

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

Ricardo Lanzellotti Quintino

Estudo de Compostos de Inclusão Formados por Ciclodextrinas e o
Fármaco Gliclazida

Abril, 2024

Itajubá, Minas Gerais

Ricardo Lanzellotti Quintino

**Estudo de Compostos de Inclusão Formados por Ciclodextrinas e o
Fármaco Gliclazida**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais como requisito para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Barros de Sousa

Itajubá, 2024

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pelo dom da vida e a capacidade de me guiar com humildade, coragem e fé até este momento. A todos os santos e santas que me acompanharam nessa caminhada, iluminaram os meus passos e me tornaram mais resiliente e confiante nessa trajetória.

Agradeço a minha família: a meu pai Luis Ricardo, minha mãe Raquel e à minha estimada avó Therezinha por todo carinho, respeito e atenção que me deram durante a minha vida, além de sempre me proporcionarem momentos marcantes e me incentivarem a buscar diversos conhecimentos para a minha formação pessoal e profissional.

Agradeço a minha noiva Taísa, a qual desde 2021, se tornou uma das pessoas mais importantes para mim e que aceitou se relacionar comigo mesmo que à distância durante esse período do mestrado. Porém, isso não afetou nosso relacionamento, pois sempre se fez presente, compartilhando seus sonhos e planos, demonstrando verdadeiramente querer trilhar um caminho comigo, com muito amor, companheirismo, muitos ensinamentos e muitas aprendizagens. Agradeço a ela também por sempre me ajudar psicologicamente, fazendo-me feliz e me fortalecendo nos momentos difíceis. Aos meus parentes, de forma geral, agradeço a torcida referente ao meu projeto.

Agradeço ao meu orientador, professor Frederico (Fred) pelo apoio, por me proporcionar momentos essenciais para meu desenvolvimento profissional, seja por meio de prévias, seja em conversas no laboratório, e por compreender minhas dificuldades. Com toda certeza, sou e serei um profissional de química muito melhor por ter tido seu exemplo.

Agradeço aos meus colegas de laboratório que se tornaram amigos: Diego, Jorge, Bianca, Flávio, Samuel e Daniel, pela troca de experiências e vivências, em meio a conversas e discussões muito importantes para que eu pudesse me desenvolver pessoal e profissionalmente ao longo deste período.

A CAPES pela bolsa de fomento à pesquisa recebidos durante o período de mestrado.

Aos órgãos de fomento, de forma geral, CNPq e FAPEMIG.

Resumo

A gliclazida, sulfonilureia de segunda geração, se destaca no tratamento de pacientes com diabetes mellitus tipo 2. Entretanto, esse fármaco possui baixa solubilidade em água e alta permeabilidade celular, resultando em uma limitada biodisponibilidade oral. Para contornar essa limitação pode-se associá-la às ciclodextrinas, as quais são capazes de formar sistemas supramoleculares do tipo hóspede-hospedeiro. Este trabalho dispôs-se de obter e caracterizar compostos de inclusão formados entre o fármaco gliclazida, β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina, por meio de métodos analíticos e espectroscópicos. Estudos de solubilidade foram realizados para ambos os sistemas, a fim de determinar os parâmetros termodinâmicos envolvidos no processo de formação. Os sistemas foram preparados pelo método de liofilização e caracterizados por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR-ATR) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). Além disso, estudos de estabilidade foram realizados para compreender o efeito das ciclodextrinas na estabilidade do fármaco. Nos estudos de solubilidade, o sistema GLI: β -CD exibiu um diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs enquanto o sistema GLI:HP- β -CD um diagrama do tipo AL. O primeiro sistema apresentou valores de K_a maiores do que os valores do segundo sistema. No intervalo de 37, 47 e 57 °C, ambos os processos de formação dos sistemas foram espontâneos e exotérmicos. Quanto à caracterização dos sistemas, em todos os espectros dos compostos de inclusão ocorreram deslocamentos nas bandas do fármaco. Além disso, foram identificados desaparecimentos de bandas nos espectros do composto GLI: β -CD 1:1 e 1:2, e do composto GLI:HP- β -CD 1:1. Nos mapas de correlação 2D-ROESY dos sistemas 1:1, primeiramente, foram observadas correlações a curta distância entre os hidrogênios internos da β -CD e os hidrogênios da GLI, o que indica a formação do composto de inclusão GLI: β -CD. Porém, para o sistema GLI:HP- β -CD não foram observadas correlações entre o fármaco e a CD, indicando, provavelmente, a formação de um outro tipo de sistema supramolecular entre GLI e HP- β -CD. Nos estudos de estabilidade, a presença de β -CD acelerou a degradação do fármaco em meio ácido, enquanto a HP- β -CD apresentou um sutil efeito retardante. Nos meios neutro e alcalino, as CDs não influenciaram na estabilidade do fármaco em solução.

Palavras-chaves: Gliclazida; Compostos de Inclusão; Ciclodextrinas; Solubilidade; Sistemas Supramoleculares.

Abstract

Gliclazide, a second-generation sulfonylurea, emerges as a prominent therapeutic agent for patients with type 2 diabetes mellitus. However, this drug's efficacy is hindered by its low water solubility and high cellular permeability, leading to limited oral bioavailability. To circumvent this limitation, the association with cyclodextrins, which can form host-guest supramolecular systems, represents a viable strategy. This study aimed to obtain and characterize inclusion compounds formed between the drug gliclazide, β -cyclodextrin, and hydroxypropyl- β -cyclodextrin, employing analytical and spectroscopic methods. Solubility studies were conducted for both systems to elucidate the thermodynamic parameters involved in the formation process. The systems were prepared using the freeze-drying method and characterized using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). Additionally, stability studies were performed to comprehend the effect of cyclodextrins on drug stability. In the solubility studies, the GLI: β -CD system exhibited a BS-type phase solubility diagram, whereas the GLI:HP- β -CD system showed an AL-type diagram. The former system demonstrated higher K_a values compared to the latter. In the temperature range of 37, 47, and 57 °C, both system formation processes were observed to be spontaneous and exothermic. Regarding system characterization, spectral shifts in drug bands were evident in all inclusion compound spectra. Furthermore, band disappearances were identified in the spectra of the GLI: β -CD 1:1 and 1:2 compounds, as well as the GLI:HP- β -CD 1:1 compound. In the 2D-ROESY correlation maps of the 1:1 system, short-distance correlations were initially observed between the internal hydrogens of β -CD and the hydrogens of GLI, indicating the formation of the GLI: β -CD inclusion compound. However, for the GLI:HP- β -CD system, no correlations were discerned between the drug and the cyclodextrin, potentially suggesting the formation of another type of supramolecular system between GLI and HP- β -CD. In stability studies, the presence of β -CD accelerated drug degradation in acidic media, while HP- β -CD exhibited a subtle retarding effect. Notably, in neutral and alkaline media, cyclodextrins had no discernible influence on drug stability in solution.

Keywords: Gliclazide; Inclusion Compounds; Cyclodextrin; Solubility; Supramolecular Systems.

Lista de Figuras

Figura 1 – Representação estrutural do grupo arilsulfonilureia, com exemplos de grupos substituintes em R1 e R2.....	4
Figura 2 – Representação estrutural da gliclazida.	5
Figura 3 – Equação química referente a degradação da gliclazida em meio ácido a temperatura ambiente.....	6
Figura 4 – Diagrama constituído pelas classes descritas pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica com exemplos de fármacos, adaptado de Sachan e colaboradores (2009).....	6
Figura 5 – Representação estrutural da gliclazida com os valores de pKa dos grupos sulfonamida (vermelho) e amino alifático alicíclico (azul).	9
Figura 6 – Esquema ilustrativo com exemplos de espécies químicas presentes em cada área da Química Supramolecular, segundo Katsuhiko e Kunitake (2006) e Vepuri e colaboradores (2013).	10
Figura 7 – Representação estrutural: (a) Beta-ciclodextrina (β -CD); (b) monômero de glicose com a respectiva numeração dos hidrogênios e carbonos. n = 6, 7 ou 8.....	12
Figura 8 – Esquema ilustrativo sobre a formação de compostos de inclusão.	12
Figura 9 – Representação estrutural do monômero glicosídico com exemplos de grupos substituintes (R), com n = 6, 7 ou 8.	13
Figura 10 – Esquema ilustrativo para exemplificar as estequiometrias citadas envolvendo: (a) uma molécula de fármaco para uma molécula de CD; (b) uma molécula de fármaco para duas moléculas de CD; (c) e duas moléculas de fármaco para uma molécula de CD.	16
Figura 11 – Representação gráfica dos tipos de perfis de solubilidade relacionando a concentração do fármaco em função da concentração de CD.	17
Figura 12 – Esquema ilustrativo do diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs com os equilíbrios químicos envolvidos em cada região, adaptado de Schönbeck e colaboradores (2017).	18
Figura 13 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs do sistema ibuprofeno; β -CD retirado e adaptado de Al Omari e colaboradores (2009).	20

Figura 14 – Espectro de absorção na região do UV-Vis do fármaco GLI em NaOH 0,1 mol.L ⁻¹ , obtido a partir das amostras analisadas de concentração variando de 0,01933 (A1) a 0,13520 mmol.L ⁻¹ (A7), realizada em triplicata.	37
Figura 15 – Curva de calibração com ajuste linear utilizada para determinar a concentração de GLI nas amostras. Os valores estão expressos com a média e o desvio padrão da média de três réplicas.....	38
Figura 16 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo B _s para o sistema GLI:β-CD na temperatura de 37 °C em água.....	39
Figura 17 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo B _s para o sistema GLI:β-CD na temperatura de 47 °C em água.....	40
Figura 18 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo B _s para o sistema GLI:β-CD na temperatura de 57 °C em água.....	40
Figura 19 – Relação gráfica entre ln K _a e 1/T para o sistema GLI:β-CD. Com R ² = 0,997.	41
Figura 20 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo A _L para o sistema GLI:HP-β-CD na temperatura de 37 °C em água.....	44
Figura 21 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo A _L para o sistema GLI:HP-β-CD na temperatura de 47 °C em água.....	44
Figura 22 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo A _L obtido para o sistema GLI:HP-β-CD na temperatura de 57 °C em água.	45
Figura 23 – Relação gráfica entre ln K _a e 1/T para o sistema GLI:HP-β-CD. Com R ² = 0,566.....	46
Figura 24 – (a): Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para o fármaco GLI. (b): Expansão do espectro na faixa de 2000 a 650 cm ⁻¹	49
Figura 25 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para a β-CD, representada pelo monômero de glicose.	50
Figura 26 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para a HP-β-CD, representada pelo monômero de glicose e R igual a hidrogênio ou ao grupo hidroxipropil.	51

Figura 27 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:β-CD; (b) da MM(GLI:β-CD) na proporção 1:1. Os valores dos modos vibracionais do fármaco e da β-CD estão destacados em vermelho e azul, respectivamente.	52
Figura 28 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:β-CD; (b) da MM(GLI:β-CD) na proporção 1:2. Os valores dos modos vibracionais do fármaco e da β-CD estão destacados em vermelho e azul, respectivamente.	54
Figura 29 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:β-CD; (b) da MM(GLI:β-CD) na proporção 2:1. Os modos vibracionais do fármaco e da β-CD estão destacados em vermelho e em azul, respectivamente.	55
Figura 30 - Estruturas propostas para os sistemas GLI:β-CD 1:1, 1:2 e 2:1, a partir dos dados de FTIR-ATR.	56
Figura 31 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:HP-β-CD; (b) da MM(GLI:HP-β-CD) na proporção 1:1. Os modos vibracionais do fármaco e da HP-β-CD estão destacados em vermelho e em azul, respectivamente.....	57
Figura 32 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:HP-β-CD; (b) da MM(GLI:HP-β-CD) na proporção 1:2. Os modos vibracionais do fármaco e da HP-β-CD estão destacados em vermelho e em azul, respectivamente.....	59
Figura 33 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do composto de inclusão (CI) GLI:HP-β-CD; (b) da mistura mecânica (MM(GLI:HP-β-CD)) na proporção 2:1. Os modos vibracionais do fármaco e da HP-β-CD estão destacados em vermelho e em azul, respectivamente.	61
Figura 34 - Estruturas propostas para os sistemas GLI:HP-β-CD 1:1, 1:2 e 2:1, a partir dos dados de FTIR-ATR.....	62
Figura 35 - Representação estrutural: (a) Monômero de glicose da β-CD; (b) Cone truncado. Ambos estão com a respectiva numeração dos hidrogênios.	63
Figura 36 – Espectro de RMN de ¹ H da GLI a 600 MHz em CDCl ₃	64
Figura 37 – Expansão do espectro de RMN de ¹ H da GLI para a região de δ entre 5,0 a 8,5 ppm.	65
Figura 38 – Expansão do espectro de RMN de ¹ H da GLI para a região de δ entre 1,0 a 3,5 ppm.	66

