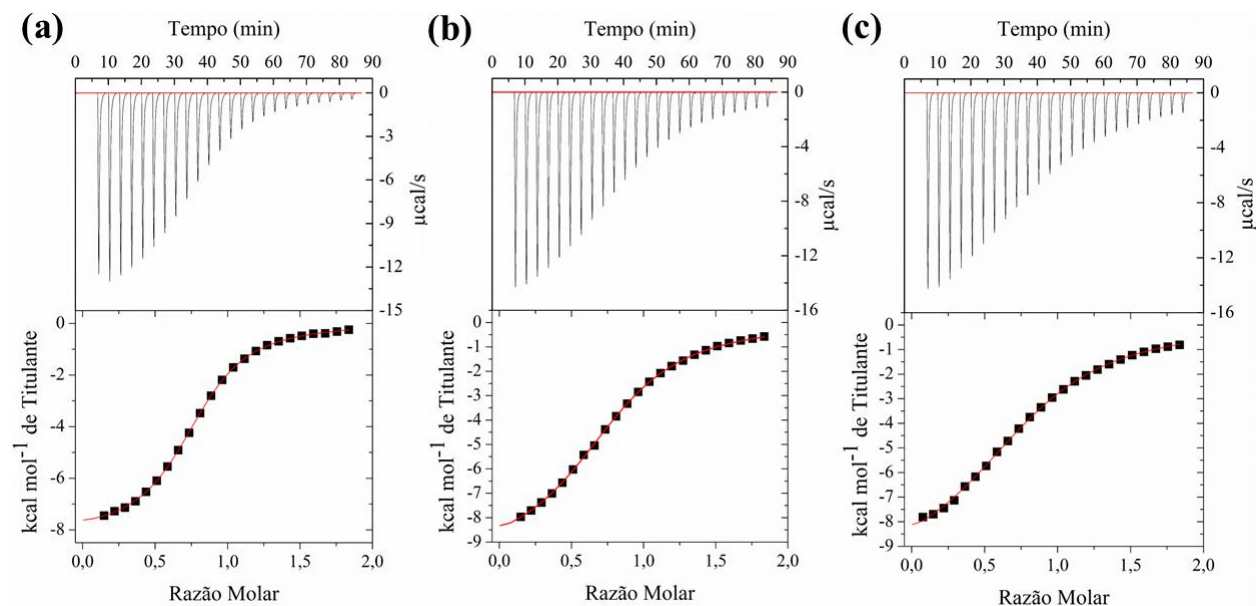


Figura 4.5 – Curva final para o sistema AMT:βCD após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear a (a) 15 °C (b) 35 °C e (c) 45 °C.

A partir dos resultados obtidos, verificaram-se valores de $n = 0,8$ para as três temperaturas em estudo. Assim, mesmo com a variação de temperatura, os coeficientes estequiométricos obtidos indicam a presença de equilíbrios múltiplos em solução, conforme previamente descrito para o sistema a 25 °C. Ao analisar os valores de K_a , observou-se que o aumento da temperatura desfavorece a interação entre as espécies, entretanto, os valores permanecem relativamente altos, indicando uma forte afinidade entre a βCD e o fármaco AMT. Comportamentos semelhantes, nos quais o aumento da temperatura resulta na diminuição dos valores de K_a , já foram reportados em outros sistemas envolvendo a βCD, inclusive em estudos desenvolvidos pelo grupo de pesquisa nos últimos anos. Em 2018, Meira e colaboradores realizaram estudos de ITC envolvendo a βCD e o Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), o Atenolol (ATE) e o Losartan Potássico (LOS), nas temperaturas de 25, 37 e 47 °C, sendo observada a diminuição dos valores de K_a à medida que a temperatura do sistema aumentava (Meira et al., 2018). De forma similar, em 2023, esse fenômeno foi observado por Vieira e colaboradores para o sistema envolvendo a βCD e o fármaco Cloridrato

de Biperideno (BPR), nas temperaturas de 37, 47 e 57 °C (Vieira et al., 2023). Os valores correspondentes a esses sistemas encontram-se apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Valores de K_a para sistemas desfavorecidos pelo aumento da temperatura envolvendo a β CD obtidos no grupo de pesquisa nos últimos anos.

Sistemas	Temperaturas (°C)	K_a	Autores
SDS: β CD	25	22.450,0	MEIRA <i>et al.</i> , 2018
	37	17.600,0	
	47	16.400,0	
ATE: β CD	25	1.505,0	MEIRA <i>et al.</i> , 2018
	37	602,0	
	47	515,5	
LOS: β CD	25	799,5	MEIRA <i>et al.</i> , 2018
	37	505,0	
	47	385,0	
BPR: β CD	37	6.350,0	VIEIRA <i>et al.</i> , 2023
	47	4.310,0	
	57	3.060,0	

Conforme mencionado anteriormente, a formação dos CIs depende das interações intermoleculares estabelecidas entre as moléculas hóspede e hospedeira. Temperaturas mais elevadas podem desestabilizar os compostos formados, reduzindo a força dessas interações, o que leva à liberação da molécula hóspede, ao deslocamento do equilíbrio para a forma dissociada e, conseqüentemente, à diminuição do valor de K_a . Dados da literatura relatam que CIs são formados preferencialmente quando temperaturas mais baixas são empregadas no processo de preparo (Del Valle, 2004; Hedges, 1998; Passos et al., 2013). Passos e colaboradores (2013) também observaram, a partir de um estudo de ITC entre a Sertralina (SRT) e a β CD, que os valores de K_a são mais pronunciados a temperaturas mais baixas. De forma complementar, os autores prepararam CIs no estado sólido utilizando diferentes temperaturas nos métodos de preparo, e os experimentos de RMN bidimensionais (2D ROESY) demonstraram que a SRT apresentou uma inclusão preferencial na cavidade da β CD quando temperaturas mais baixas foram utilizadas no método de preparo (PASSOS et al., 2013).

Os valores negativos de ΔG° indicam que o processo de formação do CI permanece espontâneo mesmo com a variação da temperatura. Além disso, analisando os valores de ΔH° , nota-se que o processo se torna mais exotérmico com o aumento da temperatura, ao passo que os

valores de $T\Delta S^\circ$ tornam-se mais negativos, mantendo o processo de formação do CI entalpicamente favorável. Portanto, é possível concluir que a variação da temperatura não altera o comportamento termodinâmico do sistema AMT: β CD.

Adicionalmente, foi observada uma variação mínima nos valores de ΔG° , o que pode ser atribuído à compensação entálpica/entrópica. Este fenômeno tem sido amplamente discutido na literatura e pode ser definido como um processo no qual uma mudança na entalpia do sistema é compensada por uma mudança na entropia, ou vice-versa, sendo esperada uma variação linear entre entalpia e entropia. Nesse contexto, quando o coeficiente de correlação for próximo da unidade, estima-se que haverá uma compensação entre entalpia e entropia fazendo com que o ΔG° não seja alterado, independentemente da temperatura (Bouchemal, 2008; Inoue et al., 1993; Krug; Hunter; Grieger, 1976).

A Figura 4.6 apresenta a correlação linear entre os pontos ΔH° e $-T\Delta S^\circ$ obtidos nas quatro temperaturas avaliadas (15, 25, 35 e 45 °C), resultando em um coeficiente de correlação linear próximo da unidade ($R^2 = -9995$). Dessa forma, é possível verificar uma compensação entre entalpia e entropia, pois à medida que o valor de ΔH° aumenta o valor de $T\Delta S^\circ$ diminuí, sugerindo a existência do efeito de compensação entálpica/entrópica no sistema. Esse efeito é responsável pela manutenção dos valores de ΔG° , mesmo com a variação de temperatura.

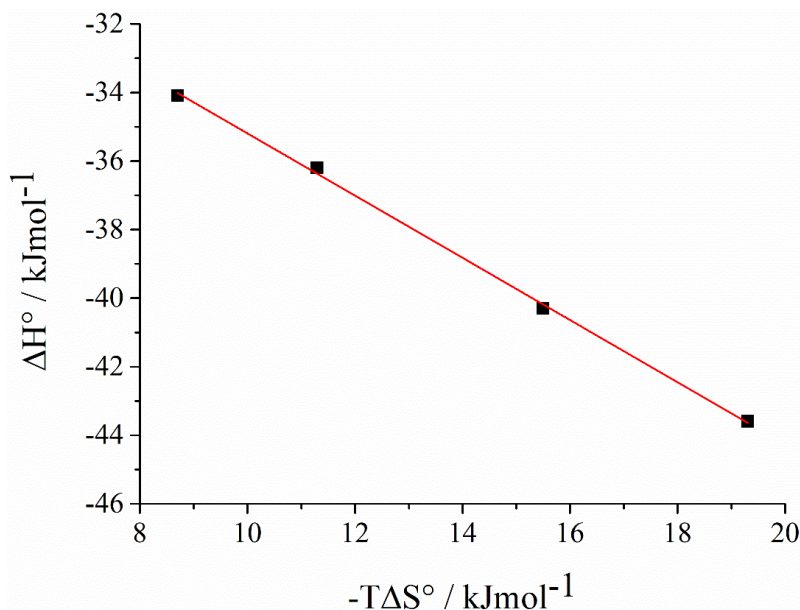


Figura 4.6 – Gráfico de compensação entálpica/entrópica correspondente ao sistema AMT 5,0 mol·L⁻¹ e β CD 0,5 mmol·L⁻¹ nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C.

O fenômeno de compensação entálpica/entrópica tem sido relatado na literatura em diferentes estudos. A interação da benzofenona (BZ) com β CD e poli- β CD foi investigada utilizando experimentos de ITC nas temperaturas de 4, 25, e 37 °C, verificando-se que, quando a temperatura do experimento foi alterada, as variações de ΔG° foram consideradas praticamente insignificantes, e o gráfico de ΔH° em função de $T\Delta S^\circ$ apresentou uma relação praticamente linear ($R^2 = 0,997$), refletindo um efeito de compensação entálpica/entrópica (Bouchemal et al., 2009). Resultados semelhantes também foram observados na interação entre β CD e BPR, quando a temperatura foi variada entre 37, 47 e 57 °C, apresentando $R^2 = 0,999$ (Vieira et al., 2023). No entanto, vale ressaltar que este fenômeno não pode ser considerado uma lei absoluta. Se a compensação entálpica/entrópica fosse um fenômeno inevitável, a otimização da afinidade de um sistema seria impossível de ser alcançada (Freire, 2008; Lafont et al., 2007).

4.1.3. Sistema AMT:M β CD

Para a análise da interação entre o fármaco AMT e a molécula M β CD, foi realizada uma titulação a 25 °C, mantendo as concentrações utilizadas para o sistema AMT: β CD. Logo, foram utilizadas soluções aquosas de AMT 5,0 mmol·L⁻¹ como titulante e de M β CD 0,5 mmol·L⁻¹ como titulado. A Figura 4.7(a) apresenta as curvas de diluição entre a água tipo I e as soluções do titulante e do titulado, as quais foram posteriormente subtraídas. O perfil da curva final foi próximo ao de um perfil sigmoide, apresentando sinais finais de diferença de fluxo de calor constantes e próximos de zero (Figura 4.7(b)).

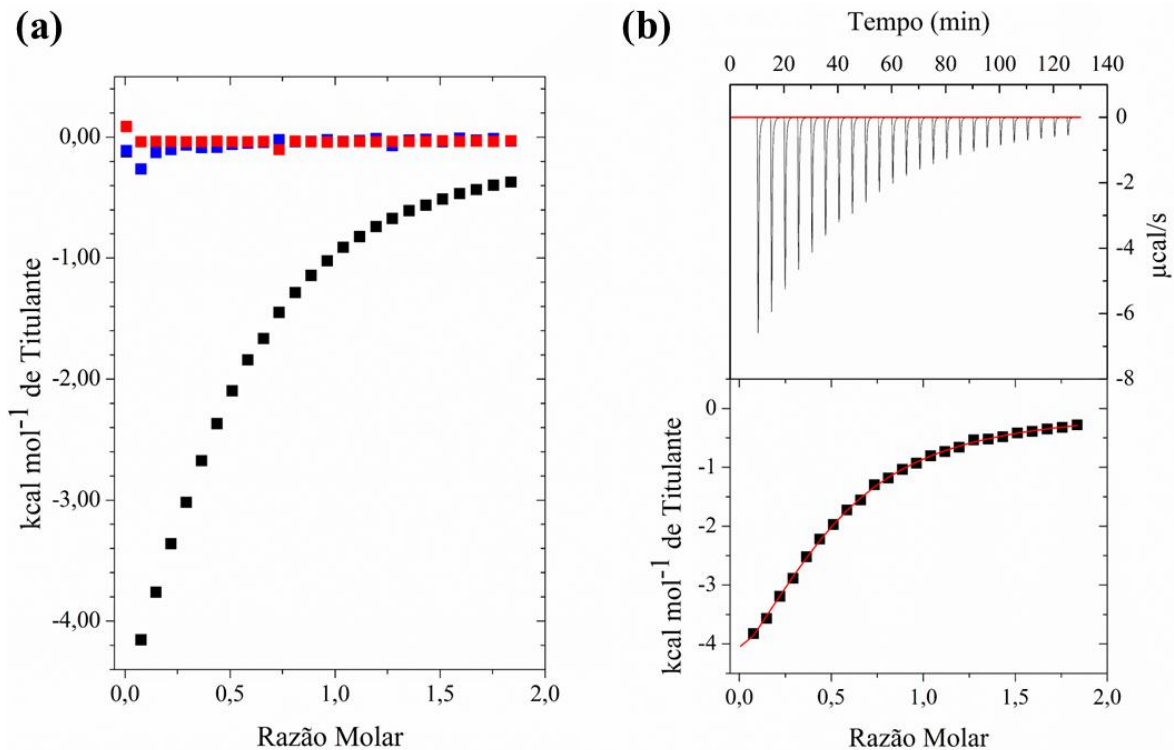


Figura 4.7 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em MβCD 0,5 mmol·L⁻¹; ■ AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em MβCD 0,5 mmol·L⁻¹. (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear.

Para o sistema AMT:MβCD, também foram realizadas titulações adicionais com o intuito de observar o comportamento termodinâmico do sistema em diferentes temperaturas. Os perfis de titulação nas temperaturas de 15, 35 e 45 °C, após a subtração dos efeitos de diluição e aplicação do ajuste não linear, estão apresentados na Figura 4.8. Os parâmetros termodinâmicos obtidos pelo ajuste não linear das curvas, para as quatro temperaturas em estudo, estão descritos na Tabela 4.3.

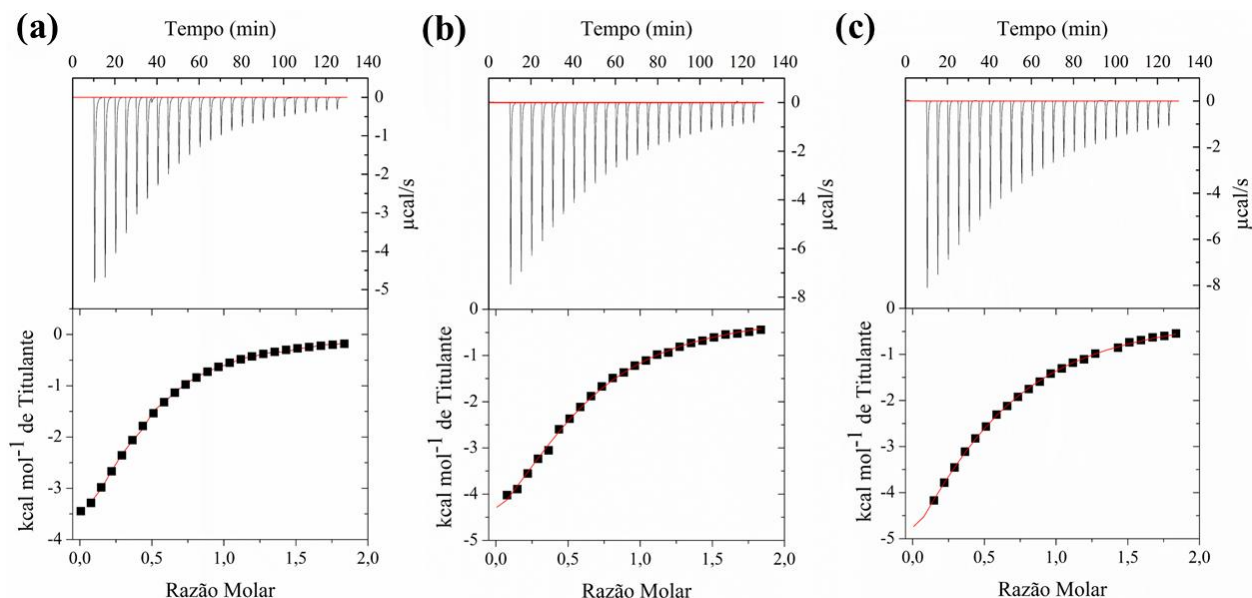


Figura 4.8 – Curva final para o sistema AMT:MβCD após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear a (a) 15 °C (b) 35 °C e (c) 45 °C.

Tabela 4.3 – Parâmetros termodinâmicos para os sistemas AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em MβCD 0,5 mmol·L⁻¹ a 15, 25, 35 e 45 °C.

T (°C)	N	K _a	ΔH° / KJmol ⁻¹	TΔS° / KJmol ⁻¹	ΔG° / KJmol ⁻¹
15	0,5 ± 0,0	8.355,0 ± 91,9	-22,6 ± 0,0	-1,1 ± 0,1	-21,6 ± 0,0
25	0,5 ± 0,0	6.215,0 ± 374,8	-28,2 ± 0,2	-6,6 ± 0,2	-21,7 ± 0,1
35	0,5 ± 0,0	5.225,0 ± 63,6	-32,0 ± 0,3	-10,1 ± 0,2	-21,9 ± 0,0
45	0,5 ± 0,0	3.705,0 ± 7,1	-42,2 ± 0,3	-20,5 ± 0,4	-21,7 ± 0,0

Com base nos resultados apresentados, é possível observar um coeficiente estequiométrico de $0,5 \pm 0,0$, correspondente à formação de CIs com estequiometria 1:2 (AMT:MβCD) nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C. Logo, verificou-se que a variação de temperatura não influenciou a estequiometria dos compostos no sistema em questão.

As curvas obtidas nas quatro temperaturas apresentaram perfil próximo de uma sigmoide atrelado a altos valores de K_a, o que sugere uma forte interação entre o fármaco AMT e a MβCD. Entretanto, em comparação com o sistema AMT:βCD, os valores de K_a estimados foram relativamente menores, sugerindo uma interação mais fraca entre as espécies no sistema envolvendo a MβCD. A MβCD é uma CD modificada, modificação essa que ocorre a partir da

substituição dos hidrogênios das hidroxilas primárias pelo grupo metila (Dodzuik, 2002; Szejtli, 2004). Logo, a diferença nos valores de K_a entre esses dois sistemas pode ser atribuída aos grupos substituintes na estrutura, pois a presença de um grupo mais volumoso na molécula M β CD pode dificultar sua aproximação da molécula de AMT, devido ao impedimento estérico (Holm et al., 2011; Stepniak et al., 2024). Recentemente, Morais e colaboradores identificaram valores de K_a de 9.020 e 4.330 para sistemas envolvendo o Cloridrato de Biperideno com a β CD e a M β CD, respectivamente, a 25 °C, indicando maior valor de K_a para o sistema envolvendo a CD natural e corroborando os resultados aqui obtidos (Morais et al., 2024).

Adicionalmente, foi observado que o aumento da temperatura desfavorece a interação entre as espécies, uma vez que os valores de K_a diminuem com o aumento da temperatura, comportamento que também foi observado para o sistema AMT: β CD. Contudo, apesar dessa diminuição, os valores de K_a permanecem elevados, indicando que a interação entre as espécies é termodinamicamente favorecida mesmo em condições menos favoráveis.

O processo de formação dos compostos de inclusão, nas quatro temperaturas, se mostrou espontâneo e exotérmico, dados os valores negativos de ΔG° e ΔH° . Considerando os altos valores K_a estimados e a alta contribuição entálpica, o processo exotérmico observado para o sistema nas diferentes temperaturas pode estar associado à saída das moléculas de água da cavidade da M β CD aliada à formação de novas interações intermoleculares com a molécula do fármaco. Já os valores negativos de $T\Delta S^\circ$ podem estar relacionados à menor liberdade conformacional das espécies após o processo de inclusão (Liu; Guo, 2002; Rekharsky; Inoue, 1998).

Como mencionado anteriormente, processos que apresentam valores negativos de $T\Delta S^\circ$ e alta contribuição entálpica, $|\Delta H^\circ| > |T\Delta S^\circ|$, são favorecidos entalpicamente (Inoue et al., 1993; Rekharsky; Inoue, 1998). Logo, ao analisar os valores de ΔH° e $T\Delta S^\circ$, nota-se uma alta contribuição entálpica atrelada a um termo entrópico negativo, indicando que a formação dos CIs no sistema em questão é favorecida pela entalpia, assim como é observado para o sistema AMT: β CD. Esse comportamento é mantido nas diferentes temperaturas em estudo, permitindo concluir que a variação da temperatura também não altera o comportamento termodinâmico do sistema AMT:M β CD.

De forma complementar, uma variação mínima nos valores de ΔG° também foi observada para este sistema. A correlação linear entre os pontos ΔH° e $-T\Delta S^\circ$, nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C, está apresentada na Figura 4.9. Foi obtido um coeficiente de correlação próximo de -1

($R^2 = -0,9995$), sendo possível identificar um aumento nos valores de ΔH° ao passo que o termo entrópico $T\Delta S^\circ$ diminui, evidenciando a existência do efeito de compensação entálpica/entrópica. Esse comportamento contribui para a manutenção de valores praticamente constantes de ΔG° mesmo com a variação de temperatura, corroborando que a formação dos CIs no sistema AMT:M β CD é termodinamicamente favorecida em toda a faixa de temperatura estudada.

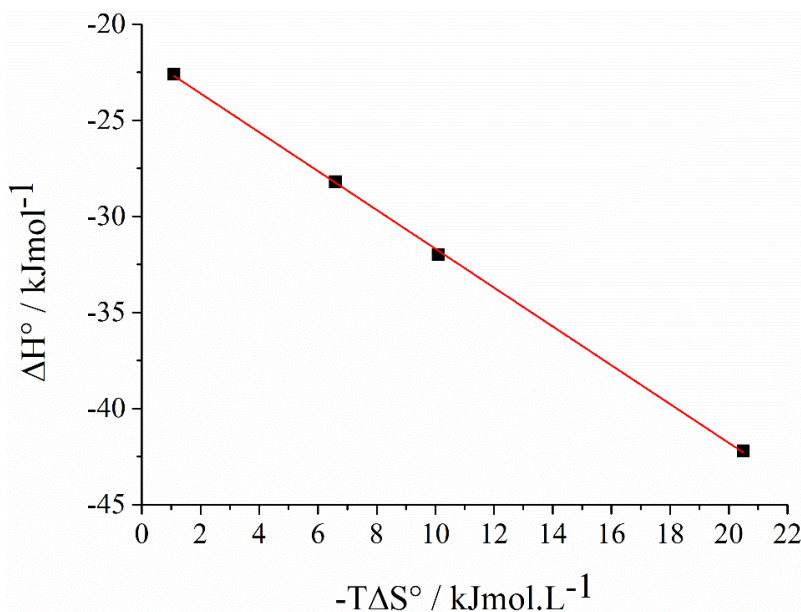


Figura 4.9 – Gráfico de compensação entálpica/entrópica correspondente ao sistema AMT 5,0 mol·L⁻¹ e M β CD 0,5 mmol·L⁻¹ nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C.

4.1.4. Sistema AMT:HP β CD

Para a análise da interação entre o fármaco AMT e a molécula HP β CD, foi realizada uma titulação a 25 °C, mantendo-se as concentrações do sistema AMT: β CD. Deste modo, foram utilizadas uma solução aquosa de AMT 5,0 mmol·L⁻¹ como titulante e uma solução aquosa de HP β CD 0,5 mmol·L⁻¹ como titulado. As curvas de diluição entre o solvente e as soluções do titulante e do titulado, as quais foram subtraídas, estão apresentadas na Figura 4.10(a). A curva final apresentou um perfil próximo ao de uma sigmoide, com sinais finais de diferença de fluxo de calor constantes e próximos de zero (Figura 4.10(b)).

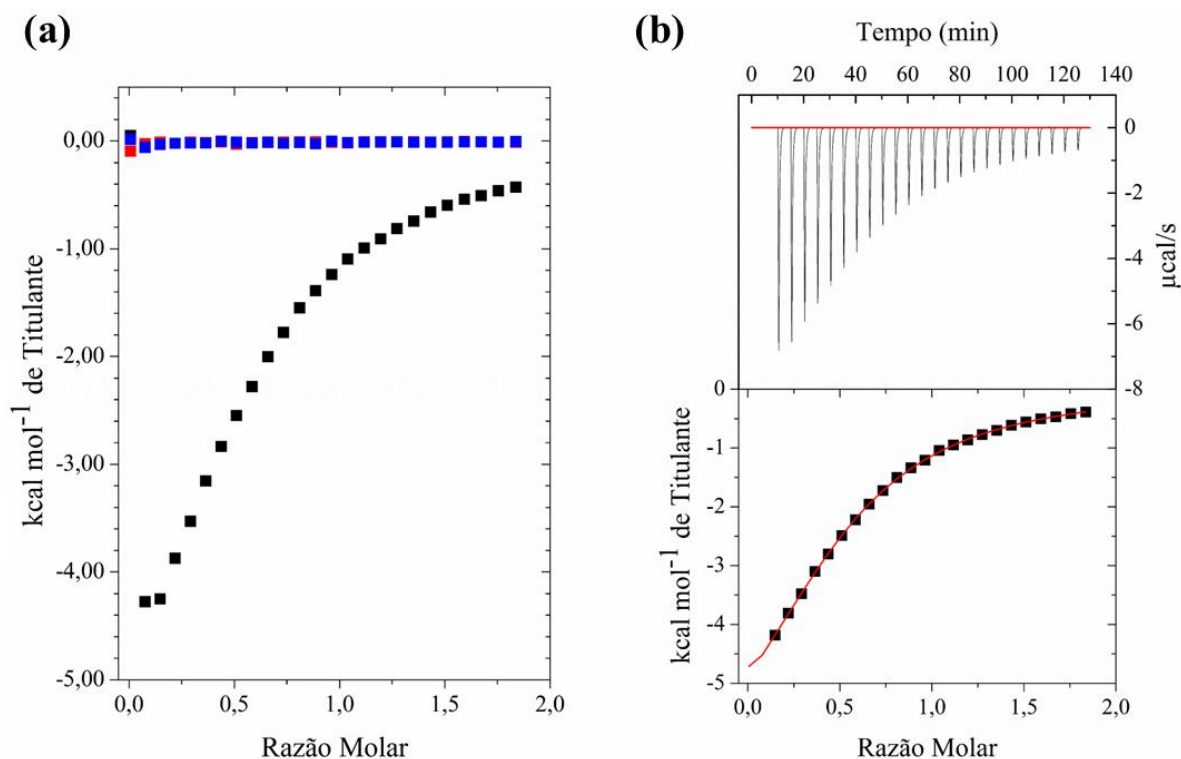


Figura 4.10 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em HPβCD 0,5 mmol·L⁻¹; ■ AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em HPβCD 0,5 mmol·L⁻¹. (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear.

Adicionalmente, foram realizadas titulações a 15, 35 e 45 °C, com as concentrações ajustadas, a fim de observar o perfil termodinâmico em diferentes temperaturas. Os perfis de cada titulação, após a subtração dos efeitos de interação e do ajuste não linear, estão apresentados na Figura 4.11. Os parâmetros termodinâmicos obtidos estão descritos na Tabela 1.3.

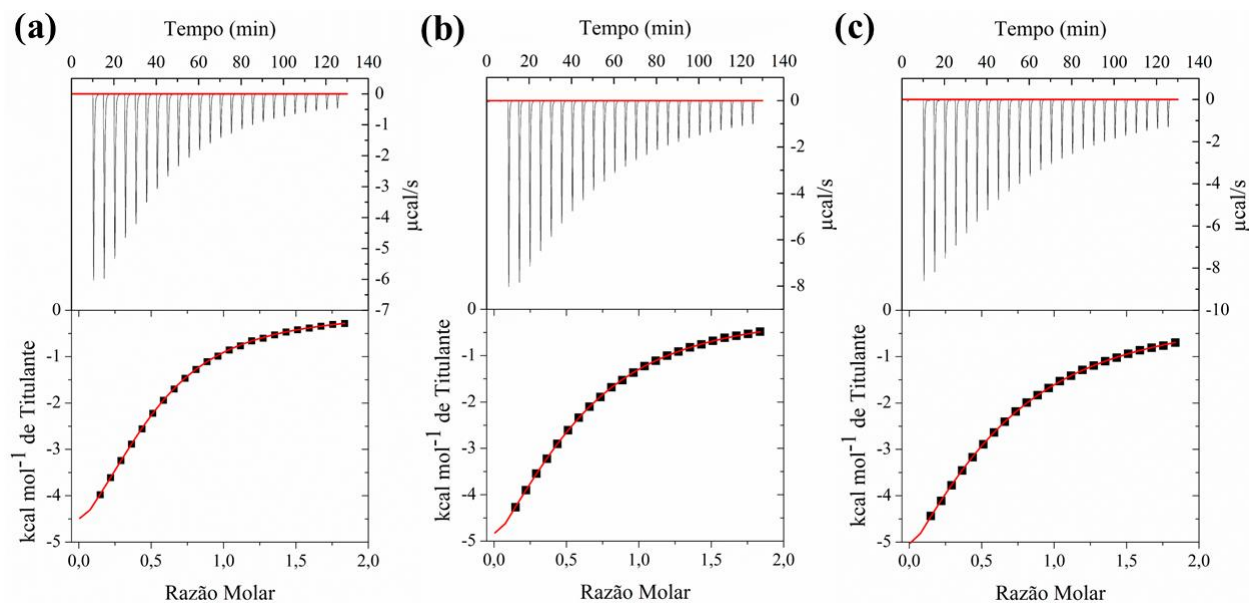


Figura 4.11 – Curva final para o sistema AMT:HP β CD após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear a (a) 15 °C (b) 35 °C e (c) 45 °C.

Tabela 4.4 – Parâmetros termodinâmicos para os sistemas AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em HP β CD 0,5 mmol·L⁻¹ a 15, 25, 35 e 45 °C.

T (°C)	N	K _a	$\Delta H^\circ / \text{kJmol}^{-1}$	$T\Delta S^\circ / \text{kJmol}^{-1}$	$\Delta G^\circ / \text{kJmol}^{-1}$
15	0,5 ± 0,0	7.895,0 ± 106,1	-28,6 ± 0,0	-7,1 ± 0,1	-21,5 ± 0,0
25	0,5 ± 0,0	6.275,0 ± 7,1	-32,1 ± 0,1	-10,4 ± 0,0	-21,7 ± 0,0
35	0,5 ± 0,0	4.970,0 ± 141,4	-36,5 ± 0,2	-14,8 ± 0,1	-21,7 ± 0,1
45	0,5 ± 0,0	3.620,0 ± 0,0	-42,2 ± 0,2	-20,7 ± 0,2	-21,6 ± 0,0

O ajuste das curvas permitiu obter um coeficiente estequiométrico de 0,5 para as quatro temperaturas em estudo, sendo esse valor correspondente a CIs com estequiometria 1:2 (AMT:HP β CD), assim como observado para o sistema AMT:M β CD. Além disso, verificou-se que a estequiometria também não foi influenciada pela variação de temperatura neste sistema, dados os valores constantes de n.

Ao analisar as curvas obtidas a 15, 25, 35 e 45 °C para o sistema AMT:HP β CD, observam-se perfis próximos ao de uma sigmoide associados a valores de K_a elevados, sugerindo uma interação forte entre as espécies. Contudo, assim como observado para o sistema AMT:M β CD, esses valores são relativamente menores do que os estimados para o sistema AMT: β CD. Essa

diferença pode ser atribuída à presença de grupos substituintes na estrutura da molécula hospedeira, uma vez que a molécula HP β CD é uma CD modificada que possui grupos hidroxipropil substituindo hidrogênios das hidroxilas primárias ligadas ao C6 de sua estrutura (Stepniak et al., 2024; Szejtli, 2004). Além disso, foram observados valores similares de K_a para ambos os sistemas envolvendo moléculas de β CD modificadas, nas quatro temperaturas, corroborando as discussões anteriores referentes ao fato de que a presença de grupos substituintes dificulta a aproximação do fármaco AMT em virtude do impedimento estérico.

De forma complementar, foi observado que a interação entre as espécies é desfavorecida com o aumento da temperatura, resultando em valores de K_a que diminuem à medida que a temperatura aumenta, comportamento igualmente identificado para os sistemas AMT: β CD e AMT:M β CD. Além disso, de forma semelhante ao observado para os sistemas AMT: β CD e AMT:M β CD, mesmo com esse desfavorecimento, esses valores permanecem relativamente elevados, sugerindo a existência de fortes interações entre o AMT e a molécula HP β CD.

O processo de formação do CI se mantém espontâneo mesmo com a variação da temperatura, dados os valores negativos de ΔG° . De forma complementar, além de estequiometria e valores de K_a similares entre os sistemas AMT:M β CD e AMT:HP β CD, também foram observados valores de ΔG° semelhantes, com valores próximos de $-22,0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Já os valores negativos de ΔH° indicam um processo exotérmico nas quatro temperaturas. Além disso, com base nos resultados apresentados, ao comparar a contribuição entálpica dos sistemas envolvendo as CDs modificadas com o sistema envolvendo a β CD, observa-se uma redução desses valores nas quatro temperaturas, o que pode estar relacionado à modificação dos grupos hidroxila.

Apesar da redução nos valores de ΔH° quando comparados ao sistema AMT: β CD, esses valores ainda indicam com uma alta contribuição entálpica. Assim, essa contribuição, associada a valores elevados de K_a , conforme já discutido, pode estar relacionada à liberação das moléculas de água presentes na cavidade da molécula hospedeira, juntamente com a formação de novas interações intermoleculares entre as espécies. Já os valores negativos de $T\Delta S^\circ$ podem estar relacionados à menor liberdade conformacional das espécies após o processo de inclusão (Liu; Guo, 2002; Rekharsky; Inoue, 1998).

Ainda analisando os valores de ΔH° e $T\Delta S^\circ$, nota-se uma alta contribuição entálpica associada a valores negativos do termo entrópico, de modo que $|\Delta H^\circ| > |T\Delta S^\circ|$. Dessa forma, o processo de formação dos CIs para o sistema AMT:HP β CD é favorecido entalpicamente, assim

como ocorre para os sistemas AMT: β CD e AMT:M β CD (INOUE et al., 1992; REKHARSKY e INOUE, 1998; BOUCHEMAL, 2008). O mesmo comportamento é observado nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C, indicando que, de maneira semelhante aos sistemas anteriores, a variação de temperatura também não altera o comportamento termodinâmico desse sistema.

Adicionalmente, como observado nos sistemas anteriores, verifica-se uma variação mínima nos valores de ΔG° para o sistema AMT:HP β CD, sugerindo a existência do efeito de compensação entálpica–entrópica no sistema. No gráfico de compensação apresentado na Figura 4.12, é possível observar uma boa correlação linear entre os valores de ΔH° e $-T\Delta S^\circ$ ($R = -0,9998$). Logo, identifica-se um aumento nos valores de ΔH° acompanhado por uma diminuição nos valores de $T\Delta S^\circ$, sendo um indicativo da existência do efeito de compensação entálpica–entrópica no sistema, mantendo-se os valores de ΔG° praticamente constantes mesmo com a variação de temperatura.

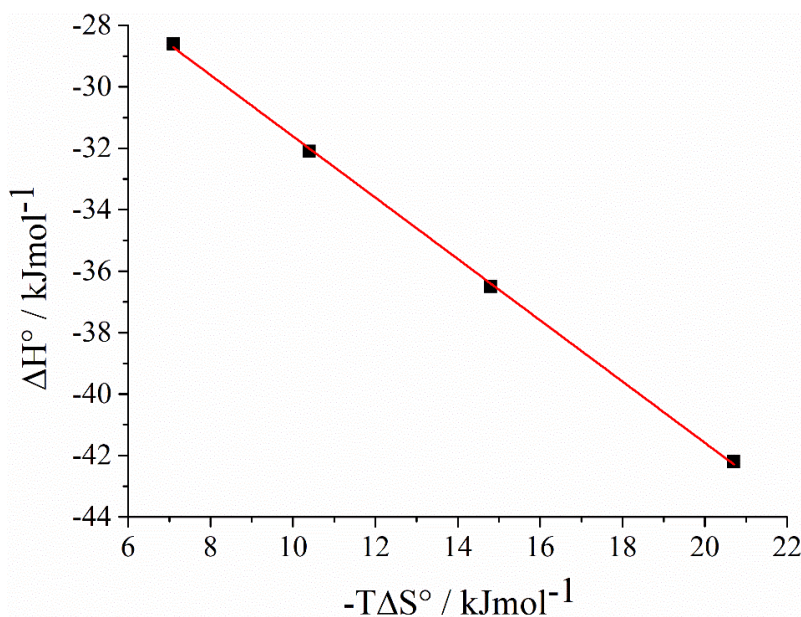


Figura 4.12 – Gráfico de compensação entálpica/entrópica correspondente ao sistema AMT 5,0 mol·L⁻¹ e HP β CD 0,5 mmol·L⁻¹ nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C.

4.1.5. Sistema AMT: γ CD

Para a análise da interação entre o fármaco AMT e a γ CD, inicialmente também foi realizada uma titulação a 25 °C, mantendo-se as concentrações dos sistemas anteriormente descritos, sendo utilizadas soluções aquosas de AMT 5 mmol·L⁻¹ como titulante e de γ CD 0,5 mmol·L⁻¹ como titulado. Entretanto, a diferença de fluxo de calor resultante apresentou valores pequenos e com pouca variação ao longo da titulação, não sendo possível observar uma curva definida (Figura 4.13(a)).

Sendo assim, para tentar melhorar os resultados, aumentou-se a concentração de AMT para 10,0 mmol·L⁻¹, mantendo-se a concentração da γ CD em 0,5 mmol·L⁻¹, e uma nova titulação foi realizada. Nessas condições, embora a diferença de fluxo de calor tenha aumentado ligeiramente, ainda era pequena, e a curva obtida não estava bem definida (Figura 4.13(b)).