Figura 39 – Espectro de RMN ^1H do composto GLI: β -CD a 600 MHz em DMSO- d_6 com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.	67
Figura 40 – Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto GLI: β -CD na região de δ entre 4,5 e 8,2 ppm.....	68
Figura 41 – Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto GLI: β -CD na região de δ entre 1,0 e 3,8 ppm.....	68
Figura 42 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY ^1H - ^1H do composto de inclusão GLI: β -CD a 600 MHz em DMSO- d_6 , com as respectivas atribuições dos principais sinais de hidrogênio.	70
Figura 43 - Espectro de RMN ^1H do composto GLI:HP- β -CD a 600 MHz em DMSO- d_6 com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.	71
Figura 44 – Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto GLI:HP- β -CD na região de δ entre 4,2 e 8,0 ppm.....	72
Figura 45 – Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto GLI:HP- β -CD na região de δ entre 0,0 e 4,0 ppm.....	73
Figura 46 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY ^1H - ^1H do sistema supramolecular GLI:HP- β -CD a 600 MHz em DMSO- d_6	74
Figura 47 - Espectros de absorção na região do UV-Vis, na faixa de 200 a 300 nm, () sistema GLI:HCl; (b) para o sistema GLI:HCl: β -CD; (c) para o sistema GLI:HCl:HP- β -CD. A primeira leitura está destacada em preto e a última leitura em vermelho.	76
Figura 48 – Perfis de estabilidade dos sistemas GLI:HCl (preto), GLI:HCl: β -CD (vermelho) e GLI:HCl:HP- β -CD (azul).....	77
Figura 49 – Esquema reacional referente a degradação da gliclazida em meio ácido a temperatura ambiente, formando PTS e NACPP, adaptado de Bansal e colaboradores (2008)...	79
Figura 50 - Espectros de absorção na região do UV-Vis, na faixa de 200 a 300 nm: (a) do sistema GLI:H $_2$ O; (b) do sistema GLI:H $_2$ O: β -CD; (c) do sistema GLI:H $_2$ O:HP- β -CD. A primeira leitura está destacada em preto e a última leitura em vermelho.	81
Figura 51 – Perfis de estabilidade dos sistemas GLI:H $_2$ O (preto), GLI:H $_2$ O: β -CD (vermelho) e GLI:H $_2$ O:HP- β -CD (azul).	82
Figura 52 – Espectros de absorção na região do UV-Vis, na faixa de 200 a 300 nm: (a) do sistema GLI:NaOH; (b) do sistema GLI:NaOH: β -CD; (c) do sistema GLI:NaOH:HP- β -CD.	84

Figura 53 – Perfis de estabilidade dos sistemas GLI:NaOH (preto), GLI:NaOH: β -CD (vermelho) e GLI:NaOH:HP- β -CD (azul)..... 85

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Perfil de solubilidade dependente do pH da GLI a 25 e 37 °C.	8
Tabela 2 – Propriedades físico-químicas e modos de administração das ciclodextrinas naturais e modificadas.....	14
Tabela 3 – Dados referentes às massas de molécula hóspede (GLI) e moléculas hospedeiras.....	27
Tabela 4 – Esquema de preparo das amostras para a realização do estudo de solubilidade de GLI na presença de β -CD nas temperaturas 37, 47 e 57 °C.....	28
Tabela 5 – Esquema de preparo das amostras para a realização do estudo de solubilidade de GLI na presença de HP- β -CD nas temperaturas 37, 47 e 57 °C.	29
Tabela 6 – Parâmetros termodinâmicos calculados para o sistema GLI: β -CD a 37, 47 e 57 °C.	41
Tabela 7 – Parâmetros termodinâmicos calculados para o sistema GLI:HP- β -CD	45
Tabela 8 - Valores de deslocamento químico (δ) para os hidrogênios do fármaco GLI, a 600 MHz em CDCl ₃	66

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

DMT1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DMT2	Diabetes Mellitus Tipo 2
SU1	Sulfonilureias de primeira geração
SU2	Sulfonilureias de segunda geração
GLI	Gliclazida
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
PTS	<i>para</i> -toluilsulfonamida
NACPP	<i>N</i> -aminociclopentapirrolidina
CDs	Ciclodextrinas
CI	Compostos de inclusão
β -CD	Beta-ciclodextrina
HP- β -CD	Hidroxipropil-beta-ciclodextrina
SBE- β -CD	Sulfobutiléter-beta-ciclodextrina
HP- γ -CD	Hidroxipropil-gama-ciclodextrina
RM- β -CD	Beta-ciclodextrina metilada aleatoriamente
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
JECFA	<i>Joint WHO/FAO Expert Committee on Food Additives</i>
UV-Vis	Espectroscopia eletrônica de absorção na região do ultravioleta-visível
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
K_a	Constante de afinidade
ΔH°	Variação de entalpia padrão
ΔG°	Variação de energia livre de Gibbs padrão
$T\Delta S^\circ$	Termo entrópico
m e n	Coefficientes estequiométricos
Δ	Deformação angular fora do plano / Deslocamento químico
ν	Estiramento

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Diabetes.....	2
1.2 Sulfonilureias	3
1.2.1 Gliclazida	5
1.3. Química Hóspede-Hospedeiro	9
1.3.1 Ciclodextrinas	11
1.3.2 Compostos de Inclusão – Ciclodextrinas e Fármacos.....	14
1.3.3 Compostos de inclusão – Ciclodextrinas e Sulfonilureias.....	21
1.4 Estudo de estabilidade de fármacos – efeito das ciclodextrinas	22
1.5 Objetivos	23
1.5.1 Objetivo Geral.....	23
1.5.2 Objetivos Específicos.....	23
2. MATERIAIS E MÉTODOS	25
2.1. Materiais e Reagentes	25
2.2 Descrição dos experimentos	26
2.2.1 Obtenção dos compostos de inclusão	26
2.3 Caracterizações	27
2.3.1 Estudos de solubilidade.....	27
2.3.2 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho.....	31
2.3.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	31
2.4 Estudo de estabilidade do fármaco GLI.....	32
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	36

3.1.	Estudos de solubilidade.....	36
3.1.1.	Sistema GLI: β -CD – diagramas de solubilidade de fase e parâmetros termodinâmicos	39
3.1.2.	Sistema GLI:HP- β -CD – diagramas de solubilidade de fase e parâmetros termodinâmicos	43
3.2	Caracterização dos compostos de inclusão	48
3.2.1	Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho	48
3.2.1.1	Sistema GLI: β -CD	52
3.2.1.2	Sistema GLI:HP- β -CD.....	57
3.2.2	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	62
3.2.2.1.	Sistema GLI: β -CD.....	66
3.2.2.2.	Sistema GLI:HP- β -CD	71
3.3	Estudo de estabilidade.....	75
3.3.1	Sistemas em meio ácido – espectros e perfis de estabilidade	75
3.3.2	Sistemas em meio neutro – espectros e perfis de estabilidade.....	81
3.3.3	Sistemas em meio alcalino – espectros e perfis de estabilidade	83
4.	CONCLUSÕES	88
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Diabetes

O Diabetes Mellitus pode ser formado por um conjunto de distúrbios metabólicos e endocrinológicos que podem afetar a secreção e ação da insulina, a qual é uma proteína responsável pelo controle de glicose no sangue, causando hiperglicemia e intolerância à glicose. Dentre os tipos de diabetes existentes, têm-se o Diabetes Mellitus Tipo 1 (DMT1), Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2), formas híbridas e outras formas específicas de diabetes, diabetes não classificado e hiperglicemia detectada pela primeira vez durante a gravidez (BERTONHI; DIAS, 2018; DEEPHI et al., 2017; LESLIE et al., 2016).

Destacando o DMT1 e o DMT2, ambos podem provocar complicações micro e macrovasculares, como retinopatia, nefropatia, neuropatia, doença arterial coronariana e acidente vascular cerebral. As principais causas do DMT1 envolvem predisposição genética, infecções virais e a etnicidade. Por outro lado, o DMT2 possui como principais causas a obesidade, sedentarismo e o histórico familiar. Dentre os sintomas do diabetes, principalmente para o DMT1, destacam-se fadiga, perda de peso, fome constante, poliúria, polidipsia (sede excessiva), visão embaçada e em casos graves, cetoacidose diabética (FOROUHI; WAREHAM, 2019; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2021; RAMACHANDRAN, 2014).

No ano de 2021, constatou-se que aproximadamente 536 milhões de pessoas vivem com diabetes ao redor do mundo, sendo estimado um aumento para mais de 780 milhões até 2045. Dentre os dez países com os maiores índices de diabetes, o Brasil se encontra em sexto lugar com 15,7 milhões de indivíduos diabéticos na faixa de 20 a 79 anos de idade, porém estima-se que esse número cresça para 23,2 milhões até 2045 (SUN et al., 2022).

Geralmente, para pacientes diagnosticados com diabetes mellitus, recomenda-se alterar o estilo de vida, incluindo a prática de exercícios físicos e dietas mais saudáveis. (BERTONHI; DIAS, 2018). Além disso, indivíduos com DMT1 podem precisar de doses diárias de insulina para controlar os níveis glicêmicos, a fim de evitar a ocorrência de episódios fatais envolvendo a cetoacidose diabética. Por outro lado, os indivíduos com DMT2 podem recorrer a medicamentos, também chamados de antidiabéticos orais, pertencentes às classes das biguanidas, sulfonilureias, inibidores de alfa glicosidase, tiazolidinedionas, inibidores da dipeptil peptidase 4, agonistas do

peptídeo 1 semelhante ao glucagon e dos inibidores do co-transportador de glicose sódica (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2021).

A metformina, componente da classe das biguanidas, é empregada como tratamento de primeira linha para o DMT2. Entretanto, quando a metformina administrada é contraindicada aos pacientes ou quando há a falha na monoterapia com este fármaco, as sulfonilureias são empregadas como uma das alternativas viáveis. Embora as sulfonilureias possam trazer riscos de hipoglicemia e aumento de peso, elas são recomendadas e reconhecidas por diretrizes nacionais e internacionais como uma opção de tratamento de segunda linha para o diabetes. As sulfonilureias são eficazes na redução dos níveis de glicose no sangue e oferecerem uma melhor relação custo-benefício para os pacientes (AMOD, 2020; SCHEEN, 2021).

1.2 Sulfonilureias

A eventual descoberta das sulfonilureias se deve principalmente aos estudos de Marcel Janbon e August Loubatières na década de 1940, após observações e comprovações de efeitos hipoglicemiantes causados por um derivado de sulfonamida (HENQUIN, 1992; MCMAHON, 1964). Janbon e sua equipe médica buscavam obter novos antibióticos para combater a febre tifóide, porém constataram que o derivado *para*-amino-benzenossulfamido-isopropiltiodiazol provocou a diminuição dos níveis de glicose no sangue dos pacientes. Esse fenômeno despertou o interesse de Loubatières, fazendo-o empregar estudos sistemáticos a fim de compreender o mecanismo envolvendo a hipoglicemia causada por análogos de sulfonamidas. Posteriormente, comprovou-se que a hipoglicemia observada era resultado da secreção de insulina, a qual era provocada pelo estímulo das ilhotas pancreáticas (HENQUIN, 1992).

Consequentemente, outros derivados de sulfonamidas com ação hipoglicemiante começaram a ser investigados, com destaque para a carbutamida e a tolbutamida, as primeiras sulfonilureias comercializadas para o tratamento de certos tipos de diabetes (HENQUIN, 1992; SOLA et al., 2015). Atualmente, sabe-se que as sulfonilureias interagem com receptores específicos presentes na superfície das células β -pancreáticas, provocando uma sequência de reações que resultam na liberação de insulina na corrente sanguínea, e, portanto, diminuindo os níveis de glicemia (AL-SALEH et al., 2021; MELANDER, 2004).

Com a descoberta de outras sulfonilureias, houve a necessidade de dividi-las em primeira e segunda gerações. Dentre as sulfonilureias de primeira geração (SU1), tem-se a acetoexamida, clorpropamida, tolazamida e tolbutamida. Por outro lado, exemplos de sulfonilureias de segunda geração (SU2) são a glibenclamida, gliclazida, glipizida, gliquidona e glimepirida (SOLA et al., 2015). É importante destacar que as diferenças entre as sulfonilureias são de natureza estrutural, farmacocinética e farmacodinâmica.

A nível estrutural, as sulfonilureias apresentam em comum o grupo central denominado arilsulfonilureia, porém elas se diferenciam pela possibilidade de substituições em R1 e R2, presentes na posição *para* do anel benzênico e no resíduo de nitrogênio do componente ureia, conforme ilustrado na Figura 1.

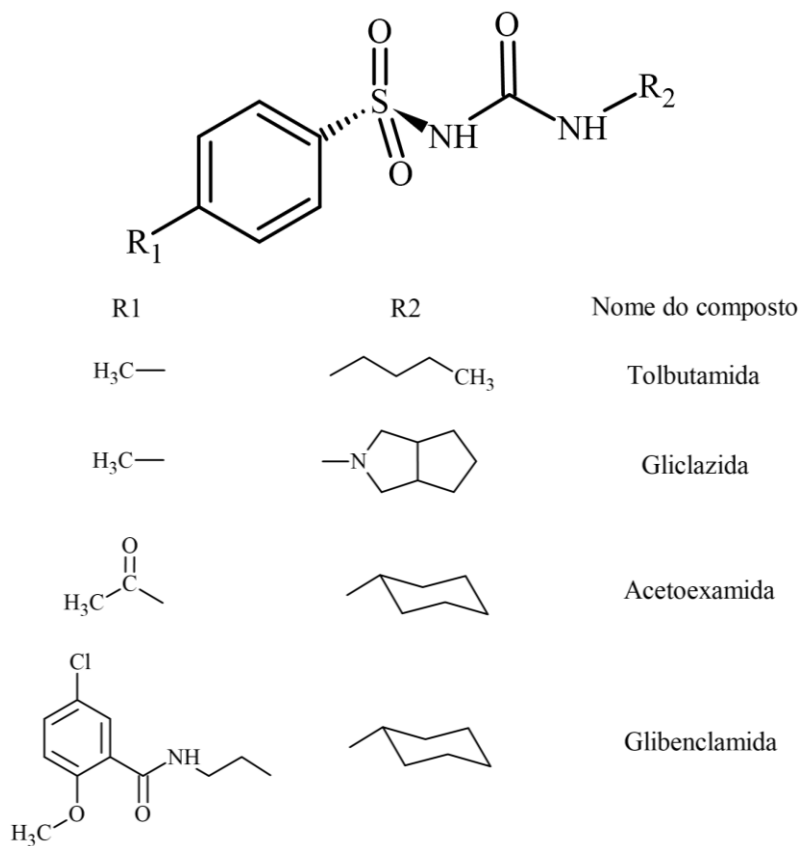


Figura 1 – Representação estrutural do grupo arilsulfonilureia, com exemplos de grupos substituintes em R1 e R2.