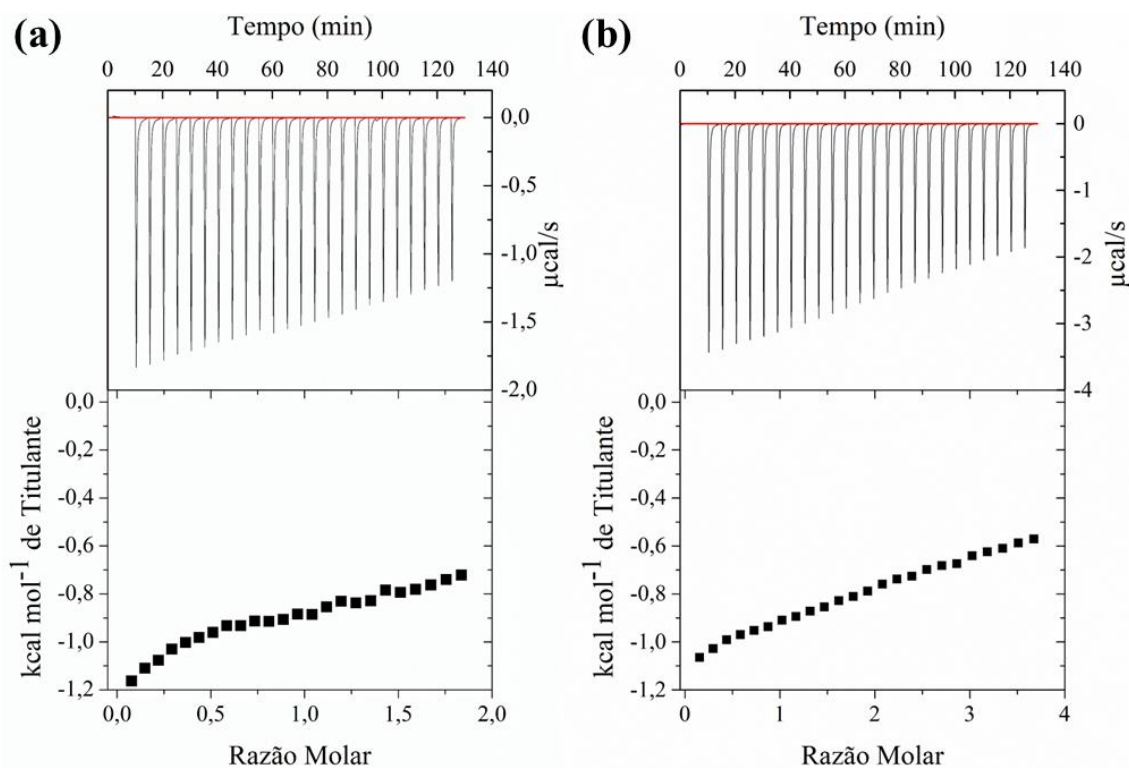


Figura 4.13 – Perfil de titulação a 25 °C de (a) AMT 5,0 mmol·L⁻¹ em γ CD 0,5 mmol·L⁻¹; (b) AMT 10,0 mmol·L⁻¹ em γ CD 0,5 mmol·L⁻¹.

Desta forma, foi realizada uma nova titulação com soluções aquosas de AMT 30,0 mmol·L⁻¹ como titulante e de γ CD 0,5 mmol·L⁻¹. Nessas concentrações, após a subtração das curvas de diluição entre o solvente e as soluções de γ CD e AMT (Figura 4.14(a)), a curva final apresentou perfil próximo ao de uma sigmoide, ajustando-se ao modelo matemático aplicado (Figura 4.14(b)).

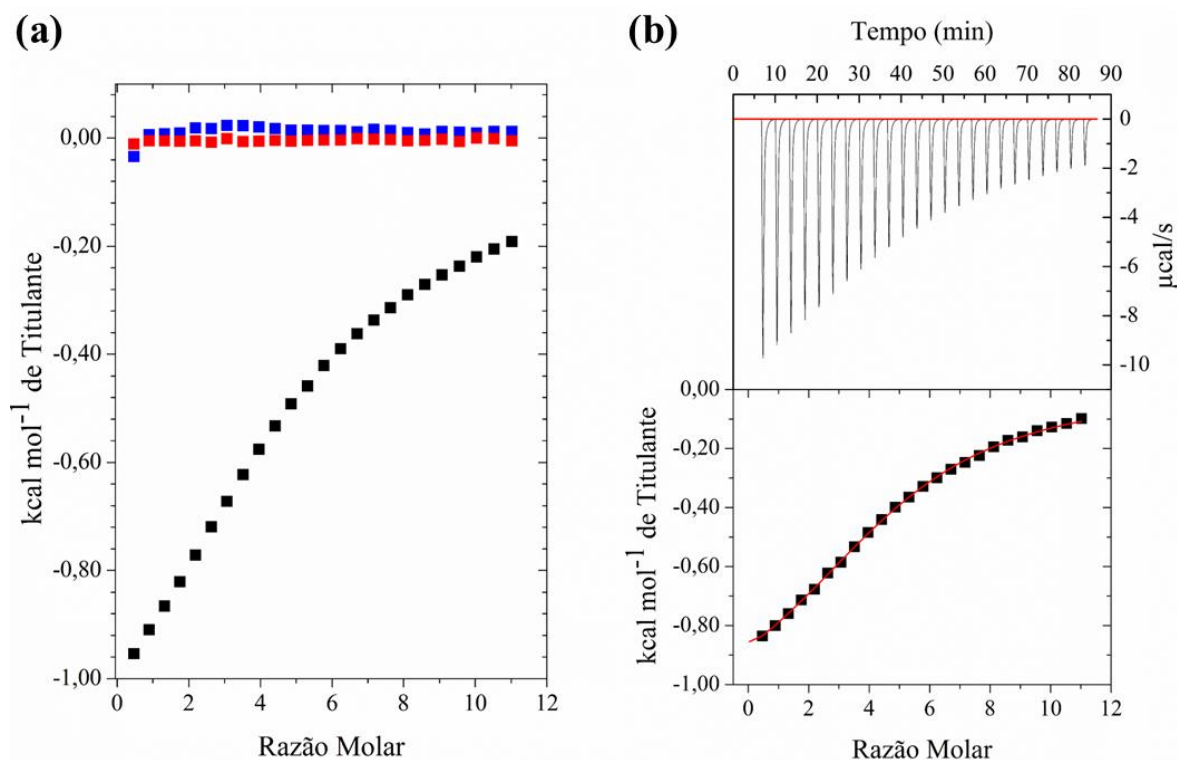


Figura 4.14 – Perfil de titulação a 25 °C: (a) ■ AMT 30,0 mmol·L⁻¹ em água tipo I; ■ água tipo I em γ CD 0,5 mmol·L⁻¹; ■ AMT 30,0 mmol·L⁻¹ em γ CD 0,5 mmol·L⁻¹. (b) Curva final após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear.

Após o ajuste das concentrações das soluções utilizadas, também foram realizadas titulações nas temperaturas de 15, 35 e 45 °C, obtendo-se perfis termodinâmicos em diferentes temperaturas. Os perfis de titulação, após a subtração dos efeitos de interação entre o solvente e as espécies e o ajuste não linear, estão apresentados na Figura 4.15. Os parâmetros termodinâmicos obtidos pelo ajuste não linear das curvas, nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C, estão descritos na Tabela 4.5.

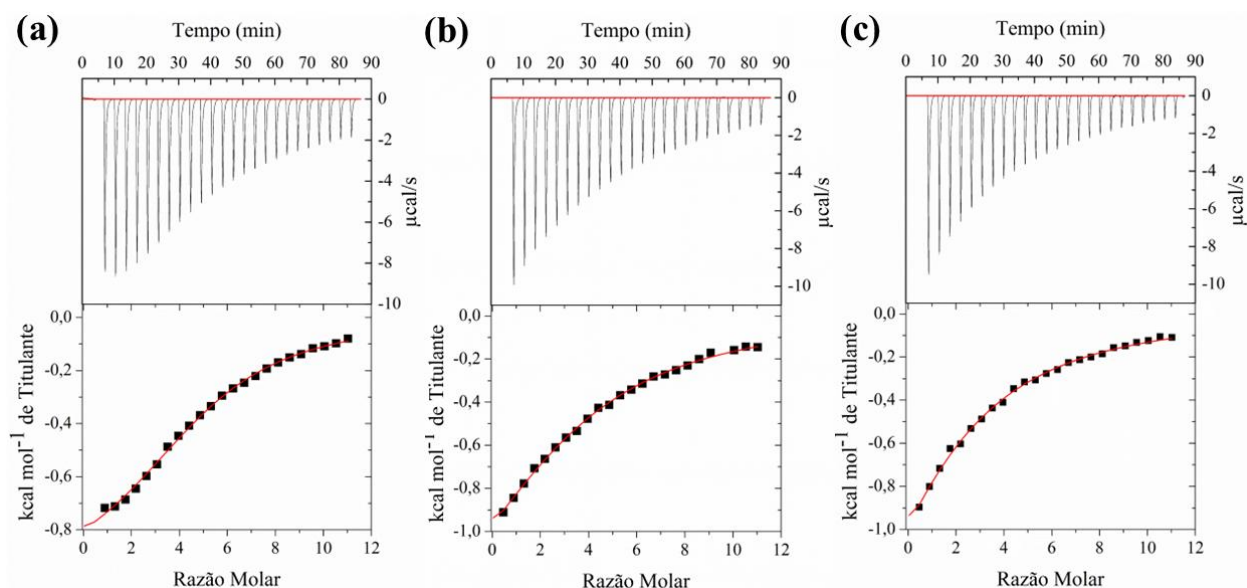


Figura 4.15 – Curva final para o sistema AMT: γ CD após subtração dos efeitos de interação e ajuste não-linear a (a) 15 °C (b) 35 °C e (c) 45 °C.

Tabela 4.5 – Parâmetros termodinâmicos para os sistemas AMT 30,0 mmol·L⁻¹ em γ CD 0,5 mmol·L⁻¹ a 15, 25, 35 e 45 °C.

T (°C)	N	K _a	$\Delta H^\circ / \text{KJmol}^{-1}$	$T\Delta S^\circ / \text{KJmol}^{-1}$	$\Delta G^\circ / \text{KJmol}^{-1}$
15	4,7 ± 0,1	1.420,0 ± 0,0	-4,3 ± 0,1	13,1 ± 0,1	-17,4 ± 0,0
25	4,7 ± 0,0	1.135,0 ± 7,1	-5,0 ± 0,1	12,4 ± 0,0	-17,4 ± 0,0
35	3,6 ± 0,0	536,5 ± 19,8	-8,0 ± 0,0	8,1 ± 0,1	-16,1 ± 0,1
45	2,2 ± 0,0	491,5 ± 19,8	-11,2 ± 0,0	5,2 ± 0,1	-16,4 ± 0,1

Com base nos resultados obtidos, nas quatro temperaturas, os coeficientes estequiométricos não correspondem a números inteiros, sugerindo que equilíbrios múltiplos coexistem em solução ou que agregados podem estar sendo formados, possivelmente em função da alta concentração da molécula convidada (De Sousa et al., 2012; Meira et al., 2018; Passos et al., 2011). Para as temperaturas de 15 e 25 °C foi observado um coeficiente estequiométrico próximo de 5, sugerindo uma estequiometria de 5:1 (AMT: γ CD). No entanto, embora a γ CD possua uma cavidade maior do que a α e a β CD, considerando o tamanho da molécula do fármaco AMT, não é plausível supor que 5 moléculas de AMT possam estar parcialmente incluídas no interior da sua cavidade. Desta forma, a hipótese de que agregados moleculares estejam sendo

formados em solução é mais factível do que a inclusão de 5 moléculas do fármaco na cavidade da γ CD (De Sousa et al., 2012; Park et al., 2022).

Adicionalmente, ao analisar os valores de K_a estimados nas temperaturas de 15 e 25 °C ($1.420,0 \pm 0,0$ e $1.135,0 \pm 7,1$, respectivamente), verificaram-se valores relativamente baixos quando comparados aos valores estimados para os demais sistemas. Essa afinidade mais fraca entre o AMT e a molécula γ CD pode ser atribuída ao maior diâmetro da sua cavidade em comparação com o tamanho das partes hidrofóbicas da molécula de AMT, sugerindo uma interação superficial entre as espécies e não uma inclusão efetiva. Deste modo, é possível que as moléculas de AMT interajam predominantemente com a superfície externa da molécula γ CD (Morais et al., 2024; Park et al., 2022).

Com o aumento da temperatura, em 35 e 45 °C, observa-se uma diminuição dos coeficientes estequiométricos ($3,6 \pm 0,0$ e $2,2 \pm 0,0$, respectivamente) atrelada à redução dos valores de K_a ($536,5 \pm 19,8$ e $491,5 \pm 19,8$, respectivamente). Os pequenos valores de K_a sugerem uma interação mais fraca entre as espécies nestas temperaturas, o que também é verificado pelo perfil das curvas (Figura 4.15(b) e 4.15(c)), que não apresentam uma inflexão tão acentuada (Turnbull; Daranas, 2003). Deste modo, nota-se que a redução do coeficiente estequiométrico acompanhada pela diminuição da força de interação entre as espécies corrobora a discussão acima, sugerindo interações superficiais entre a γ CD e o fármaco AMT e não uma inclusão efetiva.

Mesmo com valores de K_a mais baixos, o processo é espontâneo e exotérmico nas quatro temperaturas em estudo, dados os valores negativos de ΔG° e ΔH° . De forma complementar, como o ΔH° do sistema pode ser atribuído à dessolvatação parcial das espécies e à formação de novas interações entre a CD e a molécula hóspede, o baixo valor de ΔH° observado para o sistema, nas quatro temperaturas, reforça a existência de interações mais fracas entre a γ CD e o fármaco AMT. Já o termo entrópico se mostrou positivo nas temperaturas estudadas, o que pode estar relacionado tanto às interações superficiais entre as espécies, reforçando a possibilidade de o fármaco estar interagindo com o exterior da γ CD, quanto aos possíveis equilíbrios múltiplos, aumentando o número de espécies em solução (Klotz; Rosenberg, 2008; Liu; Guo, 2002; Rekharsky; Inoue, 1998). Ao analisar os valores de ΔH° e $T\Delta S^\circ$, verificam-se valores positivos para o termo entrópico e negativos para a contribuição entálpica. Contudo, com o aumento da temperatura, observa-se um aumento da contribuição entálpica no sistema AMT: γ CD, ao passo que, em temperaturas mais baixas, a contribuição entrópica apresenta maior predominância.

Além disso, para este sistema, também não foram verificadas grandes variações no valor de ΔG° em função da temperatura, com valores variando entre -17,4 e -16,1 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, sugerindo a existência do efeito de compensação entálpica/entrópica para o sistema. A correlação linear entre os valores de ΔH° e $-T\Delta S^\circ$ das temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C está apresentada na Figura 4.16, sendo obtido um coeficiente de correlação próximo de -1 ($R = -0,9945$). Observa-se, assim, uma compensação entre os valores de entalpia e entropia, o que reforça a possibilidade do efeito de compensação entálpica/entrópica, sendo este responsável pela manutenção dos valores de ΔG° .

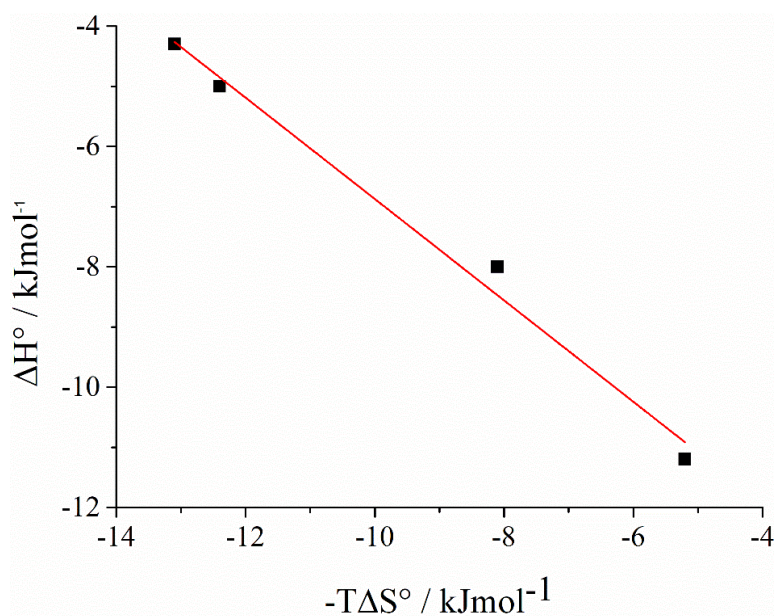


Figura 4.16 – Gráfico de compensação entálpica/entrópica correspondente ao sistema AMT 30,0 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e γCD 0,5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ nas temperaturas de 15, 25, 35 e 45 °C.

Com base nos resultados apresentados, o sistema supramolecular mais termodinamicamente favorável é o AMT: βCD , com valores de ΔG° próximos de -25,0 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ nas quatro temperaturas em estudo, indicando maior afinidade e estabilidade desse sistema em comparação com os demais. Os sistemas AMT: $M\beta\text{CD}$ e AMT: $HP\beta\text{CD}$ apresentaram valores de ΔG° menos negativos do que o observado para o sistema envolvendo a βCD não modificada, com valores próximos de -22,0 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, o que pode ser atribuído à presença de grupos substituintes, os quais podem dificultar a interação entre as espécies e, conseqüentemente, reduzir a estabilidade desses sistemas. Já o sistema AMT: γCD se mostrou o menos favorável do ponto de vista termodinâmico, apresentando valores de ΔG° ainda menos negativos, próximos de -17,0 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Esse comportamento pode ser atribuído ao maior diâmetro da cavidade da γ CD, que dificulta a interação efetiva do fármaco AMT com a cavidade da molécula hospedeira, resultando em menor estabilidade do sistema.

De forma complementar, o sistema AMT: β CD apresentou não apenas os maiores valores de K_a em comparação com os demais sistemas estudados, indicativo de interações mais fortes entre as espécies, como também valores mais negativos de ΔH° , reforçando a maior estabilidade desse sistema em relação aos demais.

4.2. Liofilização dos compostos de inclusão

A liofilização é um método amplamente aplicado no preparo e na obtenção de compostos de inclusão em estado sólido, sendo descrito em diversos estudos publicados na literatura nos últimos anos (De Paula et al., 2012a; De Sousa et al., 2008b; Meira et al., 2018; Morais et al., 2017; Passos et al., 2011; Vieira et al., 2023). Esse método consiste na remoção do solvente de uma solução previamente congelada, por meio de sublimação. A baixa temperatura utilizada no método de liofilização minimiza a perda de moléculas altamente voláteis, reduz os riscos de degradação térmica das moléculas hóspede e hospedeira e pode contribuir para a estabilidade dos compostos formados, uma vez que temperaturas elevadas podem provocar a dissociação das espécies (Del Valle, 2004; Hedges, 1998; Passos et al., 2013).

Embora seja amplamente empregado na rotina de laboratórios de pesquisa, a liofilização como método de secagem apresenta limitações do ponto de vista de aplicação em escala industrial, tais como o elevado tempo de processamento e o alto custo energético. Essas limitações tornam-se mais relevantes quando as moléculas hóspedes apresentam solubilidade limitada em água, exigindo grandes volumes de solvente na etapa de solubilização, o que aumenta o tempo de congelamento e secagem e, conseqüentemente, o custo efetivo do processo em escalonamento. Alternativamente, outros processos têm sido utilizados, mas são, em geral, mais caros do ponto de vista de equipamento e possuem restrições a alguns tipos de solvente (Passos et al., 2013).

Desse modo, o método de liofilização foi utilizado no preparo dos CIs em estado sólido para os sistemas envolvendo as CDs β CD, M β CD, HP β CD e γ CD como moléculas hospedeiras e o fármaco AMT como molécula hóspede (AMT: β CD, AMT:M β CD, AMT:HP β CD e AMT: γ CD). Para o sistema envolvendo a α CD como molécula hospedeira, o CI no estado sólido não foi

preparado, uma vez que não foram observadas interações entre as espécies nos experimentos de ITC. Os compostos obtidos no estado sólido apresentaram aspecto de algodão e coloração branca, características compatíveis com o esperado.

4.3. Caracterização por espectroscopia na região do infravermelho

Os CIs preparados pelo método de liofilização foram analisados por espectroscopia vibracional na região do infravermelho, utilizando o acessório ATR – *Attenuated total reflectance* (FTIR-ATR). Esse acessório permite rápida amostragem, sem a necessidade de utilização de diluentes sólidos. Adicionalmente, as misturas físicas, preparadas a partir da simples homogeneização das CDs com o fármaco, também foram analisadas por FTIR-ATR. Essa técnica foi empregada tanto para avaliar possíveis modificações nos modos vibracionais dos CIs em relação aos espectros das moléculas precursoras, fornecendo indícios de inclusão, quanto para comparar a eficiência do processo de liofilização na formação dos CIs em relação às misturas físicas preparadas (Mura, 2015). Os espectros de absorção na região do infravermelho, obtidos por FTIR-ATR para as moléculas hospedeiras β CD, γ CD, M β CD e HP β CD, estão apresentados nas Figuras 4.17, 4.18, 4.19 e 4.20, respectivamente.

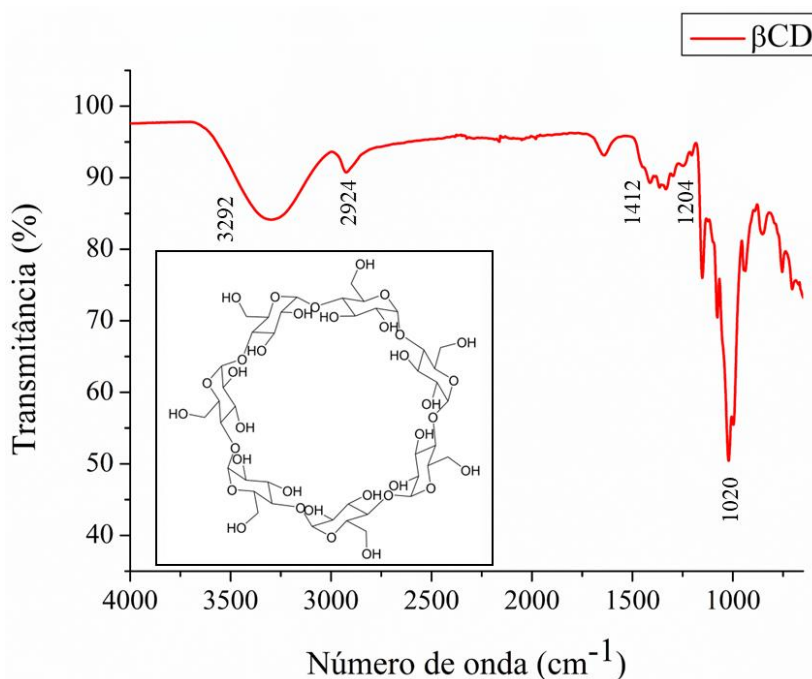


Figura 4.17 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para β CD.

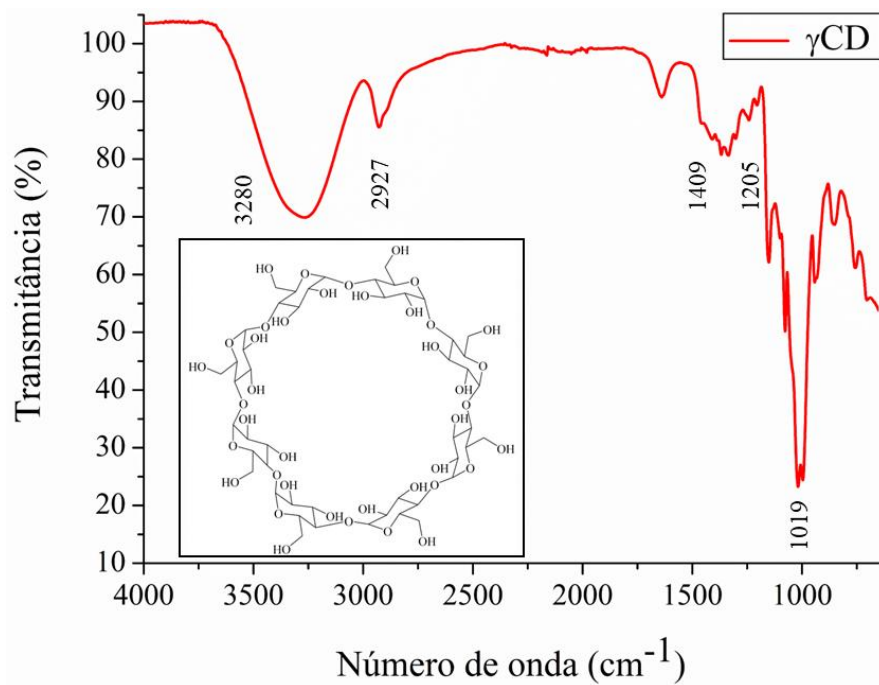


Figura 4.18 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para γ CD.

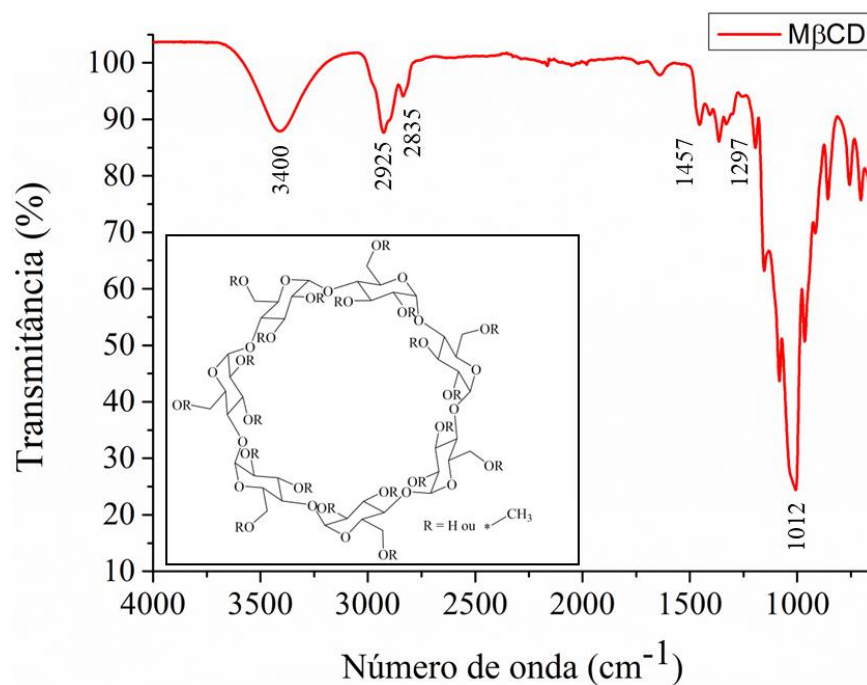


Figura 4.19 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para M β CD.

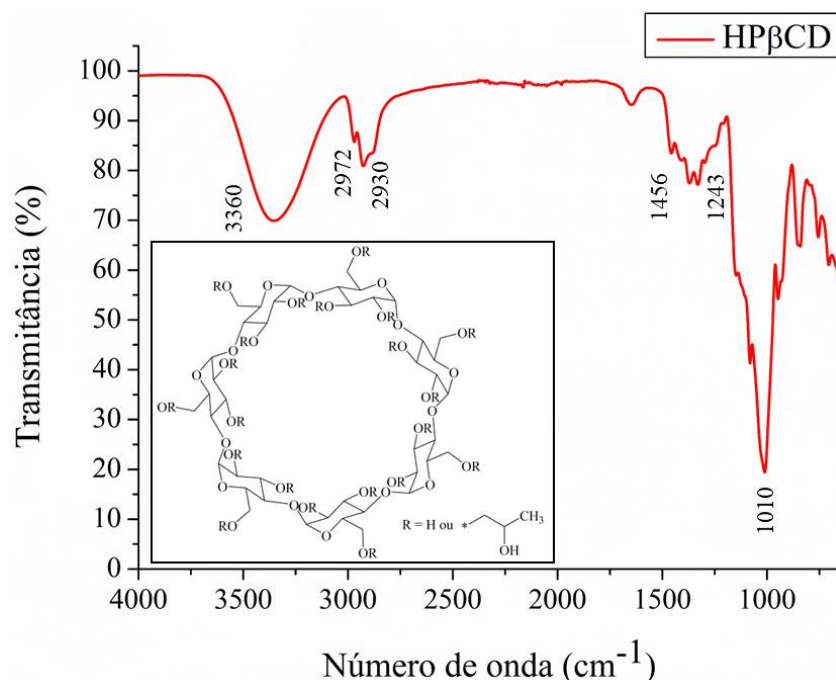


Figura 4.20 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para HPβCD.

Como a MβCD e a HPβCD são derivadas da βCD, obtidas a partir da substituição do hidrogênio das hidroxilas do C6 por grupos metil e hidroxipropil, respectivamente, ambas apresentam espectros semelhantes aos das CDs naturais. Os espectros da MβCD e da HPβCD diferem dos espectros das CDs naturais principalmente pela presença de bandas mais intensas atribuídas ao $\nu(\text{C-H})$, em decorrência dos grupos metil e hidroxipropil, respectivamente. Os principais modos vibracionais foram atribuídos a partir da análise dos espectros da βCD, γCD, MβCD e HPβCD e estão apresentados na Tabela 4.6. As atribuições dos principais modos vibracionais para as quatro CDs estão em concordância com dados previamente publicados na literatura (Khan et al., 2023; Neacșu, 2018; Vieira et al., 2023; Zhang et al., 2022a).

Tabela 4.6 – Atribuição das principais bandas dos espectros de absorção na região do infravermelho para β CD, γ CD, HP β CD e M β CD.

Ciclodextrinas	Regiões (cm ⁻¹)	Atribuições
β CD	3292	ν (O–H)
γ CD	3280	
M β CD	3400	
HP β CD	3360	
β CD	2924	ν (C–H)
γ CD	2927	
M β CD	2925 e 2835	
HP β CD	2972 e 2930	
β CD	1412 – 1204	δ (C–H)
γ CD	1409 – 1205	
M β CD	1457 – 1297	
HP β CD	1456 – 1243	
β CD	1020	ν (C–O–C)
γ CD	1019	
M β CD	1012	
HP β CD	1010	

O espectro de absorção na região do infravermelho do fármaco AMT, obtido por FTIR-ATR, pode ser observado na Figura 4.21, enquanto as atribuições dos principais modos vibracionais encontram-se descritas na Tabela 4.7.

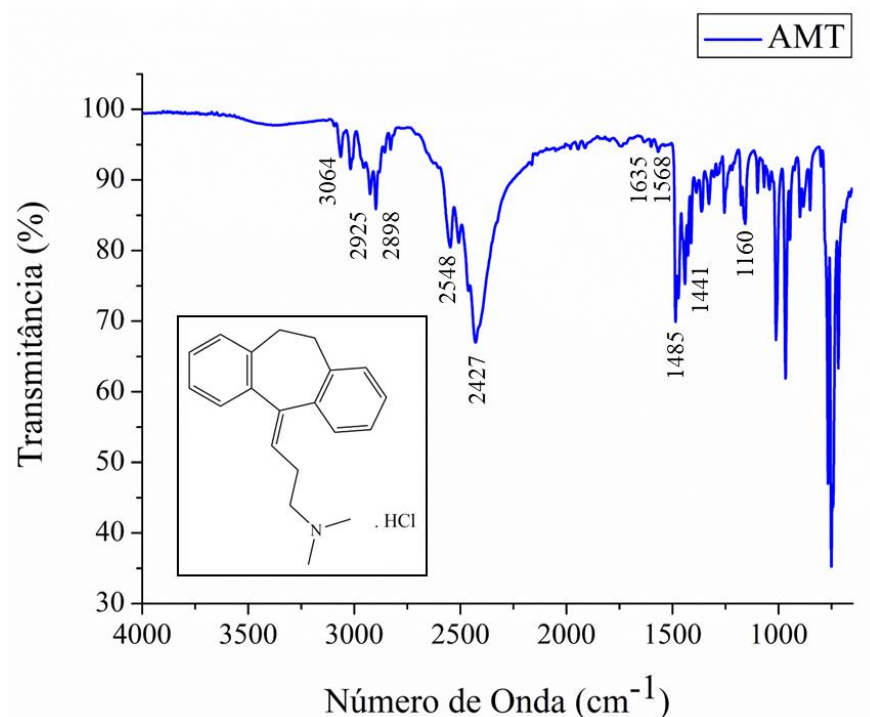


Figura 4.21 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para o fármaco AMT.

Tabela 4.7 – Atribuição das principais bandas do espectro de absorção na região do infravermelho para o fármaco AMT.

Regiões (cm ⁻¹)	Atribuições
3064	v (C–H) de aromático
2925 e 2427	v (C–H) e (C–H ₂) simétrico e assimétrico
2548 e 2427	v (N–H ⁺)
1635 – 1568	Vibrações (C=C) de aromático
1485	δ (C–H)
1441	v (C=C) de aromático
1160	v (C–N)

Uma vez atribuídos os principais modos vibracionais de cada uma das espécies livres, foram realizadas comparações qualitativas entre esses espectros e os correspondentes aos CIs. A comparação entre os espectros permite identificar perturbações nos modos vibracionais das

moléculas precursoras, as quais podem estar associadas ao processo de inclusão, sugerindo possíveis interações entre as espécies. Contudo, é importante salientar que a técnica de FTIR não confirma, de forma conclusiva, a formação de CIs, visto que sistemas supramoleculares são baseados em interações intermoleculares que podem ser fracas, como interações hidrofóbicas e forças de Van der Waals. Dessa forma, a técnica não possui sensibilidade suficiente para detectar com precisão alterações sutis nesses sistemas (Gontijo et al., 2015; Mura, 2015).

Os espectros de absorção na região do infravermelho, obtidos por FTIR-ATR para as moléculas livres, juntamente com os espectros dos CIs e de suas respectivas misturas físicas, referentes aos sistemas envolvendo β CD, γ CD, M β CD, HP β CD, estão apresentados nas Figuras 4.22, 4.23, 4.24 e 4.25, respectivamente.

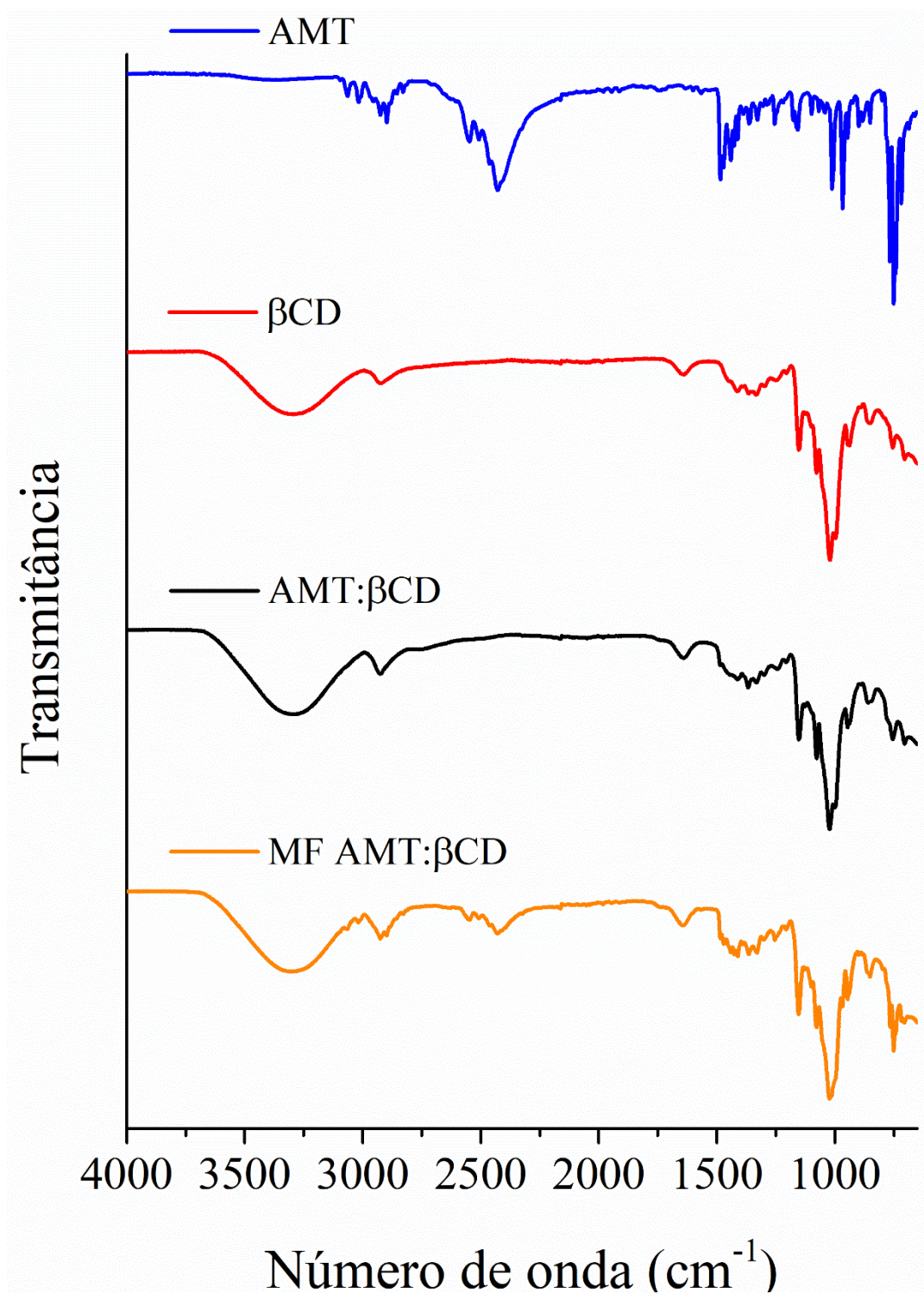


Figura 4.22 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) AMT, (b) βCD, (c) CI AMT:βCD e (d) MF AMT:βCD.

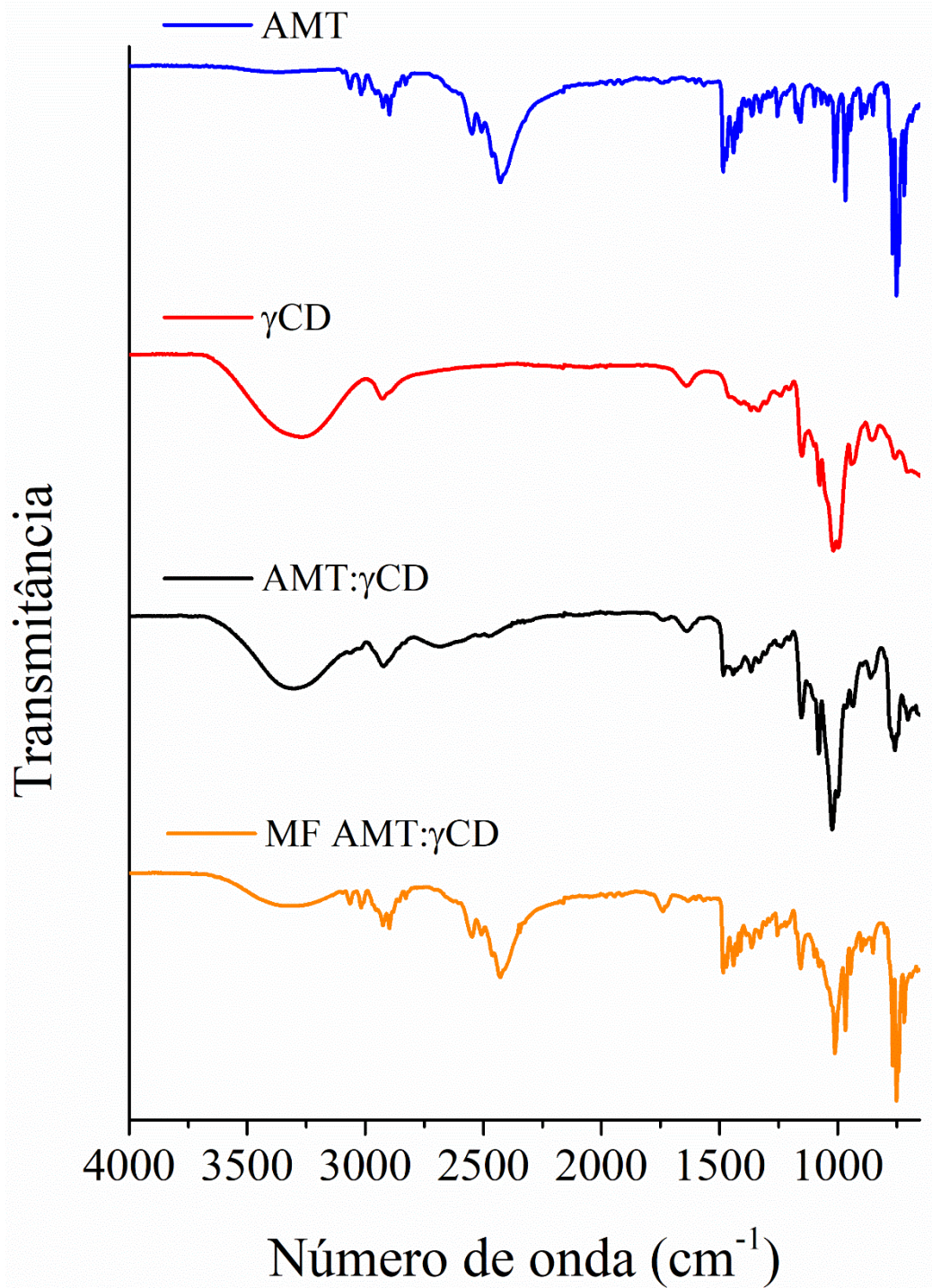


Figura 4.23 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) AMT, (b) γ CD, (c) CI AMT: γ CD e (d) MF AMT: γ CD.