Em relação à farmacocinética, enquanto as SU1 são exclusivamente eliminadas pela via renal, as SU2 podem ser excretadas tanto pela via renal quanto pela biliar. Essa característica

amplia a aplicabilidade das SU2, permitindo seu uso com cautela em pacientes com disfunções renais. Por fim, referente à farmacodinâmica, as SU2 se destacam perante as SU1 devido à sua maior potência, permitindo que sejam administradas em dosagens menores, geralmente uma vez ao dia. Além disso, elas têm uma menor incidência de efeitos adversos, tais como dores de cabeça, vertigem, desconforto abdominal e náuseas (MELANDER; LEBOVITZ; FABER, 1990; SOLA et al., 2015; THULÉ; UMPIERREZ, 2014).

1.2.1 Gliclazida

Dentre as sulfonilureias de segunda geração, a gliclazida (GLI) se destaca por promover bom controle glicêmico, exibir resultados significativos a longo prazo para a estabilidade cardiovascular e reduzir os riscos de complicações micro e macrovasculares (MAPA et al., 2020). A estrutura química da GLI está representada na Figura 2, a qual é constituída por um anel denominado azabiciclooctil ligado ao resíduo de nitrogênio e por um grupo metila ligado na posição *para* do anel benzênico do grupo central arilsulfonilureia.

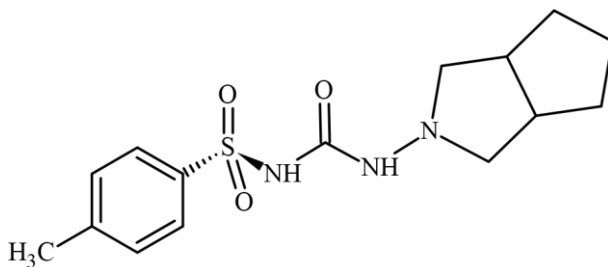


Figura 2 – Representação estrutural da gliclazida.

Assim como outras sulfonilureias, a GLI é suscetível a degradação hidrolítica, a qual pode ser explicada pela presença do grupo sulfonilureia e pela tensão no anel heterocíclico azabiciclooctil (BANSAL; SINGH; JINDAL, 2007; BANSAL et al., 2008; SARMAH; SABADIE, 2002). Na literatura, é descrito que em meio ácido ($\text{HCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e à temperatura ambiente, além da liberação de gás carbônico, a GLI apresenta dois principais produtos de degradação: a *para*-toluilsulfonamida (PTS) e a *N*-aminociclopentapirrolidina (NACPP). Em contrapartida, em meio neutro e alcalino, somente são obtidos produtos de degradação a 85°C os

quais são diferentes dos mencionados (BANSAL et al., 2008). A equação química referente à reação de hidrólise da GLI está disposta na Figura 3.

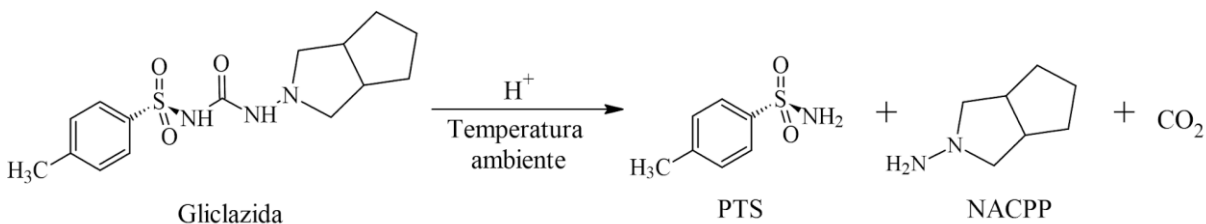


Figura 3 – Equação química referente a degradação da gliclazida em meio ácido a temperatura ambiente.

A GLI é classificada pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) como um fármaco de Classe II, isto é, um composto com baixa solubilidade em água e alta permeabilidade celular (MAPA et al., 2020). O SCB é uma ferramenta reguladora proposta por Amidon e colaboradores (1995) que classifica os fármacos em Classe I, II, III e IV, com base na solubilidade aquosa e permeabilidade celular, como ilustrado na Figura 4.

		Solubilidade	
		<i>Alta</i>	<i>Baixa</i>
Permeabilidade Celular	<i>Alta</i>	Classe I Propranolol Verapamil Metoprolol	Classe II Gliclazida Aciclovir Neomicina B
	<i>Baixa</i>	Classe III Cetoconazol Nifedipina Nicardapina	Classe IV Clorotiazida Tobramicina Cefuroxima

Figura 4 – Diagrama constituído pelas classes descritas pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica com exemplos de fármacos, adaptado de Sachan e colaboradores (2009).

Conforme descrito por estes autores, a solubilidade, a permeabilidade celular e a dissolução oral, são fatores importantes que afetam a biodisponibilidade e o desempenho farmacocinético *in vivo* de um fármaco. Um dos objetivos do SCB é fornecer uma ferramenta que permita substituir determinados estudos de bioequivalência por testes rigorosos de dissolução *in vitro*. Desse modo, pode-se reduzir a exposição desnecessária de indivíduos saudáveis, os custos e o tempo no desenvolvimento de fármacos e formulações farmacêuticas (AMIDON et al., 1995; LENNERNÄS; ABRAHAMSSON, 2010).

No que se refere a permeabilidade celular, ela pode ser investigada a partir de modelos *in vitro*, *in vivo* ou modelos computacionais, estimando o grau de absorção do fármaco em determinadas membranas celulares. Para avaliar isso podem ser considerados parâmetros como os coeficientes de partição ($\log P$) e de permeabilidade aparente (P_{app}) (AMIDON et al., 1995). Na literatura, estudos computacionais e *in vitro*, descreveram que a GLI apresentou valores de $\log P$ e de P_{app} acima dos valores de referência, demonstrando uma alta permeabilidade celular deste fármaco e indicando uma maior absorção e biodisponibilidade (MAPA et al., 2020).

Entretanto, é importante ressaltar que para fármacos de Classe II, como no caso da GLI, os fatores que influenciam na sua biodisponibilidade e absorção são a solubilidade e a taxa de dissolução (AMIDON et al., 1995). Conforme descrito por Mapa e colaboradores (2020), a GLI apresenta uma baixa solubilidade em água, de modo que a 25 °C, esse valor varia de 34 a 37 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, e a 37 °C, de 52 a 55 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Aliado a isso, a GLI exibe um perfil de solubilidade dependente do pH, o qual está disposto na Tabela 1.

Tabela 1 – Perfil de solubilidade dependente do pH da GLI a 25 e 37 °C.

Seedher e Kanojia (2009)		El-Sabawi e Hamdan (2014)	
25 °C		37 °C	
pH	Solubilidade ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	pH	Solubilidade ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
2,67	71,55	1,2	124,2 \pm 2,1
3,69	32,57	4,5	40,4 \pm 3,8
4,47	33,84	6,8	182,4 \pm 5,3
5,73	68,88	-	-
8,24	785,65	-	-
9,74	1.475,36	-	-

É possível observar que os valores de solubilidade nas extremidades da faixa de pH são maiores do que os demais, indicando um caráter anfótero para a GLI, ou seja, dependendo do pH do meio, a GLI pode comportar como um ácido ou uma base. Esse caráter pode afetar sua biodisponibilidade, absorção e ação terapêutica (SEEDHER; KANOJIA, 2009). A razão para isso pode ser explicada pelos valores de pKa dos grupos amino alifático e sulfonamida, destacados na Figura 5, como também pelas interações intermoleculares realizadas pelas moléculas do fármaco na solvatação e dissolução.

Segundo Mapa e colaboradores (2020), a GLI se comporta como uma base em pH ácido, devido a protonação do grupo amino alifático que possui pKa igual a 2,9. Por outro lado, em pH alcalino, a GLI se comporta como um ácido fraco, em decorrência da desprotonação do grupo sulfonamida, que apresenta pKa igual a 5,8 (MAPA et al., 2020).

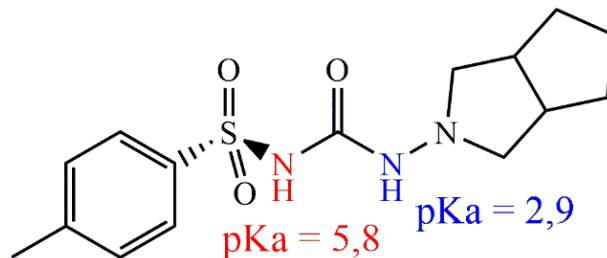


Figura 5 – Representação estrutural da gliclazida com os valores de pKa dos grupos sulfonamida (vermelho) e amino alifático alicíclico (azul).

A taxa de dissolução pode ser definida como o processo no qual certa quantidade de fármaco é dissolvida por unidade de tempo, se tornando disponível para ser absorvida pelo organismo (BUXTON; BENET, 2012). Nos estudos descritos por Mapa e colaboradores (2020), a GLI apresentou em diferentes meios, uma dissolução menor do que 85 % em um período de trinta minutos, a qual é considerada lenta, segundo a Resolução RDC nº 31, de 11 de agosto de 2010.

Desse modo, tanto a GLI quanto outros fármacos de Classe II são alvos de estudos que visam aumentar suas solubilidades, taxas de dissolução e melhorar seus perfis de liberação em formulações farmacêuticas, empregando diversas técnicas como dispersões sólidas, surfactantes e a formação de compostos de inclusão com ciclodextrinas, as quais são investigadas pela Química Supramolecular e suas propriedades serão abordadas nas próximas sessões (PATIL; GAIKWAD, 2011; SEEDHER; KANOJIA, 2009).

1.3. Química Hóspede-Hospedeiro

A Química Supramolecular, desenvolvida no século XX por Jean-Marie Lehn, Donald J. Cram e Charles J. Pedersen, baseia-se no estudo de sistemas de maior complexidade formados pela associação de duas ou mais espécies químicas por meio de interações não covalentes (LEHN, 1988). A união entre duas fitas de DNA, o enovelamento de uma proteína e as micelas formadas por agregados de moléculas são exemplos de sistemas supramoleculares.

Conforme Katsuhiko e Kunitake (2006), a Química Supramolecular pode ser dividida em três principais áreas: reconhecimento molecular, controle da topologia supramolecular e automontagem. A Figura 6 reúne essas áreas e suas respectivas espécies químicas componentes.

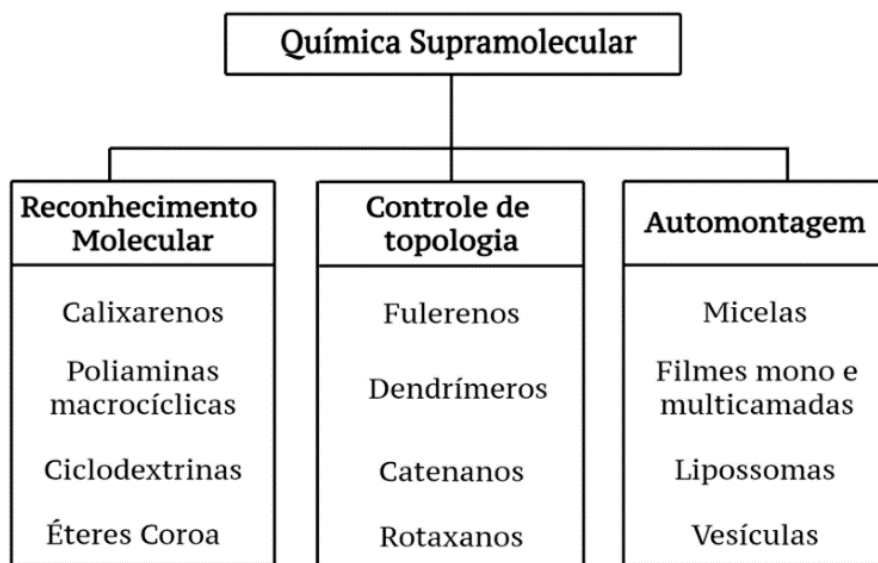


Figura 6 – Esquema ilustrativo com exemplos de espécies químicas presentes em cada área da Química Supramolecular, segundo Katsuhiko e Kunitake (2006) e Vepuri e colaboradores (2013).

Pode-se encontrar diversas aplicações dos conceitos da Química Supramolecular, como em máquinas e sensores moleculares, nano reatores, catálise química, extração de metais e poluentes, sistemas de liberação de fármacos, macroestruturas de automontagem, biomateriais, agregados metalo-supramoleculares e compostos de inclusão (OLIVO et al., 2021; WILLIAMS et al., 2021).

Os compostos de inclusão são sistemas regidos por reconhecimento molecular, o qual envolve interações não covalentes entre espécies denominadas hóspedes e hospedeiras. A formação de compostos de inclusão ocorre por meio de um balanço de interações não covalentes, podendo envolver forças de van der Waals, efeito hidrofóbico, ligações de hidrogênio, eletrostática, entre outras (MEIRA, 2018; POULSON et al., 2022).

As espécies hóspedes compreendem toda e qualquer espécie química, de natureza inorgânica ou orgânica, que pode interagir com a cavidade das espécies hospedeiras. Cabe salientar que para ser considerada uma espécie hóspede, é relevante que ela apresente parâmetros físico-químicos favoráveis à inclusão na cavidade das espécies hospedeiras, como polaridade, volume molecular e conformação estrutural. São exemplos de espécies hóspedes: fármacos, corantes, pesticidas, óleos essenciais, entre outros. Por outro lado, como exemplos de espécies

hospedeiras podem-se citar os calixarenos, éteres coroa, poliaminas macrocíclicas e as ciclodextrinas. (CRINI, 2014; DAVIS; BREWSTER, 2004; DELBIANCO et al., 2016; POULSON et al., 2022; ZHANG; MA, 2013).

Contudo, as ciclodextrinas merecem destaque, em virtude da sua versatilidade de formar compostos de inclusão com uma variedade de outras moléculas e pela vasta possibilidade nos modos de administração com fármacos. Desse modo, elas têm sido amplamente investigadas pela área científica e industrial desde o século passado, sendo aplicadas como excipientes em formulações farmacêuticas na Ásia, Europa e América (CRINI, 2014; LOFTSSON; DUCHÊNE, 2007; PAN; HU; GUO, 2021).

1.3.1 Ciclodextrinas

As ciclodextrinas (CDs) são macroestruturas cíclicas, classificadas como oligossacarídeos, que possuem ligações do tipo alfa-1,4 entre unidades glicosídicas, como ilustrado na Figura 7a (DE SOUSA et al., 2008). As CDs de maior interesse tecnológico são constituídas por seis, sete ou oito unidades de glicose em suas estruturas, sendo denominadas alfa (α), beta (β) ou gama (γ) ciclodextrina, respectivamente (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018; LOFTSSON; DUCHÊNE, 2007). Estas CDs citadas são classificadas como naturais, pois podem ser obtidas a partir da quebra do amido pela ação das enzimas CD glicosiltransferases (VENTURINI et al., 2008).

De forma geral, as CDs apresentam estruturas similares a um tronco de cone com uma cavidade central hidrofóbica e um exterior com caráter hidrofílico (ARTI et al., 2021; LOFTSSON et al., 2005; ZHANG; MA, 2013). A cavidade central possui caráter hidrofóbico devido aos hidrogênios H3 e H5, e aos grupos C–O–C das ligações glicosídicas. O exterior apresenta caráter hidrofílico devido às hidroxilas secundárias ligadas aos carbonos C3 e C2, e às hidroxilas primárias ligadas aos carbonos C6, conforme demonstrado na Figura 7b (MEIRA, 2018; POULSON et al., 2022).

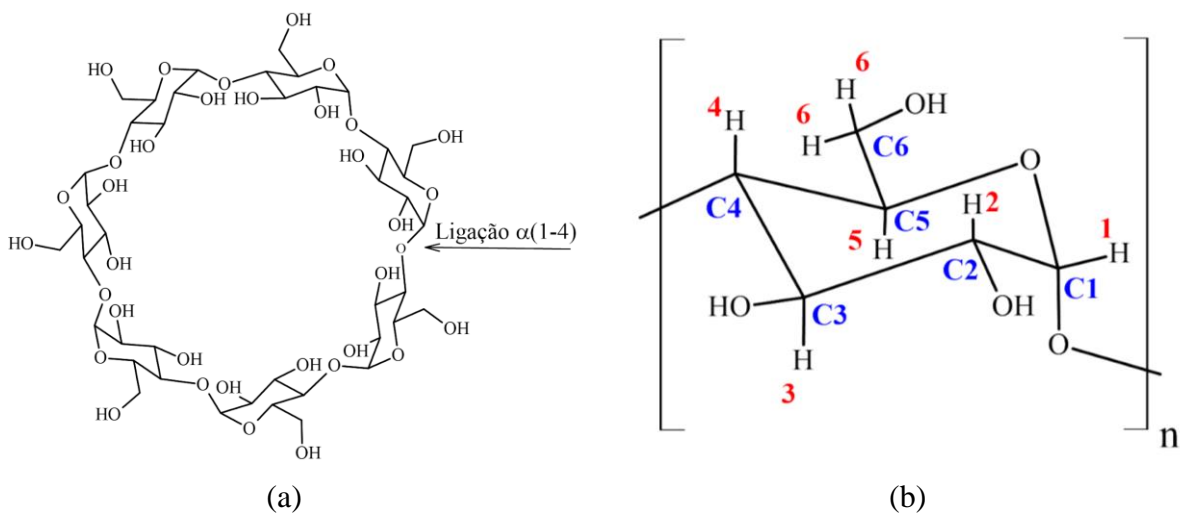


Figura 7 – Representação estrutural: (a) Beta-ciclodextrina (β -CD); (b) monômero de glicose com a respectiva numeração dos hidrogênios e carbonos. $n = 6, 7$ ou 8 .

A cavidade central das CDs desempenha um papel fundamental para a formação dos compostos de inclusão, uma vez que ela oferece um microambiente que pode permitir a ocorrência de um balanço de interações não covalentes com a espécie hóspede. O processo de formação também depende de fatores como tamanho e polaridade das moléculas hóspedes, ocorrendo por meio de interações não covalentes, formando assim os sistemas do tipo hóspede-hospedeiro, como exemplificado na Figura 8 (ARTI et al., 2021; CRINI, 2014).

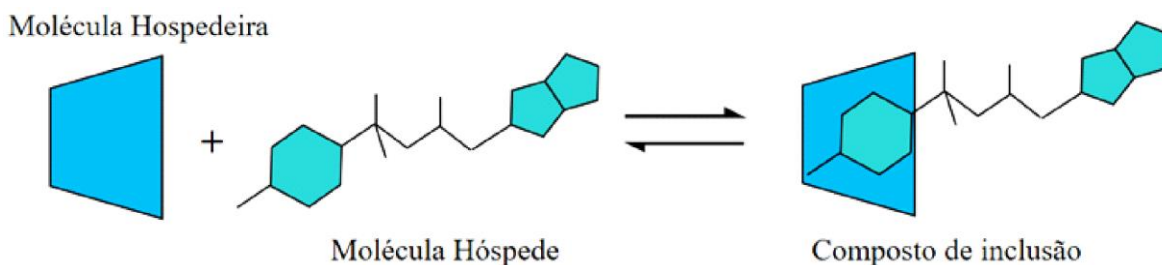


Figura 8 – Esquema ilustrativo sobre a formação de compostos de inclusão.

Em virtude do processo de inclusão, as moléculas hóspedes exibem alterações em suas propriedades físico-químicas, como solubilidade, volatilidade, dissolução, estabilidade química e física, como também em suas propriedades organolépticas, isto é, sabores e odores indesejados (ARTI et al., 2021; DEL VALLE, 2004; KAPOOR et al., 2022; SZEJTLI, 1998).

As CDs são amplamente investigadas pela área científica e possuem aplicações nas indústrias farmacêutica, agrícola, alimentícia, têxtil, cosmética e de perfumes, devido a capacidade de formar compostos de inclusão com uma variedade de espécies químicas (DAVIS; BREWSTER, 2004; HEDGES, 1998; POULSON et al., 2022; SAOKHAM et al., 2018).

Além das CDs naturais mencionadas anteriormente (α , β e γ), é possível sintetizar CDs ditas modificadas, as quais podem apresentar diversos grupos substituintes nas hidroxilas primárias e/ou secundárias, como indicado na Figura 9 (DE SOUSA, 2010). As modificações nas CDs naturais têm como finalidade ampliar suas aplicações farmacêuticas e melhorar suas propriedades físico-químicas, especificamente, a solubilidade e toxicidade (VENTURINI et al., 2008; ZHANG; MA, 2013).

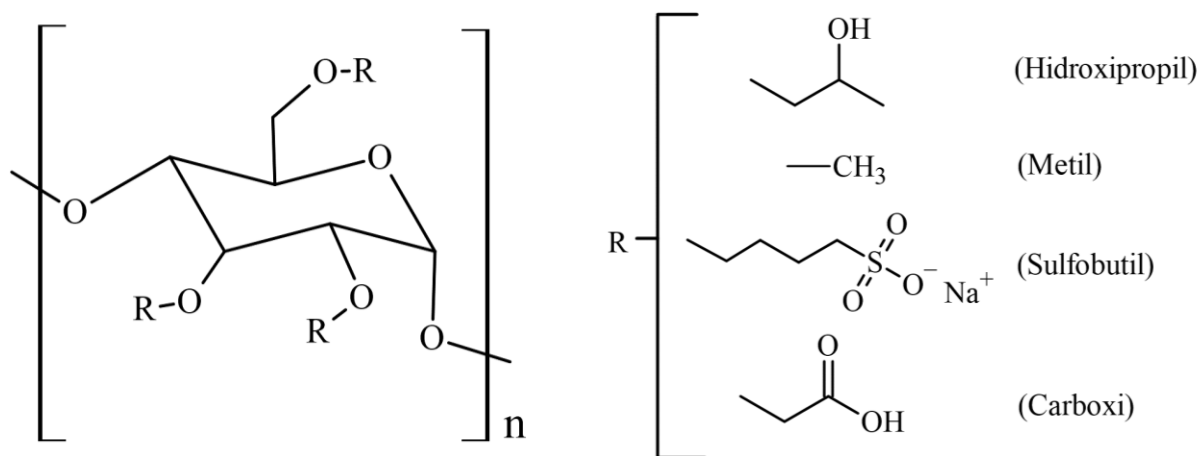


Figura 9 – Representação estrutural do monômero glicosídico com exemplos de grupos substituintes (R), com $n = 6, 7$ ou 8 .

Dentre as propriedades das CDs naturais e de algumas CDs modificadas, descritas na Tabela 2, pode-se notar que a solubilidade em água da β -CD é expressivamente menor quando comparada às solubilidades das demais CDs. Conforme descrito por De Sousa (2010) e Poulson e colaboradores (2022), isso se deve ao fato da β -CD apresentar uma rigidez estrutural, em virtude da formação de ligações de hidrogênio intramoleculares entre as hidroxilas secundárias ligadas aos carbonos C2 e C3, conferindo menores interações com as moléculas de água ao redor, e conseqüentemente menor solubilidade.

Tabela 2 – Propriedades físico-químicas e modos de administração das ciclodextrinas naturais e modificadas.

	Ciclodextrinas						
	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- β -CD	SBE- β -CD	RM- β -CD	HP- γ -CD
Nº de unidades glicosídicas	6	7	8	7	7	7	8
Massa Molar (g.mol ⁻¹)	972	1135	1297	1400	2163	1312	1576
Diâmetro da Cavidade (Å)	4,7-5,2	6,0-6,4	7,5-8,3	6,0	—	—	8,0
Solubilidade (g.L ⁻¹) a 25 °C	145	18,5	232	> 600	> 500	> 500	> 500
Administração Farmacêutica*	P, O	O, R, T, Oc	O, T	O, R, T, Oc, P	O, P	Oc, N	T

* P = Parenteral; O = Oral; R = Retal; T = Tópica; Oc = Ocular; N = Nasal.

Na literatura dentre os diversos exemplos de CDs modificadas, destacam-se a 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD), a sulfobutiléter- β -ciclodextrina (SBE- β -CD), a β -CD metilada aleatoriamente (RM- β -CD) e a 2-hidroxiopropil- γ -ciclodextrina (HP- γ -CD) (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018; SAOKHAM et al., 2018). Assim como a α , β e γ ciclodextrina, as CDs modificadas supracitadas são aprovadas como excipientes em formulações farmacêuticas pela *Food and Drug Administration* (FDA), *European Medicines Agency* (EMA) e pela *Joint WHO/FAO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) (BRAGA, 2019; JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018; POULSON et al., 2022; SAOKHAM et al., 2018; STELLA; HE, 2008).

1.3.2 Compostos de Inclusão – Ciclodextrinas e Fármacos

Como consequência da formação de compostos de inclusão, têm-se que propriedades físico-químicas como solubilidade, estabilidade e taxas de dissolução dos fármacos podem ser

alteradas, principalmente daqueles de Classe II e IV (HEDGES, 1998; JACOB; NAIR, 2018). Na literatura, são relatados mais de 120 medicamentos disponíveis no mercado que apresentam CDs como excipientes, com destaque àqueles administrados por via oral e intravenosa (PUSKÁS et al., 2023). Dentre eles pode-se citar o vasodilatador alprostadil alfaciclodextrina (PROSTAVASIN[®]), os anti-inflamatórios piroxicam betaciclodextrina (CICLADOL[®]) e nimesulida betaciclodextrina (MAXSULID[®]), comercializados no Brasil, e o antifúngico itraconazol hidroxipropil betaciclodextrina (SPORANOX[®]), comercializado nos Estados Unidos da América e na Europa (DAVIS; BREWSTER, 2004; JAMBHEKAR; BREEN, 2016).