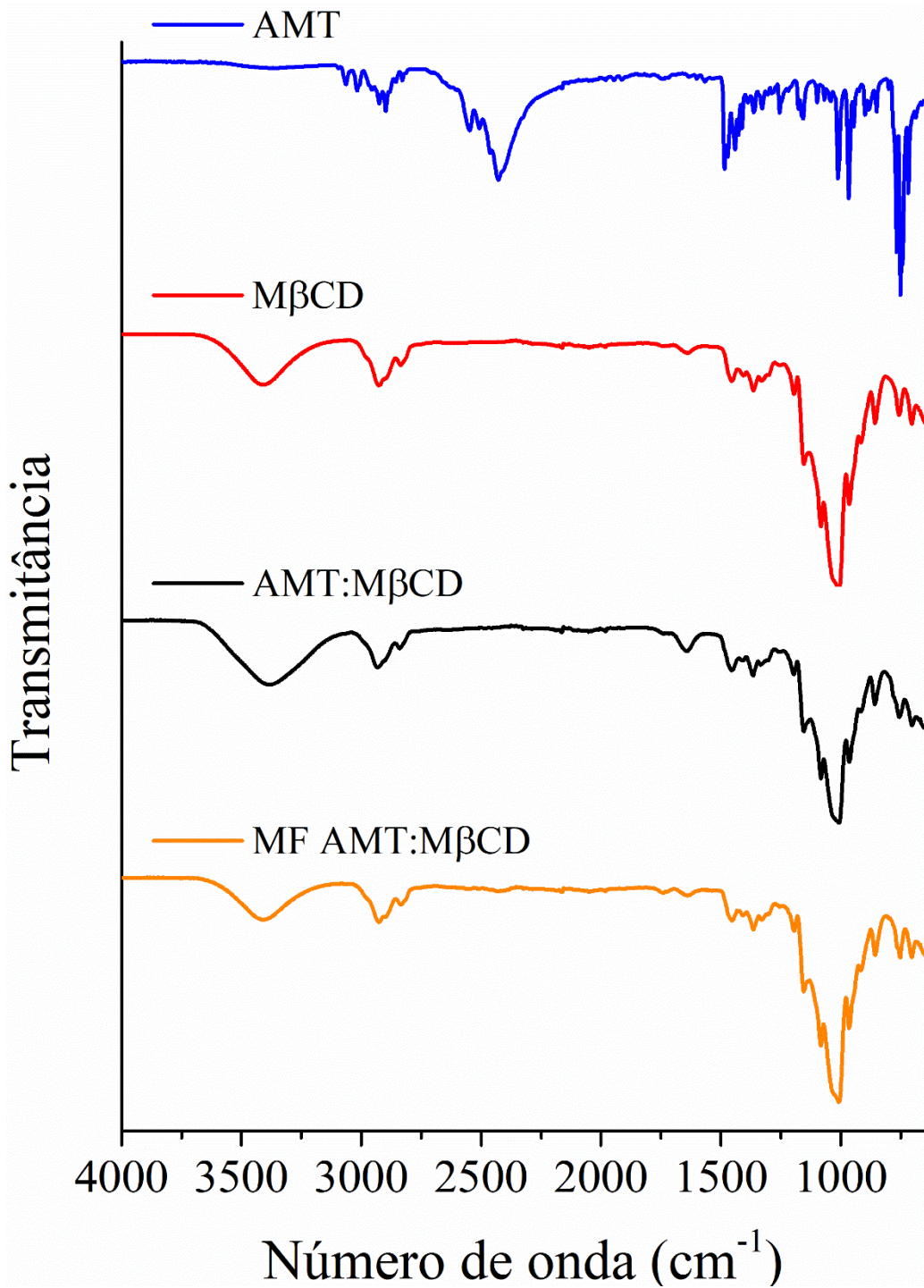


Figura 4.24 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) AMT, (b) MβCD, (c) CI AMT:MβCD e (d) MF AMT:MβCD.

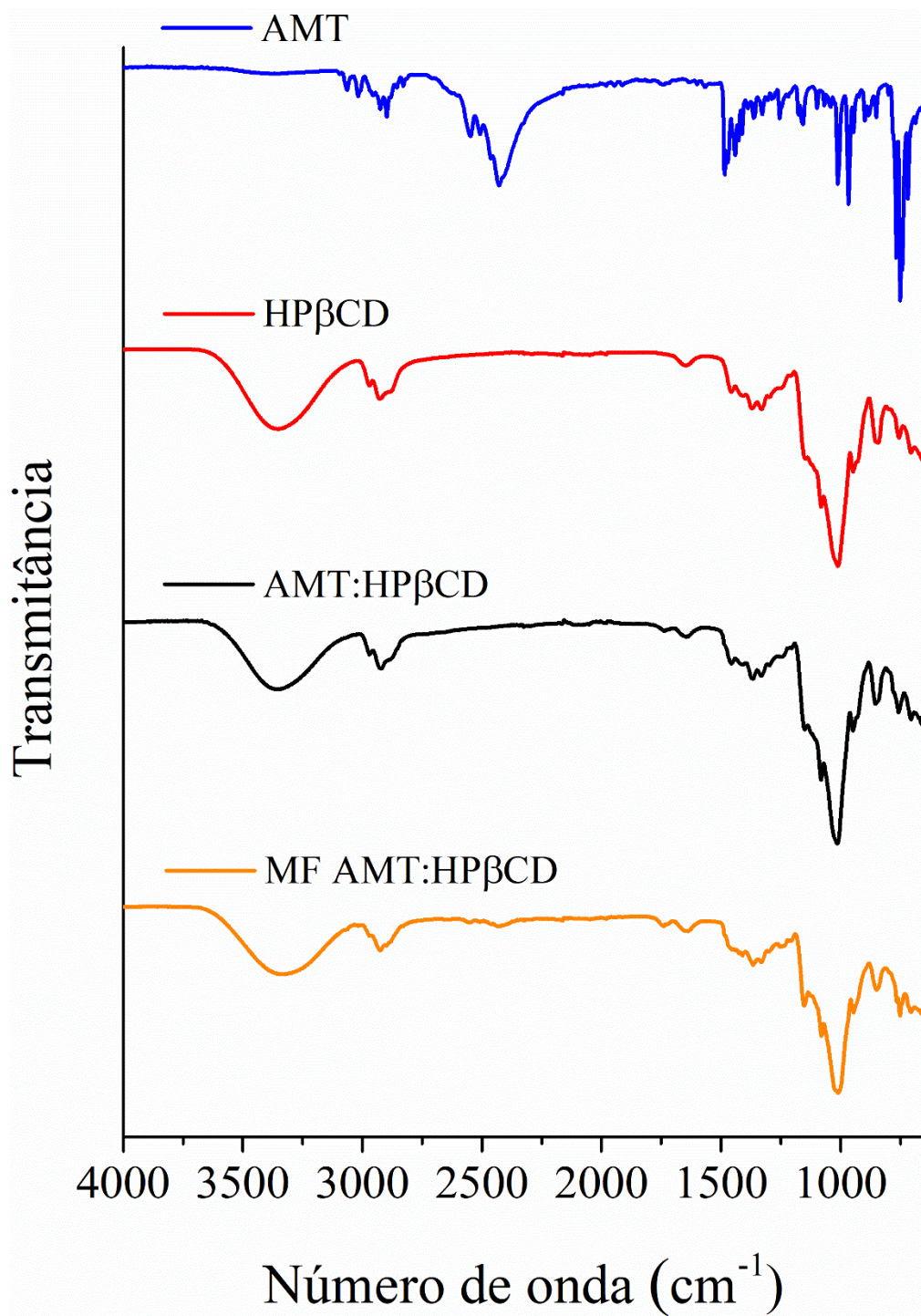


Figura 4.25 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) AMT, (b) HPβCD, (c) CI AMT:HPβCD e (d) MF AMT:HPβCD.

A partir de uma análise comparativa entre os espectros, não foi observada a presença de bandas atribuídas aos modos vibracionais da molécula do fármaco AMT nos espectros dos CIs AMT: β CD, AMT: γ CD, AMT:M β CD e AMT:HP β CD. Além disso, comparando os espectros das CDs livres com aqueles dos respectivos CIs, não foram identificadas alterações expressivas nas bandas atribuídas aos modos vibracionais das CDs (Figuras 4.22, 4.23, 4.24 e 4.25, respectivamente). Dessa forma, não foi possível determinar, de maneira conclusiva, a existência de perturbações nos modos vibracionais desses sistemas.

Portanto, verificou-se que, embora a técnica de FTIR-ATR tenha sido eficaz para auxiliar na caracterização de outros sistemas supramoleculares envolvendo CDs e diferentes moléculas hóspedes, conforme reportado na literatura, ela não se mostrou sensível o suficiente para a caracterização dos sistemas estudados neste trabalho (De Paula et al., 2012; Meira et al., 2018; Păduraru et al., 2013; Passos et al., 2012).

De forma complementar, ao analisar os espectros das misturas físicas, denominadas MF AMT: β CD, MF AMT: γ CD, MF AMT:M β CD e MF AMT:HP β CD, é possível observar a presença de bandas atribuídas tanto aos modos vibracionais das CDs quanto aos do fármaco AMT, sem a ocorrência de alterações expressivas. No espectro de MF AMT: β CD (Figura 4.22), observa-se com clareza a presença de bandas intensas atribuídas tanto ao AMT quanto à β CD, diferentemente do espectro de MF AMT: γ CD (Figura 4.23), no qual são observadas bandas mais intensas atribuídas ao fármaco AMT, enquanto as bandas referentes à γ CD são mais sutis. Esse comportamento pode estar associado à razão estequiométrica de 5:1 (AMT: γ CD) utilizada no preparo da amostra, visto que a maior quantidade de AMT presente pode favorecer a predominância dessa espécie química no espectro. Comportamento semelhante é observado nos espectros de MF AMT:M β CD e MF AMT:HP β CD, que foram preparadas utilizando razão estequiométrica de 1:2 (AMT:CD), nos quais se observa a presença de bandas atribuídas ao ν (N-H⁺) do fármaco AMT em 2548 e 2427 cm⁻¹, porém com baixa intensidade (Figuras 3.24 e 3.25, respectivamente). Para melhor visualização dessas bandas de baixa intensidade, uma expansão da região de 3000 – 1500 cm⁻¹ dos espectros de MF AMT:M β CD e MF AMT:HP β CD é apresentada na Figura 4.26.

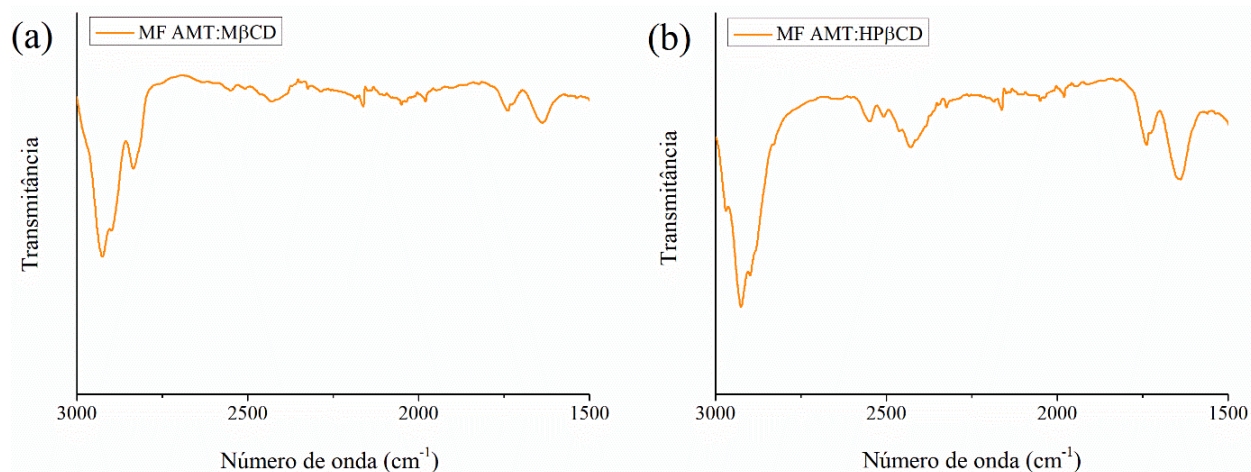


Figura 4.26 – Expansão da região de 3000 – 1500 cm^{-1} dos espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) MF AMT:M β CD e (b) MF AMT:HP β CD.

Logo, com base nas discussões apresentadas, os espectros das misturas físicas podem ser considerados como uma soma das bandas características das moléculas precursoras, sendo evidente a sobreposição dos modos vibracionais das moléculas hóspede e hospedeira. Esse comportamento sugere que não ocorre interação entre as espécies a partir desse método de preparo (Abarca et al., 2016; Passos et al., 2012; Vieira et al., 2023).

É importante ressaltar que, embora os resultados de ITC e FTIR forneçam indícios de formação de CIs, essas técnicas, isoladamente, não permitem confirmar estruturalmente a efetividade da inclusão. Nesse contexto, a técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear destaca-se como uma ferramenta fundamental tanto para a confirmação da inclusão quanto para a elucidação estrutural do composto formado.

4.4. Caracterização por espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) constitui uma das principais técnicas para a investigação de compostos de inclusão, uma vez que permite avaliar de forma direta a efetividade da inclusão e fornecer informações detalhadas sobre os sítios de interação entre a molécula hóspede e a cavidade da CD (Mura, 2014; Schneider et al., 1998). Nesse contexto, experimentos de RMN uni- e bidimensionais foram empregados com o objetivo de confirmar a formação dos compostos de inclusão que apresentaram interação, conforme evidenciado nos

experimentos de ITC, envolvendo o fármaco AMT e as CDs β CD, M β CD, HP β CD e γ CD. Adicionalmente, esses experimentos permitiram elucidar os modos de interação estabelecidos entre as espécies envolvidas.

Para as CDS estudadas, não foi necessária uma discussão detalhada dos espectros de RMN ^1H , uma vez que essas atribuições já são muito bem descritas na literatura para diferentes solventes. No trabalho de Schneider (1998), os deslocamentos químicos (δ) dos hidrogênios das CDs naturais (α CD, β CD e γ CD) foram identificados utilizando D_2O e DMSO-d_6 como solventes. Nos experimentos de RMN ^1H para β CD a 400 MHz, em D_2O , o autor demonstrou que os hidrogênios internos da cavidade, H3, H5 e H6, apresentam valores de δ próximos a 3,58, 3,47 e 3,48 ppm, respectivamente, enquanto os hidrogênios externos, H1, H2 e H4, apresentam valores de δ próximos a 4,68, 3,26 e 3,19 ppm, respectivamente. Já os hidrogênios das hidroxilas primárias e secundárias não são observados no espectro quando o solvente utilizado é o D_2O , devido à troca com os átomos de deutério do solvente. Valores semelhantes foram reportados pelo autor para a γ CD, nas mesmas condições, com diferenças mínimas nos valores de δ dos hidrogênios externos e internos (Schneider et al., 1998). Como a M β CD e a HP β CD são CDs derivadas da β CD e mantêm o esqueleto glicosídico, as atribuições descritas acima podem ser, de modo geral, estendidas a essas CDs modificadas. A representação estrutural de um monômero glicosídico da CD, indicando os hidrogênios internos e externos, está apresentada na Figura 4.27.

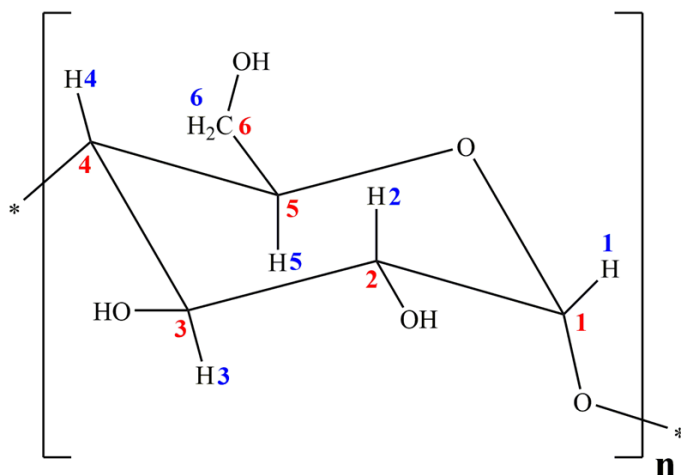


Figura 4.27 – Representação estrutural do monômero glicosídico da CD com respectiva identificação dos hidrogênios (azul) e carbonos (vermelho).

Os hidrogênios do fármaco AMT livre foram atribuídos com base em uma análise conjunta de experimentos de RMN uni- e bidimensionais. O espectro de RMN de ^1H do AMT, obtido a 600 MHz em D_2O , juntamente com a numeração adotada para a atribuição dos sinais, está apresentado na Figura 4.28.

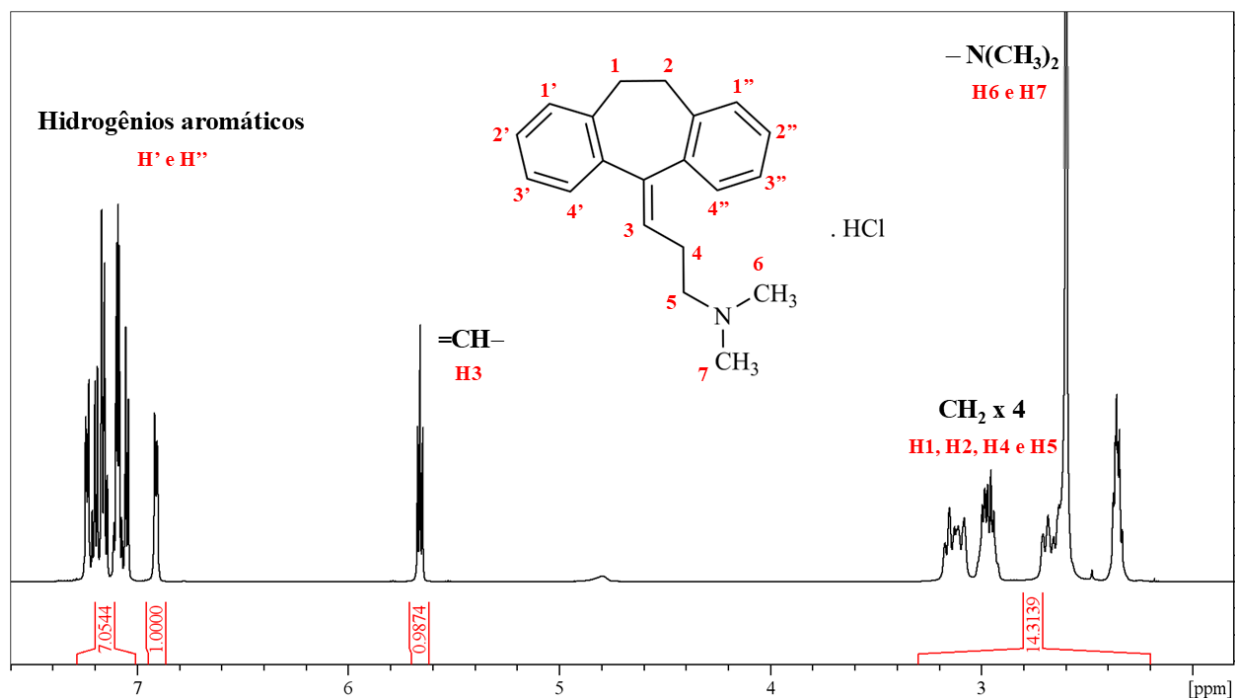


Figura 4.28 – Espectro de RMN de ^1H do AMT a 600 MHz em D_2O .

A partir do espectro de RMN de ^1H , observa-se que a soma das integrais dos sinais corresponde ao número total de hidrogênios presentes na molécula, corroborando a consistência das atribuições realizadas. Os hidrogênios aromáticos dos anéis benzênicos do sistema tricíclico são observados como múltiplos sinais na região de campo baixo, entre 6,80 e 7,3 ppm, apresentando padrões de multiplicidade compatíveis com os acoplamentos típicos de sistemas aromáticos condensados. O hidrogênio associado à ligação dupla do anel central (=CH-) é observado em região intermediária do espectro, em 5,65 ppm, apresentando um padrão de multiplicidade compatível com um tripleto, decorrente do acoplamento com dois prótons vizinhos. Os hidrogênios metilênicos (-CH₂-) da cadeia lateral e do anel central aparecem na região de campo alto, na região entre 2,31 e 3,20 ppm, formando múltiplos sinais sobrepostos. Os grupos metil ligados ao nitrogênio da amina terciária (N-CH₃) originam um

sinal intenso na região de δ 2,59 ppm, característico de grupos metil adjacentes a átomos de nitrogênio em aminas terciárias.

Com base nas atribuições dos hidrogênios do fármaco AMT e considerando as atribuições dos hidrogênios das diferentes CDs já bem elucidadas na literatura, conforme discutido anteriormente, foi possível avaliar a formação dos compostos de inclusão AMT: β CD, AMT:M β CD, AMT:HP β CD e AMT: γ CD. Para esse fim, os sistemas foram analisados por meio da combinação de experimentos de RMN de ^1H e NOESY ^1H - ^1H .

4.4.1. Sistema AMT: β CD

O espectro de RMN de ^1H do sistema supramolecular AMT: β CD foi obtido a 600 MHz, utilizando D_2O como solvente. A Figura 4.29 apresenta, em (a), o espectro de RMN de ^1H do CI AMT: β CD, no qual estão indicadas as atribuições dos sinais referentes tanto aos hidrogênios da β CD quanto aos do fármaco AMT, enquanto em (b) é apresentado o espectro do AMT livre, utilizado como referência para a análise comparativa.

A comparação entre o espectro de RMN de ^1H do AMT livre e aquele obtido para o sistema AMT: β CD evidencia alterações notáveis nos valores de δ dos sinais atribuídos ao fármaco. No espectro do AMT livre, os hidrogênios aromáticos são observados na faixa de 6,85 a 7,30 ppm, enquanto no espectro do CI AMT: β CD esses sinais passam a aparecer entre 6,95 e 7,50 ppm. De forma semelhante, o hidrogênio associado à ligação dupla do anel central ($=\text{CH}-$), observado em 5,65 ppm no fármaco livre, desloca-se para 5,92 ppm no espectro do CI. Alterações também são observadas nos sinais atribuídos aos hidrogênios metilênicos ($-\text{CH}_2-$) da cadeia lateral e do anel central, cuja região espectral passa de 2,31–3,20 ppm no AMT livre para 2,58–3,38 ppm nesse sistema, bem como para os grupos metil ligados ao nitrogênio da amina terciária ($\text{N}-\text{CH}_3$), cujo sinal se desloca de 2,59 para 2,82 ppm. Essas variações nos valores de δ refletem mudanças no ambiente químico dos diferentes grupos da molécula de AMT decorrentes da interação com a β CD em solução aquosa. Dessa forma, os resultados de RMN de ^1H sugerem ocorrência de interações intermoleculares entre o AMT e a β CD, estando em concordância com os dados obtidos por ITC, os quais indicaram a existência de interação entre as espécies. A elucidação do modo de inclusão e da proximidade espacial entre as espécies será discutida a partir dos experimentos de RMN 2D.

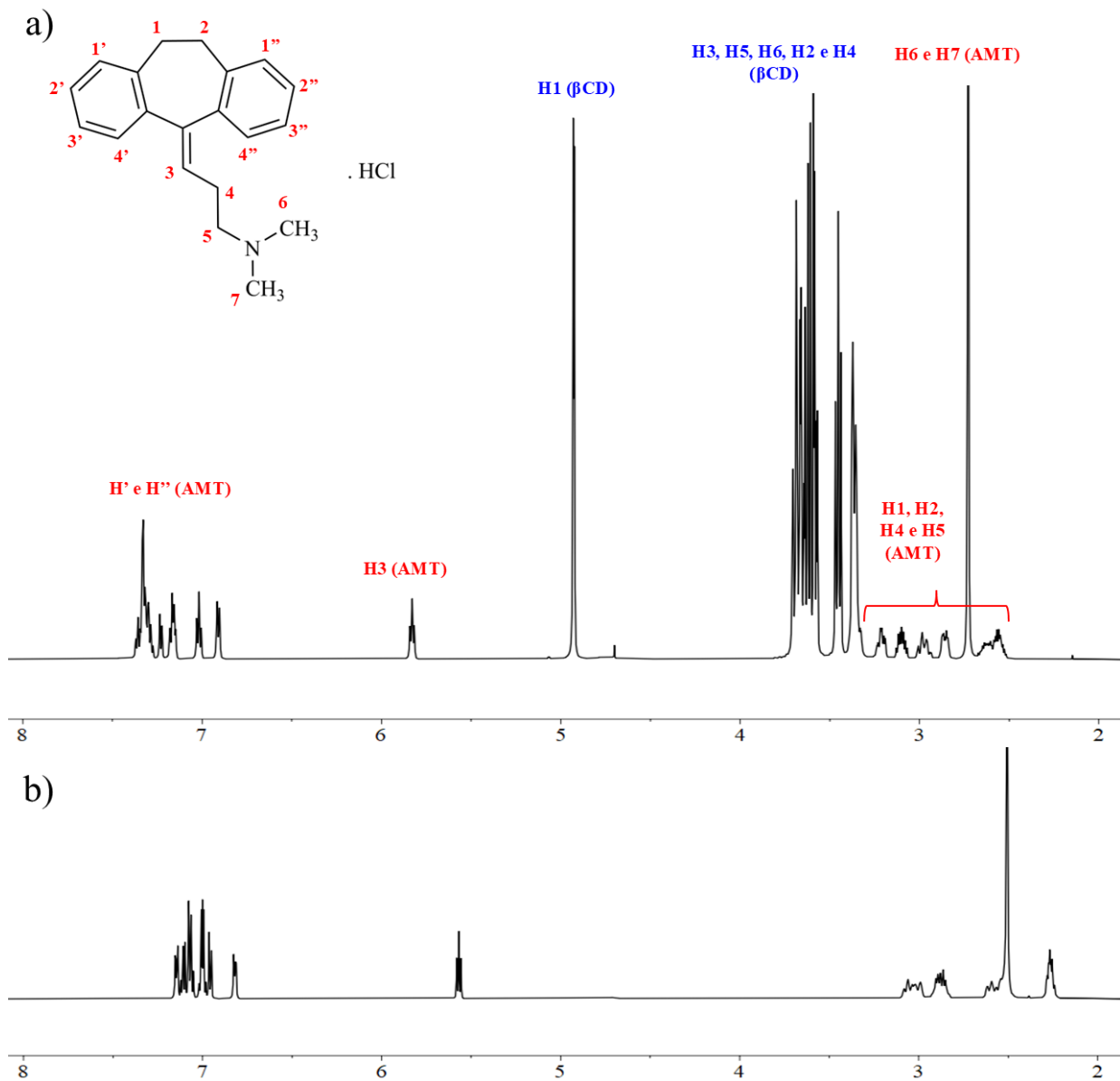


Figura 4.29 – Espectros de RMN de ^1H do (a) CI AMT: β CD e do (b) AMT a 600 MHz em D_2O , com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.

Adicionalmente, a expansão das regiões espectrais correspondentes aos hidrogênios metilênicos do sistema AMT: β CD (Figura 4.30) evidencia a ocorrência de duplicidade de sinais no espectro de RMN de ^1H quando comparado ao fármaco livre. Esse comportamento tem sido frequentemente associado à capacidade de enantio-reconhecimento da β CD em sistemas envolvendo moléculas quirais (Napiórkowska; Szeleszczuk, 2024; Schneider et al., 1998). O AMT é descrito na literatura como uma molécula que apresenta quiralidade inerente, decorrente da

curvatura do núcleo tricíclico e da presença da dupla ligação exocíclica, a qual restringe a livre rotação da cadeia lateral em relação ao sistema de anéis, resultando na ausência de elementos de simetria na molécula. Quando utilizado na forma de mistura racêmica, o AMT pode formar CIs diastereoméricos não equivalentes ao interagir com a cavidade hidrofóbica e quiral da β CD, que é uma CD homociral (Castiglione et al., 2017; Di Pietro; Ferro; Mele, 2020). A coexistência desses compostos em solução resulta na diferenciação dos ambientes químicos associados a hidrogênios equivalentes no fármaco livre. Como consequência, esses sinais passam a apresentar δ distintos, manifestando-se experimentalmente como a duplicidade de sinais observada no espectro de RMN de ^1H do CI, comportamento já relatado para o sistema AMT: β CD na literatura (Castiglione et al., 2017). Dessa forma, a duplicidade observada para o sistema AMT: β CD é consistente com a formação de CIs diastereoméricos não equivalentes em solução.

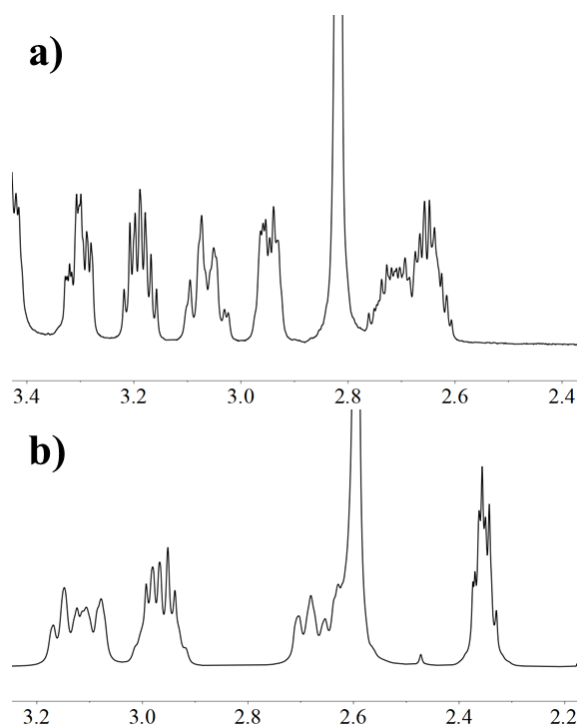


Figura 4.30 – Expansões dos espectros de RMN de ^1H (600 MHz em D_2O) do (a) CI AMT: β CD e do (b) AMT livre, na região correspondente aos hidrogênios metilênicos.

Para investigar de forma mais detalhada a proximidade espacial entre as moléculas de AMT e β CD e elucidar o modo de inclusão, foram realizados experimentos de RMN 2D $^1\text{H} - ^1\text{H}$ NOESY. Esses experimentos permitem identificar as correlações espaciais a curta distância entre

os hidrogênios das moléculas hóspede e hospedeira, confirmando a inclusão (Mura, 2014; Schneider et al., 1998). O mapa de correlação espacial do CI AMT:βCD está apresentado na Figura 4.31.

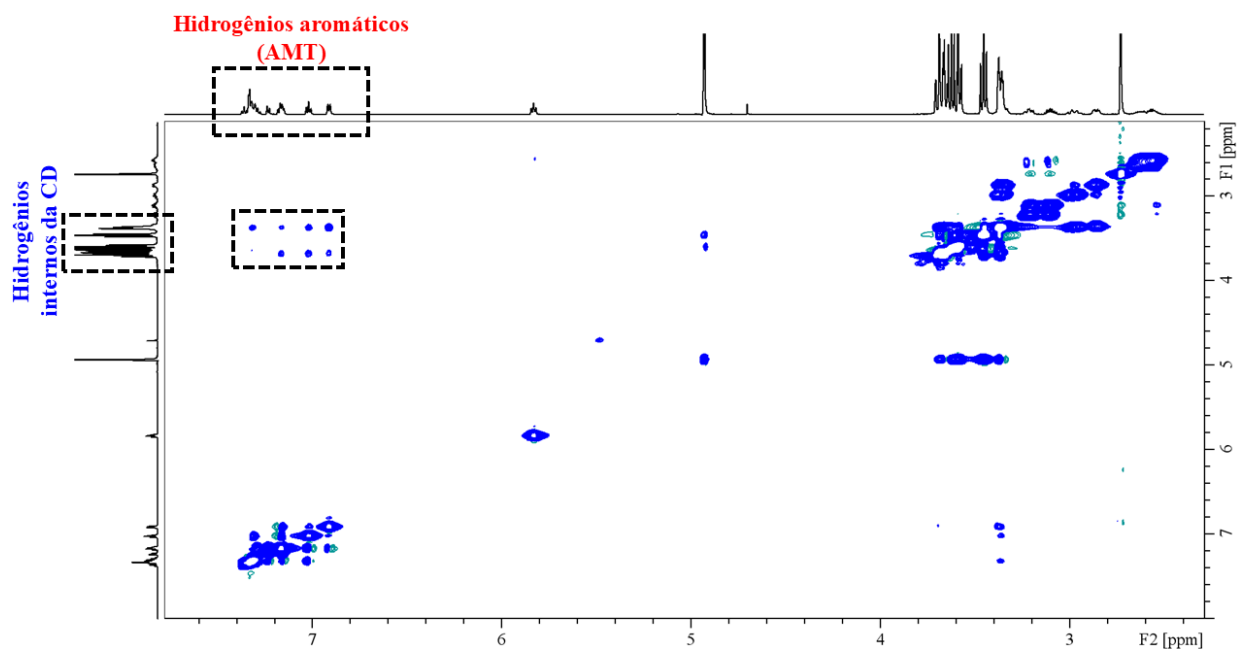


Figura 4.31 – Mapa de correlação de RMN 2D-NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ do CI AMT:βCD a 600 MHz em D_2O .

No mapa de correlação 2D-NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ foram observadas manchas de correlação a curta distância entre os hidrogênios aromáticos do AMT (H' e H'') e os hidrogênios internos da CD. Essas correlações confirmam a inclusão do fármaco na cavidade da βCD e indicam que a inclusão pode ocorrer por ambos os anéis aromáticos da molécula do AMT. Os dados de ITC para esse sistema apresentaram coeficientes estequiométricos fracionados, sugerindo a existência de múltiplos equilíbrios em solução. Dessa forma, pode-se supor que compostos com diferentes modos de inclusão, bem como compostos com distintas estequiometrias, coexistem em solução. A intensidade das correlações observadas no espectro NOESY indica interações próximas e bem definidas, consistentes com os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^1H . Esses resultados corroboram os dados obtidos por ITC, que apontam para uma afinidade elevada e uma interação termodinamicamente favorável entre o AMT e a βCD. Com base na análise conjunta dos dados de RMN e ITC, é proposto um modelo estrutural representativo para o sistema

AMT: β CD, ilustrado na Figura 4.32, no qual são sugeridos os modos de inclusão e as estequiometrias predominantes.

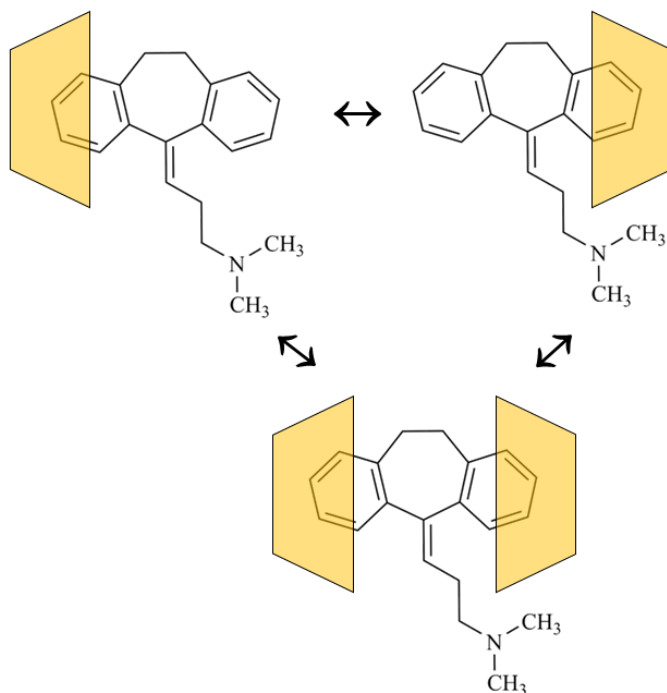


Figura 4.32 – Representação esquemática dos modos de inclusão e das estequiometrias sugeridas para o sistema AMT: β CD.

4.4.2. Sistema AMT:M β CD

Os espectros de RMN de ^1H do sistema AMT:M β CD e do fármaco AMT livre, obtidos a 600 MHz em D_2O , encontram-se apresentados na Figura 4.33(a) e (b), respectivamente. O espectro do fármaco livre foi empregado como padrão de comparação, e no espectro correspondente ao CI é possível identificar os sinais atribuídos tanto à CD modificada quanto à molécula de AMT, permitindo uma análise detalhada das modificações espectrais.