No que se refere a formação de compostos de inclusão, as moléculas do fármaco podem ser incorporadas de modo parcial ou total no interior da cavidade das CDs. É importante ressaltar que ligações covalentes não são formadas ou quebradas durante esse processo, uma vez que o fenômeno de inclusão consiste em interações não covalentes entre as espécies hóspede e hospedeira. Como consequência desse processo, forma-se um equilíbrio químico entre as moléculas livres e associadas, ou seja, os compostos de inclusão são continuamente formados e dissociados em meio aquoso, coexistindo com as moléculas livres do fármaco e da CD em solução (DEL VALLE, 2004; JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018).

De modo geral, o equilíbrio químico consiste em um estado dinâmico presente em reações reversíveis, em que as concentrações dos reagentes e dos produtos permanecem constantes ao longo do tempo, devido às reações no sentido direto e inverso ocorrerem com a mesma velocidade.

A partir desses valores de concentração dos reagentes e dos produtos, pode-se calcular a constante de equilíbrio referente à reação analisada. A Equação (1) retrata a constante de equilíbrio (K) referente à formação de um composto de inclusão, em que $[F]$ e $[CD]$ são as concentrações molares do fármaco e da ciclodextrina livres, respectivamente; $[F-CD]$ é a concentração do composto de inclusão; m e n são os coeficientes estequiométricos os quais podem indicar a proporção estequiométrica entre as espécies F e CD .

$$K_{m:n} = \frac{[F-CD]}{[F]^m \cdot [CD]^n} \quad \text{Equação (1)}$$

Conforme descrito por Song e colaboradores (2009) e ilustrado na Figura 10, os três tipos mais comuns de estequiometrias para os compostos de inclusão F-CD são 1:1, 1:2 e 2:1, entretanto outras razões molares também são possíveis de existir em solução. Desse modo, a fim de estudar o comportamento das CDs sobre a solubilidade do fármaco e caracterizar os sistemas supramoleculares formados, podem-se aplicar determinadas técnicas analíticas.

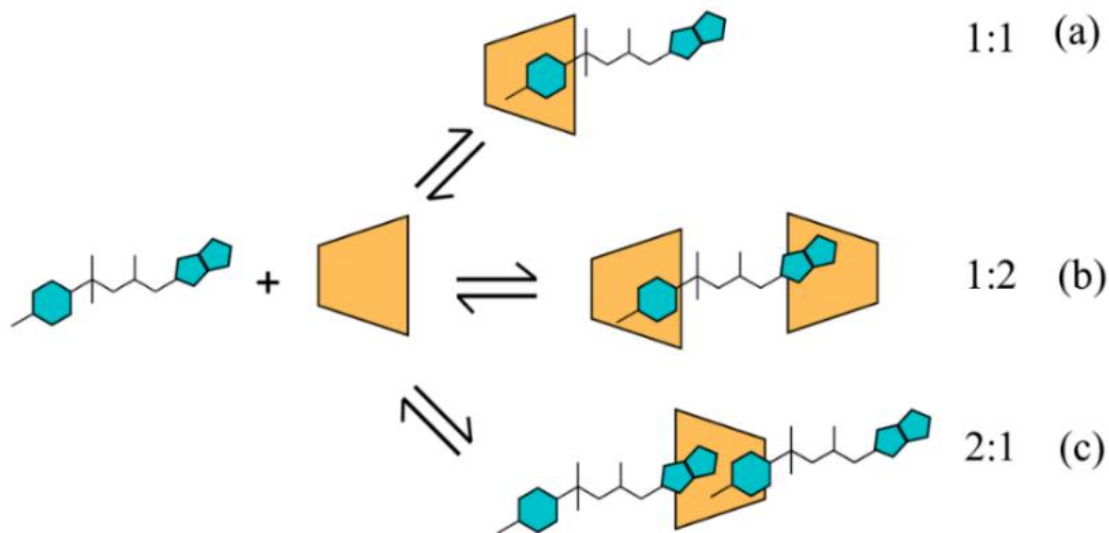


Figura 10 – Esquema ilustrativo para exemplificar as estequiometrias citadas envolvendo: (a) uma molécula de fármaco para uma molécula de CD; (b) uma molécula de fármaco para duas moléculas de CD; (c) e duas moléculas de fármaco para uma molécula de CD.

Um dos métodos utilizados para investigar os compostos de inclusão, consiste no estudo de solubilidade desenvolvido por Higuchi e Connors. Neste estudo, investiga-se o efeito da ciclodextrina na solubilidade do fármaco em meio aquoso, a partir de alterações no espectro de absorção do fármaco na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) causadas pela adição de concentrações crescentes de ciclodextrina às soluções aquosas.

Desse modo, a partir da relação gráfica entre a concentração da espécie hóspede e hospedeira, denominado diagrama de solubilidade de fase, é possível estimar o perfil de solubilidade, o valor da constante de equilíbrio e a estequiometria do composto de inclusão formado (HIGUCHI; CONNORS, 1964; JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018).

As duas principais categorias de perfis de solubilidade são os tipos A e B, sendo divididas em A_L , A_P , A_N , B_S e B_i , como ilustrado na Figura 11, a qual relaciona a concentração de fármaco em função da concentração de CD.

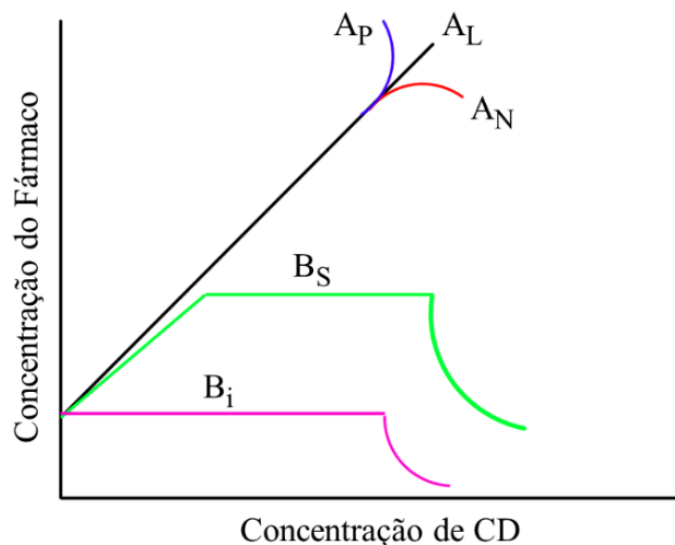


Figura 11 – Representação gráfica dos tipos de perfis de solubilidade relacionando a concentração do fármaco em função da concentração de CD.

Diagramas com perfil do tipo A demonstram a formação de compostos de inclusão solúveis, em razão da linearidade entre as concentrações do fármaco e da ciclodextrina, enquanto diagramas com perfil do tipo B revelam compostos de inclusão com solubilidade limitada em meio reacional.

O perfil do tipo A_L demonstra uma relação linear entre as concentrações das espécies, ou seja, o aumento da solubilidade do fármaco à medida que há o aumento da concentração de CD. Este perfil geralmente está associado a uma estequiometria 1:1, porém outras razões molares podem estar em equilíbrio de forma simultânea. O perfil do tipo A_P possui um pequeno desvio positivo da linearidade, que pode ser entendido como a formação de compostos de inclusão de ordem elevada em relação a CD. O perfil do tipo A_N apresenta um pequeno desvio negativo, indicando possíveis agregados dos compostos de inclusão (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007; HAIMHOFFER et al., 2019; JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018).

Devido ao comportamento gráfico distinto, o perfil do tipo B_S geralmente é dividido em três regiões com características singulares em cada uma delas. Na primeira região, observa-se

uma relação linear crescente entre as concentrações do fármaco e da CD, sugerindo um aumento na solubilidade do fármaco, porém até atingir uma solubilidade máxima. Esse valor se estende pela segunda região, marcada por um platô, à medida que a concentração de CD aumenta, indicando um composto de inclusão com solubilidade limitada. Por fim, na terceira região ocorre uma diminuição gradual da solubilidade do fármaco, sugerindo a possível precipitação do composto de inclusão e a formação de agregados de CDs. O perfil do tipo Bi exibe uma região com um platô em baixas concentrações de CD e ao final uma diminuição gradual na solubilidade do fármaco, indicando um composto de inclusão insolúvel (HAIMHOFFER et al., 2019; SAOKHAM et al., 2018; SCHÖNBECK et al., 2017).

Um esquema ilustrativo do perfil do tipo Bs retratado por Schönbeck e colaboradores (2017) está disposto na Figura 12.

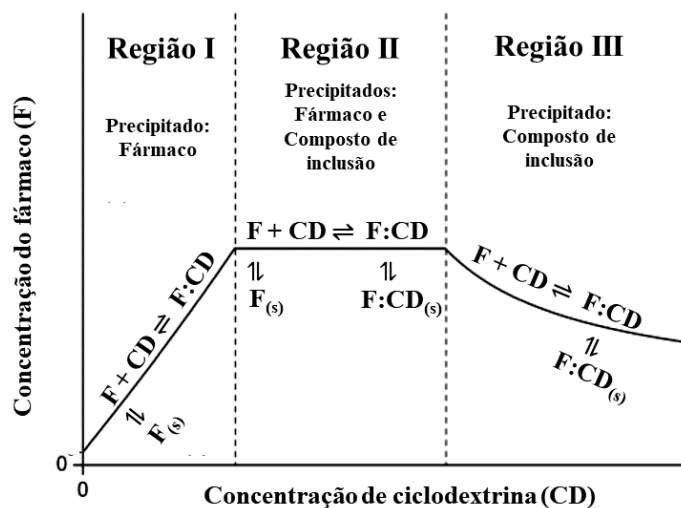


Figura 12 – Esquema ilustrativo do diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs com os equilíbrios químicos envolvidos em cada região, adaptado de Schönbeck e colaboradores (2017).

Pode-se destacar, especificamente para o perfil do tipo Bs, a ocorrência de equilíbrios químicos envolvendo a precipitação de certas espécies. Na região I, o precipitado é o próprio soluto, no caso o fármaco em estudo, devido ao método determinar a adição de excesso de fármaco às soluções das CDs. Na região II, têm-se a possibilidade de precipitação do fármaco e do composto de inclusão formado, uma vez que ocorre a saturação das soluções e a solubilidade do fármaco se mantém constante. Por fim, na região III, o fármaco coexiste em solução na sua

forma livre e associada, contudo, o composto de inclusão apresenta um equilíbrio entre sua fase aquosa e sua fase sólida à medida que a concentração de CD aumenta.

De acordo com Schönbeck e colaboradores (2017), para uma análise minuciosa das etapas presentes nos diagramas de solubilidade de fase do tipo Bs, existe um tratamento matemático mais complexo que foi desenvolvido considerando determinados componentes de cada região. Entretanto, ao admitir uma estequiometria 1:1, pode-se calcular o valor de K_a considerando a região I uma vez que ela apresenta linearidade entre as concentrações das espécies envolvidas (ABD EL-GAWAD et al., 2017; PRAPHANWITTAYA et al., 2020; CHRISTOFORIDES et al., 2022).

Tanto Saokham e colaboradores (2018) quanto Schönbeck e colaboradores (2019) descreveram que as CDs naturais tendem a formar compostos de inclusão que apresentam perfis de solubilidade do tipo B, enquanto CDs modificadas, geralmente formam compostos de inclusão que exibem perfis do tipo A. Conforme Wankar e colaboradores (2020), o processo de inclusão envolve diversos parâmetros e fatores como polaridade, volume molecular, conformação, quiralidade e até mesmo o solvente utilizado no preparo dos compostos. Desse modo, isso faz com que não haja uma “regra padrão” para a inclusão de moléculas hóspedes à cavidade das CDs, impossibilitando prever o comportamento deste fenômeno.

Na literatura, Al Omari e colaboradores (2009) estudaram a interação entre o sal ibuprofeno/trometamina com CDs naturais e modificadas. Nesse estudo, os autores obtiveram, para o sistema ibuprofeno: β -CD, um diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs, exibido na Figura 13. É importante destacar que os diagramas e perfis do tipo B não são tão estudados e habituais como os do tipo A.

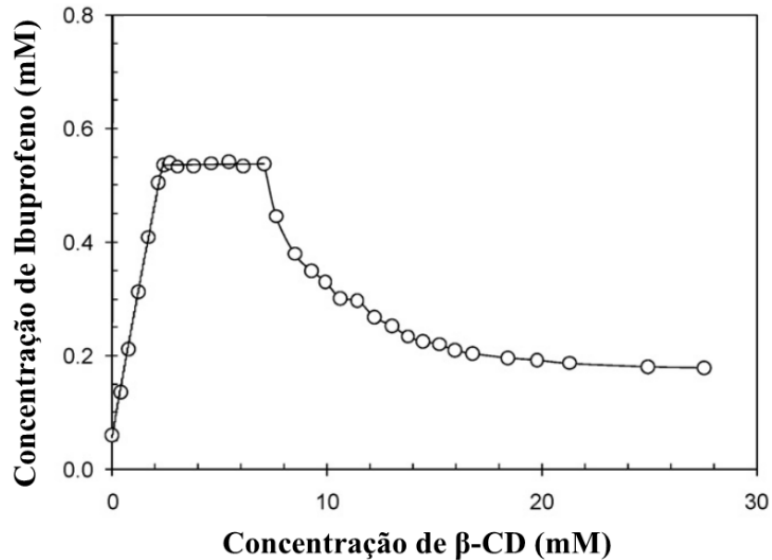


Figura 13 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs do sistema ibuprofeno: β -CD retirado e adaptado de Al Omari e colaboradores (2009).

Os diagramas de solubilidade de fase, de forma geral, se enquadram em um dos métodos utilizados para compreender o comportamento dos sistemas hóspede-hospedeiro com CDs, porém outras técnicas analíticas, fazem-se necessárias para de fato caracterizar os compostos de inclusão, tanto em solução quanto no estado sólido (MURA, 2015).

A caracterização dos compostos de inclusão envolve associar diferentes métodos analíticos que explorem variações nas propriedades físico-químicas das moléculas hóspedes e hospedeiras livres juntamente com as propriedades dos sistemas obtidos. Quando os resultados de cada técnica são analisados em conjunto, é possível compreender melhor as interações entre essas espécies, e, portanto, evidenciar a formação dos compostos de inclusão (MURA, 2014).

Além da espectroscopia eletrônica de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), citada anteriormente no estudo de solubilidade, pode-se citar a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). Esta técnica é aplicada para a caracterização dos sistemas formados e é considerada uma das técnicas mais adequadas e robustas para o estudo dos compostos de inclusão em solução, uma vez que fornece informações referentes ao fenômeno de inclusão e sobre a estrutura dos compostos formados (MURA, 2014).

Dentre as técnicas utilizadas para caracterizar os compostos de inclusão no estado sólido, pode-se citar a espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR). Essa técnica pode identificar perturbações nos modos vibracionais característicos do fármaco e das

CDs, sendo que essas perturbações são recorrentes do processo de inclusão e podem indicar possíveis interações entre essas espécies (MURA, 2015).

1.3.3 Compostos de inclusão – Ciclodextrinas e Sulfonilureias

Na literatura, pode-se encontrar trabalhos que abordam o estudo de compostos de inclusão tanto entre CDs e SU1 (tolbutamida e tolazamida) quanto entre CDs e SU2 (glibenclamida, glipizida, glimepirida e gliclazida) (ALY; QATO; AHMAD, 2003; LUCIO et al., 2017; PAULIDOU et al., 2010). Trabalhos que envolvem sistemas entre GLI e β -CD relatam perfis de solubilidade do tipo Bs, entretanto, contam com poucas explicações sobre as estruturas dos compostos de inclusão formados e quando comparados apresentam diferentes valores de constantes de afinidade (K_a) em uma mesma temperatura (ABOU-AUDA et al., 2006; LO et al., 2006; MOYANO et al., 1997; ÖZKAN et al., 2000; RADI; EISSA, 2010; SAPKAL et al., 2007; SOLTANI et al., 2024).

Para o sistema GLI: β -CD, Moyano e colaboradores (1997a) e Özkan e colaboradores (2000) obtiveram valores de K_a iguais a 1.094 e 195, respectivamente, ainda que ambos os sistemas tenham sido submetidos a mesma temperatura e mesma técnica espectroscópica para obter os diagramas de solubilidade de fase. Por outro lado, para este mesmo sistema, Abou-Auda e colaboradores (2006) obtiveram um valor de K_a igual a 323 por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. Essa discrepância nos valores de K_a não foi discutida em outros trabalhos pesquisados.

É importante destacar que somente Soltani e colaboradores (2024) calcularam parâmetros termodinâmicos e obtiveram valores de K_a em diferentes temperaturas pelo método de Benesi-Hildebrand. Além disso, esses autores caracterizaram os compostos de inclusão formados por GLI e β -CD por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR).

Para o sistema GLI:HP- β -CD, Sharma e colaboradores (2011) relataram um perfil de solubilidade do tipo AL e um valor de K_a igual a 183,76. Entretanto, ao caracterizarem esse composto no estado sólido por FTIR, os autores concluíram a ausência de interações entre as espécies.

Desse modo, a partir do exposto acima, torna-se promissor empregar novos estudos a fim de evidenciar os compostos de inclusão e investigar os sistemas formados entre GLI e as CDs mencionadas.

1.4 Estudo de estabilidade de fármacos – efeito das ciclodextrinas

Segundo Brandão e colaboradores (2004), além das aplicações como agentes solubilizantes e transportadores de fármacos, as CDs também podem ser utilizadas como modelos de enzimas artificiais, devido promoverem efeitos catalíticos e/ou inibitórios, agindo, portanto, na estabilidade de compostos orgânicos. No trabalho de Popielec e Loftsson (2017), foram reunidos diversos trabalhos que avaliaram o efeito das ciclodextrinas na estabilidade de fármacos em solução, especificamente nos processos de hidrólise, fotólise, racemização, oxidação e inibição enzimática.

Dentre esses trabalhos, no que se refere ao efeito das CDs na hidrólise de fármacos, Hidaka e colaboradores (2010) verificaram que o fármaco amoxicilina apresentou maior estabilidade em pH ácido na presença de β -CD, devido a formação do composto de inclusão em solução. Além disso, Jiang e colaboradores (2011) concluíram que a hidrólise em pH neutro do fármaco 9-nitro-camptotecina diminuiu à medida que houve o aumento da concentração de HP- β -CD em solução. Por outro lado, El-Badry e colaboradores (2009) constataram que a adição de β -CD e HP- β -CD favoreceu a degradação do fármaco omeprazol em pH neutro.

Portanto, pode-se notar que pela versatilidade em formar compostos de inclusão com inúmeras moléculas, as CDs exibem comportamentos distintos sobre a hidrólise de fármacos em solução aquosa, contudo, pode-se entender que os efeitos estabilizante e catalítico das CDs compartilham uma característica em comum: a inclusão das moléculas do fármaco na cavidade hidrofóbica. Se ora a inclusão total ou parcial de uma molécula pode acarretar uma estabilidade contra a sua degradação, ora a inclusão também pode favorecer a formação de produtos de degradação como consequência da exposição de uma parte desta molécula ao meio reacional.

O impacto das CDs na estabilidade do fármaco em solução aquosa pode ser avaliado por meio de perfis e parâmetros cinéticos de cada sistema, elaborados após o monitoramento das soluções por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis, uma vez que modificações nos valores de absorbância em função de um intervalo de tempo estipulado, podem

indicar o efeito estabilizante ou catalítico das CDs no processo de degradação (BRANDÃO et al., 2003; MONTEIRO et al., 2003; SALEEM et al., 2023).

Como descrito no tópico 1.2, a GLI apresenta suscetibilidade à degradação em pH ácido, o que pode comprometer sua biodisponibilidade pelo trato gastrointestinal juntamente com sua baixa solubilidade. Desse modo, torna-se cabível investigar a influência das CDs na estabilidade química da GLI, como também se fazem necessárias investigações minuciosas para compreender de fato a associação e a formação dos compostos de inclusão entre GLI e as CDs.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo Geral

Obter compostos de inclusão formados por moléculas de β -CD e HP- β -CD com o fármaco GLI a fim de compreender as interações envolvidas entre essas espécies.

1.5.2 Objetivos Específicos

- Obter compostos de inclusão entre a GLI e β -CD e HP- β -CD pelo método de liofilização;
- Caracterizar os sistemas obtidos empregando métodos analíticos, físico-químicos e espectroscópicos;
- Efetuar estudos de solubilidade para cada sistema estudado – GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD;
- Investigar o efeito da β -CD e da HP- β -CD na solubilidade e estabilidade química do fármaco;
- Analisar a influência dessas ciclodextrinas no perfil de degradação da GLI;
- Comparar as constantes de afinidade e os parâmetros físico-químicos de ambos os compostos de inclusão obtidos.

CAPÍTULO 2

METODOLOGIA

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho foram empregadas análises de espectroscopia eletrônica de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) e espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho utilizando o acessório de reflectância total atenuada (FTIR-ATR), ambas realizadas na Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI). Os experimentos de espectroscopia de ressonância magnética nuclear unidimensionais de ^1H e ^{13}C , e bidimensionais foram realizados em colaboração com a Dra. Ivana S. Lula no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

2.1. Materiais e Reagentes

Nos experimentos foram utilizados água tipo I (Milli-Q[®]), dimetilsulfóxido (DMSO- d_6) e clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solventes. Os reagentes utilizados nos estudos de solubilidade, estabilidade, no preparo e na caracterização dos compostos de inclusão, encontram-se listados a seguir, juntamente com suas respectivas propriedades físico-químicas.

β -ciclodextrina:

Sigla: β -CD.

Fórmula Molecular: $\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{35} \cdot 11\text{H}_2\text{O}$.

Massa Molecular: $1135 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Solubilidade em água a 25 °C: $18,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Característica: Sólido branco.

Fabricante: Sigma-Aldrich.

Hidroxipropil- β -ciclodextrina

Sigla: HP- β -CD.

Fórmula Molecular: $\text{C}_{42}\text{H}_{63}\text{O}_{35} \cdot n\text{C}_3\text{H}_7\text{O}$.

Massa Molecular: $1400 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Solubilidade em água a 25 °C: $> 600 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Característica: Sólido branco.

Fabricante: Cerestar

Gliclazida

Sigla: GLI

Fórmula Molecular: $C_{15}H_{21}N_3O_3S$.

Massa Molecular: $323,41 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Solubilidade em água a 25 °C: $34 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Característica: Sólido branco.

Fabricante: Sigma-Aldrich.

2.2 Descrição dos experimentos

2.2.1 Obtenção dos compostos de inclusão

Os compostos de inclusão GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD foram obtidos empregando o método de liofilização. O referido método consiste em submeter soluções previamente congeladas de forma rápida, a baixa pressão com o intuito de extrair a água dos sistemas e obter sólidos secos para posterior caracterização (DE SOUSA et al., 2008).

Primeiramente, foram preparadas soluções aquosas constituídas pela molécula hóspede (GLI) com cada molécula hospedeira (β -CD ou HP- β -CD), seguindo as proporções molares 1:1, 1:2 e 2:1. As amostras foram denominadas de GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD. Nos sistemas 1:1 e 1:2 foram adicionados 5,0 mg de GLI ($15,5 \mu\text{mol}$), enquanto nos sistemas 2:1, adicionaram-se 2,5 mg ($7,73 \mu\text{mol}$) do fármaco às equivalentes massas molares de β -CD e HP- β -CD descritas na Tabela 3. Todos os sistemas mencionados foram realizados em 45 mL de água Milli-Q® em tubos Falcon de 50 mL.

Tabela 3 – Dados referentes às massas de molécula hóspede (GLI) e moléculas hospedeiras (β -CD e HP- β -CD) utilizadas em cada sistema.

Proporções Molares	Molécula Hóspede		Moléculas Hospedeiras	
	GLI (mg)		β -CD (mg)	HP- β -CD (mg)
1:1	5,0		17,5	21,6
1:2	5,0		35,1	43,3
2:1	2,5		4,4	5,4

As soluções foram mantidas sob agitação magnética por aproximadamente 24 horas. Em seguida foram inseridas em um banho de ultrassom, permanecendo em torno de 2 horas, devido à presença de partículas dispersas nas soluções. Após esse período, os sistemas foram congelados quando imersos em nitrogênio líquido a $-189\text{ }^{\circ}\text{C}$, para que posteriormente fossem submetidos a baixa pressão, utilizando o liofilizador JJ Científica, modelo LJJ104, por um período de 96 horas a temperatura de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ aproximadamente.

De modo complementar, misturas mecânicas foram preparadas nas mesmas proporções molares supracitadas na Tabela 3, a partir da mistura direta do fármaco GLI com cada CD, por aproximadamente 5 minutos utilizando o equipamento Vortex IKA MS3. Essas misturas mecânicas foram denominadas MM(GLI: β CD) e MM(GLI:HP β CD). Todos os sólidos, quer seja aqueles obtidos por liofilização, quer seja as misturas mecânicas, foram posteriormente caracterizados por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho com o acessório de reflectância total atenuada com transformada de Fourier (FTIR-ATR) e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).

2.3 Caracterizações

2.3.1 Estudos de solubilidade

Para os estudos de solubilidade dos sistemas GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD, empregou-se o método desenvolvido por Higuchi e Connors (HIGUCHI; CONNORS, 1964). Os experimentos envolveram a adição de alíquotas de soluções aquosas com diferentes concentrações de β -CD e HP- β -CD em um excesso do fármaco gliclazida (1,0 mg de GLI), conforme exposto nas Tabelas

4 e 5. Foram preparadas 13 amostras, em triplicata, totalizando 39 amostras, com as concentrações de β -CD e HP- β -CD variando de 0,000 a 0,012 mol.L⁻¹.

As amostras obtidas foram mantidas imersas em um banho à temperatura constante de 37 °C por 24 horas e posteriormente foram centrifugadas até a obtenção de um sobrenadante límpido. Alíquotas do sobrenadante foram devidamente diluídas e analisadas por espectroscopia eletrônica de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis). Este procedimento supracitado foi repetido para as temperaturas 47 e 57 °C.

Tabela 4 – Esquema de preparo das amostras para a realização do estudo de solubilidade de GLI na presença de β -CD nas temperaturas 37, 47 e 57 °C.

Amostras (1,0 mg de GLI)	Volume (mL)		Concentração final de β -CD
	H ₂ O	β -CD (0,012 mol.L ⁻¹)	
1	1,20	0,00	0,000
2	1,10	0,10	0,001
3	1,00	0,20	0,002
4	0,90	0,30	0,003
5	0,80	0,40	0,004
6	0,70	0,50	0,005
7	0,60	0,60	0,006
8	0,50	0,70	0,007
9	0,40	0,80	0,008
10	0,30	0,90	0,009
11	0,20	1,00	0,010
12	0,10	1,10	0,011
13	0,00	1,20	0,012

Tabela 5 – Esquema de preparo das amostras para a realização do estudo de solubilidade de GLI na presença de HP- β -CD nas temperaturas 37, 47 e 57 °C.