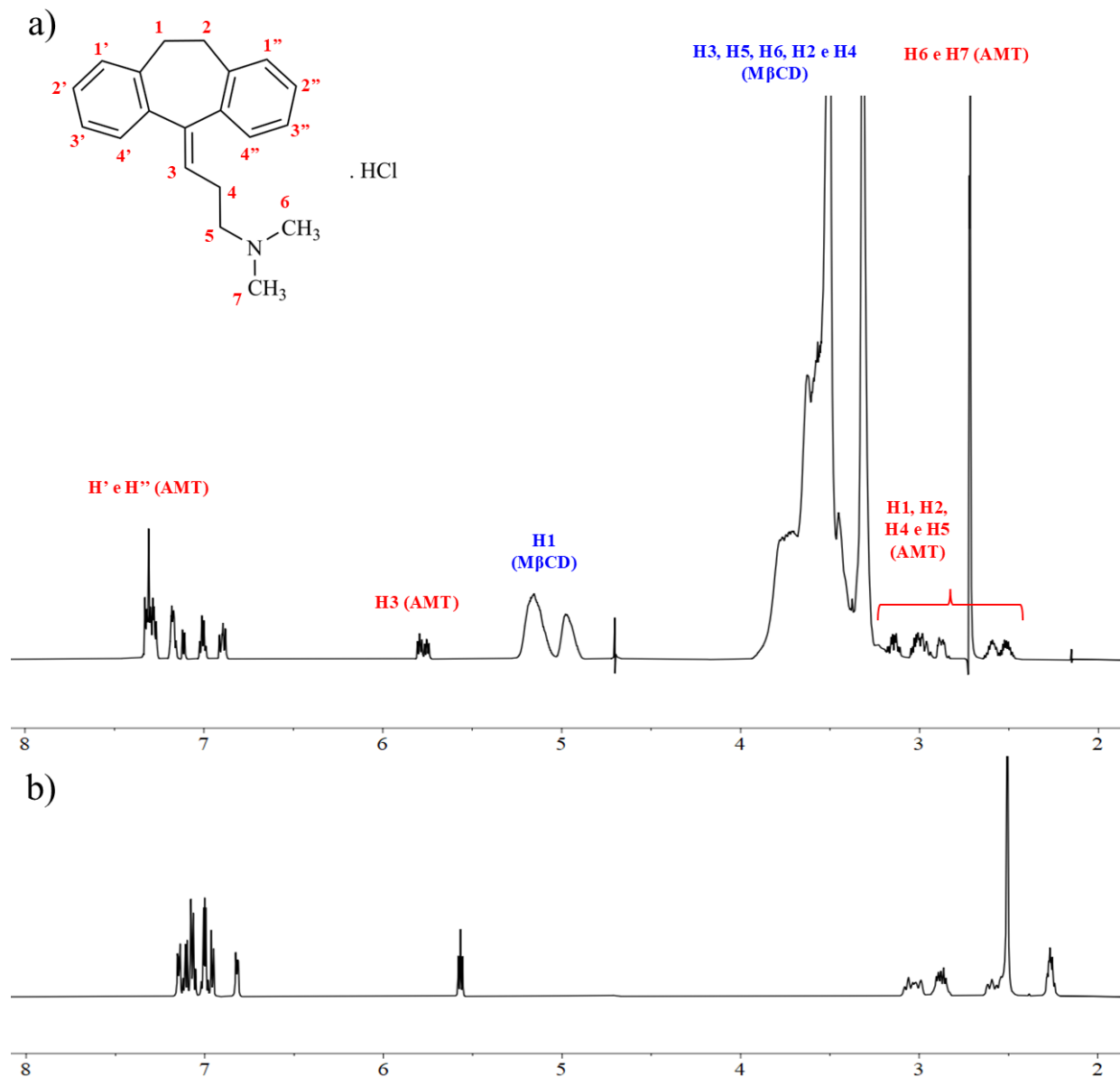


Figura 4.33 – Espectros de RMN de ^1H do (a) composto de inclusão AMT:M β CD e do (b) AMT a 600 MHz em D_2O , com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.

A análise comparativa entre o espectro de RMN de ^1H do AMT livre e aquele obtido para o sistema AMT:M β CD revela modificações consistentes nos deslocamentos químicos dos sinais atribuídos ao fármaco. Os hidrogênios aromáticos, que no AMT livre aparecem na região de 6,85–7,30 ppm, passam a ser observados entre 6,89 – 7,40 ppm na presença da M β CD. Alterações semelhantes são verificadas para o hidrogênio vinílico do anel central (=CH–), cujo sinal sofre um deslocamento de 5,65 ppm para 5,79 ppm nesse sistema. Os hidrogênios metilênicos (–CH $_2$ –),

tanto da cadeia lateral quanto do anel central, também apresentam variações nos valores de δ , deslocando-se da faixa de 2,31–3,20 ppm para 2,44–3,21 ppm, assim como os grupos N–CH₃ da amina terciária, cujo sinal passa de 2,59 ppm para 2,71 ppm. Essas mudanças refletem modificações no ambiente químico da molécula de AMT decorrentes de sua interação com a M β CD em solução, sugerindo a ocorrência de interações intermoleculares, em concordância com os resultados obtidos por ITC. A natureza dessas interações e o modo de associação entre as espécies serão discutidos com base nos experimentos de RMN 2D.

De forma adicional, esse sistema apresentou comportamento semelhante ao observado para o sistema AMT: β CD, evidenciado pela duplicação dos sinais atribuídos aos hidrogênios metilênicos da molécula de AMT, em decorrência da formação de espécies diastereoméricas não equivalentes. Esse efeito pode ser claramente observado na Figura 4.34, que apresenta a expansão das regiões espectrais correspondentes a esses hidrogênios. A capacidade de CDs modificadas em promover o enantioconhecimento de moléculas quirais encontra respaldo em estudos previamente descritos na literatura, o que reforça a interpretação dos resultados observados neste sistema (Nascimento et al., 2014; Rogez-Florent et al., 2015).

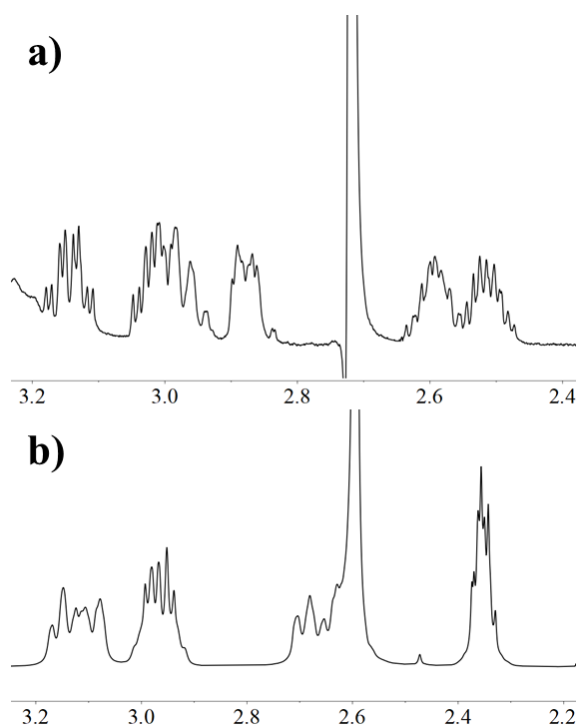


Figura 4.34 – Expansões dos espectros de RMN de ¹H (600 MHz em D₂O) do (a) CI AMT:M β CD e do (b) AMT livre, na região correspondente aos hidrogênios metilênicos.

No mapa de correlação espacial 2D ^1H - ^1H NOESY do sistema AMT:M β CD (Figura 4.35), observam-se manchas de correlações a curta distância entre os hidrogênios aromáticos da molécula de AMT e os hidrogênios internos da CD, evidenciando a proximidade espacial entre essas regiões da molécula do fármaco e a cavidade da M β CD. Tais correlações confirmam a formação do CI e indicam que a interação ocorre predominantemente por meio dos anéis aromáticos do AMT, os quais se encontram inseridos na cavidade hidrofóbica da M β CD.

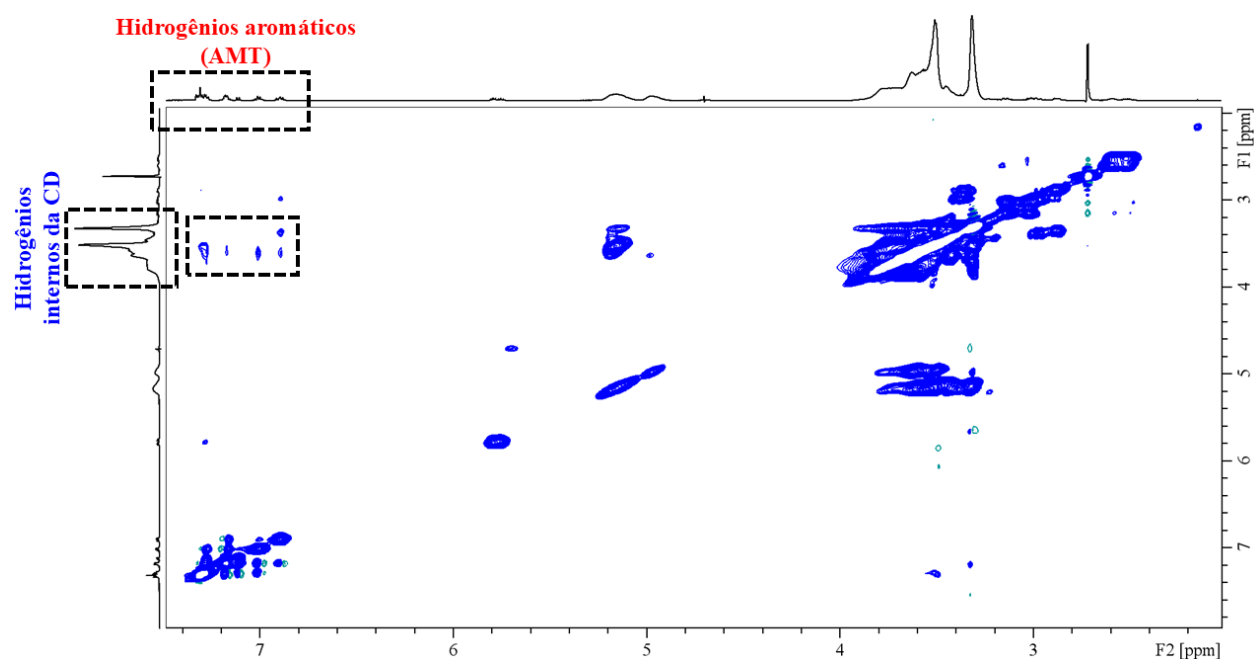


Figura 4.35 – Mapa de correlação de RMN 2D-NOESY ^1H – ^1H do CI AMT:M β CD a 600 MHz em D_2O .

Quando comparadas às correlações observadas para o sistema AMT: β CD, as manchas de correlação do sistema AMT:M β CD apresentam menor intensidade, sugerindo interações espaciais menos pronunciadas entre o fármaco e a cavidade da CD. Esse comportamento está em concordância com os dados calorimétricos obtidos por ITC, que indicam valores de K_a inferiores para os sistemas envolvendo as CDs modificadas em relação ao envolvendo a β CD, ainda que a afinidade observada entre o AMT e essas CDs permaneça elevada quando comparada a sistemas análogos descritos na literatura.

A menor intensidade das correlações observadas, aliada aos valores mais baixos de K_a em comparação ao sistema AMT: β CD, reforça a interpretação de que, embora a interação com a

M β CD seja termodinamicamente favorável, ela é menos intensa do que aquela estabelecida com a β CD natural. Conforme já discutido, esse comportamento pode estar associado à presença dos grupos substituintes na estrutura da M β CD, uma vez que grupos mais volumosos na molécula hospedeira podem dificultar a aproximação do hóspede à cavidade, em decorrência de impedimento estérico.

Adicionalmente, os dados de ITC para o sistema AMT:M β CD revelam uma estequiometria bem definida de 1:2 (AMT:M β CD), sugerindo a formação de CIs nos quais uma molécula de AMT interage simultaneamente com duas moléculas de CD. A análise conjunta dos resultados de RMN e ITC permite, assim, propor um modelo estrutural representativo para o sistema AMT:M β CD, no qual são considerados os modos de inclusão predominantes e a estequiometria observada em solução. Esse modelo é ilustrado na Figura 4.36.

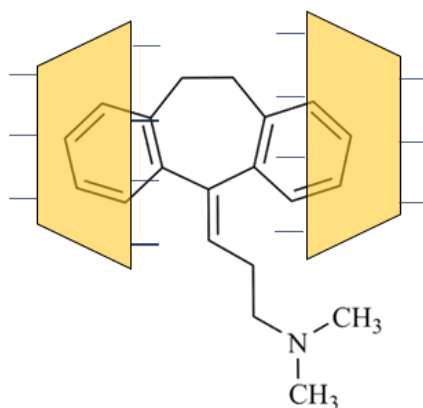


Figura 4.36 – Representação esquemática dos modos de inclusão e da estequiometria sugerida para o sistema AMT:M β CD.

4.4.3. Sistema AMT:HP β CD

Os espectros de RMN de ^1H do sistema AMT:HP β CD e do fármaco AMT, obtidos a 600 MHz em D_2O , estão apresentados na Figura 4.37 (a) e (b), respectivamente, com as atribuições dos sinais referentes aos hidrogênios da HP β CD e aos do fármaco AMT. O espectro do fármaco livre foi utilizado como referência para a análise comparativa com o espectro do CI.

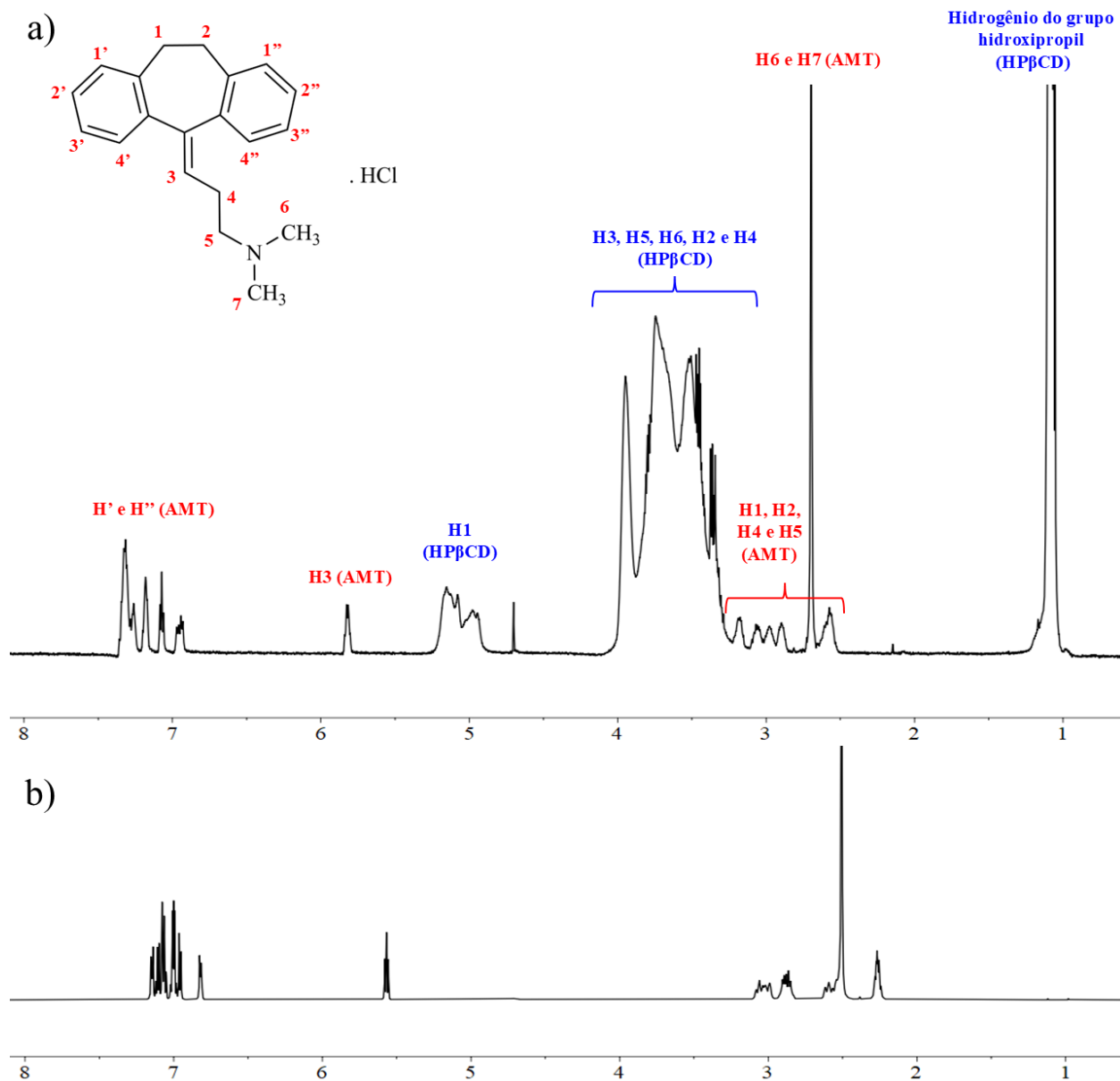


Figura 4.37 – Espectro de RMN de ^1H do (a) composto de inclusão AMT:HP β CD e do (b) AMT a 600 MHz em D_2O , com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.

A comparação dos espectros de RMN de ^1H do AMT livre e do sistema supramolecular também evidencia alterações nos deslocamentos químicos dos sinais do fármaco, indicando mudanças em seu ambiente químico em solução. Os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos do AMT, originalmente localizados entre 6,85 e 7,30 ppm, são observados na região de 6,91–7,40 ppm na presença da HP β CD. O hidrogênio associado à ligação dupla do anel central apresenta deslocamento de 5,65 ppm para 5,82 ppm, enquanto os sinais dos hidrogênios

metilênicos ($-\text{CH}_2-$) sofrem variações da faixa original de 2,31–3,20 ppm para 2,48–3,26 ppm. Alterações também são observadas para os grupos $\text{N}-\text{CH}_3$, cujo sinal se desloca de 2,59 ppm para 2,69 ppm. Em conjunto, essas variações nos valores de δ indicam a ocorrência de interações intermoleculares entre o AMT e a HP β CD, em consonância com os dados calorimétricos de ITC, que apontam para a existência de interação entre as espécies em solução aquosa. A caracterização mais detalhada do modo de inclusão será aprofundada a partir dos experimentos de RMN 2D.

Seguindo o mesmo padrão observado para os sistemas AMT: β CD e AMT:M β CD, o sistema AMT:HP β CD também apresenta duplicação dos sinais atribuídos aos hidrogênios metilênicos da molécula de AMT no espectro de RMN de ^1H , indicando a formação de espécies não equivalentes em solução. Esse efeito pode ser visualizado na Figura 4.38, que apresenta a ampliação das regiões espectrais associadas a esses hidrogênios, evidenciando um comportamento análogo ao observado para sistemas discutidos anteriormente.

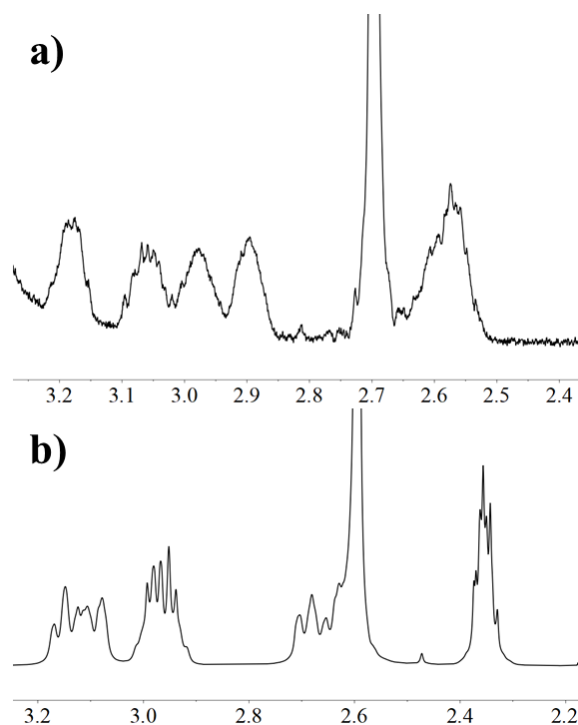


Figura 4.38 – Expansões dos espectros de RMN de ^1H (600 MHz em D_2O) do **(a)** CI AMT:HP β CD e do **(b)** AMT livre, na região correspondente aos hidrogênios metilênicos.

Por fim, a análise do mapa de correlação 2D $^1\text{H}-^1\text{H}$ NOESY do sistema AMT:HP β CD, apresentado na Figura 4.39, revela a presença de correlações espaciais de curto alcance entre os

hidrogênios aromáticos do fármaco e os hidrogênios localizados no interior da cavidade da HP β CD, de forma similar ao observado para os sistemas discutidos anteriormente. A ocorrência dessas correlações evidencia a proximidade entre a molécula de AMT e a CD, confirmando a formação do CI. Esses resultados indicam que o processo de inclusão envolve predominantemente os anéis aromáticos do AMT.

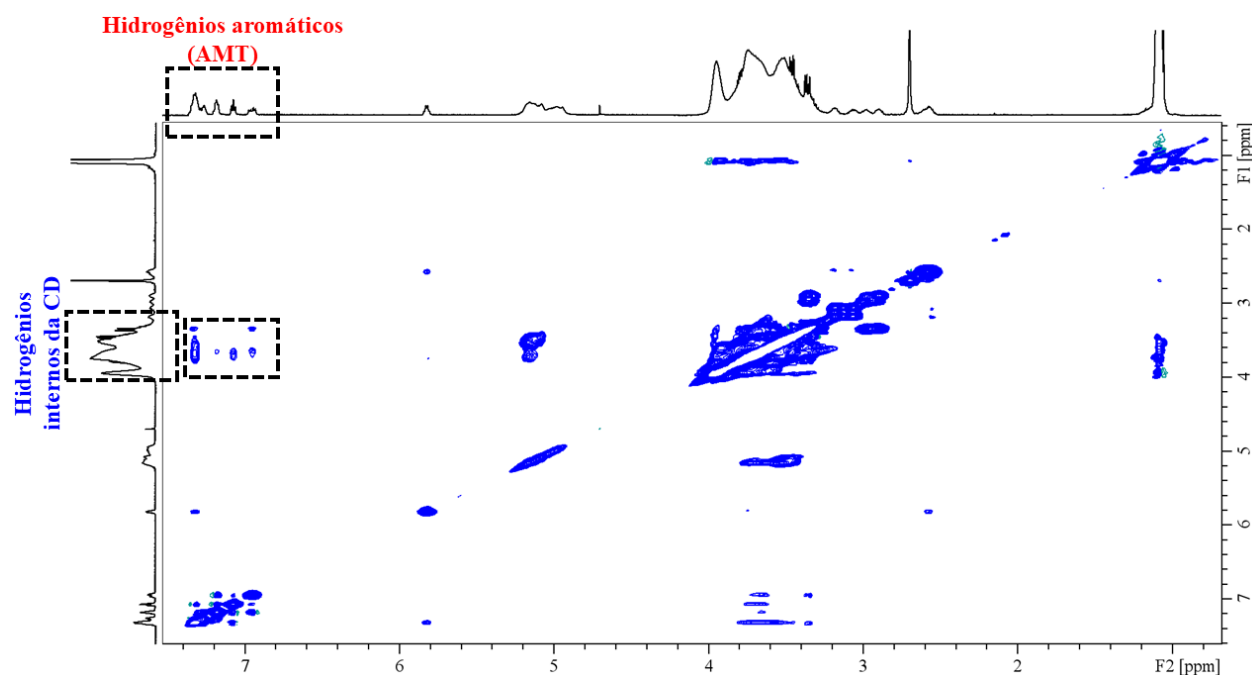


Figura 4.39 – Mapa de correlação de RMN 2D-NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ do CI AMT:HP β CD a 600 MHz em D_2O .

De modo semelhante ao observado para o sistema AMT:M β CD, as correlações observadas para o sistema AMT:HP β CD apresentam menor intensidade quando comparadas àquelas do sistema envolvendo a β CD natural, sugerindo interações espaciais menos pronunciadas entre o fármaco e a cavidade da CD modificada. Esse comportamento está em concordância com os dados obtidos por ITC, os quais também indicaram valores de K_a inferiores aos evidenciados para o sistema AMT: β CD, ainda que a afinidade entre o AMT e a HP β CD também permaneça elevada quando comparada a sistemas análogos descritos na literatura. Como já discutido para o sistema AMT:M β CD, essa diferença pode estar relacionada à presença de grupos hidroxipropil na estrutura da CD, os quais podem influenciar o modo de inclusão do fármaco e a intensidade da interação hóspede-hospedeiro em decorrência de impedimento estérico.

Adicionalmente, os experimentos de ITC realizados para o sistema AMT:HP β CD indicam uma estequiometria compatível com a formação de CIs com estequiometria 1:2, ou seja, compostos formados a partir de uma molécula de AMT estabelecendo interações simultâneas com duas unidades de CD. Esse comportamento é coerente com aquele observado para o sistema contendo M β CD, sugerindo um padrão de associação semelhante entre o fármaco e as CDs modificadas. Dessa forma, a correlação entre os resultados obtidos por RMN e ITC possibilita propor uma representação estrutural para o sistema AMT:HP β CD em solução, conforme apresentado na Figura 4.40.

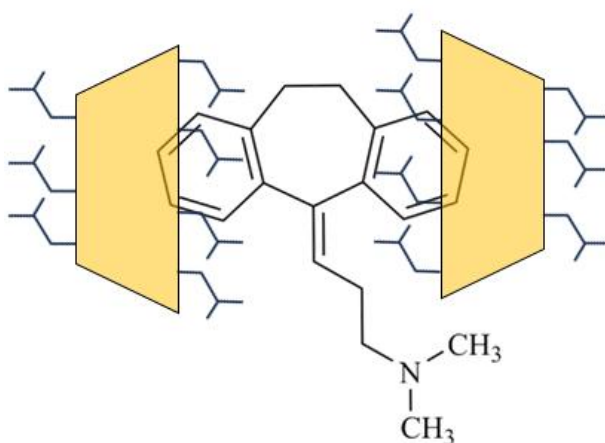


Figura 4.40 – Representação esquemática dos modos de inclusão e da estequiometria sugerida para o sistema AMT:HP β CD.

4.4.4. Sistema AMT: γ CD

O espectro de RMN de ^1H do sistema AMT: γ CD foi obtido a 600 MHz, utilizando D_2O como solvente. O referido espectro é apresentado na Figura 4.41(a), juntamente com as respectivas atribuições de sinais de hidrogênio da γ CD e do AMT. Para fins de comparação, a Figura 4.41(b) apresenta o espectro de RMN de ^1H do fármaco AMT, utilizado como referência para a análise do espectro do sistema AMT: γ CD.

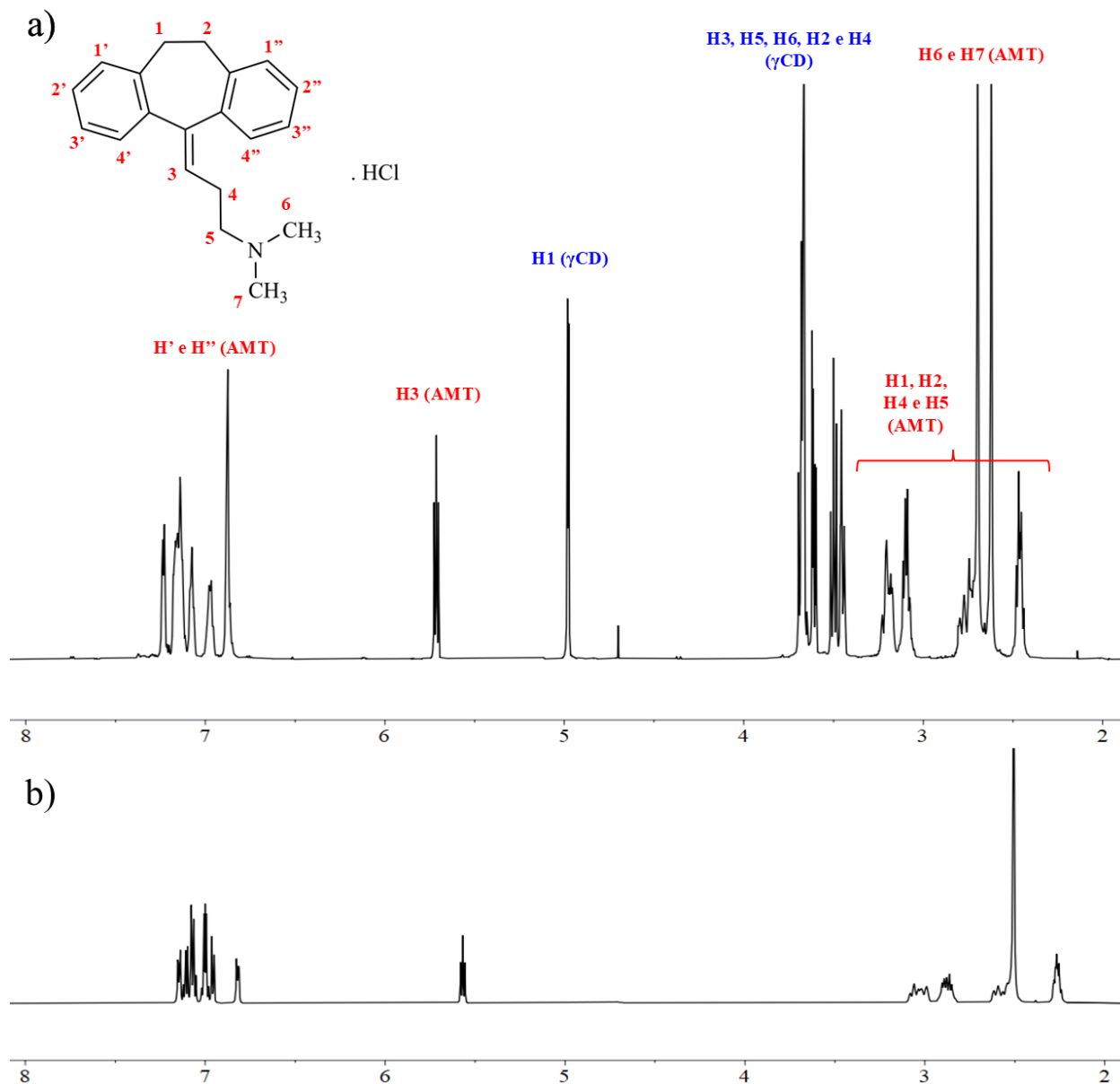


Figura 4.41 – Espectro de RMN de ^1H do (a) composto de inclusão AMT: γCD e do (b) AMT a 600 MHz em D_2O , com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.

Para o sistema AMT: γCD , a comparação entre o espectro de RMN de ^1H do AMT livre e aquele obtido na presença da γCD também evidencia alterações nos valores de δ dos sinais atribuídos ao fármaco, embora, em geral, menos pronunciadas quando comparadas aos sistemas contendo βCD e CDs modificadas. Os hidrogênios aromáticos do AMT, originalmente observados na faixa de 6,85–7,30 ppm, passam a aparecer entre 6,89 e 7,30 ppm no sistema AMT: γCD . O sinal do hidrogênio vinílico do anel central apresenta deslocamento de 5,65 ppm para 5,71 ppm,

enquanto os hidrogênios metilênicos ($-\text{CH}_2-$) exibem variações da região de 2,31–3,20 ppm para 2,39–3,26 ppm. Alterações sutis também são observadas para os grupos $\text{N}-\text{CH}_3$, com deslocamento de 2,59 ppm para 2,64 ppm. Essas modificações nos valores de δ indicam a ocorrência de interações entre o AMT e a γCD em solução aquosa, em concordância com os resultados de ITC.

Complementarmente a essas variações espectrais, a análise dos dados espectroscópicos por RMN de ^1H indica a ocorrência de interações intermoleculares entre a molécula de AMT e a γCD , porém com características distintas daquelas verificadas para os sistemas envolvendo βCD . No espectro de RMN de ^1H desse sistema, não são observadas duplicações de sinais associadas à formação de espécies diastereoméricas, como verificado no sistema $\text{AMT}:\beta\text{CD}$, indicando a ausência de evidências de enantioconhecimento para esse sistema nas condições experimentais empregadas.

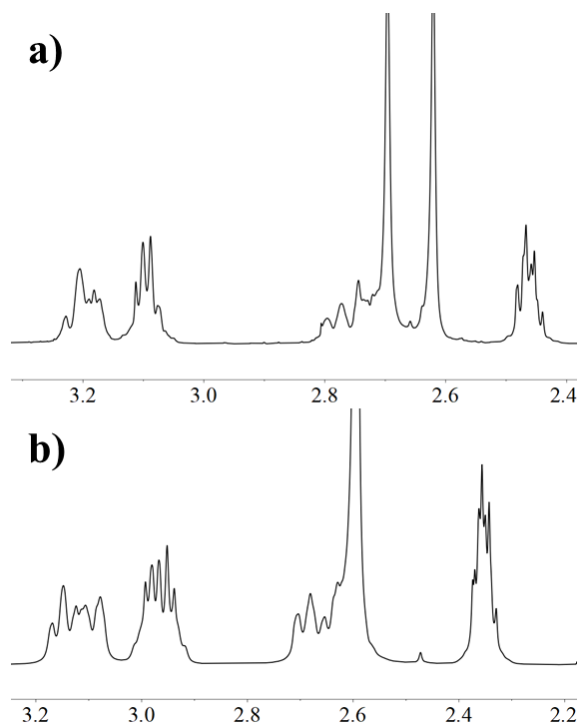


Figura 4.42 – Expansões dos espectros de RMN de ^1H (600 MHz em D_2O) do **(a)** CI AMT: γCD e do **(b)** AMT livre, na região correspondente aos hidrogênios metilênicos.

De forma complementar, a Figura 4.43 apresenta o mapa de correlação espacial 2D $^1\text{H}-^1\text{H}$ NOESY do CI AMT: γCD , permitindo uma avaliação da correlação espacial entre os

hidrogênios do AMT e da γ CD. Para esse sistema, as manchas de correlação a curta distância observadas também estão relacionadas aos hidrogênios aromáticos do AMT e aos hidrogênios internos e externos da γ CD, confirmando o processo de inclusão.

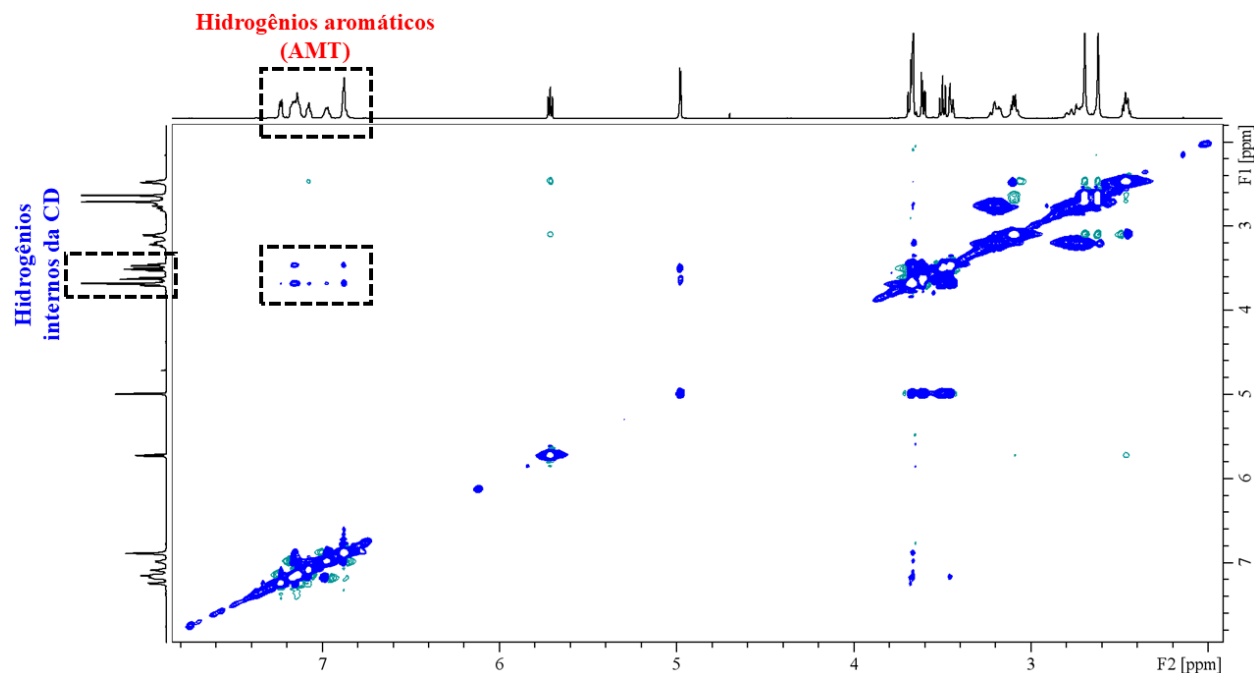


Figura 4.43– Mapa de correlação de RMN 2D-NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ do CI AMT: γ CD a 600 MHz em D_2O .

Além disso, ao comparar a quantidade e a intensidade das manchas de correlação a curta distância do sistema AMT: γ CD com aquelas relacionadas ao sistema AMT: β CD, observam-se interações menos intensas entre o AMT e a γ CD. Esse resultado está de acordo com os dados de ITC, que sugerem, para esse sistema, a predominância de interações superficiais entre o fármaco e a CD, em vez de uma inclusão profunda e bem definida no interior da cavidade. Como já discutido, a maior dimensão da cavidade da γ CD em relação ao tamanho das regiões hidrofóbicas da molécula de AMT pode dificultar o processo de inclusão.

Adicionalmente, os experimentos de ITC revelam coeficientes estequiométricos fracionados para o sistema AMT: γ CD, evidenciando a coexistência de diferentes modos de interação em solução. Nesse cenário, mesmo com a confirmação da ocorrência de inclusão, é plausível que múltiplas moléculas de AMT interajam de forma majoritariamente superficial com a região externa da γ CD. Assim, a correlação entre os resultados obtidos por RMN e ITC permite

propor um modelo estrutural para o sistema AMT: γ CD em solução, caracterizado por interações predominantemente superficiais, conforme esquematizado na Figura 4.44.

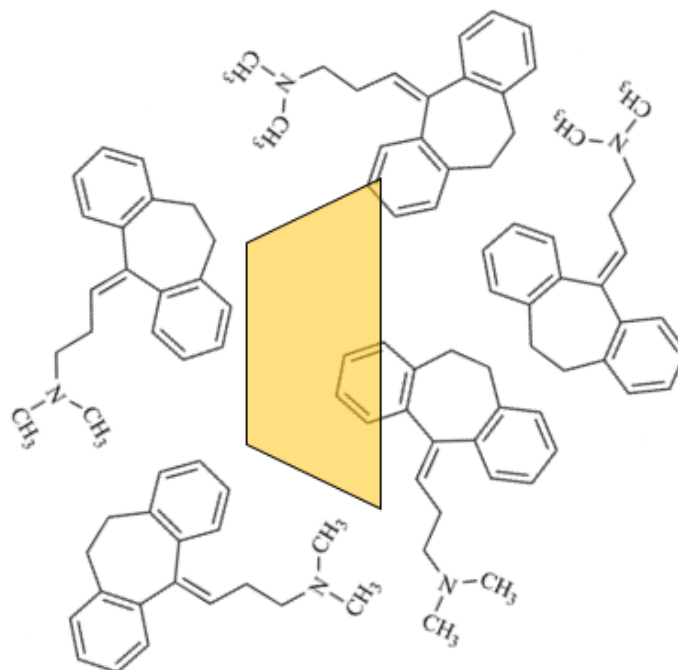


Figura 4.44 – Representação esquemática dos modos de inclusão sugeridos para o sistema AMT: γ CD.

CAPÍTULO 5
RESULTADOS E DISCUSSÕES:
Sistemas híbridos supramoleculares

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES: Sistemas híbridos supramoleculares

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos na caracterização das duas NECDs sintetizadas (β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD), bem como os resultados do estudo de adsorção do fármaco AMT, no qual as NECDs foram avaliadas como adsorventes, com o objetivo de analisar a viabilidade da sua encapsulação visando à posterior liberação. Adicionalmente, são apresentados e discutidos os resultados da caracterização dos hidrogéis de PVA preparados, bem como os estudos cinéticos de liberação do fármaco.

Com base nos resultados discutidos no capítulo anterior, observou-se que o sistema envolvendo a β CD apresentou interações mais intensas e bem definidas com o fármaco AMT, evidenciadas por correlações espaciais mais pronunciadas nos experimentos de RMN 2D-NOESY e por valores mais elevados de K_a obtidos por ITC. Esses resultados indicam uma inclusão mais efetiva do fármaco na cavidade da β CD, quando comparada às CDs modificadas e à γ CD. Dessa forma, a β CD foi selecionada como molécula precursora para a preparação das NECDs, visando o desenvolvimento de sistemas eficientes para encapsulação e liberação controlada do AMT.