Amostras (1,0 mg de GLI)	Volume (mL)		Concentração final de HP- β -CD
	H ₂ O	HP- β -CD (0,012 mol.L ⁻¹)	
1	1,20	0,00	0,000
2	1,10	0,10	0,001
3	1,00	0,20	0,002
4	0,90	0,30	0,003
5	0,80	0,40	0,004
6	0,70	0,50	0,005
7	0,60	0,60	0,006
8	0,50	0,70	0,007
9	0,40	0,80	0,008
10	0,30	0,90	0,009
11	0,20	1,00	0,010
12	0,10	1,10	0,011
13	0,00	1,20	0,012

A concentração de GLI em cada solução foi determinada em 227 nm, com base em uma curva de calibração apropriada, pelo espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50 Scan, com varredura na faixa de 200 a 800 nm, utilizando uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 10 mm. Para a determinação da concentração de GLI nos sistemas supracitados, uma curva de calibração foi elaborada a partir de uma solução padrão de GLI. Para isso, com base no estudo de Revanthi e colaboradores (2010), preparou-se uma solução de concentração conhecida de GLI (3,093 mmol.L⁻¹) em NaOH (0,1 mol.L⁻¹). Entretanto, precisou-se diluí-la até obter uma solução de concentração 0,193 mmol.L⁻¹.

Para a construção da curva de calibração foram preparadas soluções em triplicata e as alíquotas foram analisadas por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis, obtendo 7 pontos na curva. Por fim, a curva de calibração final foi determinada pela média aritmética das três curvas obtidas. A partir da concentração do fármaco, foi possível construir os

diagramas de solubilidade de fase para o sistema GLI: β -CD. Sequencialmente, com base nos diagramas foram determinadas as constantes de afinidade (K_a) e os demais parâmetros termodinâmicos – entalpia padrão (ΔH°), energia livre de Gibbs padrão (ΔG°) e o termo entrópico ($T\Delta S$)

Para o cálculo de K_a , primeiramente, aplicou-se a equação de Higuchi e Connors descrita a seguir na Equação (2), onde m é o coeficiente estequiométrico, S_0 é o coeficiente linear e o declive é o coeficiente angular da reta (DEL VALLE, 2004).

$$\text{declive} = \frac{m.K_a.S_0^m}{1+K_a.S_0^m} \quad \text{Equação (2)}$$

Com o valor de m conhecido ou pré-estabelecido, pode-se determinar o K_a , a partir de um rearranjo da Equação (2), o que resulta na Equação (3).

$$K_a = \frac{\text{declive}}{S_0^m.(m-\text{declive})} \quad \text{Equação (3)}$$

Para uma estequiometria dos compostos 1:1, tem-se $m = 1$, portanto, a Equação (4).

$$K_a = \frac{\text{declive}}{S_0.(1-\text{declive})} \quad \text{Equação (4)}$$

Após a determinação de K_a , pode-se calcular os demais parâmetros termodinâmicos dos sistemas formados, isto é, as variações de energia livre de Gibbs (ΔG°), o termo entrópico ($T\Delta S^\circ$) e entalpia (ΔH°) padrão. Primeiramente, os valores de ΔG° para cada sistema foram obtidas a partir da Equação (5), em função de K_a , da temperatura, medida em Kelvin (T) e sendo R a constante universal dos gases, dada em kJ. (DEL VALLE, 2004).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_a \quad \text{Equação (5)}$$

Por fim, as variações de entalpia padrão foram determinadas por meio da equação de Van't Hoff, utilizando a Equação (6), e por fim o termo entrópico foi calculado pela Equação (7) (Del Valle, 2004).

$$-\frac{\Delta H^\circ}{R} = \frac{\partial(\ln K)}{\partial(1/T)} \quad \text{Equação (6)}$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad \text{Equação (7)}$$

2.3.2 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho

De forma geral, a espectroscopia vibracional investiga os modos vibracionais das moléculas, por meio da radiação na região do infravermelho, de modo a obter informações estruturais das moléculas ou de compostos. Neste trabalho, foram obtidos espectros de absorção na região do infravermelho das moléculas livres (β -CD, HP- β -CD e o fármaco GLI), como também dos compostos de inclusão GLI: β -CD, GLI:HP- β -CD, e das misturas mecânicas MM(GLI: β -CD) e MM(GLI:HP- β -CD) de razões molares 1:1, 1:2 e 2:1. Os espectros foram coletados utilizando o espectrômetro Spectrum 100 (Perkin Elmer®) acompanhado do acessório de refletância atenuada com transformada de Fourier (FTIR-ATR), na região de 4000 a 650 cm^{-1} , com resolução espectral de 4 cm^{-1} e 64 varreduras.

2.3.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Tanto os compostos de inclusão obtidos por liofilização com razão molar de 1:1 (GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD) quanto o fármaco livre foram caracterizados pela espectroscopia de RMN, a partir de experimentos uni e bidimensionais 2D-ROESY ^1H - ^1H . Para o fármaco livre (GLI) foram realizadas a combinação de experimentos para a atribuição inequívoca dos sinais de hidrogênio da molécula. Para isso, uma concentração de 5,0 mg de GLI foi adicionada a 0,7 mL de CDCl_3 . Para os compostos de inclusão de razão molar 1:1 (GLI:CD) foram utilizadas a massa de 10,0 mg, em cada caso, e adicionadas a 0,7 mL de DMSO-d_6 . A diferença na utilização de CDCl_3 e DMSO-d_6 , foi necessária devido a possibilidade de as CDs não solubilizarem totalmente em CDCl_3 .

Adicionalmente, buscou-se evitar a utilização de solventes que pudessem competir com o fármaco pela cavidade das CDs, no caso para os compostos de inclusão. Todos os experimentos foram realizados em equipamento Bruker AVANCE NEO 600 MHz, em colaboração com a Dra. Ivana Silva Lula do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

2.4 Estudo de estabilidade do fármaco GLI

Com o intuito de verificar o perfil de estabilidade do fármaco GLI e avaliar o efeito da β -CD e da HP- β -CD neste perfil, um estudo de estabilidade foi conduzido preparando soluções em pH ácido, neutro e alcalino com as respectivas espécies mencionadas. Os valores de pH utilizados foram iguais a 1,0, 7,0 e 13,0. As soluções foram analisadas por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis em uma cubeta de caminho óptico de 10 mm pelo espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50 Scan, com varredura na faixa de 200 a 800 nm.

As soluções ácidas foram preparadas em HCl 0,1 mol.L⁻¹, as soluções neutras foram feitas em água Milli-Q® e as soluções alcalinas foram elaboradas em NaOH 0,1 mol.L⁻¹. No total, desenvolveram-se 9 sistemas que consistiram em soluções de GLI em meio ácido (GLI:HCl), meio neutro (GLI:H₂O) e meio alcalino (GLI:NaOH) com e sem a presença de β -CD e HP- β -CD nestes meios.

Para o sistema GLI:HCl, adicionou-se 1 mg do fármaco GLI a 5 mL de HCl 0,1 mol.L⁻¹ em um tubo Falcon de 15 mL. A solução foi agitada no equipamento Vortex Genie 2 da Ciencor por 30 minutos, sendo posteriormente centrifugada para obter um sobrenadante límpido. Uma alíquota de 2 mL dessa solução foi coletada e diluída em 2 mL de HCl 0,1 mol.L⁻¹. Por fim, 1 mL da solução resultante foi analisado pelo espectrofotômetro, o qual executou leituras programadas em intervalos de 15 minutos por 24 horas. O procedimento envolvendo a agitação, centrifugação e a programação das leituras foi repetido para os demais sistemas descritos a seguir.

Para o sistema GLI:H₂O, preparou-se uma solução adicionando 1 mg do fármaco GLI a 5 mL de água em um tubo Falcon de 15 mL. Após a agitação e centrifugação, não foi necessária a diluição da solução, sendo coletada uma alíquota de 1 mL para análise no espectrofotômetro.

Para o sistema GLI:NaOH, preparou-se uma solução adicionando 1 mg do fármaco a 10 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ em um tubo Falcon de 15 mL. Posteriormente à agitação e centrifugação da solução, uma alíquota de 2 mL foi diluída em 8 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹, sendo, por fim, 1 mL da solução diluída analisada pelo espectrofotômetro.

Dispondo das absorvâncias obtidas na primeira leitura de cada sistema (t = 0 min), foi possível determinar as concentrações iniciais de GLI, a partir da equação da reta obtida pela curva de calibração. Sabendo as concentrações de GLI em cada sistema foi possível preparar soluções das moléculas hospedeiras de concentrações equivalentes, admitindo uma razão molar 1:1 entre o fármaco e as ciclodextrinas.

Para a análise da estabilidade do fármaco na presença das ciclodextrinas foram preparadas soluções de β -CD e HP- β -CD em meio ácido, neutro e alcalino, como também novas soluções de GLI em cada um desses meios. As soluções de β -CD em meio ácido e em meio alcalino foram elaboradas em microtubos de 1,5 mL, adicionando 1,6 mg de β -CD a 1 mL de HCl 0,1 mol.L⁻¹ (β -CD:HCl) e 3,2 mg de β -CD a 1 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ (β -CD:NaOH). A solução de β -CD em meio neutro foi realizada em um tubo Falcon de 15 mL, adicionando 10 mg de β -CD a 1 mL de água (β -CD:H₂O).

Após novamente o preparo, a agitação e centrifugação do sistema GLI:HCl, uma alíquota de 500 μ L foi coletada e adicionada a 100 μ L da solução de β -CD:HCl e 400 μ L de HCl 0,1 mol.L⁻¹, formando o sistema GLI:HCl: β -CD. Para o preparo do sistema GLI:H₂O: β -CD, uma alíquota de 990 μ L da solução de GLI:H₂O foi coletada e adicionada a 10 μ L da solução β -CD:H₂O. Por fim, para o sistema GLI:NaOH: β -CD, coletou-se uma alíquota de 200 μ L da solução GLI:NaOH e adicionando-a em 100 μ L da solução β -CD:NaOH e 700 μ L de NaOH 0,1 mol.L⁻¹.

O preparo das soluções de HP- β -CD em meio ácido e em meio alcalino foi realizado em eppendorfs de 1,5 mL, adicionando 2 mg de HP- β -CD a 1 mL de HCl 0,1 mol.L⁻¹ (HP- β -CD:HCl) e 4 mg de HP- β -CD a 1 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ (HP- β -CD:NaOH). A solução de HP- β -CD em meio neutro foi elaborada adicionando 11,4 mg a 1 mL de água em um tubo Falcon de 15 mL (HP- β -CD:H₂O).

Para a formação dos sistemas GLI:HCl:HP- β -CD, GLI:H₂O:HP- β -CD e GLI:NaOH:HP- β -CD, coletaram-se os mesmos volumes citados anteriormente na obtenção dos sistemas com a

solução β -CD. Todas as amostras resultantes foram analisadas no espectrofotômetro programado para realizar leituras em intervalos de 15 minutos por 24 horas.

A partir dos valores de absorvância obtidos foi necessário empregar o artifício matemático, denominado normalização de dados. Essa normalização consistiu em dividir os valores de absorvância obtidos em cada leitura pelo primeiro valor quando tempo foi igual a zero. Desse modo, foi possível organizar os dados coletados, modificando seus valores para usar uma escala comum, sem distorcer as diferenças nos intervalos nem perder as informações contidas nesses valores.

CAPÍTULO 3
RESULTADOS E DISCUSSÕES

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão abordados os resultados dos estudos de solubilidade, estabilidade, e das caracterizações no estado sólido e aquoso, obtidos pelas técnicas de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis, espectroscopia vibracional na região do infravermelho com o acessório ATR (FTIR-ATR) e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).

3.1. Estudos de solubilidade

Os estudos de solubilidade foram realizados para os sistemas GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD, com a finalidade de avaliar o efeito dessas CDs na solubilidade do fármaco GLI. Este efeito pode ser analisado a partir dos diagramas de solubilidade de fase propostos por Higuchi e Connors, discutidos no Capítulo 1, seção 1.3.2 (HIGUCHI; CONNORS, 1964).

Para construir os diagramas de solubilidade de fase de ambos os sistemas, foram determinadas as concentrações do fármaco GLI em solução aquosa, por meio dos valores de absorbância máxima no comprimento de onda de 227 nm ($Ab_{S_{máx}} = 227$ nm). Tais valores foram obtidos mediante leituras das alíquotas dos sobrenadantes por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis e aplicados na equação da reta obtida pela curva de calibração (REVATHI et al., 2010).