As NECDs sintetizadas, β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD, foram caracterizadas por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR), análises termogravimétricas (TG/DTG), espalhamento dinâmico de luz (DLS), potencial ζ , microscopia eletrônica de varredura (MEV). De forma complementar, os hidrogéis de PVA preparados foram caracterizados por FTIR e MEV, além da avaliação do grau de intumescimento. Por fim, esses sistemas foram avaliados quanto à cinética de liberação do fármaco.

5.1. Síntese e caracterização das nanoesponjas à base de ciclodextrinas

Para o preparo das NECDs, a etapa inicial consistiu na síntese da β CD-I, realizada por meio de uma reação de substituição nucleofílica mediada pelo sistema I₂/Ph₃P, utilizando DMF como solvente. Inicialmente, as hidroxilas primárias da β CD, localizadas na posição C6, são ativadas pela reação com a Ph₃P, levando à formação de um intermediário fosfônio. Em seguida,

esse intermediário é substituído por íons iodeto gerados *in situ*, resultando na conversão das hidroxilas primárias em grupos iodados. A introdução do átomo de iodo teve como finalidade aumentar a reatividade da posição C6, uma vez que o iodo atua como um grupo abandonador mais eficiente do que a hidroxila, favorecendo a posterior aminação das CDs. O produto foi obtido como um sólido de coloração branca, com a funcionalização confirmada por RMN ^1H , conforme discutido posteriormente, apresentando rendimento de aproximadamente 90,3%, em concordância com os dados reportados na literatura (Ashton et al., 1996; Utzeri et al., 2022b).

Na segunda etapa, foi realizada a aminação da $\beta\text{CD-I}$ sintetizada, obtendo-se duas βCDs funcionalizadas com grupos amina (βCDam_x). A síntese das βCDam_x foi realizada utilizando duas diaminas com diferentes comprimentos de cadeia carbônica, a hexano-1,6-diamina (am_6) e a dodecano-1,12-diamina (am_{12}). A reação ocorreu por substituição nucleofílica do iodo na posição C6 por um dos grupos amina presentes nas estruturas das diaminas. As diaminas foram utilizadas por atuarem como bons nucleófilos nessas reações. A substituição em ambos os produtos foi confirmada por RMN ^1H , conforme discussão posterior. Tanto a βCDam_6 quanto a βCDam_{12} foram obtidas como sólidos de coloração amarelo-claro, com rendimentos aproximados de 62,9 e 33,5%, respectivamente, inferiores aos valores reportados na literatura (Russo et al., 2016; Utzeri et al., 2022b).

Por fim, para a obtenção das NECDs, realizou-se a etapa de reticulação a partir da reação entre cada βCDam_x e a $\beta\text{CD-I}$, empregando-se uma na razão molar de 1:1. Nesse processo, as diaminas atuaram como agentes de reticulação, e a reação consistiu na substituição nucleofílica dos átomos de iodo localizados na posição C6 da CD-I pelos grupos amina primários presentes na estrutura da βCDam_x , resultando na formação de polímeros reticulados (Russo et al., 2016; Utzeri et al., 2022b). Partindo de uma massa inicial de 0,323 g de βCDam_{12} , obteve-se aproximadamente 0,160 g da NECD correspondente ($\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$), a qual foi obtida na forma de um sólido insolúvel de coloração amarelo-queimado. De modo análogo, partindo-se 0,4586 g de βCDam_6 , foram obtidos aproximadamente 0,331 g do polímero reticulado ($\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$), o qual foi obtido como um pó fino, insolúvel, de coloração branca. Por fim, as duas NECDs sintetizadas ($\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$ e $\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$) foram caracterizadas por RMN, FTIR, TG/DTG, DLS e potencial ζ , MEV, conforme apresentado e discutido na sequência.

5.1.1. Ressonância magnética nuclear

A técnica de espectroscopia de RMN foi utilizada para confirmar as etapas de modificação química da β CD natural para β CD-I, bem como da β CD-I para β CDam_x, compostos utilizados na síntese das NECDs. Para esse fim, foram obtidos espectros de RMN de ^1H da β CD, β CD-I, β CDam₆ e β CDam₁₂, a 400 MHz, utilizando DMSO-d₆ como solvente.

Os sinais dos hidrogênios da molécula precursora, β CD natural, foram atribuídos com base na discussão de Schneider e colaboradores (1998), que detalham em seu trabalho as atribuições dos sinais de hidrogênios para CDs em diferentes solventes. Considerando experimentos de RMN de ^1H para β CD, obtidos a 400 MHz em DMSO-d₆, os autores demonstraram que os hidrogênios internos da CD, H3, H5 e H6, apresentam valores de deslocamento químico (δ) próximos de 3,64, 3,59 e 3,64 ppm, respectivamente. Já os hidrogênios externos da CD, H1, H2 e H4, apresentam valores de δ próximos de 4,82, 3,29 e 3,34 ppm, respectivamente, enquanto os hidrogênios das hidroxilas secundárias na posição C2 e C3 aparecem entre 5,8 e 5,6 ppm, e os hidrogênios das hidroxilas primárias na posição C6 entre 4,6 e 4,4 ppm (Schneider et al., 1998). A Figura 5.1 apresenta a representação estrutural de um monômero glicosídico de CD, com a identificação dos hidrogênios internos, externos e das hidroxilas.

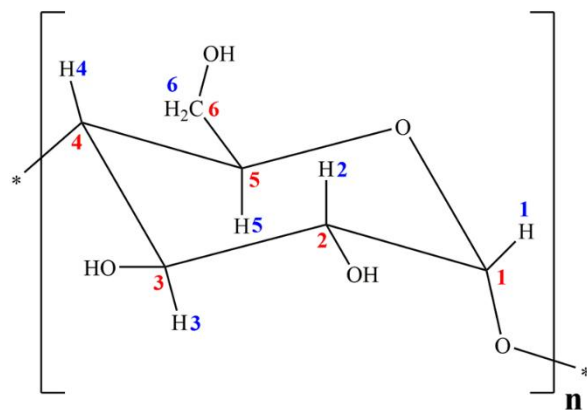


Figura 5.1 – Representação estrutural do monômero glicosídico da CD com respectiva identificação dos hidrogênios (azul) e carbonos (vermelho).

Os espectros de RMN de ^1H da βCD e da $\beta\text{CD-I}$, obtidos a 400 MHz em DMSO-d_6 , estão apresentados na Figura 5.2, e as respectivas atribuições dos sinais encontram-se resumidas na Tabela 5.1.

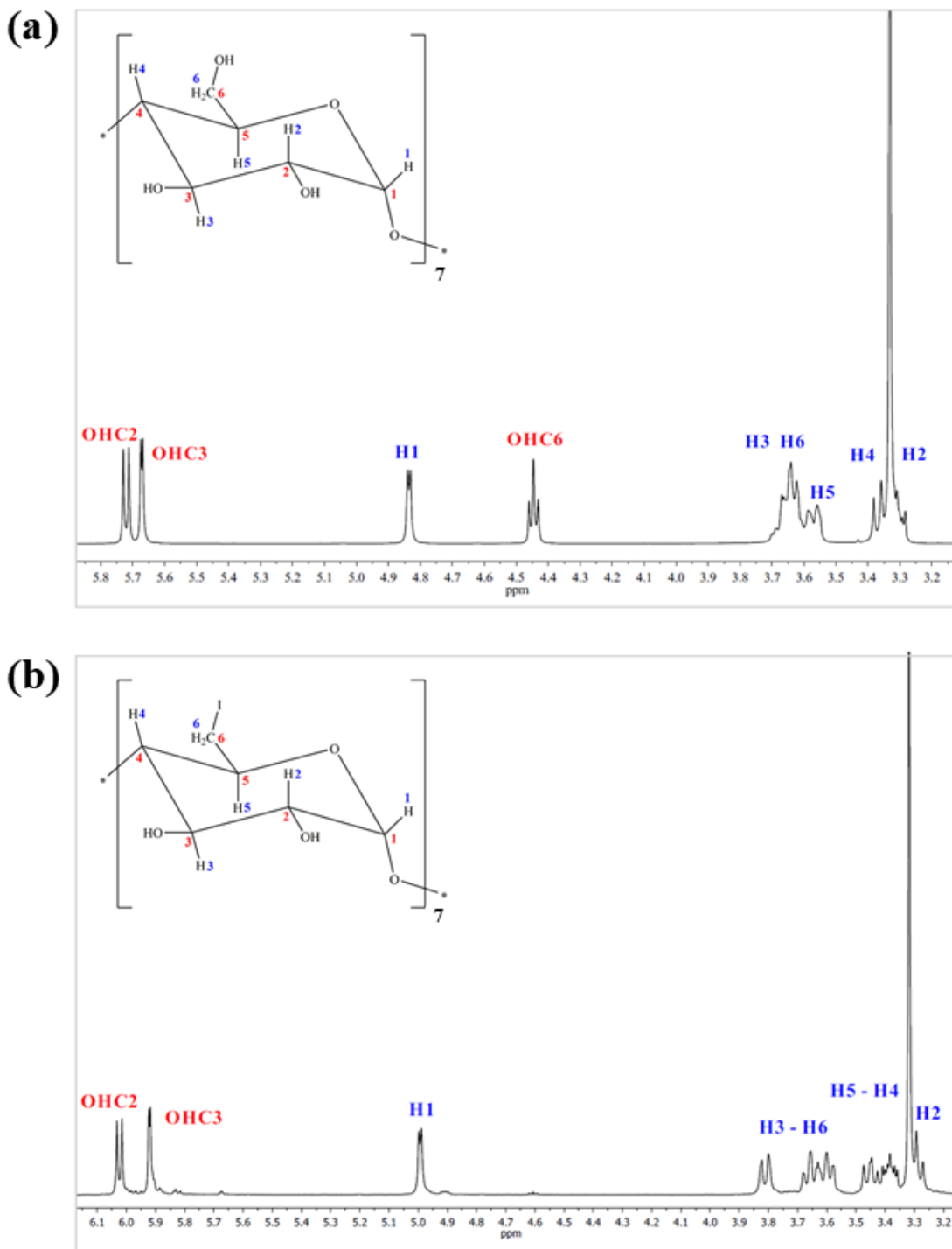


Figura 5.2 – Espectros de RMN de ^1H a 400 MHz em DMSO-d_6 da (a) βCD e (b) $\beta\text{CD-I}$.

A análise comparativa entre os espectros evidencia, após a etapa de iodação, o desaparecimento do sinal correspondente aos hidrogênios das hidroxilas primárias na posição C6, originalmente observado entre 4,6 e 4,4 ppm no espectro da β CD natural. Esse resultado confirma a substituição das sete hidroxilas primárias presentes na estrutura da β CD por um átomo de iodo, indicando o sucesso da reação de iodação, em concordância com dados previamente reportados na literatura (Ashton et al., 1996; Utzeri et al., 2022b).

Após a confirmação dessa modificação, partindo da β CD-I, as β CDs funcionalizadas com amina, β CDam₆ e β CDam₁₂, foram preparadas por substituição nucleofílica do iodo na posição C6 da β CD-I pelo grupo amina. As duas CDs aminadas foram preparadas utilizando um excesso de amina, conforme descrito na literatura, seguido de etapas de purificação por ciclos de dissolução-precipitação (Russo et al., 2016; Utzeri et al., 2022b). Os experimentos de RMN de ¹H, nesta etapa, foram empregados para confirmar a substituição e avaliar a consistência das integrações dos sinais característicos, como indicativo da ausência de amina livre residual no produto.

Para auxiliar na interpretação dos espectros, as atribuições dos principais sinais estão resumidas na Tabela 5.1, em concordância com o descrito por Utzeri et al. (2022a). Os espectros de RMN de ¹H das moléculas β CDam₆ e β CDam₁₂, obtidos a 400 MHz em DMSO-d₆, estão apresentados nas Figuras 5.3.

Tabela 5.1 – Atribuição dos principais sinais de RMN de ¹H da β CDam₆ e da β CDam₁₂ em DMSO-d₆ (400 MHz), com valores experimentais e dados reportados na literatura.

Hidrogênios (grupos)	β CDam ₆	β CDam ₆	β CDam ₁₂	β CDam ₁₂
	δ (ppm)	δ (ppm) Utzeri et al., 2022a	δ (ppm)	δ (ppm) Utzeri et al., 2022a
H1 (CD)	4,8	4,9	4,8	4,9
H2 – H6 (CD)	3,3 – 3,8	3,2 – 3,8	3,3 – 3,8	3,1 – 3,8
–CH ₂ –N (diamina)	2,5 – 2,8	2,5 – 3,0	2,5 – 2,8	2,5 – 2,8
–CH ₂ (diamina)	1,1 – 1,6	1,1 – 1,7	0,8 – 1,5	0,9 – 1,6

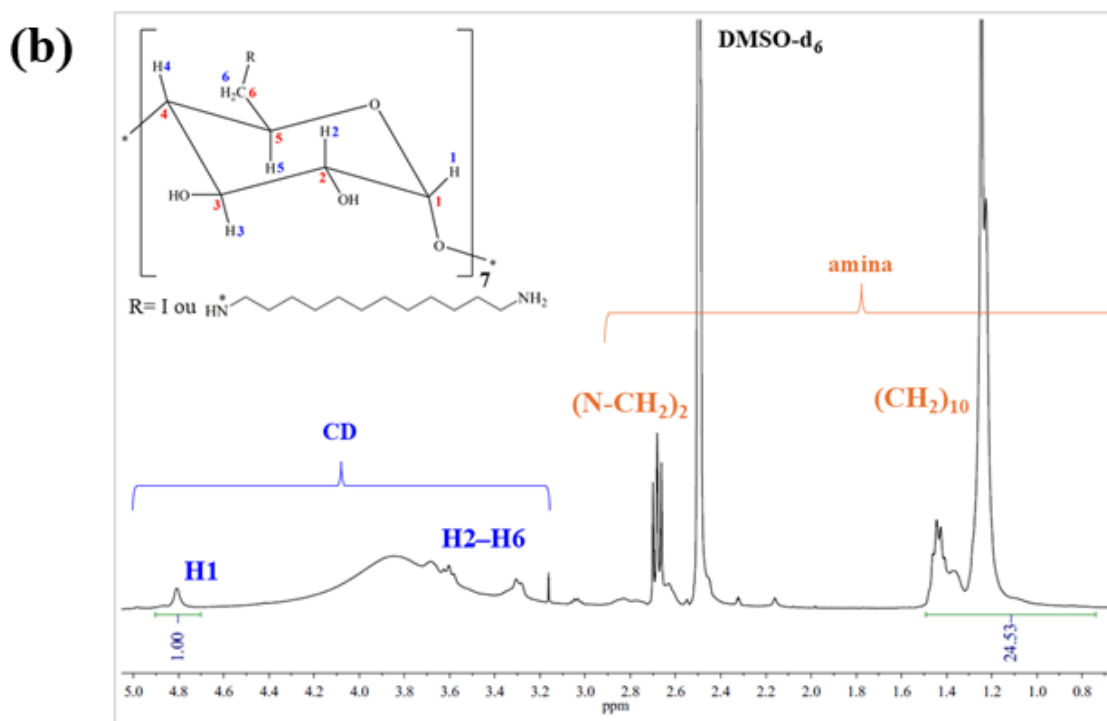
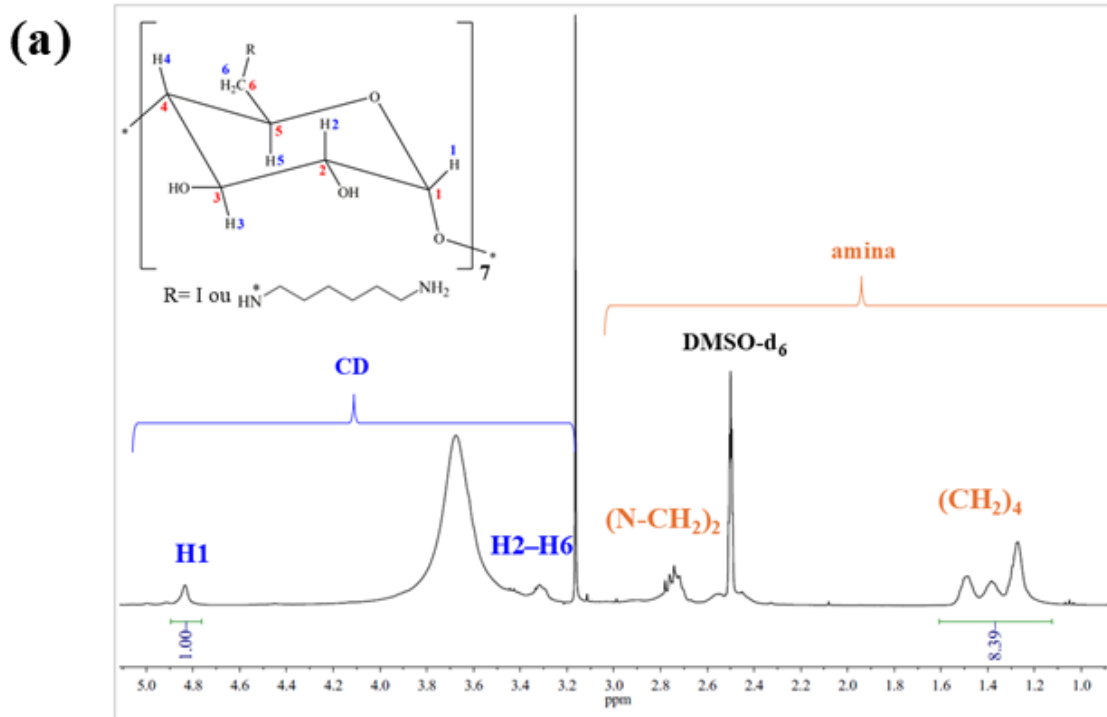


Figura 5.3 – Espectros de RMN de ^1H a 400 MHz em DMSO-d_6 da (a) βCDam_6 e (b) βCDam_{12} .

Em ambos os espectros é possível observar o sinal característico do hidrogênio H1 da CD, bem como os sinais correspondentes aos demais hidrogênios da CD (H2 – H6). Adicionalmente, também são observados sinais atribuídos aos hidrogênios das cadeias alifáticas das diaminas, ausentes no espectro da β CD precursora, o que confirma a substituição do grupo iodo pelo grupo amina nas posições C6 da CD. As atribuições dos sinais referentes às aminas am_6 e am_{12} encontram-se em concordância com o descrito na literatura. Embora a presença desses sinais confirme qualitativamente a funcionalização da β CD, a técnica de RMN de 1H , isoladamente, não permite a determinação precisa do grau de substituição (Utzeri et al., 2022b).

A análise das integrações foi realizada tomando como referência o sinal do H1 da CD (4,8 ppm), assumido que esse sinal corresponde a um hidrogênio por unidade monomérica. Para a β CD am_6 , a integração da região correspondente aos hidrogênios CH_2 internos da amina foi próxima de 8, valor compatível com os 8 hidrogênios esperados para a cadeia da am_6 (Figura 5.3a). Já para a β CD am_{12} , a integração foi próxima de 20, em concordância com os 20 hidrogênios esperados para a cadeia da am_{12} (Figura 5.3b). As integrações foram próximas dos valores esperados, o que indica uma pureza espectral adequada dos derivados aminados obtidos, corroborando a eficiência das etapas de purificação adotadas (Utzeri et al., 2022b).

5.1.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A molécula β CD, as β CDs modificadas (β CD-I, β CD am_6 , β CD am_{12}) e as NECDs sintetizadas (β CD $am_6\beta$ CD e β CD $am_{12}\beta$ CD) foram caracterizadas estruturalmente por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR), visando à confirmação das modificações ocorridas em cada etapa da síntese.

Para caracterizar a β CD-I e verificar a substituição das hidroxilas primárias por átomos de iodo por meio da técnica de FTIR, utilizaram-se pastilhas de brometo de potássio (KBr). A utilização desse suporte se fez necessária, uma vez que a absorção C-I ocorre em frequências muito baixas ($600 - 400\text{ cm}^{-1}$), tornando-se imprescindível a análise da região espectral compreendida na faixa de $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ (Pavia, 2010; Silverstein, 2005).

Os espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR, utilizando pastilhas de KBr, para a β CD e a β CD-I estão apresentados na Figura 5.4. A análise do espectro da β CD-I revela, conforme esperado, a presença dos principais modos vibracionais característicos

da β CD, já muito bem descritos na literatura (Egyed, 1990; Passos et al., 2012). Em 3348 cm^{-1} , observa-se a banda correspondente ao estiramento dos grupos hidroxila ($\nu\text{ O-H}$). Contudo, quando comparado ao espectro da β CD natural, verifica-se um estreitamento dessa banda, o que pode estar relacionado à diminuição do número de grupos hidroxila, em decorrência da substituição das hidroxilas primárias na posição C6 por átomos de iodo (Utzeri et al., 2022b). A presença do iodo na estrutura também é evidenciada pelo aparecimento de bandas bem definidas nas regiões de 1200 e 586 cm^{-1} , atribuídas, respectivamente, ao dobramento $\text{CH}_2\text{-I}$ e ao estiramento C-I , conforme descrito na literatura (Pavia, 2010; Silverstein, 2005; Utzeri et al., 2022b). Esses resultados indicam uma substituição efetiva e estão de acordo com os dados de RMN de ^1H , que confirmaram a eficiência da substituição das sete hidroxilas primárias presentes na estrutura da β CD por átomos de iodo.

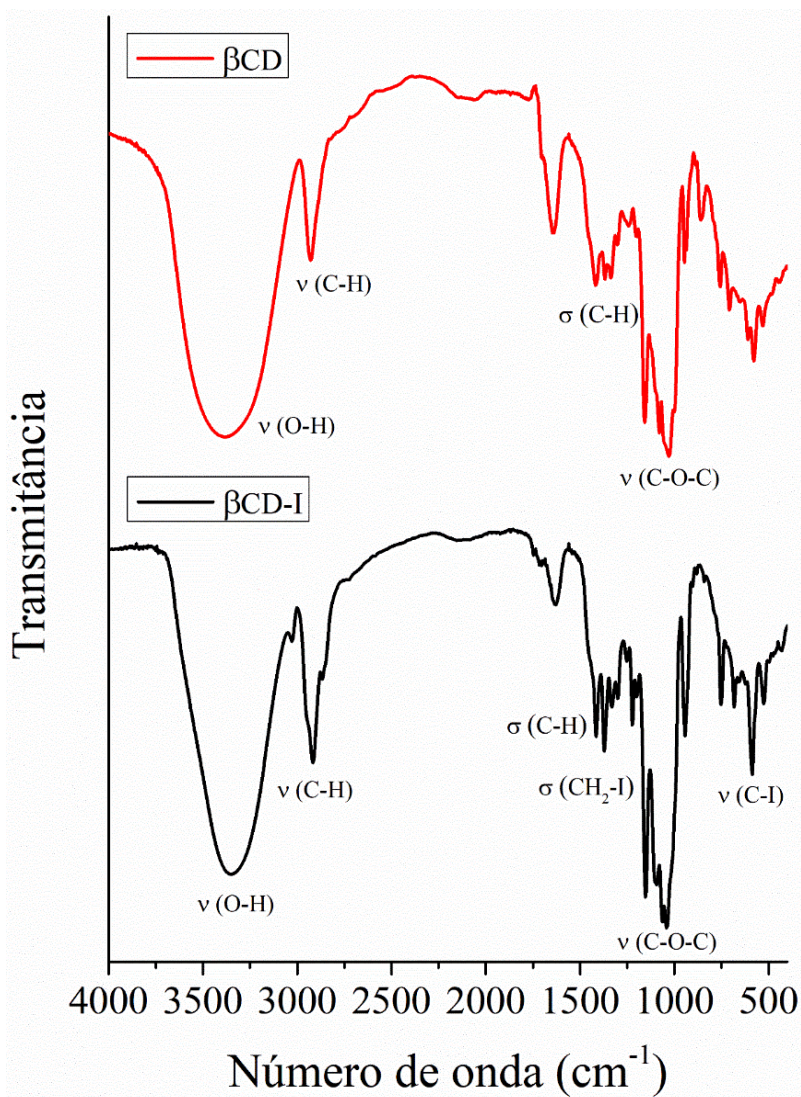


Figura 5.4 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR para — β CD e para — β CD-I, utilizando pastilhas de KBr.

Para a caracterização do processo de aminação das CDs, bem como do processo de reticulação das NECDs, por espectroscopia vibracional na região do infravermelho, utilizou-se o acessório ATR – *Attenuated Total Reflectance* acoplado ao FTIR (FTIR-ATR). A amina hexano-1,6-diamina (am_6), embora seja um sólido à temperatura ambiente, apresenta ponto de fusão de 39 °C e, após curto período de exposição ao ambiente, especialmente em dias mais quentes, pode sofrer alteração em seu estado físico, o que dificulta o preparo de pastilhas de KBr. De forma complementar, o uso do acessório ATR apresenta vantagens em relação à utilização de pastilhas

KBr, uma vez que permite uma amostragem rápida, sem a necessidade de diluentes sólidos. Além disso, as análises são reprodutíveis e a amostra não é destruída durante o processo de análise, aspecto particularmente relevante considerando o baixo rendimento da síntese das NECDs (Mura, 2015).

Deste modo, os espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para as aminas am_6 e am_{12} estão apresentados na Figura 5.5, enquanto as atribuições dos principais modos vibracionais encontram-se descritas na Tabela 5.2.

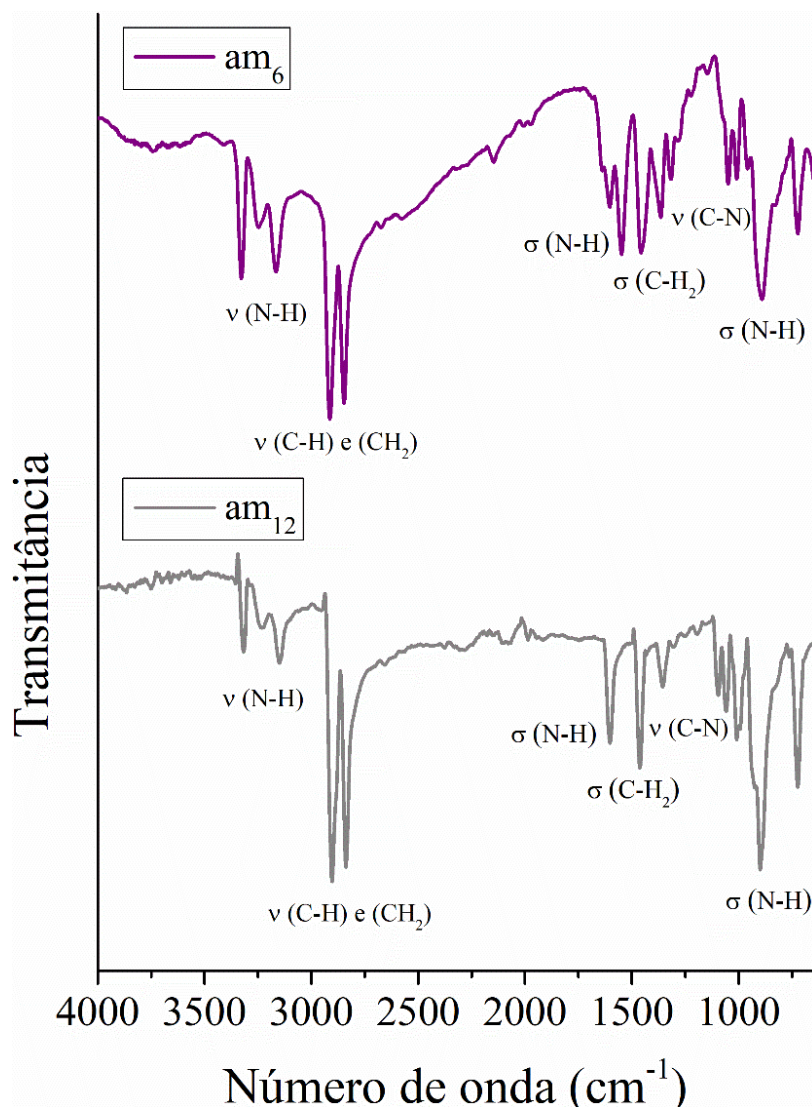


Figura 5.5 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) am_6 e (b) am_{12} .

Tabela 5.2 – Atribuição das principais bandas do espectro de absorção na região do infravermelho para as aminas am₆ e am₁₂.

Amina	Regiões (cm ⁻¹)	Atribuições
am ₆	3327 – 3163	ν (N-H) aminas primárias
am ₁₂	3324 – 3155	
am ₆	29112 e 1847	ν (C-H) e (C-H ₂) simétrico e assimétrico
am ₁₂	2902 e 2847	
am ₆	1602	δ (N-H) aminas primárias
am ₁₂	1600	
am ₆	1460	δ (C-H ₂)
am ₁₂	1463	
am ₆	1354	ν (C-N)
am ₁₂	1356	
am ₆	880	δ (N-H) fora do plano
am ₁₂	900	

Após a caracterização dos principais modos vibracionais das aminas (am₆ e am₁₂) e da βCD-I, foram realizadas comparações qualitativas entre esses espectros e os espectros referentes às CDs aminadas (βCDam₆ e βCDam₁₂), com o intuito de avaliar a eficiência da modificação. Os espectros de absorção na região do infravermelho das βCDam₆ e βCDam₁₂ também foram obtidos por FTIR-ATR e estão apresentados na Figura 5.6.

Analisando os espectros das duas CDs aminadas é possível observar a presença dos principais modos vibracionais característicos da βCD, como ν (O-H) em torno de 3350 cm⁻¹ e ν (C-O-C) em torno de 1040 cm⁻¹ (Egyed, 1990; Passos et al., 2012). Contudo, quando comparado ao espectro da βCD-I observa-se um alargamento da banda em torno de 3350 cm⁻¹, tanto para βCDam₆ quanto para βCDam₁₂, o que pode estar associado às contribuições dos modos vibracionais dos grupos amina, indicando que as bandas de ν (N-H) de amina primária e secundária encontram-se sobrepostas à banda atribuída ao ν (O-H) da CD, uma vez que elas aparecem na mesma região do espectro (Pavia, 2010; Utzeri et al., 2022b). Adicionalmente, também é observada a presença de duas bandas definidas em torno de 2900 cm⁻¹, as quais podem ser atribuídas ao ν (C-H) e (C-H₂) de cadeia alifática. Além disso, no espectro da βCDam₁₂ essas bandas são observadas com maior intensidade.

Os resultados supracitados são indícios de que a substituição foi efetiva. Entretanto, a presença dos grupos amina primária e secundária na estrutura das moléculas é confirmada pelo aparecimento de uma banda bem definida em torno de 1650 cm^{-1} , correspondente à δ (N-H), nos espectros das duas CDs aminadas (Utzeri et al., 2022b). De forma complementar, observa-se, tanto no espectro da βCDam_6 quanto no da βCDam_{12} , a presença de uma banda em 1200 cm^{-1} , atribuída ao dobramento $\text{CH}_2\text{-I}$, embora com menor intensidade. A presença dessa banda indica que o processo de aminação não foi completo, ou seja, não ocorreu a substituição de todos os sete átomos de iodo presentes na estrutura da $\beta\text{CD-I}$ (Pavia, 2010; Utzeri et al., 2022b). Logo, os resultados obtidos indicam que a funcionalização foi bem-sucedida, estando de acordo com os dados de RMN de ^1H , que confirmaram a eficiência da substituição. Contudo, ainda é observada a presença do iodo na estrutura indicando que a substituição não foi completa. Vale ressaltar que, tanto por RMN quanto por FTIR, não foi possível determinar o grau de substituição exato.

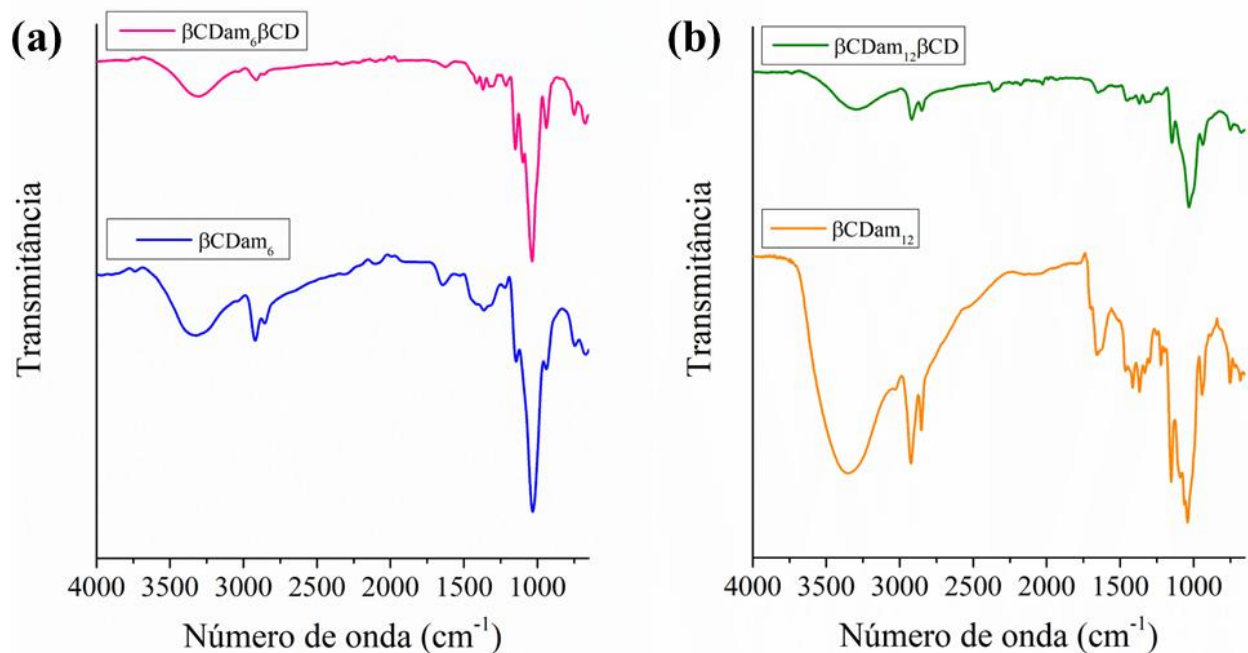


Figura 5.6 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para (a) $\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$ e βCDam_6 ; (b) $\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$ e βCDam_{12} .

Por fim, após a etapa de reticulação, foram obtidos espectros de FTIR-ATR para as NECDs sintetizadas ($\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$ e $\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$), os quais se encontram apresentados na Figura 5.6. Analisando os referidos espectros, nota-se a presença de todas as bandas características

das CDs aminadas, β CDam₆ e β CDam₁₂, entretanto, com uma diminuição expressiva da intensidade dessas bandas, o que pode estar atrelado ao processo de reticulação (Utzeri et al., 2022b).

5.1.3. Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TG) é uma técnica que permite o estudo da estabilidade térmica de um composto, por meio do monitoramento da perda de massa em função da temperatura ou do tempo. Essas perdas de massa podem estar associadas a diferentes processos, tais como desidratação, decomposição térmica e oxidação. Assim, a partir da técnica de TG, é possível determinar a porcentagem de perda de massa atrelada a cada evento térmico, bem como as faixas de temperatura em que esses eventos ocorrem. De forma complementar, a curva dTG evidencia a temperatura da taxa máxima de degradação de um evento térmico (T_{max}), além de auxiliar na identificação das temperaturas de início e término de cada evento térmico, principalmente em curvas TG com múltiplas etapas de degradação, nas quais a definição exata pode ser difícil (Brown, 2001; Hatakeyama; Quinn, 2000).

Deste modo, a estabilidade térmica de β CD, β CD-I, β CDam₆, β CDam₁₂ e das NECDs (β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD) foi determinada utilizando a técnica de TG. As respectivas curvas termogravimétricas, bem como as curvas dTG correspondentes, estão apresentados nas Figuras 5.7 (a), 5.7 (b), 5.8 (a), 5.8 (b), 5.8 (c) e 5.8 (d), respectivamente.

O perfil de decomposição térmica da β CD (Figura 5.7(a)) está condizente com o descrito na literatura, sendo verificado um primeiro evento de perda de massa de aproximadamente 4%, na faixa de temperatura entre 30 e 100 °C, referente à perda das moléculas de água presentes na estrutura da macromolécula, tanto do interior da cavidade quanto das localizadas entre as moléculas de CD. O segundo evento térmico ocorre na faixa de temperatura de 250 – 370 °C, com uma perda de massa de cerca de 86%, sendo atribuído à decomposição da molécula. A curva dTG evidencia uma temperatura máxima de taxa de degradação térmica (T_{max}) em torno de 313 °C (Silva et al., 2024; Trotta; Zanetti; Camino, 2000). Entretanto, após o processo de iodação (Figura 5.7(b)), observa-se uma redução da T_{max} para 239 °C. Assim, a degradação em temperaturas mais baixas, em comparação com a molécula precursora, sugere que a iodação provocou uma diminuição da estabilidade térmica da molécula. Esse comportamento pode estar relacionado à

redução do número de ligações de hidrogênio, intra- e intermoleculares, em decorrência da substituição das sete hidroxilas da posição C6 da CD natural por átomos de iodo, substituição esta previamente confirmada por RMN de ^1H (Trotta; Zanetti; Camino, 2000; Utzeri et al., 2022b).

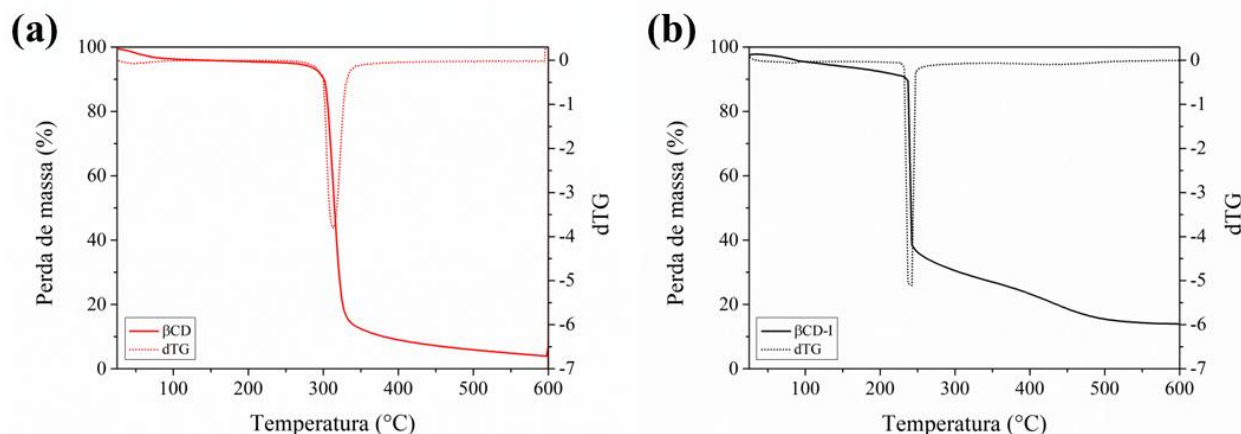


Figura 5.7 – Curvas TG e dTG para (a) βCD (b) $\beta\text{CD-I}$.

As duas CDs aminadas, βCDam_6 e βCDam_{12} , apresentam um comportamento térmico semelhante, com quatro etapas de degradação (Figura 5.8 (a) e (b), respectivamente). Para ambas, observa-se um primeiro evento de perda de massa na faixa de 30 – 100 °C, referente à desidratação. Outros dois eventos térmicos são observados, com $T_{2\text{max}}$ de 263 °C para βCDam_6 e 272 °C para βCDam_{12} , correspondendo a perdas de massa de 23,3 e 24,5%, respectivamente. Em seguida, ocorre o terceiro evento, com $T_{3\text{max}}$ de 320 °C para βCDam_6 e 322 °C para βCDam_{12} , apresentando perdas de massa de 22,2 e 22,3%, respectivamente. Esses eventos são atribuídos ao processo de decomposição das CDs em duas etapas. Por fim, um último evento térmico é observado, com $T_{4\text{max}}$ de 412 °C para βCDam_6 e 438 °C para βCDam_{12} , possivelmente associado à quebra da ligação da amina secundária na posição C6 (Utzeri et al., 2022b, 2023).

Analisando os valores de T_{max} , embora ambas as CDs aminadas apresentem comportamento térmico semelhante, observa-se que a βCDam_{12} apresenta valores ligeiramente mais altos, possivelmente devido à maior extensão da cadeia carbônica da diamina am_{12} . Além disso, as primeiras temperaturas de decomposição para a βCDam_6 e βCDam_{12} ($T_{2\text{max}} = 263$ e 272 °C, respectivamente) são superiores à da $\beta\text{CD-I}$ ($T_{\text{max}} = 239$ °C), sugerindo um aumento da estabilidade térmica após o processo de aminação. Este aumento de estabilidade pode estar

relacionado ao maior número de ligações de hidrogênio, proporcionadas pela presença de aminas primárias e secundárias na estrutura (Utzeri et al., 2022b, 2023).

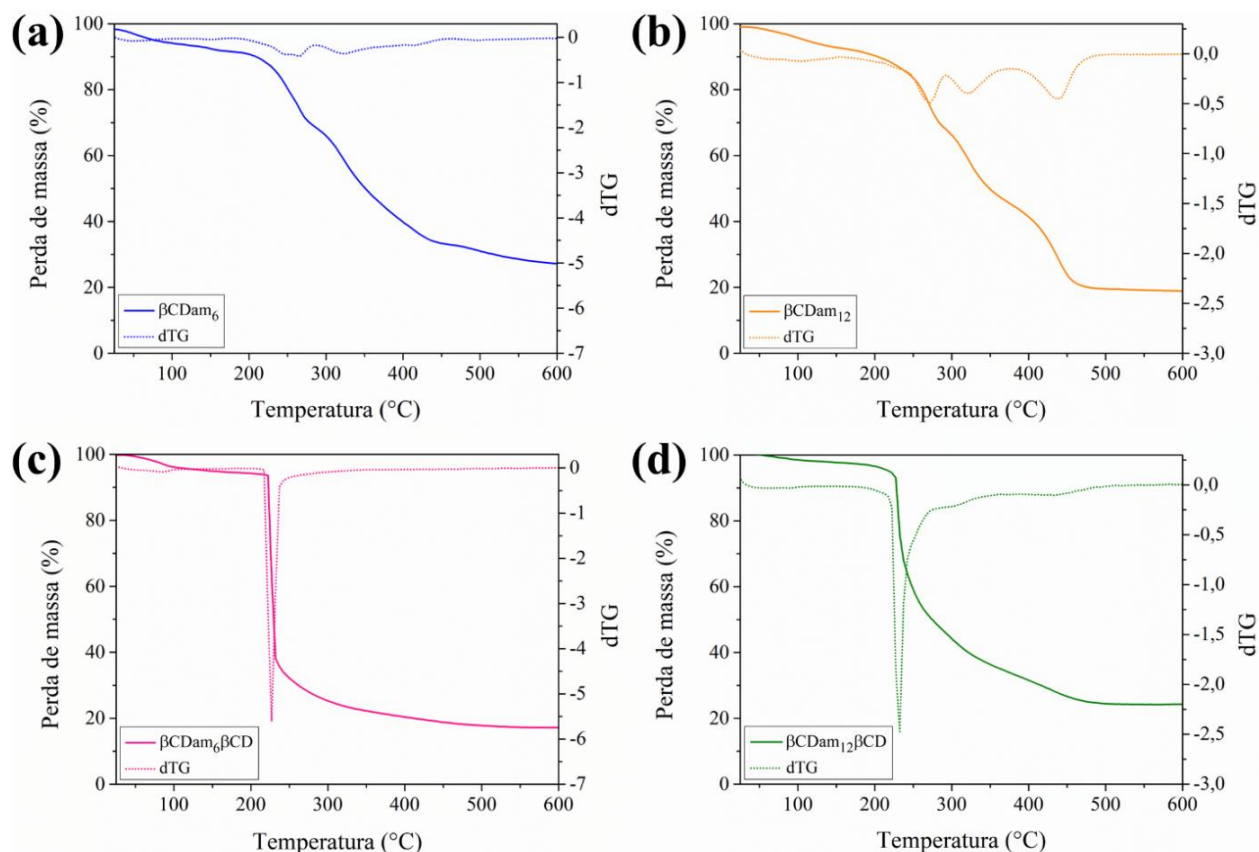


Figura 5.8 – Curvas TG e dTG para (a) β CDam₆ (b) β CDam₁₂ (c) β CDam₆ β CD e (d) β CDam₁₂ β CD.

As curvas TG e dTG das NECDs (Figura 5.8 (c) e (d)), indicam, também, uma primeira perda de massa, atribuída à desidratação, nas faixas de 45 – 106 °C para β CDam₆ β CD (4,1%) e 30 – 107 °C para β CDam₁₂ β CD (2,4 %). Entretanto, as NECDs apresentam perfis de decomposição térmica distintos entre si, visto que a β CDam₆ β CD apresenta uma única etapa de decomposição, enquanto a β CDam₁₂ β CD apresenta múltiplas etapas. Para a β CDam₆ β CD, observa-se uma perda de massa de 68,4 % na faixa de 206 – 285 °C, com T_{\max} de 227 °C, sugerindo uma estrutura mais homogênea do material (Utzeri et al., 2023). Já a β CDam₁₂ β CD apresenta uma primeira etapa de decomposição na mesma faixa de 206 – 285 °C, com $T_{2\max}$ de 232 °C e perda de massa de 46,8%, seguida de mais dois eventos com picos mais sutis na curva dTG, com $T_{3\max}$ de 298 °C e $T_{4\max}$ de 438 °C, com perdas de massa de 10,4 e 22,8 %, nas faixas de temperatura de 285 – 341

– 496 °C, respectivamente. Este perfil com múltiplas etapas sugere uma estrutura mais heterogênea, estando de acordo com a literatura (Machado et al., 2024; Utzeri et al., 2022b, 2023).

Além disso, ambas as NECDs apresentam temperatura de degradação inferiores às observadas para suas respectivas CDs aminadas e para β CD natural. Resultado semelhante foi descrito por Utzeri e colaboradores (2022), indicando uma diminuição das interações inter- e intramoleculares após a reticulação (Utzeri et al., 2022b).

5.1.4. Espalhamento dinâmico de luz e potencial ζ

As duas NECDs sintetizadas, β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD, foram analisadas por espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial ζ em um intervalo de pH de 2 a 12, com o objetivo de caracterizar as partículas em suspensão e obter informações sobre o tamanho das partículas, o índice de polidispersidade e a carga superficial.

O espalhamento dinâmico de luz (DLS) é uma técnica empregada na medição do tamanho de partículas suspensas em solução, as quais estão em movimento browniano. Quando a luz incide sobre essas partículas, ela é espalhada, permitindo a análise das flutuações de intensidade, que dependem do tamanho e da forma das partículas. Vale ressaltar que a distribuição de tamanho obtida por DLS é uma distribuição de intensidade, a qual pode ser convertida em uma distribuição por número (Babick, 2019; Bhattacharjee, 2016).

As Tabelas 5.3 e 5.4 apresentam os parâmetros obtidos por DLS para β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD, respectivamente, detalhando os valores de distribuição por intensidade e por número, tanto em tamanho quanto em porcentagem, na faixa de pH 2 – 12. A análise dos valores de distribuição indica que a variação de pH influencia o tamanho das partículas, podendo ser observada a presença de dois tamanhos distintos ou apenas um, dependendo do pH da solução. Entretanto, nenhuma tendência clara é identificada. Nos casos em que dois tamanhos são observados, as partículas maiores apresentam maior intensidade, conforme esperado, visto que partículas maiores espalham mais luz do que partículas pequenas, o que aumenta a intensidade. Já analisando os valores de distribuição por número, em pH nos quais são observados dois tamanhos médios, verifica-se que as partículas menores estão presentes em maior quantidade, correspondendo a frações superiores a 80% tanto para β CDam₆ β CD quanto para β CDam₁₂ β CD.

Tabela 5.3 – Parâmetros obtidos por DLS para β CDam₆ β CD, em pH de 2 – 12.

pH	Intensidade (d.nm)	Intensidade (%)	Número (d.nm)	Número (%)	PDI
2	434,80 ± 33,8	90,9 ± 0,9	409,8 ± 22,6	16,0 ± 2,7	0,6 ± 0,01
	123,6 ± 10,5	9,1 ± 0,9	114,5 ± 10,2	84,0 ± 2,7	
3	513,4 ± 22,2	91,4 ± 2,2	483,2 ± 21,4	12,4 ± 4,3	0,6 ± 0,04
	121,2 ± 19,0	8,6 ± 2,2	112,8 ± 17,1	87,6 ± 4,3	
4	425,1 ± 50,9	87,8 ± 7,8	387,4 ± 45,7	14,5 ± 4,4	0,5 ± 0,04
	124,6 ± 29,9	12,2 ± 7,8	114,6 ± 26,2	85,5 ± 4,4	
5	499,8 ± 42,4	93,4 ± 0,6	482,3 ± 41,5	8,4 ± 2,8	0,7 ± 0,03
	103,9 ± 11,0	6,6 ± 0,6	100,0 ± 10,8	91,6 ± 2,8	
6	446,1 ± 31,8	100 ± 0,0	432,0 ± 30,1	100 ± 0,0	0,7 ± 0,05
7	399,5 ± 11,1	90,4 ± 5,9	378,4 ± 8,5	13,3 ± 1,1	0,6 ± 0,07
	122,2 ± 29,1	9,6 ± 5,9	114,0 ± 26,2	87,7 ± 1,1	
8	502,7 ± 17,5	91,0 ± 3,6	478,9 ± 14,9	10,9 ± 4,5	0,6 ± 0,02
	116,4 ± 23,7	9,0 ± 3,6	111,0 ± 21,7	89,1 ± 4,5	
9	1282,0 ± 6,4	100 ± 0,0	1270,5 ± 3,5	100 ± 0,0	0,2 ± 0,01
10	582,0 ± 20,8	100 ± 0,0	572,4 ± 21,1	100 ± 0,0	0,7 ± 0,03
11	434,5 ± 11,6	100 ± 0,0	412,8 ± 7,4	100 ± 0,0	0,8 ± 0,07
12	369,0 ± 31,1	100 ± 0,0	353,8 ± 26,0	100 ± 0,0	0,8 ± 0,06

Tabela 5.4 – Parâmetros obtidos por DLS para β CDam₁₂ β CD, em pH de 2 – 12.

pH	Intensidade (d.nm)	Intensidade (%)	Número (d.nm)	Número (%)	PDI
2	437,1 ± 97,9	100 ± 0,0	433,4 ± 96,3	100 ± 0,0	0,8 ± 0,04
3	1467,0 ± 355,7	100 ± 0,0	1336,5 ± 190,2	100 ± 0,0	0,9 ± 0,10
4	626,0 ± 19,9	100 ± 0,0	617,0 ± 25,5	100 ± 0,0	0,9 ± 0,01
5	665,3 ± 162,0	100 ± 0,0	654,0 ± 160,6	100 ± 0,0	0,9 ± 0,09
6	989,4 ± 403,9	93,7 ± 0,3	965,9 ± 376,4	3,9 ± 3,5	0,8 ± 0,06
	97,4 ± 26,3	6,3 ± 0,3	94,05 ± 26,5	96,1 ± 3,5	
7	1083 ± 381,0	84,2 ± 5,0	1028,5 ± 313,3	12,8 ± 2,1	0,9 ± 0,06
	181,1 ± 52,9	15,8 ± 5,0	171,8 ± 48,0	87,2 ± 2,1	
8	620,7 ± 21,5	90,1 ± 2,1	605,6 ± 20,1	4,7 ± 2,8	0,8 ± 0,04
	106,3 ± 19,9	9,9 ± 2,1	100,1 ± 18,1	95,3 ± 2,8	
9	857,4 ± 119,8	77,2 ± 5,4	843,0 ± 118,1	11,9 ± 1,1	0,9 ± 0,06
	185,6 ± 8,5	22,8 ± 5,4	174,5 ± 5,3	88,1 ± 1,1	
10	207,2 ± 40,3	100 ± 0,0	204,0 ± 37,7	100 ± 0,0	1,0 ± 0,00
11	663,0 ± 84,6	100 ± 0,0	651,7 ± 89,0	100 ± 0,0	1,0 ± 0,03
12	756,6 ± 199,1	90,3 ± 3,0	744,9 ± 203,5	7,2 ± 7,0	0,9 ± 0,05
	118,1 ± 43,1	9,7 ± 3,0	111,4 ± 42,0	92,8 ± 7,0	

O valor do tamanho médio ponderado (*Z*-médio) é o parâmetro utilizado para determinar o tamanho das partículas. Para amostras heterogêneas e polidispersas, o valor de *Z*-médio pode ser falho, não sendo possível determinar o tamanho médio das partículas com precisão. Por isso, foram analisados primeiramente os valores de índice de polidispersidade (PDI), pois o PDI é uma medida da heterogeneidade da amostra que descreve a faixa de distribuição do tamanho das partículas, variando de 0 a 1. Quando o PDI apresenta valores próximos de 0 (< 0,1), significa que apenas um tamanho de partícula está presente, caracterizando um sistema monodisperso. Já valores de PDI acima de 0,1 indicam uma ampla distribuição de tamanhos, com partículas de diferentes dimensões, caracterizando um sistema polidisperso (Bhattacharjee, 2016; Stetefeld; McKenna; Patel, 2016).

Deste modo, ao analisar os valores de PDI em pH variando de 2 a 12, obtidos para as duas NECDs sintetizadas, β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD (Tabelas 5.3 e 5.4, respectivamente), observa-se que ambas apresentam valores de PDI acima de 0,1. Entretanto, para a β CDam₁₂ β CD, os valores se aproximam de 1, indicando que essas partículas são ainda mais polidispersas. Esses resultados corroboram os dados termogravimétricos, nos quais esse material apresentou múltiplas etapas de decomposição, sugerindo uma estrutura mais heterogênea em comparação à β CDam₆ β CD. Portanto, ambos os sistemas são polidispersos, com partículas de diferentes tamanhos, o que impossibilita a determinação precisa do tamanho das partículas por DLS.

De forma complementar, a carga superficial das partículas suspensas em fase líquida foi determinada por potencial zeta (ζ). O potencial ζ corresponde ao potencial no plano de deslizamento, que é uma fronteira entre a camada dupla elétrica existente ao redor de cada partícula em suspensão. Esse parâmetro permite inferir acerca da carga superficial das partículas em suspensão, sendo o pH um dos fatores que mais o afetam (Bhattacharjee, 2016; Doane et al., 2012).

Deste modo, foram determinados valores de potencial ζ em diferentes pH para a β CDam₆ β CD e a β CDam₁₂ β CD, e as curvas de potencial ζ em função do pH estão apresentadas na Figura 5.9. Analisando as curvas, é possível observar um comportamento semelhante para as duas NECDs, evidenciando carga superficial positiva em pH variando entre 2 e 8 para β CDam₆ β CD e entre 2 e 9 para β CDam₁₂ β CD, o que indica que as amins primárias e secundárias presentes nas estruturas estão protonadas nessas faixas de pH. Além disso, foi possível identificar o ponto isoelétrico em pH 8,7 para a β CDam₆ β CD e em pH 9,3 para a β CDam₁₂ β CD, correspondendo ao ponto em que o gráfico cruza o zero de potencial, indicando que nesses pH as partículas possuem carga líquida nula. Já em pH acima do ponto isoelétrico, as NECDs apresentam carga negativa, evidenciando a desprotonação dos grupos amina presentes nas estruturas.

Embora os valores do ponto isoelétrico de ambas NECDs sejam relativamente próximos, observa-se que os grupos amins presentes na β CDam₆ β CD tendem a desprotonar primeiro, iniciando a desprotonação em pH acima de 8,7, enquanto os grupos presentes na β CDam₁₂ β CD iniciam a desprotonação apenas em pH acima de 9,3. Logo, a NECD com amina de menor cadeia inicia a desprotonação primeiro. Um comportamento semelhante foi observado no estudo de Veríssimo e colaboradores (2006), no qual foi investigada a carga superficial de membranas compósitas preparadas com diferentes derivados de piperazina, por meio de medições de potencial ζ em função do pH. Embora os autores não discutam explicitamente a dependência entre o

comprimento da cadeia e os valores de potencial ζ , a análise das curvas obtidas para as membranas preparadas com 1,4-bis(3-aminopropil)-piperazina (DAPP) e N-(2-aminoetil)-piperazina (EAP) revela valores de ponto isoelétrico próximos (6,4 e 6,1, respectivamente). Observa-se, entretanto, que a membrana preparada a partir da amina de menor cadeia (EAP) inicia o processo de desprotonação em pH ligeiramente inferior ao observado para a amina de cadeia mais longa (DAPP), o que sugere que o tamanho da cadeia pode influenciar a desprotonação dos grupos amina presentes na superfície das membranas (Veríssimo; Peinemann; Bordado, 2006).

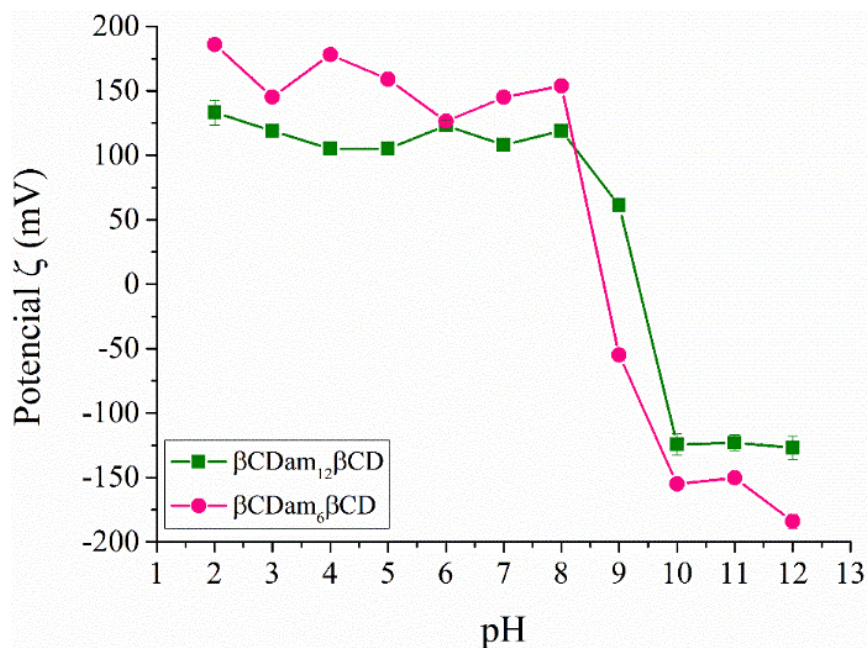


Figura 5.9 – Efeito do pH sobre o potencial ζ da $\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$ e $\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$.

5.2. Estudo de adsorção do fármaco Cloridrato de Amitriptilina

A adsorção é um mecanismo amplamente empregado como um método para incorporar fármacos em estruturas porosas, com a finalidade de aplicação no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos, dada a simplicidade do processo. Esse método preserva a estrutura do fármaco, reduzindo o risco de perda de bioatividade, além de permitir ajustes de variáveis como pH e temperatura, modulando condições que potencializam a adsorção (Beňová et al., 2021; McCarthy et al., 2018; Mochalin et al., 2013).

Deste modo, foram realizados experimentos de adsorção do fármaco AMT com o intuito de avaliar a interação entre o fármaco e as NECDs sintetizadas (β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD). Esses experimentos permitiram verificar a viabilidade de incorporação do AMT na estrutura das NECDs, permitindo estudos sobre a liberação do fármaco a partir dessas estruturas porosas.

Para posterior quantificação do AMT em solução aquosa, foi necessária a construção de uma curva de calibração. Ela foi determinada utilizando a técnica de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), com base nos valores de absorbância máxima no comprimento de onda (λ) de 239 nm, a partir da média de três réplicas.

Os espectros de absorção na região do UV-Vis do fármaco AMT em concentrações crescentes, cujos dados obtidos foram utilizados para construir a curva de calibração, podem ser observados na Figura 5.10 (a). A curva de calibração com o ajuste linear está apresentada na Figura 5.10 (b).

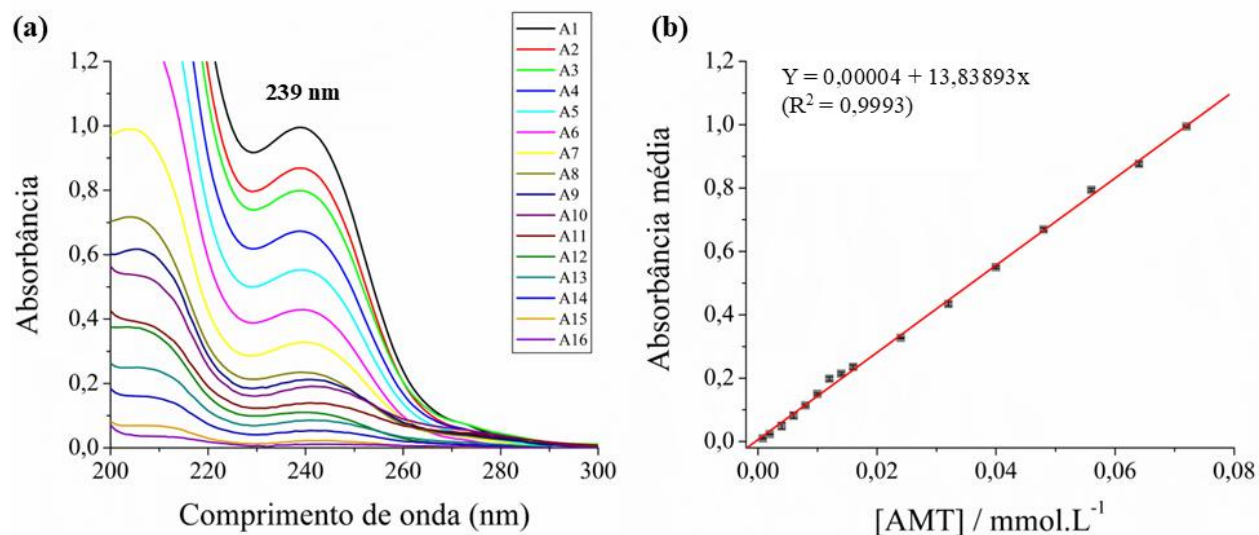


Figura 5.10 – (a) Espectros de absorção da região do UV-Vis do fármaco AMT nas concentrações variando de 0,072 (A1) a 0,0008 mmol·L⁻¹ (A16); (b) Curva de calibração com ajuste linear utilizada para determinar a concentração de AMT nas amostras.

A partir da curva de calibração, foi possível determinar a equação da reta e os parâmetros estatísticos, como coeficiente linear, o limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ), os quais estão apresentados na Tabela 5.5. Os valores de LOD e LOQ foram calculados a partir das Equações 3.3 e 3.4, descritas no capítulo 3, seção 3.1.4. Durante todos os ensaios realizados,

as concentrações de AMT quantificadas permaneceram acima do LOQ estabelecido para o método analítico, assegurando a confiabilidade dos resultados.

Tabela 5.5 – Parâmetros estatísticos determinados a partir da curva de calibração do fármaco AMT em água.

λ (nm)	R ²	LOD (mmol·L ⁻¹)	LOQ (mmol·L ⁻¹)
239	0,9993	0,0029	0,0086

Com o intuito de determinar o método mais adequado para promover a adsorção do fármaco AMT nas estruturas porosas, primeiramente foram adicionados 1,0 mL de soluções aquosas do fármaco, na concentração de 40,0 mmol·L⁻¹, a diferentes massas de cada NECD (1,0, 10,0 e 50,0 mg). As suspensões foram mantidas sob agitação em incubadora, a 150 rpm, por 24 h, em temperatura ambiente (Método 1). Após o período de 24 h, foi realizada a quantificação do fármaco AMT ainda presente em cada solução, com base nos valores de absorvância máxima no comprimento de onda de 239 nm. As leituras foram obtidas a partir das alíquotas dos sobrenadantes, utilizando a técnica de UV-Vis e a equação da reta obtida pela curva de calibração previamente determinada. A quantificação foi realizada de acordo com os parâmetros analíticos determinados.

Após a quantificação, foi possível calcular a eficiência de encapsulação (EE%) do fármaco nas NECDs em estudo, a partir da Equação 3.5, descrita no capítulo 3, seção 3.1.4. Neste trabalho, o termo eficiência de encapsulação (EE%) é empregado para expressar o quanto do fármaco AMT foi incorporada às NECDs, independentemente do mecanismo envolvido. O gráfico da eficiência de encapsulação do fármaco AMT, em porcentagem, utilizando diferentes massas de β CDam₆ β CD e de β CDam₁₂ β CD, para o método descrito acima, está apresentado na Figura 5.11.

Analisando o gráfico, é possível observar uma baixa eficiência de encapsulação para ambos os materiais. Utilizando a β CDam₆ β CD, tem-se uma eficiência inferior a 10,0%, mesmo utilizando 50,0 mg de material, sendo adsorvido apenas 8,9% do fármaco disponível, enquanto, utilizando 1,0 e 10,0 mg de material, ocorre a adsorção de 6,8 e 7,6% do fármaco, respectivamente. Já utilizando a β CDam₁₂ β CD, a eficiência observada é ainda menor, sendo adsorvido menos de 2,0% do fármaco quando em contato com 1,0 e 10,0 mg de material (1,3 e 1,8%, respectivamente),

e apenas 3,3% do fármaco quando em contato com 50,0 mg de material. Logo, o método supracitado não foi eficaz para promover a adsorção do fármaco AMT, uma vez que, mesmo em uma razão sólido-líquido (R_{S-L}) de 50, para ambas as NECDs, a EE é muito baixa.

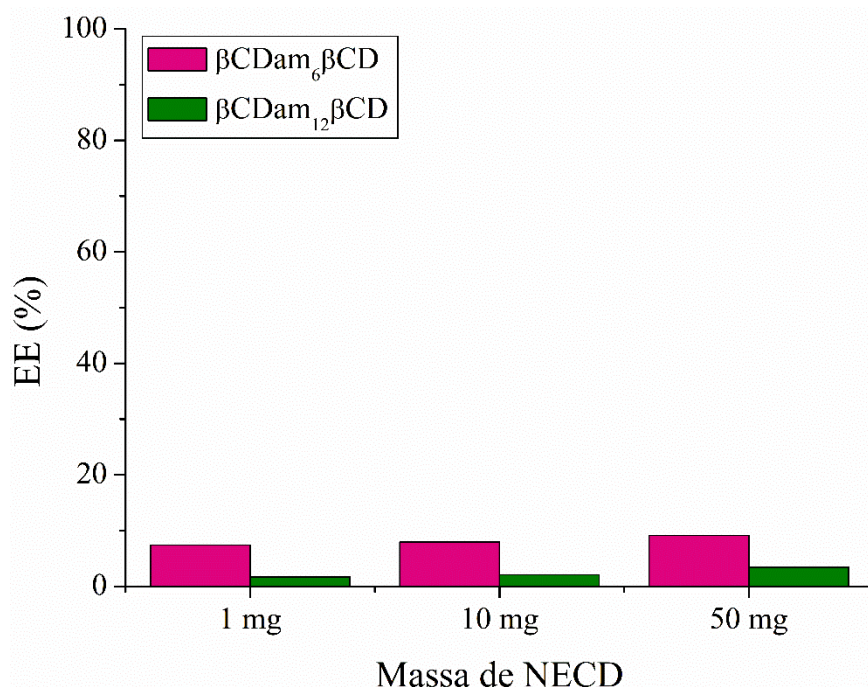


Figura 5.11 – Gráfico de eficiência de encapsulação (EE%) do fármaco AMT, variando a massa de $\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$ e $\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$, utilizando o Método 1 para promover a adsorção.

Deste modo, com o intuito de verificar se a limitação do processo de adsorção do fármaco AMT está atrelada à ineficiência dos materiais adsorventes ou ao método aplicado para promover a adsorção, optou-se por repetir o experimento aplicando um método diferente para promover a adsorção. Logo, soluções aquosas do fármaco AMT (1,0 mL), na concentração de $40,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, em contato com diferentes massas de NECDs (1,0, 10,0 e 50,0 mg), foram colocadas em banho ultrassônico por 8h, à temperatura de aproximadamente 45°C (Método 2). Passadas as 8 h, foi realizada a quantificação do fármaco AMT ainda presente em solução, e a EE (%) foi calculada conforme descrito anteriormente para o Método 1.

O gráfico da eficiência de encapsulação do fármaco AMT, utilizando diferentes massas de $\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$ e de $\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$, a partir do Método 2, encontra-se apresentado na Figura 5.12, em barras, enquanto os valores quantitativos correspondentes estão listados na Tabela 5.6.

Analisando os resultados, observa-se que, quando em contato com 1,0 mg de cada material, ambos os materiais ainda apresentam baixa eficiência de encapsulação. Entretanto, com o aumento da massa de material para 10,0 mg, verifica-se um aumento na eficiência, para ambos os materiais. Já quando em contato com 50,0 mg de material, observa-se um aumento expressivo da eficiência do fármaco, atingindo valores próximos a 60,0% tanto para a β CDam₆ β CD quanto para a β CDam₁₂ β CD, o que indica uma boa eficiência de encapsulação.

Tais resultados demonstram que as duas estruturas porosas em estudo são eficientes para incorporar o fármaco AMT quando as soluções estão em contato com as NECDs, em uma R_{S-L} de 50. Logo, a limitação observada na aplicação do primeiro método para promover a adsorção estava atrelada ao método utilizado, e não à ineficiência dos materiais. De forma complementar, para verificar se tal limitação tinha relação com a temperatura, também foi realizado um teste no qual as amostras foram mantidas sob agitação em incubadora, a 150 rpm, por 24 h, a 45°C, e nenhuma melhora na eficiência de encapsulação foi observada.

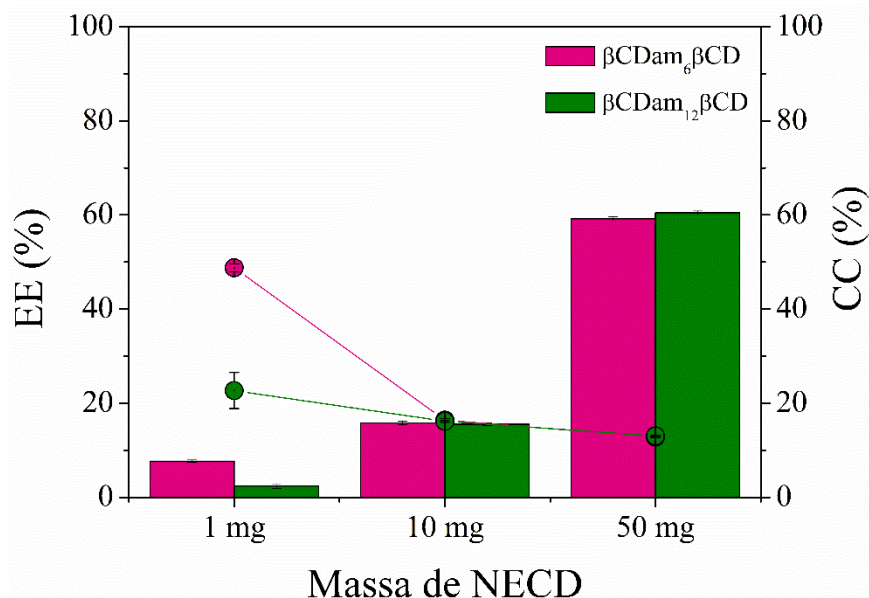


Figura 5.12 – Gráfico de eficiência de encapsulação (**barra**) e capacidade de carregamento (**linha**) do fármaco AMT, variando a massa de β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD, utilizando o Método 2 para promover a adsorção.

Tabela 5.6 – Eficiência de encapsulação (EE%), capacidade de carregamento (CC) e porcentagem de carregamento (CC%) dos materiais em diferentes R_{S-L} .

NECD	R_{S-L}	EE (%)	CC ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$)	CC%
$\beta\text{CD-am}_6\text{-}\beta\text{CD}$	1	$2,38 \pm 0,52$	$0,94 \pm 0,20$	$22,68 \pm 3,83$
	10	$15,55 \pm 0,26$	$0,61 \pm 0,01$	$16,60 \pm 0,23$
	50	$60,47 \pm 0,39$	$0,48 \pm 0,003$	$13,04 \pm 0,07$
$\beta\text{CD-am}_{12}\text{-}\beta\text{CD}$	1	$7,68 \pm 0,26$	$3,03 \pm 0,10$	$48,78 \pm 0,84$
	10	$15,93 \pm 0,39$	$0,63 \pm 0,02$	$16,40 \pm 0,34$
	50	$59,19 \pm 0,39$	$0,47 \pm 0,003$	$12,80 \pm 0,07$

Após a definição da eficiência de encapsulação do fármaco, a capacidade de carregamento (CC) e a porcentagem de carregamento (CC%) de cada material também foram calculadas, de acordo com as Equação 3.6 e 3.7, descritas no capítulo 3, seção 3.1.4, considerando os resultados obtidos a partir do método mais eficiente. Os resultados da porcentagem de carregamento podem ser observados no gráfico de linha, também apresentado na Figura 5.12. Ao analisar o gráfico, é possível verificar, para ambos os materiais, uma diminuição da porcentagem de carregamento à medida que a R_{S-L} aumenta. Isso pode ser atribuído à menor quantidade de fármaco disponível em solução por grama de material, limitando a ocupação dos sítios de encapsulação nas estruturas porosas (Pyrak et al., 2024). Ainda assim, mesmo nas maiores R_{S-L} avaliadas, condição na qual foi observada a maior eficiência de encapsulação, ambas as NECDs apresentam valores expressivos de capacidade de carregamento. Conforme apresentado na Tabela 5.6, verifica-se que, para cada grama de material, a $\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$ e a $\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$ são capazes de incorporar até 0,48 e 0,47 mmol do fármaco AMT, correspondendo a 149,93 e 146,76 mg, respectivamente.

Portanto, com base nos resultados apresentados, tanto de eficiência de encapsulação quanto de capacidade de carregamento, é possível verificar que as duas NECDs em estudo são eficazes para incorporar quantidades expressivas do fármaco em suas estruturas em R_{S-L} de 50, o que torna viável dar sequência em estudos envolvendo tais materiais na liberação do fármaco AMT.

De forma complementar, além dos ensaios de adsorção, a incorporação do fármaco nas estruturas porosas das NECDs pode ser confirmada a partir de uma comparação qualitativa das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), das duas NECDs em estudo, antes e após o contato com a solução aquosa de AMT a $40 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Essa técnica permite a obtenção de imagens de alta resolução da superfície da amostra, possibilitando o estudo da morfologia de materiais em escalas nanométricas.

As micrografias obtidas por MEV para a $\beta\text{CDam}_6\beta\text{CD}$ e a $\beta\text{CDam}_{12}\beta\text{CD}$, antes e após o processo de adsorção, estão apresentadas nas Figuras 5.13 e 5.14, respectivamente. Analisando as micrografias das NECDs, modificações na morfologia desses materiais são notórias após o contato com a solução aquosa do fármaco AMT. Nas micrografias das NECDs precedentes ao processo de adsorção, ou seja, antes de o material ser colocado em contato com a solução aquosa do fármaco AMT, uma morfologia porosa é evidenciada. Já nas micrografias das NECDs após o contato com a solução aquosa do fármaco AMT, observa-se uma expressiva diminuição dos poros antes presentes nas estruturas, confirmando a incorporação do fármaco nos materiais por meio do processo de adsorção. Além disso, a visível diminuição dos poros evidencia a boa eficiência de encapsulação determinada nos estudos de adsorção discutidos anteriormente.

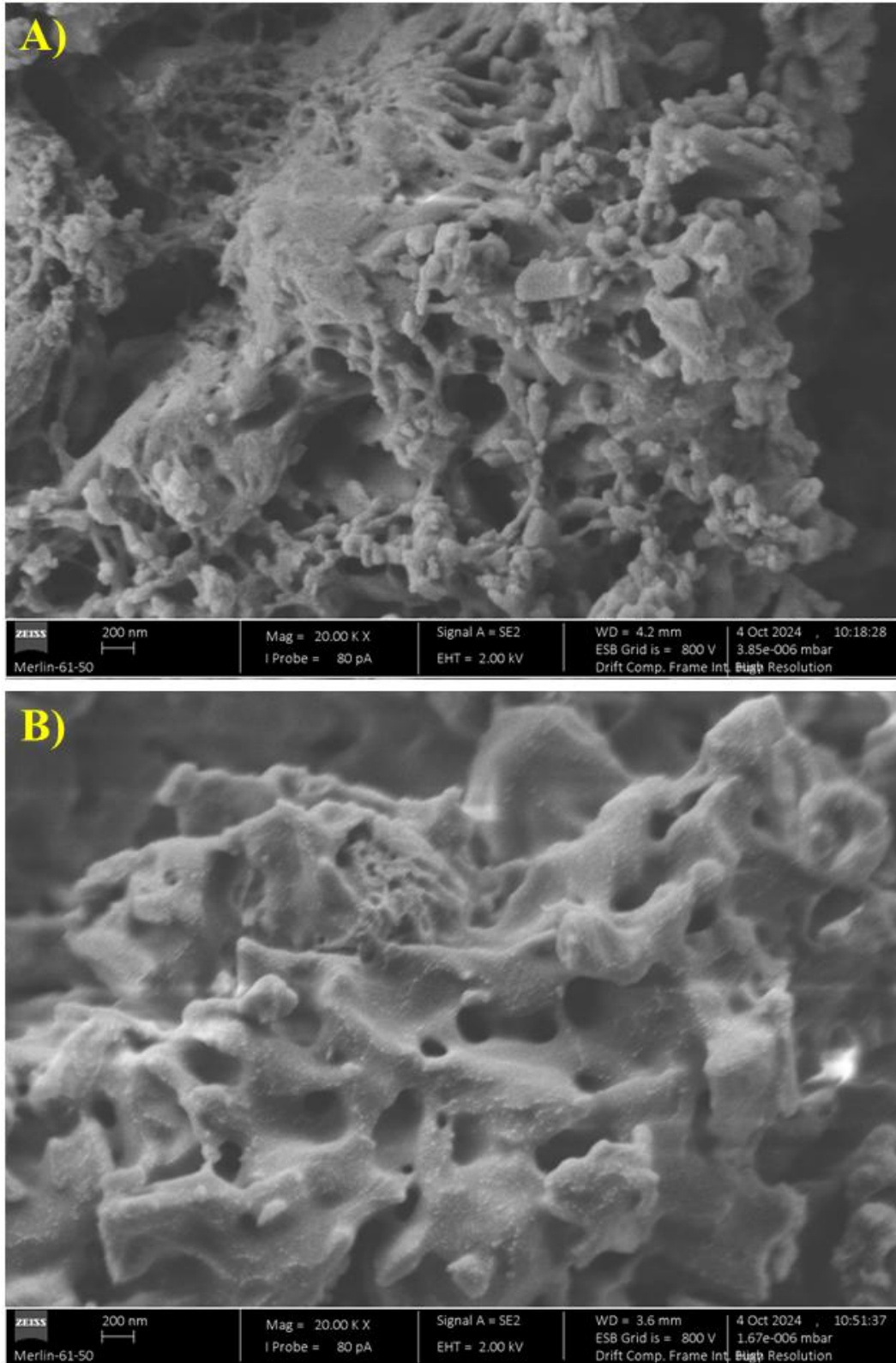


Figura 5.13 – Micrografias obtidas por MEV com ampliação de 20.000 × para β CDam₆ β CD **(a)** antes e **(b)** após o processo de adsorção.

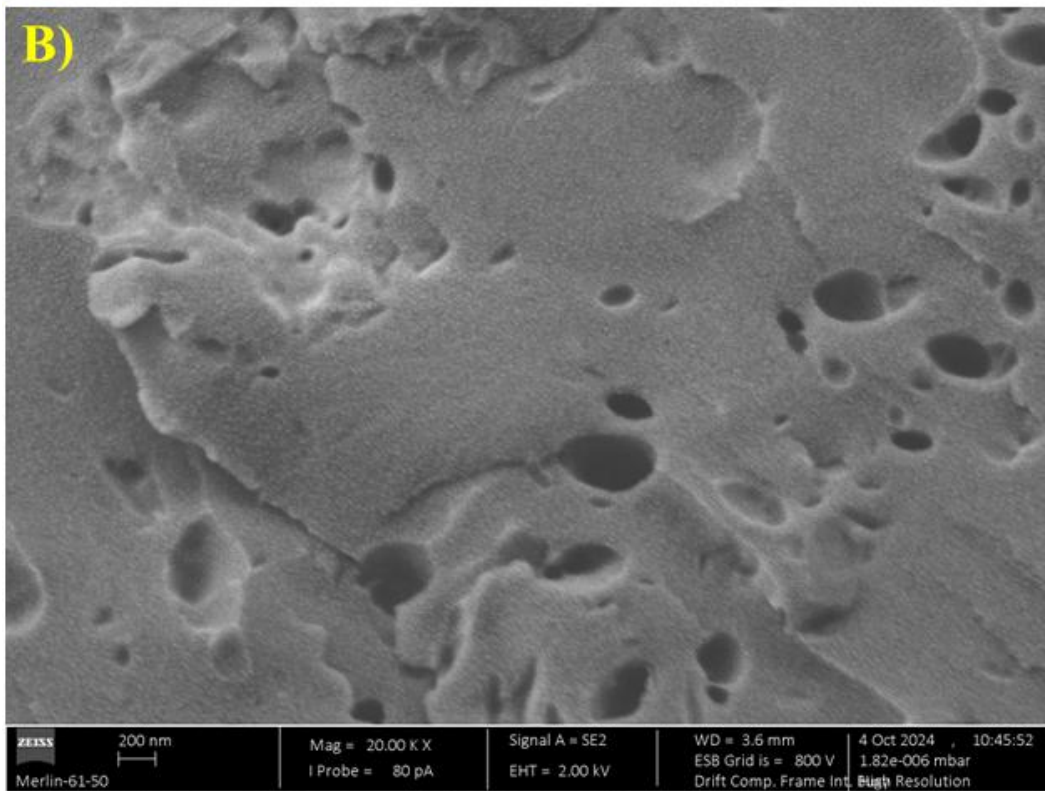
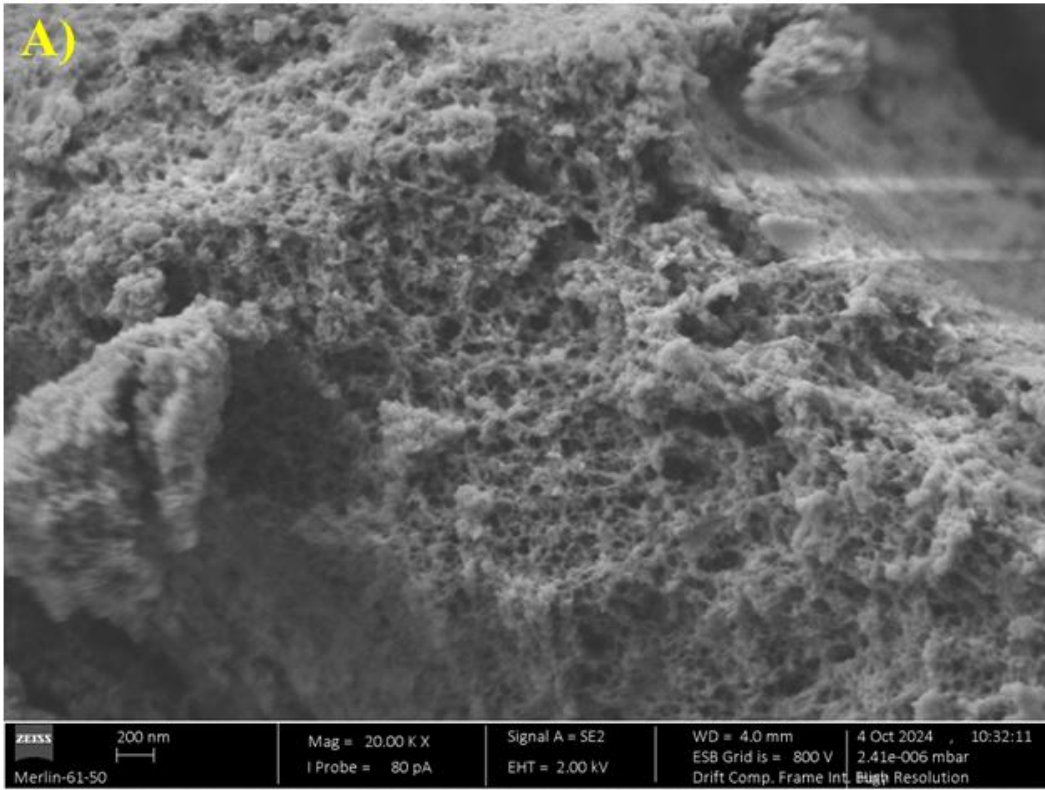


Figura 5.14 – Micrografias obtidas por MEV com ampliação de $20.000 \times$ para β CDam₁₂ β CD **(a)** antes e **(b)** após o processo de adsorção.

Após a confirmação de que o fármaco foi incorporado à estrutura das NECDs, tanto pela quantificação dos ensaios de adsorção quanto pela técnica de MEV, no que se refere a uma futura aplicação como sistemas de liberação de fármacos, é necessário que o fármaco também seja liberado dessas estruturas. Logo, foi realizado um teste preliminar de dessorção utilizando os 50,0 mg de NECDs previamente carregadas no experimento de adsorção que apresentou maior eficiência, com o intuito de verificar se os sistemas em questão são promissores para futuros estudos de liberação. Neste experimento, 10,0 mL de água tipo I (Milli-Q®) foram adicionadas às NECDs, e as amostras foram mantidas sob agitação em incubadora, a 150 rpm, por 70 h, em temperatura ambiente. Posteriormente, o fármaco presente em solução foi quantificado por UV-Vis, utilizando a equação da reta obtida a partir da curva de calibração.

A partir da quantificação do quanto de fármaco foi liberado das estruturas porosas para o meio aquoso, foi calculada a eficiência de liberação (EL%), conforme a Equação 3.8, descrita no capítulo 3, seção 3.1.4. Analisando o gráfico de eficiência de liberação, tanto para β CDam₆ β CD quanto para β CDam₁₂ β CD, observa-se que mais de 90% do fármaco previamente adsorvido foi liberado em água (Figura 5.15).

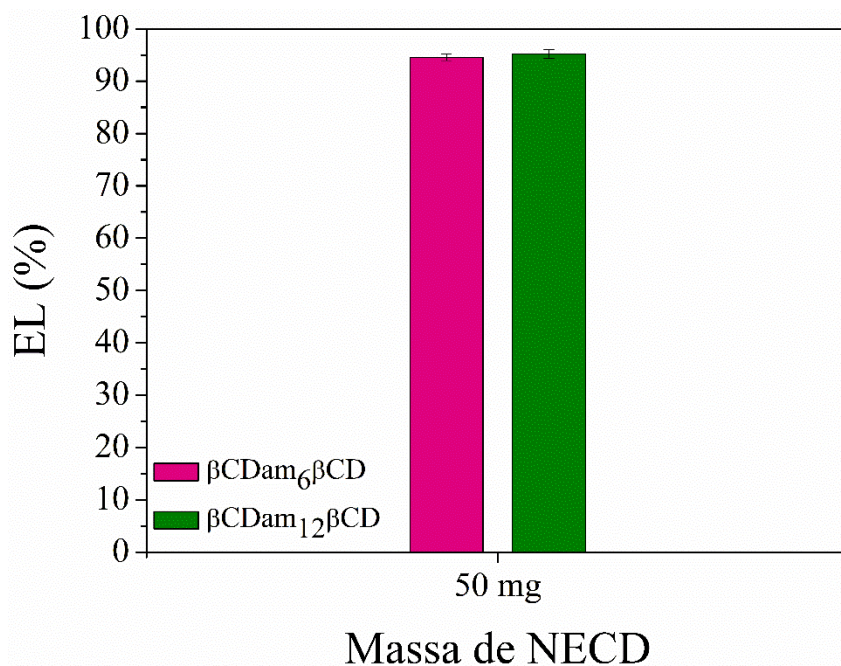


Figura 5.15 – Gráfico de eficiência de liberação do fármaco AMT, utilizando 50,0 mg de β CDam₆ β CD e β CDam₁₂ β CD carregadas com o fármaco.

Portanto, os resultados obtidos nos estudos de adsorção e dessorção do AMT demonstram que ambas as NECDs apresentam bom desempenho para a incorporação do fármaco na R_{S-L} de 50, combinando eficiência de encapsulação próxima de 60,0% com liberação, em meio aquoso, de mais de 90,0% do fármaco adsorvido. Esses dados evidenciam a viabilidade das NECDs como componentes funcionais em estratégias de liberação controlada, justificando sua incorporação em matrizes poliméricas para o desenvolvimento de sistemas híbridos supramoleculares a base de hidrogéis de PVA.

5.3. Hidrogéis de PVA

Os hidrogéis de PVA foram escolhidos como matriz polimérica para a incorporação das NECDs carregadas com AMT devido à sua biocompatibilidade, elevada capacidade de retenção de água e facilidade de obtenção por ciclos de congelamento-descongelamento. A caracterização desses materiais é essencial não apenas para confirmar sua composição química e avaliar a organização da rede polimérica, mas também para compreender propriedades funcionais, como o grau de intumescimento e o comportamento de difusão do fármaco. Tais características influenciam diretamente o desempenho dos sistemas híbridos supramoleculares. Com base nisso, a análise dos hidrogéis foi conduzida considerando sua estrutura química, morfologia, capacidade de absorção de água e cinética de liberação do fármaco.

5.3.1. Caracterização estrutural e morfológica dos hidrogéis de PVA

A caracterização dos hidrogéis de PVA contendo apenas o polímero foi realizada com o objetivo de confirmar a identidade química do material e avaliar a influência da concentração de PVA sobre a organização da rede polimérica formada pelo método de ciclos de congelamento-descongelamento. Para esse fim, foram preparados hidrogéis contendo 14% e 20% (m/v) de PVA, os quais foram caracterizados estruturalmente por FTIR-ATR e morfológicamente por MEV.

Os espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para os hidrogéis de PVA a 14 e 20% encontram-se apresentados na Figura 5.16. Ambos os espectros exibem as bandas características do PVA, estando de acordo com dados previamente reportados na literatura, evidenciando a presença dos principais grupos funcionais do polímero (Mansur et al.,

2008). As atribuições das principais bandas observadas estão descritas na Tabela 5.7, destacando-se a presença da banda em torno de 3260 cm^{-1} , atribuída às vibrações de $\nu(\text{O-H})$, associadas às extensas interações por ligações de hidrogênio do material. As bandas observadas em 2938 e 2910 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de $\nu(\text{C-H})$ da cadeia polimérica, enquanto a banda em 1719 cm^{-1} está associada ao $\nu(\text{C=O})$ de grupos acetato remanescentes do processo de obtenção do PVA. A comparação entre os espectros dos hidrogéis com diferentes concentrações de PVA revela perfis equivalentes, o que era esperado, uma vez que ambos os materiais apresentam a mesma composição química, diferindo apenas na concentração polimérica empregada.

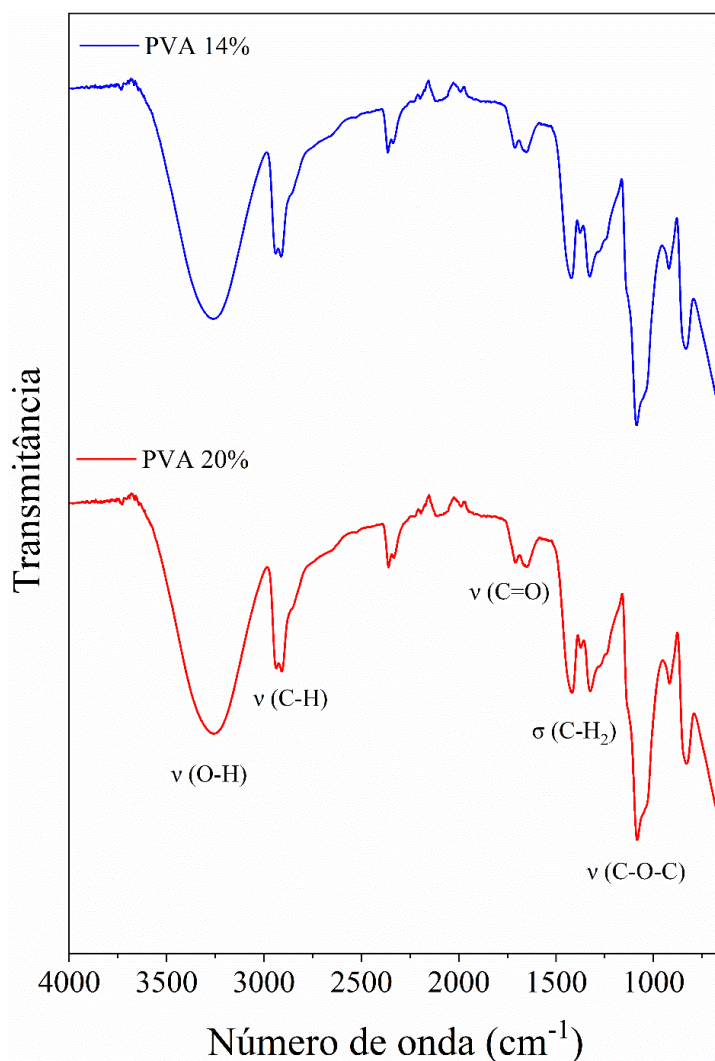


Figura 5.16 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para os hidrogéis de PVA 14 e 20%.

Tabela 5.7 – Atribuição das principais bandas do espectro de absorção na região do infravermelho para os hidrogéis de PVA a 14 e 20%.

Regiões (cm⁻¹)	Atribuições
3260	ν (O-H)
2938 e 2910	ν (C-H)
1719	ν (C=O)
1418	δ (C-H ₂)
1075	ν (C-O-C)

A morfologia da superfície dos hidrogéis foi avaliada a partir de uma comparação qualitativa das imagens obtidas por MEV. As micrografias obtidas com ampliação de 1.000× para os hidrogéis de PVA a 20% e 14% são apresentadas na Figura 5.17(a) e Figura 5.17(b), respectivamente. Ao analisar as micrografias, observam-se diferenças evidentes na estrutura porosa dos materiais em função da concentração de PVA. O hidrogel contendo 14% de PVA apresenta uma estrutura porosa caracterizada por poros maiores e menos densos, enquanto o hidrogel formulado com 20% de PVA exibe uma estrutura mais compacta, com poros menores e uma rede polimérica mais densa. Essas diferenças morfológicas estão diretamente relacionadas à concentração do polímero na solução precursora. Em concentrações mais baixas de PVA, a menor densidade de cadeias poliméricas favorece a formação de uma rede menos compacta durante os ciclos de congelamento e descongelamento, permitindo a formação de poros de maior dimensão. Por outro lado, o aumento da concentração de PVA resulta em uma maior proximidade entre as cadeias e em um número mais elevado de pontos de interação física, conduzindo à formação de uma rede tridimensional mais densa e com porosidade reduzida (Quispe-Siccha et al., 2024).

As diferenças observadas na densidade da rede e na porosidade dos hidrogéis, em função da concentração de PVA, são fatores determinantes para o comportamento de intumescimento desses materiais. Redes mais abertas e porosas, como as observadas para o PVA a 14%, tendem a permitir maior absorção de água, enquanto redes mais densas, como no PVA a 20%, podem limitar a entrada de água e a difusão subsequente do fármaco. Dessa forma, a morfologia da rede polimérica fornece informações importantes para a interpretação do grau de intumescimento e, conseqüentemente, para a difusão dos fármacos incorporados, o que será avaliado na seção subsequente.

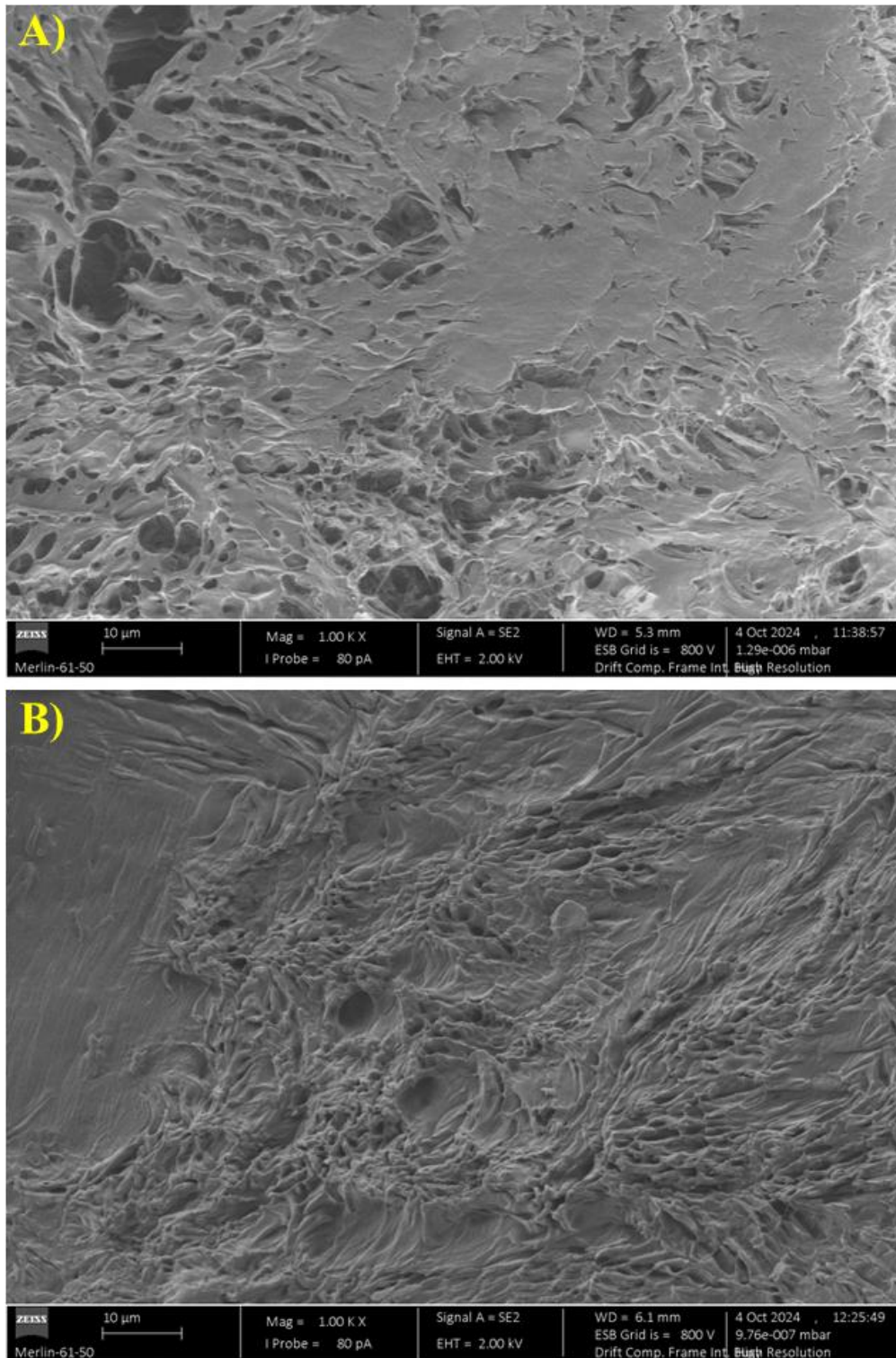


Figura 5.17 – Micrografias obtidas por MEV com ampliação de $1.000 \times$ para os hidrogéis de PVA a (a) 14 e (b) 20%.

5.3.2. Grau de intumescimento

O grau de intumescimento dos hidrogéis de PVA foi avaliado em função da concentração do polímero, utilizando formulações contendo 14% e 20% (m/v), com o objetivo de analisar a capacidade de absorção de água desses materiais e sua relação com a organização e a porosidade da rede polimérica. Os resultados obtidos ao longo de 72 h de imersão em meio aquoso são apresentados na Figura 5.18.

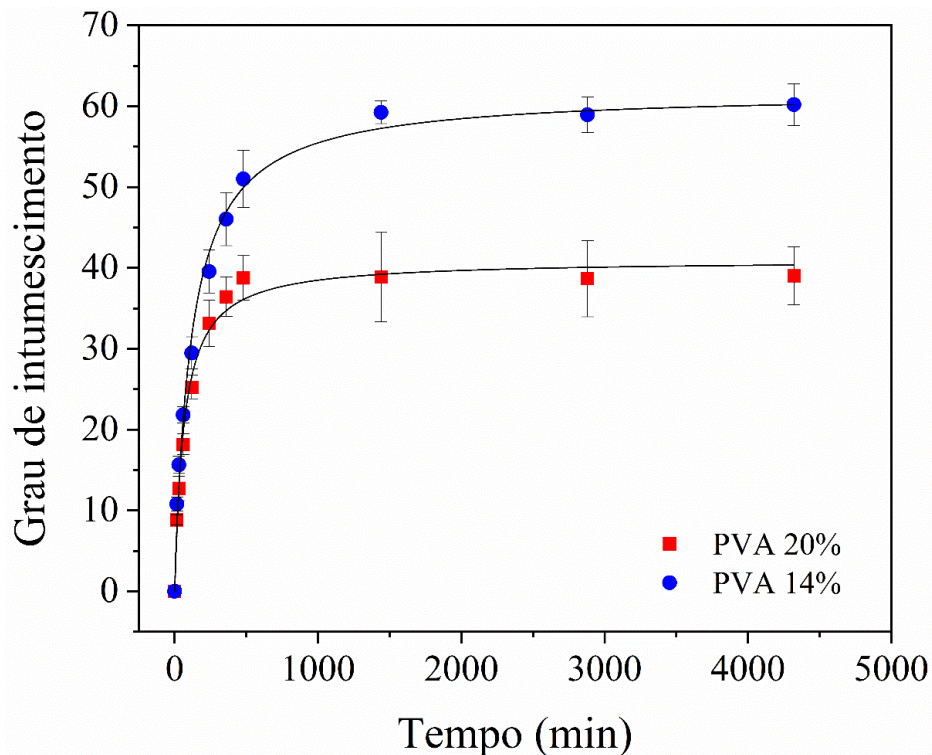


Figura 5.18 – Grau de intumescimento dos hidrogéis de PVA 14 e 20%, em água.

Ao analisar os dados, observa-se que o grau de intumescimento dos hidrogéis de PVA é dependente da concentração do polímero. O hidrogel contendo 14% (m/v) de PVA apresentou maior capacidade de absorção de água ao longo do período avaliado, atingindo, após 72 h de imersão, um grau de intumescimento de $60,1 \pm 2,6$. Em contraste, o hidrogel preparado com 20% (m/v) de PVA apresentou um intumescimento inferior, com valor de $30,1 \pm 3,6$. A análise estatística dos dados, realizada por meio do teste *t*, resultou em um p-valor de 0,0001, indicando diferença estatisticamente significativa entre os dois sistemas ($p < 0,05$). Esses resultados

confirmam que o aumento da concentração de PVA exerce influência significativa sobre o comportamento de intumescimento dos hidrogéis.

Esse comportamento está diretamente relacionado à maior densidade da rede polimérica formada em sistemas com maior teor de PVA, o que limita a penetração de água na matriz e reduz a expansão volumétrica do material. Tal interpretação é consistente com as observações morfológicas obtidas por MEV, nas quais o hidrogel contendo 14% de PVA apresentou uma estrutura mais porosa e menos compacta, enquanto o hidrogel com 20% de PVA exibiu uma rede mais densa, com poros de menor dimensão. Assim, a organização estrutural da rede polimérica exerce papel determinante na capacidade de absorção de água dos hidrogéis, sendo esse um comportamento amplamente reportado para hidrogéis à base de PVA (Gupta; Webster; Sinha, 2011; Kim et al., 2020; Quispe-Siccha et al., 2024).

A influência da densidade da rede sobre o grau de intumescimento é particularmente relevante para aplicações em sistemas de liberação controlada, uma vez que a quantidade de água absorvida pela matriz polimérica está diretamente associada aos processos de difusão no interior do hidrogel. Dessa forma, hidrogéis com maior grau de intumescimento tendem a apresentar menor resistência ao transporte de espécies incorporadas, enquanto redes mais densas podem promover uma liberação mais lenta e sustentada, característica desejável para a manutenção de níveis terapêuticos ao longo do tempo (Das; Subuddhi, 2019).

Para compreender o mecanismo de intumescimento dos hidrogéis, os dados experimentais foram ajustados a diferentes modelos cinéticos. Para ambas as formulações de PVA (14% e 20%), o modelo cinético de pseudo-segunda ordem apresentou o melhor ajuste, conforme evidenciado pelos elevados valores de R^2 (0,992 e 0,990, respectivamente) e menores valores de AIC, apresentados na Tabela 5.8.

O melhor ajuste obtido pelo modelo de pseudo-segunda ordem indica que o processo de intumescimento não se restringe a um fenômeno de difusão simples da água para o interior da matriz, estando também associado a processos de relaxação, rearranjo e mobilidade das cadeias poliméricas ao longo do tempo. Esse comportamento é coerente com a natureza física da rede formada por PVA reticulado fisicamente por ciclos de congelamento e descongelamento, na qual a absorção de água ocorre de forma acoplada à reorganização estrutural da matriz polimérica (Schott, 1992).

Tabela 5.8 – Parâmetros cinéticos para o intumescimento em água dos hidrogéis de PVA 14 e 20%.

Modelo	Parâmetros	Materiais	
		PVA 14 %	PVA 20%
Pseudo-primeira ordem	q _e	57,48 ± 2,20	38,22 ± 0,80
	k ₁	0,006 ± 8,059 × 10 ⁻⁴	0,010 ± 9,294 × 10 ⁻⁴
	R ²	0,966	0,986
	AIC	16,67	8,44
Pseudo-segunda ordem	q _e	61,78 ± 1,29	40,96 ± 0,83
	k ₂	1,4 × 10 ⁻⁴ ± 1,5 × 10 ⁻⁵	3,8 × 10 ⁻⁴ ± 4,3 × 10 ⁻⁵
	R ²	0,992	0,990
	AIC	9,86	6,90
Peppas	k	10,51 ± 2,40	10,56 ± 2,73
	n	0,22 ± 0,03	0,17 ± 0,04
	R ²	0,914	0,845
	AIC	21,11	20,06
Higuchi	k	1,27 ± 0,16	0,87 ± 0,14
	R ²	0,419	0,221
	AIC	28,22	27,02

5.3.3. Estudo cinético de liberação do AMT

Nos estudos cinéticos de liberação, as concentrações de AMT liberadas ao longo do tempo foram determinadas por quantificação direta do fármaco em solução aquosa por espectroscopia UV-Vis, utilizando curva de calibração previamente descrita na seção 5.2. Durante todos os

ensaios cinéticos, as concentrações quantificadas permaneceram acima do LOQ do método analítico, assegurando a exatidão e a precisão dos dados experimentais empregados na construção dos perfis de liberação. Esses dados foram utilizados para o ajuste aos diferentes modelos cinéticos, possibilitando a análise dos mecanismos de liberação do fármaco nos sistemas avaliados.

5.3.3.1. Liberação de AMT a partir dos hidrogéis de PVA

O estudo cinético de liberação do fármaco AMT livre em meio aquoso a partir dos hidrogéis de PVA 14 e 20% (m/v) foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial desses materiais como sistemas de liberação controlada. Para a interpretação dos dados experimentais, diferentes modelos cinéticos foram aplicados, sendo selecionado aquele que apresentou o melhor ajuste aos dados experimentais. Os perfis de liberação estão apresentados na Figura 5.19, enquanto os parâmetros cinéticos correspondentes encontram-se reunidos na Tabela 5.9.

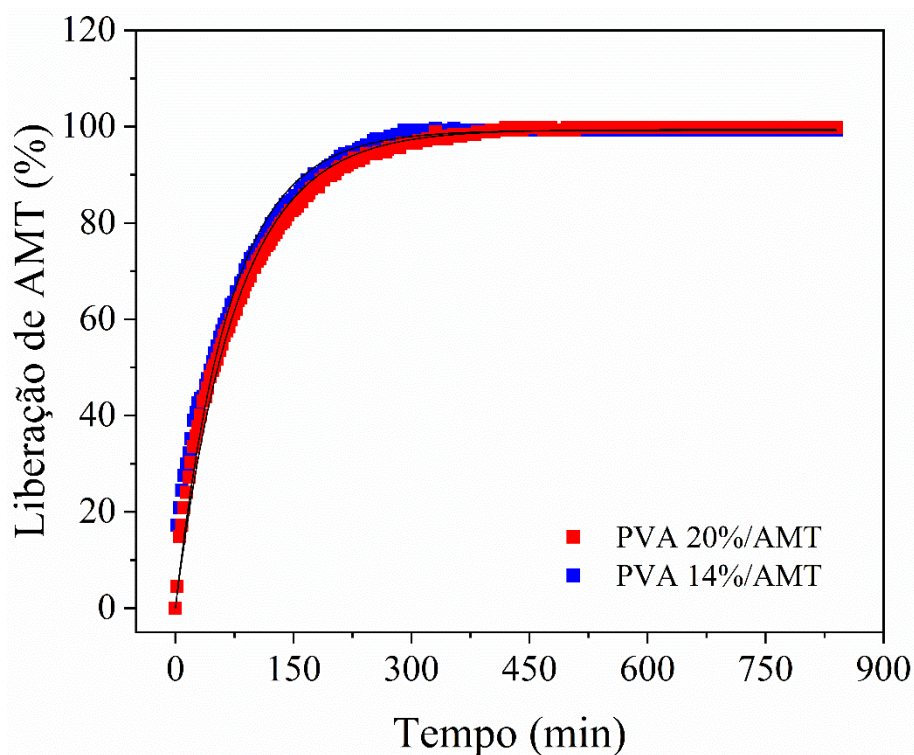


Figura 5.19 – Perfil de liberação de AMT para os hidrogéis PVA 14%/AMT e PVA 20%/AMT.

Para ambas as formulações, o modelo de pseudo-primeira ordem apresentou o melhor ajuste, conforme indicado pelos maiores valores de R^2 e menores valores de AIC. Esse modelo empírico descreve um processo no qual a taxa de liberação do fármaco é proporcional à quantidade ainda retida na matriz polimérica, sendo caracterizado por uma liberação mais rápida nos estágios iniciais, seguida por uma desaceleração progressiva ao longo do tempo. Esse comportamento é compatível com sistemas nos quais o transporte do fármaco ocorre predominantemente por difusão através da rede polimérica hidratada (Borges et al., 2017).

A análise dos parâmetros cinéticos revelou valores de q_e muito próximos para os hidrogéis PVA 14%/AMT ($99,22 \pm 0,18$) e PVA 20%/AMT ($99,35 \pm 0,14$), indicando que a quantidade total de fármaco liberada ao final do experimento é semelhante, independentemente da concentração de PVA. No entanto, o valor da constante cinética k_1 foi superior para o hidrogel PVA 14%/AMT ($0,015 \pm 1,733 \times 10^{-4}$) em relação ao PVA 20%/AMT ($0,013 \pm 1,099 \times 10^{-4}$), evidenciando uma liberação mais rápida do fármaco no sistema com menor concentração polimérica. Essa diferença pode ser atribuída à menor densidade da rede polimérica no hidrogel de PVA a 14%, favorecendo a difusão do AMT através da matriz. Em contraste, o aumento da concentração de PVA para 20% resulta em uma rede mais compacta, com maior número de pontos de interação física, impondo maior resistência ao transporte do fármaco e, conseqüentemente, reduzindo a taxa de liberação. Esse comportamento está em concordância com os resultados de intumescimento e com as observações morfológicas obtidas por MEV.

A interpretação dos perfis de liberação é corroborada pelos valores de $t_{50\%}$ e $t_{90\%}$, correspondentes ao tempo necessário para atingir 50% e 90% da liberação do fármaco, respectivamente. Ambos os parâmetros foram significativamente maiores para o sistema PVA 20%/AMT (Tabela 5.9), evidenciando que o aumento da concentração polimérica retarda a liberação do AMT (Costa; Sousa Lobo, 2001). A análise estatística (Teste t) confirmou a existência de diferença significativa entre os dois sistemas ($p < 0,05$).

Dessa forma, os resultados demonstram que o aumento da concentração de PVA permite modular a cinética de liberação do AMT, promovendo um perfil mais lento e sustentado. Considerando o objetivo de desenvolver sistemas de liberação controlada com maior capacidade de prolongar a liberação do fármaco, os hidrogéis contendo 20% de PVA foram selecionados para as etapas subsequentes.

Tabela 5.9 – Parâmetros cinéticos obtidos para a liberação do fármaco AMT a partir dos hidrogéis PVA 14%/AMT e PVA 20%/AMT, ajustados aos diferentes modelos cinéticos.

Modelo	Parâmetros	Materiais	
		PVA 14 %/AMT	PVA 20%/AMT
Pseudo-primeira ordem	q _e (%)	99,22 ± 0,18	99,35 ± 0,14
	k ₁	0,015 ± 1,733 × 10 ^{-4*}	0,013 ± 1,099 × 10 ^{-4*}
	R ²	0,979	0,990
	AIC	229,23	155,55
	t _{50%} (min)	47,80*	53,57*
	t _{90%} (min)	158,83*	177,94*
Pseudo-segunda ordem	q _e (%)	107,67 ± 0,34	109,09 ± 0,28
	k ₁	0,00022 ± 5,60964 × 10 ⁻⁶	0,00018 ± 3,5434 × 10 ⁻⁶
	R ²	0,971	0,985
	AIC	269,30	209,64
Peppas	k	32,07 ± 1,27	0,18 ± 0,01
	n	27,92 ± 1,16	0,20 ± 0,01
	R ²	0,812	0,841
	AIC	648,77	495,37
Higuchi	k	4,42 ± 0,06	4,40 ± 0,05
	R ²	0,337	0,397
	AIC	735,90	718,05

Valores expressos como média ± desvio padrão (n = 3). Para cada parâmetro, diferenças estatisticamente significativas entre os sistemas foram determinadas pelo teste t (p < 0,05).

(*) Indica parâmetros analisados estatisticamente.

5.3.3.2. Liberação de AMT a partir dos sistemas híbridos

Com base nos resultados obtidos nos estudos de intumescimento e cinética de liberação do fármaco livre, o hidrogel de PVA contendo 20% (m/v) de polímero foi selecionado como matriz para a formulação dos sistemas híbridos supramoleculares, constituídos pela incorporação das NECDs e do CI AMT: β CD ao hidrogel, visando avaliar o efeito dessas estruturas sobre o perfil de liberação do AMT.

A análise qualitativa dos perfis de liberação em meio aquoso (Figura 5.20) evidencia diferenças marcantes entre o hidrogel contendo AMT livre e os sistemas híbridos contendo CDs. O hidrogel PVA 20%/AMT promoveu liberação praticamente total do fármaco (>99%), apresentando um pronunciado efeito *burst*, com aproximadamente 90% do AMT liberado em menos de 3 h. Em contraste, os sistemas híbridos contendo CDs apresentaram liberação limitada a cerca de 90%, indicando que parte do fármaco permaneceu retida na matriz polimérica ao final do ensaio. Além disso, esses sistemas exibiram perfis de liberação mais controlados, caracterizados por menor efeito *burst* e liberação gradual ao longo do tempo, estendendo-se por mais de 12 h até o estabelecimento do platô. Esse comportamento pode ser atribuído ao fato de que a liberação do fármaco passa a depender não apenas da difusão através da matriz polimérica, mas também da dissociação gradual das interações supramoleculares estabelecidas. Em particular, a presença das NECDs contribuiu para a diminuição do efeito *burst*. Para melhor visualização, a Figura 5.20 (b) apresenta uma ampliação da região de liberação inicial. Essa arquitetura supramolecular, composta por múltiplos sítios de aprisionamento, incluindo tanto as cavidades das CDs quanto os poros da matriz polimérica, contribui para uma redução do efeito *burst* e para a modulação da liberação do AMT ao longo do tempo (Trotta; Zanetti; Cavalli, 2012).

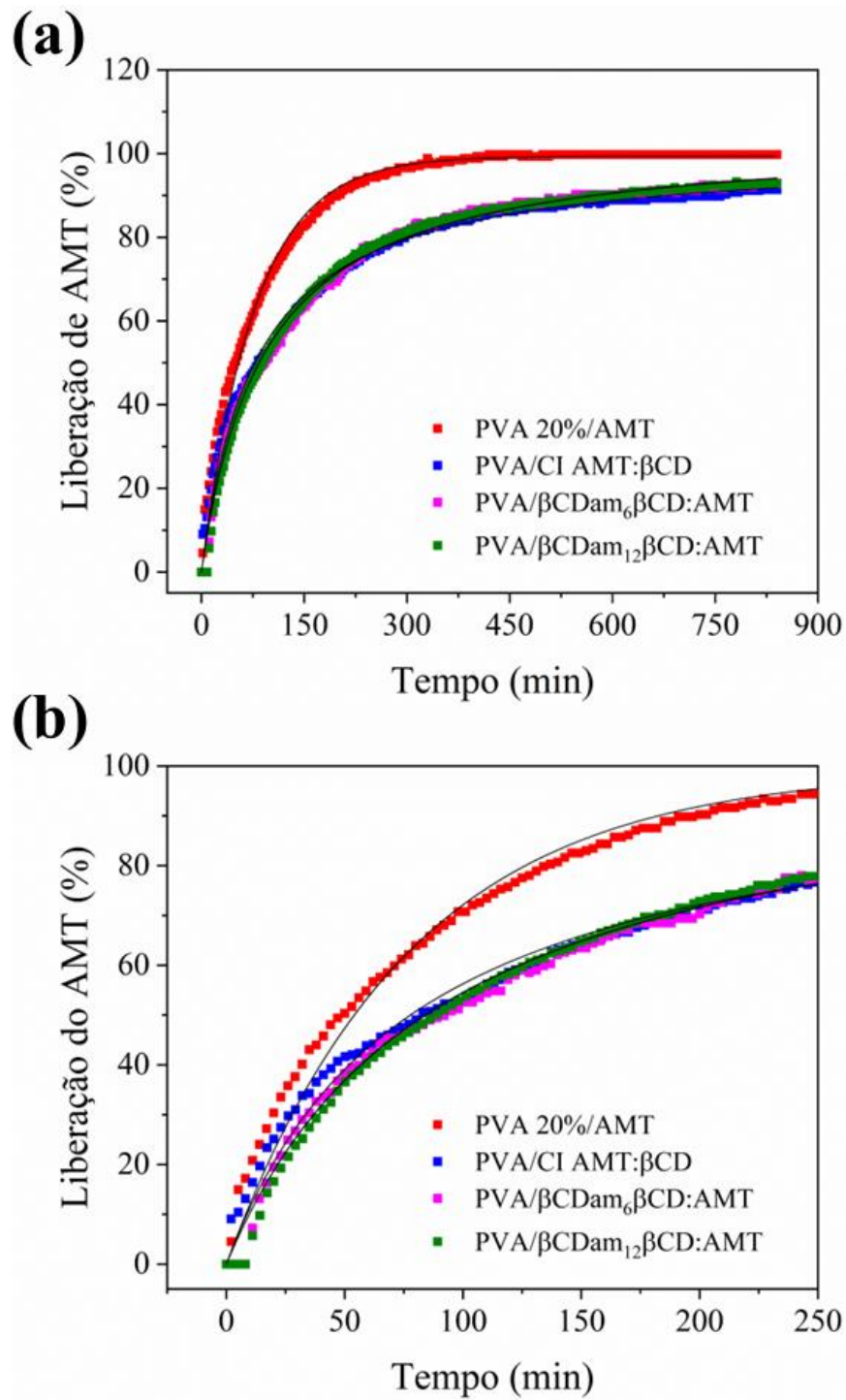


Figura 5.20 – (a) Perfis de liberação de AMT em meio aquoso a partir dos sistemas híbridos; (b) ampliação destacando o comportamento na fase inicial de liberação.

Do ponto de vista cinético, observa-se que, diferentemente do hidrogel contendo o fármaco livre, os sistemas PVA/CI AMT: β CD, PVA/ β CDam6 β CD:AMT e PVA/ β CDam12 β CD:AMT apresentaram melhor ajuste ao modelo de pseudo-segunda ordem (Tabela 5.10). Esse resultado indica que o processo de liberação do AMT nesses sistemas não é governado exclusivamente pela difusão através da matriz polimérica, mas também por interações específicas com a β CD ou com as NECDs, associadas a fenômenos de inclusão e/ou adsorção (ElTatawy et al., 2024; Ho; McKay, 1999). Como consequência, a taxa de liberação passa a depender simultaneamente da difusão do fármaco na matriz e da dissociação gradual dessas interações, resultando em um perfil de liberação mais lento e controlado. Esse comportamento é consistente com a eficiência das NECDs de reter o fármaco em sua rede supramolecular, evidenciada nos ensaios de adsorção, o que contribui para modular a liberação ao longo do tempo.

Tabela 5.10 – Parâmetros cinéticos obtidos para a liberação de AMT a partir dos sistemas híbridos PVA/CI AMT:βCD, PVA/βCDam₆βCD:AMT e PVA/βCDam₁₂βCD:AMT.

Modelo	Parâmetros	Materiais		
		PVA/CI AMT:βCD	PVA/βCDam ₆ βCD:AMT	PVA/βCDam ₁₂ βCD:AMT
Pseudo-primeira ordem	q _e (%)	88,44 ± 0,26	90,38 ± 0,20	90,45 ± 0,16
	k ₁	0,009 ± 1,362 × 10 ⁻⁴	0,008 ± 8,728 × 10 ⁻⁵	0,008 ± 7,161 × 10 ⁻⁵
	R ²	0,941	0,987	0,992
	AIC	278,42	202,28	151,27
Pseudo-segunda ordem	q _e (%)	100,38 ± 0,22	104,16 ± 0,22	104,39 ± 0,20
	k ₂	1,3 × 10 ⁻⁴ ± 1,6 × 10 ^{-6a}	1,0 × 10 ⁻⁴ ± 1,3 × 10 ^{-6b}	1,0 × 10 ⁻⁴ ± 1,1 × 10 ^{-6b}
	R ²	0,994	0,995	0,997
	AIC	91,85	77,24	48,14
	h	1,2807 ^a	1,1382 ^b	1,1429 ^b
	t _{50%} (min)	78,38 ^a	91,51 ^b	91,34 ^b
	t _{90%} (min)	705,40 ^a	823,62 ^b	822,09 ^b

Peppas	k	17,06 ± 0,55	14,79 ± 0,61	14,70 ± 0,65
	n	0,259 ± 0,005	0,284 ± 0,007	0,285 ± 0,007
	R ²	0,936	0,918	0,910
	AIC	370,51	423,20	438,21
Higuchi	k	3,83 ± 0,04	3,87 ± 0,03	3,88 ± 0,04
	R ²	0,585	0,654	0,653
	AIC	599,84	594,32	597,87

Valores expressos como média ± desvio padrão (n = 3). Para cada parâmetro, letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os sistemas (one-way ANOVA seguida de teste de Tukey, p < 0,05).

A comparação entre os hidrogéis contendo CDs revelou valores de q_e semelhantes, indicando que a quantidade total de fármaco liberada ao final do experimento é comparável entre os sistemas (Tabela 5.10). No entanto, o parâmetro cinético k_2 foi mais elevado para o hidrogel PVA/CI AMT: β CD ($1,3 \times 10^{-4} \pm 1,6 \times 10^{-6}$) em relação aos sistemas contendo NECDs ($1,0 \times 10^{-4} \pm 1,3 \times 10^{-6}$), evidenciando uma cinética de liberação mais rápida no sistema com o CI. Esse comportamento confirma que as NECDs impõem uma barreira adicional ao transporte do fármaco, retardando sua difusão e corroborando as observações qualitativas dos perfis de liberação.

A interpretação desses resultados foi complementada pela análise dos parâmetros h , correspondente à taxa inicial de liberação, $t_{50\%}$ e $t_{90\%}$ (Tabela 5.10) (ElTatawy et al., 2024). A análise estatística (one-way ANOVA seguida do teste de Tukey, $p < 0,05$) demonstrou que o sistema PVA/CI AMT: β CD apresentou valores significativamente distintos em relação aos hidrogéis contendo NECDs, enquanto os sistemas PVA/ β CDam6 β CD:AMT e PVA/ β CDam12 β CD:AMT não diferiram estatisticamente entre si. O maior valor de h observado para o sistema contendo o CI confirma a ocorrência de um efeito *burst* mais pronunciado, refletindo também em menores valores de $t_{50\%}$ e $t_{90\%}$. Em conjunto, esses resultados demonstram que a incorporação de CDs, especialmente na forma de redes supramoleculares reticuladas (NECDs), confere aos hidrogéis de PVA maior capacidade de modular a liberação do AMT, reduzindo o efeito *burst* e promovendo um perfil de liberação mais controlado e prolongado.

Em resumo, os resultados apresentados neste capítulo demonstram que as NECDs sintetizadas (β CDam6 β CD e β CDam12 β CD) apresentam características estruturais e funcionais adequadas para a encapsulação do fármaco AMT. Além disso, a incorporação dessas NECDs em hidrogéis de PVA permitiu modular o perfil de liberação do fármaco, com sistemas híbridos apresentando liberação mais controlada e redução do efeito *burst* em comparação aos hidrogéis contendo AMT livre. Esses achados evidenciam a viabilidade dos sistemas híbridos supramoleculares como plataformas promissoras para liberação controlada de AMT.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram desenvolvidos e avaliados sistemas híbridos supramoleculares baseados na associação do fármaco antidepressivo Cloridrato de Amitriptilina (AMT) com ciclodextrinas (CDs) e nanoesponjas à base de CDs (NECDs), com posterior incorporação em hidrogéis de poli(álcool vinílico) (PVA), visando à aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos.

Os estudos termodinâmicos mostraram que o processo de formação dos compostos de inclusão (CIs), AMT: β CD, AMT:M β CD, AMT:HP β CD e AMT: γ CD ocorre de forma espontânea em todas as temperaturas investigadas. Além disso, a formação dos CIs foi confirmada a partir da combinação de experimentos de RMN uni- e bidimensionais, permitindo a elucidação das interações supramoleculares envolvidas e a confirmação da inclusão do fármaco na cavidade das CDs em solução. Dentre os sistemas avaliados, o CI AMT: β CD apresentou maior afinidade e estabilidade, configurando-se como o sistema mais favorável do ponto de vista termodinâmico para o desenvolvimento dos materiais poliméricos subsequentes.

Com base nesses resultados, a β CD foi empregada na síntese das NECDs utilizando diferentes diaminas como agentes reticulantes, resultando em materiais poliméricos altamente reticulados, porosos e com propriedades físico-químicas adequadas para a incorporação do fármaco AMT. Os estudos de adsorção e dessorção demonstraram que as NECDs apresentam elevada capacidade de incorporação do fármaco, com eficiências de encapsulamento em torno de 60% e liberação superior a 90% em meio aquoso, evidenciando seu potencial como componentes ativos em sistemas de liberação.

Os hidrogéis de poli(álcool vinílico) (PVA) preparados pelo método de congelamento–descongelamento apresentaram propriedades morfológicas dependentes da concentração polimérica, com o aumento do teor de PVA resultando em redes mais densas e menos porosas. Esse comportamento refletiu diretamente no grau de intumescimento e na cinética de liberação do fármaco, evidenciando que hidrogéis com maior concentração polimérica favorecem perfis de liberação mais lentos e controlados.

A incorporação do AMT previamente associado às CDs, seja na forma de CIs ou adsorvido em NECDs, originou sistemas híbridos supramoleculares com perfis de liberação distintos daqueles observados para o fármaco livre. Os sistemas híbridos apresentaram redução do

efeito *burst* e cinéticas de liberação governadas não apenas pela difusão na matriz polimérica, mas também pela dissociação gradual das interações supramoleculares estabelecidas com as CDs.

Em particular, os hidrogéis contendo as NECDs demonstraram maior capacidade de retenção do fármaco e liberação mais prolongada quando comparados aos sistemas contendo apenas o CI, evidenciando o papel das redes supramoleculares reticuladas na modulação da liberação do AMT. Dessa forma, os sistemas híbridos baseados em hidrogéis de PVA contendo CDs, especialmente na forma de NECDs, consolidam-se como uma estratégia eficiente para a obtenção de perfis de liberação mais controlados, estabelecendo uma base sólida para investigações futuras voltadas à avaliação biológica e à aplicação desses materiais como dispositivos de liberação de fármacos.

CAPÍTULO 7
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARCA, Romina L. *et al.* Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component. **Food Chemistry**, v. 196, p. 968–975, 2016.

ADELNIA, Hossein *et al.* Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future. **European Polymer Journal**, v. 164, p. 1–26, 2022.

AKOLADE, Jubril Olayinka *et al.* Influence of formulation parameters on encapsulation and release characteristics of curcumin loaded in chitosan-based drug delivery carriers. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 45, p. 11–19, 2018.

ALLAHYARI, Saeideh *et al.* In-vitro characterization and cytotoxicity study of flutamide loaded cyclodextrin nanosponges. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 1–7, 2021.

AMYTRIL®. [BULA]. Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., 2021.

ANVISA. Farmacopeia Brasileira Volume II – Monografias Insumos Farmacêuticos e Especialidades, 2019. (Nota técnica).

ARIGA, Katsuhiko; KUNITAKE, Toyoki. **Supramolecular Chemistry-Fundamentals and Applications**. Berlin: Springer-Verlag Heidelberg, 2006.

ASHTON, Peter R. *et al.* Amino Acid Derivatives of β -Cyclodextrin. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 61, p. 903–908, 1996.

AWOTWE-OTOO, David *et al.* Application of quality by design elements for the development and optimization of an analytical method for protamine sulfate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 62, p. 61–67, 2012.

BABICK, Frank. Dynamic light scattering (DLS). *In: Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles*. Kidlington: Elsevier, 2019. p. 137–172.

BAI, Hongzhen *et al.* Cyclodextrin-based host-guest complexes loaded with regorafenib for colorectal cancer treatment. **Nature Communications**, v. 12, p. 1–18, 2021.

BEACH, Maximilian A. *et al.* Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery. **Chemical Reviews**, v. 124, p. 5505–5616, 2024.

BEŇOVÁ, Eva *et al.* pH-responsive mesoporous silica drug delivery system, its biocompatibility and co-adsorption/co-release of 5-Fluorouracil and Naproxen. **Applied Surface Science**, v. 561, p. 1–14, 2021.

BHATTACHARJEE, Sourav. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 2016.

BOCZAR, Dariusz; MICHALSKA, Katarzyna. Cyclodextrin Inclusion Complexes with Antibiotics and Antibacterial Agents as Drug-Delivery Systems-A Pharmaceutical Perspective. **Pharmaceutics**, v. 14, p. 1–72, 2022.

BORGES, Roger *et al.* Design and Kinetic Study of Sustainable Potential Slow-Release Fertilizer Obtained by Mechanochemical Activation of Clay Minerals and Potassium

Monohydrogen Phosphate. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 56, p. 708–716, 2017.

BOUCHEMAL, Kawthar. New challenges for pharmaceutical formulations and drug delivery systems characterization using isothermal titration calorimetry. **Drug Discovery Today**, v. 13, p. 960–972, 2008.

BOUCHEMAL, Kawthar *et al.* A comprehensive study on the inclusion mechanism of benzophenone into supramolecular nanoassemblies prepared using two water-soluble associative polymers. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 98, p. 57–64, 2009.

BOUCHEMAL, Kawthar; MAZZAFERRO, Silvia. How to conduct and interpret ITC experiments accurately for cyclodextrin-guest interactions. **Drug Discovery Today**, v. 17, p. 623–629, 2012.

BRAEGELMAN, Adam S.; WEBBER, Matthew J. Integrating stimuli–responsive properties in host–guest supramolecular drug delivery systems. **Theranostics**, v. 9, p. 3017–3040, 2019.

BREWSTER, Marcus E.; LOFTSSON, Thorsteinn. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 645–666, 2007.

BROWN, Michael E. **Introduction to thermal analysis**. 2. ed. Grahamstown: Chemistry Department, Rhodes University, 2001.

BRUNTON, Laurence L. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Santana: AMGH Editora Ltda, 2012.

BRYSON, Harriet M.; WILDE, Michelle I. Amitriptyline. **Drugs & Aging**, v. 8, p. 459–476, 1996.

CALDERA, Fabrizio *et al.* Evolution of Cyclodextrin Nanosponges. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, p. 470–479, 2017.

CASTIGLIONE, Franca *et al.* Inclusion complexes of β -cyclodextrin with tricyclic drugs: an X-ray diffraction, NMR and molecular dynamics study. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 13, p. 714–719, 2017.

CHILAJWAR, Sai V *et al.* Cyclodextrin-based nanosponges: a propitious platform for enhancing drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 11, p. 111–120, 2014.

COSTA, Paulo; SOUSA LOBO, José Manuel. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, p. 123–133, 2001.

CRINI, Grégorio. Review: A history of cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 114, p. 10940–10975, 2014.

CUI, Lulu *et al.* Major depressive disorder: hypothesis, mechanism, prevention and treatment. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 9, p. 1–32, 2024.

DAI, Yutong *et al.* Smart GSH/pH dual-bioresponsive degradable nanosponges based on β -CD-appended hyper-cross-linked polymer for triggered intracellular anticancer drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 64, p. 1–10, 2021.

DAI, Zelan *et al.* Applications of Cyclodextrin-Based Drug Delivery Systems in Inflammation-Related Diseases. **Pharmaceutics**, v. 17, p. 1–17, 2025.

DAS, Subhraseema; SUBUDDHI, Usharani. Controlled delivery of ibuprofen from poly(vinyl alcohol)–poly(ethylene glycol) interpenetrating polymeric network hydrogels. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 9, p. 108–116, 2019.

DAVIS, Mark E.; BREWSTER, Marcus E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, p. 1023–1035, 2004.

DE PAULA, Elgte Elmin B. *et al.* Insights into the multi-equilibrium, superstructure system based on β -cyclodextrin and a highly water soluble guest. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 439, p. 207–215, 2012.

DE SOUSA, Frederico 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, p. 8426–8436, 2008a.

DE SOUSA, Frederico B. *et al.* Supramolecular complex of fluoxetine with β -cyclodextrin: An experimental and theoretical study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 353, p. 160–169, 2008b.

DE SOUSA, Frederico B. *et al.* Superstructure based on β -CD self-assembly induced by a small guest molecule. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 14, p. 1934–1944, 2012.

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

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

DI PIETRO, Maria Enrica; FERRO, Monica; MELE, Andrea. Inclusion complexes of tricyclic drugs and β -cyclodextrin: Inherent chirality and dynamic behaviour. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 588, p. 1–9, 2020.

DIN, Fakhar Ud *et al.* Injectable dual thermoreversible hydrogel for sustained intramuscular drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 374, p. 590–605, 2024.

DOANE, Tennyson L. *et al.* Nanoparticle ζ -potentials. **Accounts of Chemical Research**, v. 45, p. 317–326, 2012.

DODZUIK, Helena. **Introduction to Supramolecular Chemistry**. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.

EGYED, Orsolya. Spectroscopic studies on β -cyclodextrin. **Analytical Chimical Acta**, v. 240, p. 225–221, 1990.

ELTATAWY, Reem A. *et al.* Preparation and kinetic studies of a new antibacterial sodium alginate gelatin hydrogel composite. **Scientific Reports**, v. 14, p. 1–19, 2024.

FARAG, Hussein M. *et al.* Comparison of Amitriptyline and US Food and Drug Administration–Approved Treatments for Fibromyalgia. **JAMA Network Open**, v. 5, p. 1–15, 2022.

FILHO, Cesar M. C. *et al.* Uncommon Sorption Mechanism of Aromatic Compounds onto Poly(Vinyl Alcohol)/Chitosan/Maleic Anhydride- β -Cyclodextrin Hydrogels. **Polymers**, v. 12, p. 1–23, 2020.

FREIRE, Ernesto. Isothermal titration calorimetry: Controlling binding forces in lead optimization. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 1, p. 295–299, 2004.

FREIRE, Ernesto. Do enthalpy and entropy distinguish first in class from best in class? **Drug Discovery Today**, v. 13, p. 869–874, 2008.

FREIRE, Ernesto; MAYORGA, Obdulio L.; STRAUME, Martin. Isothermal Titration. **Analytical Chemistry**, v. 62, p. 950–959, 1990.

GIDWANI, Bina; VYAS, Amber. Synthesis, characterization and application of Epichlorohydrin- β -cyclodextrin polymer. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 114, p. 130–137, 2014.

GONTIJO, Sávio M. L. *et al.* Erlotinib/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex: Characterization and in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 83, p. 267–279, 2015.

GOWDA, B. H. Jaswanth *et al.* Nanosponges as an Emerging Platform for Cancer Treatment and Diagnosis. **Advanced Functional Materials**, v. 34, p. 1–21, 2024.

GUPTA, Siddhi; WEBSTER, Thomas J.; SINHA, Arvind. Evolution of PVA gels prepared without crosslinking agents as a cell adhesive surface. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 22, p. 1763–1772, 2011.

HASSAN, Christie M.; PEPPAS, Nikolaos A. Structure and Applications of Poly (vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. **Advances in Polymer Science**, v. 153, p. 37–65, 2000.

HATAKEYAMA, T.; QUINN, F. X. **Thermal analysis: fundamentals and applications to polymer science**. 2. ed. Londres: Wiley Editorial, 2000.

HEDGES, Allan R. Industrial Applications of Cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 98, p. 2035–2044, 1998.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochemistry**, v. 34, p. 451–465, 1999.

HOARE, Todd R.; KOHANE, Daniel S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymer**, v. 49, p. 1993–2007, 2008.

HOLM, René *et al.* Thermodynamics of complexation of tauro- and glyco-conjugated bile salts with two modified β -cyclodextrins. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 69, p. 201–211, 2011.

HORVÁTH, Györgyi *et al.* Analyzing the carotenoid composition of melilot (*Melilotus officinalis* (L.) pall.) extracts and the effects of isolated (all-*e*)-lutein-5,6-epoxide on primary sensory neurons and macrophages. **Molecules**, v. 26, p. 1–13, 2021.

HUANG, Mingshu *et al.* Hydrogels for the treatment of oral and maxillofacial diseases: current research, challenges, and future directions. **Biomaterials Science**, v. 10, p. 6413–6446, 2022.

HUSSIEN, Nizamudin Awel; IŞIKLAN, Nuran; TÜRK, Mustafa. Aptamer-functionalized magnetic graphene oxide nanocarrier for targeted drug delivery of paclitaxel. **Materials Chemistry and Physics**, v. 211, p. 479–488, 2018.

INABA, Kohji; WAKUDA, Tohru; UEKAMA, Kaneto. Prostaglandins and their cyclodextrin complexes. **Journal of Inclusion Phenomena**, v. 2, p. 467–474, 1984.

INOUE, Yoshihisa *et al.* Calorimetric Titration of Inclusion Complexation of Naphthalenesulfonates with α -, β -, and γ -Cyclodextrins: Enthalpy-Entropy Compensation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, p. 475–481, 1993.

JAMBHEKAR, Sunil S.; BREEN, Philip. Cyclodextrins in pharmaceutical formulations II: Solubilization, binding constant, and complexation efficiency. **Drug Discovery Today**, v. 21, p. 363–368, 2016.

JIANG, Yao *et al.* Monoamine Neurotransmitters Control Basic Emotions and Affect Major Depressive Disorders. **Pharmaceuticals**, v. 15, p. 1–19, 2022.

KALI, Gergely; HADDADZADEGAN, Soheil; BERNKOP-SCHNÜRCH, Andreas. Cyclodextrins and derivatives in drug delivery: New developments, relevant clinical trials, and advanced products. **Carbohydrate Polymers**, v. 324, p. 1–23, 2024.

KAMALY, Nazila *et al.* Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release. **Chemical Reviews**, v. 116, p. 2602–2663, 2016.

KHAN, Abdul Rauf *et al.* Methods for selective modifications of cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 98, p. 1977–1996, 1998.

KHAN, Mohammed Touseef *et al.* Preparation, characterization, and pharmacokinetics study of apocynin and vanillic acid via hydroxypropyl-beta-cyclodextrin encapsulation. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 6, p. 2–13, 2023.

KIM, Soyeun *et al.* Effect of PVA Concentration on Strength and Cell Growth Behavior of PVA/gelatin Hydrogels for Wound Dressing. **Journal of Biomedical Engineering Research**, v. 41, p. 1–7, 2020.

KLOTZ, Irving M.; ROSENBERG, Robert M. **CHEMICAL THERMODYNAMICS: Basic Concepts and Methods Seventh Edition**. 7. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2008.

KOLESNICHENKO, Igor V.; ANSLYN, Eric V. Practical applications of supramolecular chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 46, p. 2385–2390, 2017.

KOOPMANS, Carsten; RITTER, Helmut. Formation of physical hydrogels via host-guest interactions of β -cyclodextrin polymers and copolymers bearing adamantyl groups. **Macromolecules**, v. 41, p. 7416–7422, 2008.

KRABICOVÁ, Ilona *et al.* History of cyclodextrin nanosponges. **Polymers**, v. 12, p. 1–23, 2020.

KRUG, R. R.; HUNTER, W. G.; GRIEGER, R. A. Statistical interpretation of enthalpy-entropy compensation. **Nature**, v. 261, p. 566–567, 1976.

KUMARI, Pratibha; SINGH, Parul; SINGHAL, Anchal. Cyclodextrin-based nanostructured materials for sustainable water remediation applications. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 32432–32448, 2020.

KWON, Yoonjung *et al.* Amitriptyline interferes with autophagy-mediated clearance of protein aggregates via inhibiting autophagosome maturation in neuronal cells. **Cell Death and Disease**, v. 11, p. 1–17, 2020.

LAFONT, Virginie *et al.* Compensating enthalpic and entropic changes hinder binding affinity optimization. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 69, p. 413–422, 2007.

LAMPL, Christian *et al.* European Headache Federation (EHF) critical re-appraisal and meta-analysis of oral drugs in migraine prevention—part 1: amitriptyline. **The Journal of Headache and Pain**, v. 24, p. 1–12, 2023.

LAVRADOR, Pedro *et al.* Stimuli-Responsive Nanocomposite Hydrogels for Biomedical Applications. **Advanced Functional Materials**, v. 31, p. 1–30, 2021.

LEHN, Jean-Marie. Supramolecular Chemistra. **Science**, v. 227, p. 849–856, 1985.

LI, Jianyu; MOONEY, David J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. **Nature Reviews Materials**, v. 1, p. 1–17, 2016.

LI, Xuebing; LIU, Junda; QIU, Neng. Cyclodextrin-Based Polymeric Drug Delivery Systems for Cancer Therapy. **Polymers**, v. 15, p. 1–35, 2023.

LIU, Lei; GUO, Qing Xiang. The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins. **Journal of Inclusion Phenomena**, v. 42, p. 1–14, 2002.

LIU, Zongjian *et al.* Cyclodextrin polymers: Structure, synthesis, and use as drug carriers. **Progress in Polymer Science**, v. 118, p. 1–24, 2021.

LOFTSSON, Thorsteinn; BREWSTER, Marcus E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Basic science and product development. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, p. 1607–1621, 2010.

LOFTSSON, Thorsteinn; DUCHÊNE, Dominique. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, p. 1–11, 2007.

LOFTSSON, Thorsteinn; MÁSSON, Már; BREWSTER, Marcus E. MINIREVIEW Self-Association of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, p. 1091–1099, 2004.

MACHADO, Tiago F. *et al.* Click nanosponge – A novel amine-rich β -cyclodextrin-based crosslinked polymer for heterogeneous catalysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 326, p. 1–13, 2024.

MANSUR, Herman S. *et al.* FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Materials Science and Engineering: C**, v. 28, p. 539–548, 2008.

MCCARTHY, Carol A. *et al.* Role of Drug Adsorption onto the Silica Surface in Drug Release from Mesoporous Silica Systems. **Molecular Pharmaceutics**, v. 15, p. 141–149, 2018.

MCCLURE, Elliot W.; DANIELS, R. Nathan. Classics in Chemical Neuroscience: Amitriptyline. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 12, p. 354–362, 2021.

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

MOCHALIN, Vadym N. *et al.* Adsorption of Drugs on Nanodiamond: Toward Development of a Drug Delivery Platform. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, p. 3728–3735, 2013.

MORAIS, Charles A. S. *et al.* Structural and thermodynamic investigation of pentoxifylline-cyclodextrin inclusion complex. **Chemical Physics Letters**, v. 682, p. 43–48, 2017.

MORAIS, Diego C. *et al.* Combining Polymer and Cyclodextrin Strategy for Drug Release of Sulfadiazine from Electrospun Fibers. **Pharmaceutics**, v. 15, p. 1–16, 2023.

MORAIS, Diego C. *et al.* Thermodynamic investigation of biperiden hydrochloride and cyclodextrins supramolecular systems. **Chemical Physics Letters**, v. 851, p. 1–7, 2024.

MURA, Paola. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 101, p. 238–250, 2014.

MURA, Paola. 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.

NAMGUNG, Ran *et al.* Poly-cyclodextrin and poly-paclitaxel nano-assembly for anticancer therapy. **Nature Communications**, v. 5, p. 1–12, 2014.

NAPIÓRKOWSKA, Ewa; SZELESZCZUK, Łukasz. Review of Applications of β -Cyclodextrin as a Chiral Selector for Effective Enantioseparation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, p. 1–52, 2024.

NASCIMENTO, Clebio Soares *et al.* Molecular modeling study of the recognition mechanism and enantioseparation of 4-hydroxypropranolol by capillary electrophoresis using carboxymethyl- β -cyclodextrin as the chiral selector. **The Analyst**, v. 139, p. 3901–3910, 2014.

NEACȘU, Andreea. Physicochemical investigation of the complexation between γ -cyclodextrin and doxorubicin in solution and in solid state. **Thermochimica Acta**, v. 661, p. 51–58, 2018.

OKTAY, Ayse Nur *et al.* Cyclodextrin-based nanogel of flurbiprofen for dermal application: In vitro studies and in vivo skin irritation evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 79, p. 1–8, 2023.

OMIDIAN, Hossein; AKHZARMEHR, Arnavaz; GILL, Erma J. Cyclodextrin–Hydrogel Hybrids in Advanced Drug Delivery. **Gels**, v. 11, p. 1–37, 2025.

PĂDURARU, Oana Maria *et al.* Effect of Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin on the Solubility of an Antiarrhythmic Agent. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, p. 2174–2181, 2013.

PANDEY, Abhishek. Cyclodextrin-based nanoparticles for pharmaceutical applications: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, p. 4297–4310, 2021.

PAPANCEA, Adina *et al.* PVA–DNA Cryogel Membranes: Characterization, Swelling, and Transport Studies. **Langmuir**, v. 24, p. 273–279, 2008.

PARK, Jintae *et al.* Size compatibility and concentration dependent supramolecular host–guest interactions at interfaces. **Nature Communications**, v. 13, p. 1–9, 2022.

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

PASSOS, Joel J. *et al.* In vivo evaluation of the highly soluble oral β -cyclodextrin- Sertraline supramolecular complexes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, p. 478–485, 2012.

PASSOS, Joel J. *et al.* Double continuous injection preparation method of cyclodextrin inclusion compounds by spray drying. **Chemical Engineering Journal**, v. 228, p. 345–351, 2013.

PAVIA, Donald L. **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. Bellingham: Cengage Learning, 2010.

PEIMANFARD, Shohreh *et al.* Developing Novel Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Based Nanosponges as Carriers for Anticancer Hydrophobic Agents: Overcoming Limitations of Host–Guest Complexes in a Comparative Evaluation. **Pharmaceutics**, v. 14, p. 1–22, 2022.

PEPPAS, N. *et al.* Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 27–46, 2000.

PEPPAS, N. A. *et al.* Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular Principles to Bionanotechnology. **Advanced Materials**, v. 18, p. 1345–1360, 2006.

PUSKÁS, István *et al.* Recent List of Cyclodextrin-Containing Drug Products. **Periodica Polytechnica Chemical Engineering**, v. 67, p. 11–17, 2023.

PYRAK, Bartłomiej *et al.* Exploring Cyclodextrin-Based Nanosponges as Drug Delivery Systems: Understanding the Physicochemical Factors Influencing Drug Loading and Release Kinetics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, p. 1–50, 2024.

QUISPE-SICCHA, Rosa M. *et al.* Development of Polyvinyl Alcohol Hydrogels for Controlled Glucose Release in Biomedical Applications. **Gels**, v. 10, p. 1–22, 2024.

RANG, H. P. *et al.* **Rang & Dale: Farmacologia**. 8. ed. London: Elsevier, 2016.

REKHARSKY, Mikhail V; INOUE, Yoshihisa. Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 98, p. 1875–1917, 1998.

ROBERT, M. A.; HIRSCHFELD, M. D. History and evolution of the monoamine hypothesis of depression. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 61, p. 4–6, 2000.

ROGEZ-FLORENT, Tiphaine *et al.* NMR investigation of the complexation and chiral discrimination of pyrazole sulfonamide derivatives with cyclodextrins. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 598–604, 2015.

ROY, Arpita *et al.* Chemical modification of β -cyclodextrin towards hydrogel formation. **Carbohydrate Polymers**, v. 306, p. 1–14, 2023.

RUDORFER, Matthew V; POTTER, William Z. Metabolism of Tricyclic Antidepressants. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 19, p. 373–409, 1999.

RUSSO, Marco *et al.* Polyaminocyclodextrin nanosponges: Synthesis, characterization and pH-responsive sequestration abilities. **RSC Advances**, v. 6, p. 49941–49953, 2016.

SADJADI, Samahe; KOOHESTANI, Fatemeh. Palladated composite of MOF and cyclodextrin nanosponge: A novel catalyst for hydrogenation reaction. **Journal of Molecular Structure**, v. 1245, p. 2–7, 2021.

SAHU, Krishna Manjari; PATRA, Swapnita; SWAIN, Sarat K. Host-guest drug delivery by β -cyclodextrin assisted polysaccharide vehicles: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 240, p. 1–20, 2023.

SANTOS, Ana Cláudia *et al.* Cyclodextrin-based delivery systems for in vivo-tested anticancer therapies. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 11, p. 49–71, 2021.

SCHNEIDER, Hans-Jörg *et al.* NMR Studies of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. **Chemical Reviews**, v. 98, p. 1755–1786, 1998.

SCHOTT, Hans. Kinetics of swelling of polymers and their gels. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, p. 467–470, 1992.

SHERJE, Atul P. *et al.* Cyclodextrin-based nanosponges: A critical review. **Carbohydrate Polymers**, v. 173, p. 37–49, 2017.

SILVA, Emilly C. *et al.* Carbon quantum dots-containing poly(β -cyclodextrin) for simultaneous removal and detection of metal ions from water. **Carbohydrate Polymers**, v. 323, p. 1–14, 2024.

SILVERSTEIN, Robert M. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005.

SINGH, Parbeen; MAHAR, Rohit. Cyclodextrin in drug delivery: Exploring scaffolds, properties, and cutting-edge applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 662, p. 1–16, 2024.

STAUFFER, Shauna R.; PEPPAST, Nikolaos A. Poly(vinyl alcohol) hydrogels prepared by freezing-thawing cyclic processing. **Polymer**, v. 33, p. 3932–3936, 1992.

STEPNIAK, Artur *et al.* Host-Guest Complexes of Flavanone and 4'-Chloroflavanone with Naturals and Modified Cyclodextrin: A Calorimetric and Spectroscopy Investigations. **Molecules**, v. 29, p. 1–15, 2024.

STETEFELD, Jörg; MCKENNA, Sean A.; PATEL, Trushar R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. **Biophysical Reviews**, v. 8, p. 409–427, 2016.

STIELOW, Marlena *et al.* The Bioavailability of Drugs—The Current State of Knowledge. **Molecules**, v. 28, p. 1–19, 2023.

SUBRAMANIAN, Selvamuthukumar *et al.* Nanosponges: A Novel Class of Drug Delivery System-Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, p. 103–111, 2012.

SWEETMAN, Sean C. **Martindale: the complete drug reference**. 36. ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

SZEJTLI, József. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical Reviews**, v. 98, p. 1743–1753, 1998.

SZEJTLI, József. Past, present, and future of cyclodextrin research. **Pure and Applied Chemistry**, v. 76, p. 1825–1845, 2004.

TALEB, Sally Abou *et al.* Development and in vitro/in vivo evaluation of a nanosponge formulation loaded with *Boswellia carterii* oil extracts for the enhanced anti-inflammatory activity for the management of respiratory allergies. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 54, p. 643–665, 2024.

TEREKHOVA, Irina V. *et al.* Thermodynamics and binding mode of novel structurally related 1,2,4-thiadiazole derivatives with native and modified cyclodextrins. **Chemical Physics Letters**, v. 671, p. 28–36, 2017.

THUMMEL, Kenneth E.; KUNZE, Kent L.; SHEN, Danny D. Enzyme-catalyzed processes of first-pass hepatic and intestinal drug extraction. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 27, p. 99–127, 1997.

TROTTA, Francesco; ZANETTI, Marco; CAMINO, Giovanni. Thermal degradation of cyclodextrins. **Polymer Degradation and Stability**, v. 69, p. 373–379, 2000.

TROTTA, Francesco; ZANETTI, Marco; CAVALLI, Roberta. Cyclodextrin-based nanosponges as drug carriers. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 8, p. 2091–2099, 2012.

TURNBULL, W. Bruce; DARANAS, Antonio H. On the Value of c : Can Low Affinity Systems Be Studied by Isothermal Titration Calorimetry? **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, p. 14859–14866, 2003.

UEKAMA, Kaneto; HIRAYAMA, Fumitoshi; IRIE, Tetsumi. Cyclodextrin Drug Carrier Systems. **Chemical Reviews**, v. 2665, p. 2045–2076, 1998.

UTZERI, Gianluca *et al.* Cyclodextrin-Based Nanosponges: Overview and Opportunities. **Frontiers in Chemistry**, v. 10, p. 1–25, 2022a.

UTZERI, Gianluca *et al.* Amine- β -cyclodextrin-based nanosponges. The role of cyclodextrin amphiphilicity in the imidacloprid uptake. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 635, p. 1–12, 2022b.

UTZERI, Gianluca *et al.* Insights on macro- and microscopic interactions between Confidor and cyclodextrin-based nanosponges. **Chemical Engineering Journal**, v. 455, p. 1–15, 2023.

VARELA-FERNÁNDEZ, Rubén *et al.* Design, Optimization, and Characterization of Lactoferrin-Loaded Chitosan/TPP and Chitosan/Sulfobutylether- β -cyclodextrin Nanoparticles as a Pharmacological Alternative for Keratoconus Treatment. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 13, p. 3559–3575, 2021.

VASHIST, Arti *et al.* Recent advances in hydrogel based drug delivery systems for the human body. **J. Mater. Chem. B**, v. 2, p. 147–166, 2014.

VERÍSSIMO, S.; PEINEMANN, K. V.; BORDADO, J. Influence of the diamine structure on the nanofiltration performance, surface morphology and surface charge of the composite polyamide membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 279, p. 266–275, 2006.

VIEIRA, Bianca B. M. *et al.* Biperiden Hydrochloride/ β -Cyclodextrins supramolecular system and its cytotoxicity against lung adenocarcinoma cells. **Journal of Molecular Liquids**, v. 386, p. 1–12, 2023.

WALTER, Heather J. *et al.* Clinical Practice Guideline for the Assessment and Treatment of Children and Adolescents With Major and Persistent Depressive Disorders. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 62, p. 479–502, 2023.

WANG, Xiaobing *et al.* Enhanced drug delivery using sonoactivatable liposomes with membrane-embedded porphyrins. **Journal of Controlled Release**, v. 286, p. 358–368, 2018.

WANG, Yi Xuan; ZHANG, Ying Ming; LIU, Yu. Photolysis of an Amphiphilic Assembly by Calixarene-Induced Aggregation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, p. 4543–4549, 2015.

WARESINDO, William Xaveriano *et al.* Freeze–thaw hydrogel fabrication method: basic principles, synthesis parameters, properties, and biomedical applications. **Materials Research Express**, v. 10, p. 1–32, 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depressive disorder. 2023.

XU, Jinku *et al.* PVA Hydrogels Containing β -Cyclodextrin for Enhanced Loading and Sustained Release of Ocular Therapeutics. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 21, p. 1023–1038, 2010.

ZHANG, Boya *et al.* Malting barley carbon dots-mediated oxidative stress promotes insulin resistance in mice via NF- κ B pathway and MAPK cascade. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 20, p. 1–19, 2022a.

ZHANG, Ruhe *et al.* Poly(β -cyclodextrin)/platinum prodrug supramolecular nano system for enhanced cancer therapy: Synthesis and in vivo study. **Carbohydrate Polymers**, v. 292, p. 1–9, 2022b.

ZHAO, Yuqi *et al.* Engineered cyclodextrin-based supramolecular hydrogels for biomedical applications. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 12, p. 39–63, 2024.

ZHOU, Ping *et al.* Glutamine- β -cyclodextrin for targeted doxorubicin delivery to triple-negative breast cancer tumors: Via the transporter ASCT2. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 7, p. 5363–5375, 2019.