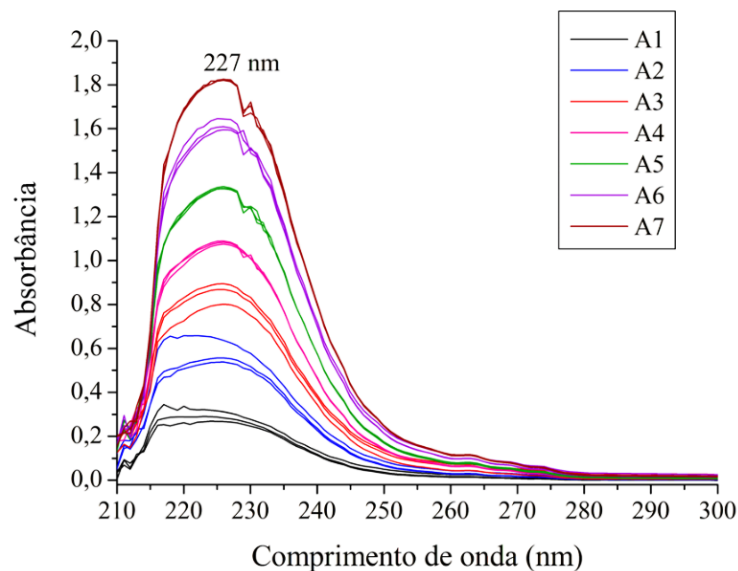


Figura 14 – Espectro de absorção na região do UV-Vis do fármaco GLI em NaOH 0,1 mol.L⁻¹, obtido a partir das amostras analisadas de concentração variando de 0,01933 (A1) a 0,13520 mmol.L⁻¹ (A7), realizada em triplicata.

Com base nos dados obtidos nos espectros de absorção na região na região do UV-Vis para a GLI obtidos em meio alcalino (NaOH 0,1 mol.L⁻¹), os quais estão dispostos na Figura 14, foi possível elaborar a curva de calibração com ajuste linear pela média das três réplicas e com coeficiente de relação linear próximo a 1 ($R^2 = 0,9997$), a qual está exibida na Figura 15. Os espectros foram obtidos em NaOH devido a GLI apresentar maior solubilidade em meio alcalino, conforme seu perfil de solubilidade exposto na Tabela 1, no Capítulo 1 seção 1.2.1.

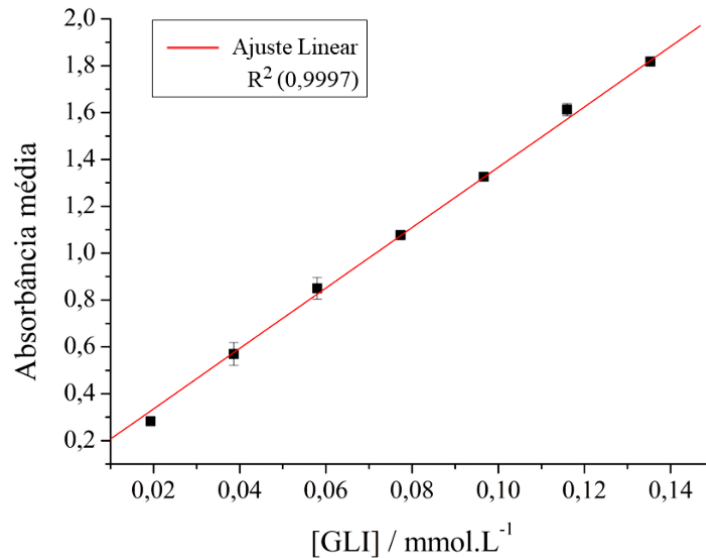


Figura 15 – Curva de calibração com ajuste linear utilizada para determinar a concentração de GLI nas amostras. Os valores estão expressos com a média e o desvio padrão da média de três réplicas.

Desse modo, foi possível prosseguir com os estudos de solubilidade, elaborando os diagramas de solubilidade de fase para cada sistema a partir da determinação dos valores de concentração do fármaco em cada solução analisada com base na curva de calibração.

Os diagramas de solubilidade de fase dos sistemas GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD nas temperaturas de 37, 47 e 57 °C foram elaborados a partir da determinação das concentrações do fármaco GLI nas alíquotas tabeladas no Capítulo 2, seção 2.3.2. O sistema GLI: β -CD apresentou um perfil de solubilidade do tipo B_s, enquanto o sistema GLI:HP- β -CD exibiu um perfil de solubilidade do tipo A_L nas três temperaturas supracitadas. A seguir, serão apresentados separadamente os dados de cada um dos sistemas nas temperaturas indicadas.

3.1.1. Sistema GLI:β-CD – diagramas de solubilidade de fase e parâmetros termodinâmicos

Referente ao sistema GLI:β-CD estudado neste trabalho, pode-se designar as três regiões anteriormente descritas para o perfil de solubilidade obtido. O diagrama de solubilidade de fase para o sistema GLI:β-CD a 37 °C, apresentado na Figura 16, possui a região I (RI) situada na faixa de 0,0 a 2,0 mmol.L⁻¹ de β-CD, a região II (RII) exibe um platô entre 3,0 e 7,0 mmol.L⁻¹ e a região III (RIII) se estende de 8,0 a 12,0 mmol.L⁻¹.

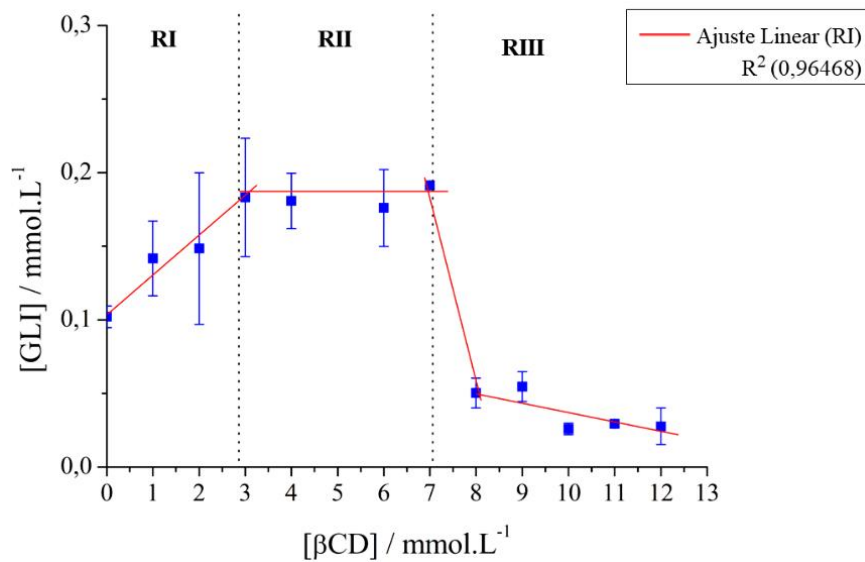


Figura 16 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs para o sistema GLI:β-CD na temperatura de 37 °C em água.

O diagrama de solubilidade de fase para o sistema GLI:β-CD a 47 °C, exposto na Figura 17, possui a RI na faixa de 0,0 a 3,0 mmol.L⁻¹ de β-CD, a RII apresenta um platô entre 4,0 e 5,0 mmol.L⁻¹ e a RIII se estende de 6,0 a 12,0 mmol.L⁻¹.

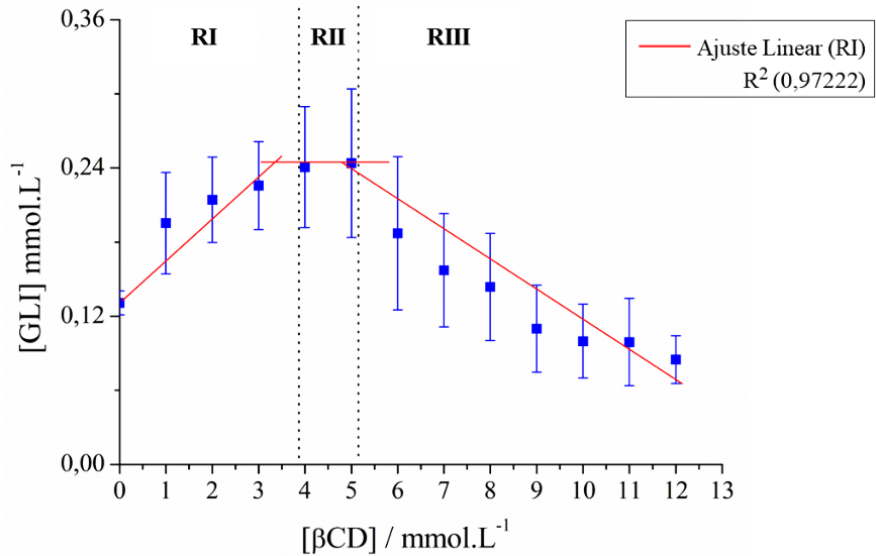


Figura 17 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs para o sistema GLI:β-CD na temperatura de 47 °C em água.

O diagrama de solubilidade de fase para o sistema GLI:β-CD a 57 °C, exibido na Figura 18, possui a RI na faixa de 0,0 a 3,0 mmol.L⁻¹ de β-CD, a RII apresenta um platô entre 4,0 e 8,0 mmol.L⁻¹ e a RIII se estende de 9,0 a 12,0 mmol.L⁻¹.

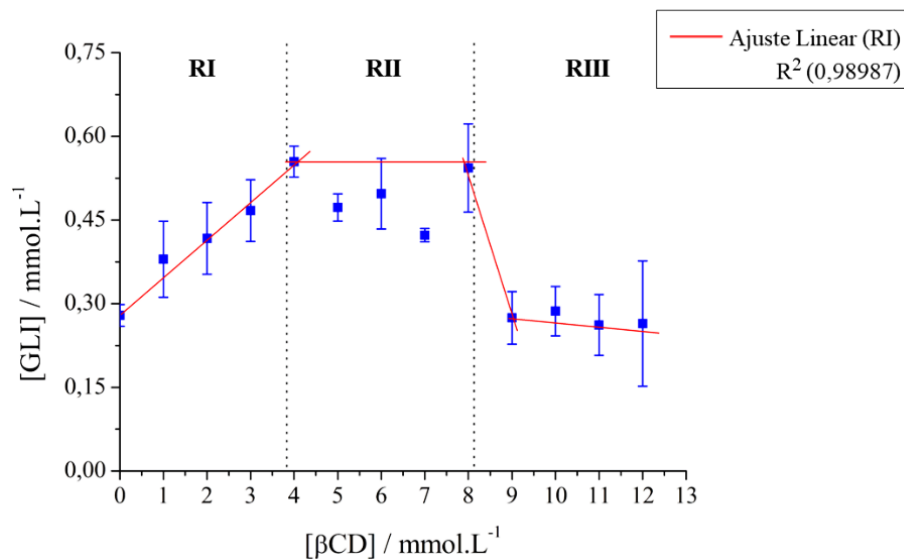


Figura 18 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo Bs para o sistema GLI:β-CD na temperatura de 57 °C em água.

A partir da Equação (4) foi possível determinar os valores de K_a em cada temperatura, considerando a RI dos diagramas expostos para o sistema GLI: β -CD, conforme descrito na literatura, e assumindo estequiometria 1:1 com $m = 1$. Com os valores de K_a , calcularam-se os parâmetros termodinâmicos por meio das Equações (5), (6) e (7). Todas as equações mencionadas estão descritas no Capítulo 2, Seção 2.3.1.

Tabela 6 – Parâmetros termodinâmicos calculados para o sistema GLI: β -CD a 37, 47 e 57 °C.

Sistema GLI: β -CD				
T (°C)	K_a	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	T ΔS° (kJ.mol ⁻¹)
37	314,75	-14,83	-10,08	4,75
47	282,44	-15,02	-10,08	4,94
57	248,27	-15,14	-10,08	5,06

Como o valor da variação de entalpia padrão é obtido a partir da Equação de Van't Hoff, representada pela Equação (6), neste caso, considera-se que este parâmetro seja o mesmo em todas as temperaturas (37, 47 e 57 °C). O valor de ΔH° foi extraído por meio da multiplicação do valor da constante universal dos gases ($R = 0,008314$ kJ.mol⁻¹.K⁻¹) pelo valor do coeficiente angular obtido do gráfico exibido na Figura 19.

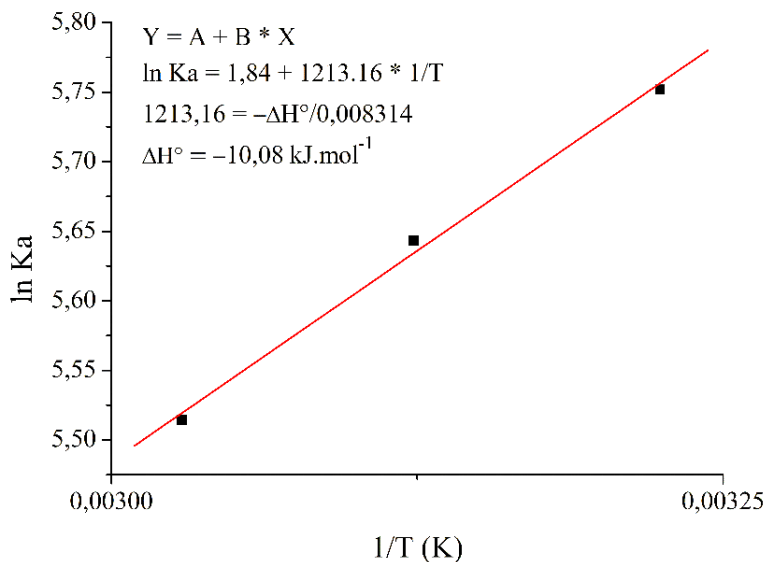


Figura 19 – Relação gráfica entre $\ln K_a$ e $1/T$ para o sistema GLI: β -CD. Com $R^2 = 0,997$.

Os valores de K_a obtidos são relativamente baixos quando comparados a outros sistemas com CDs descritos na literatura (DENADAI et al., 2007; JAMBHEKAR; BREEN, 2016). Moyano e colaboradores (1997a), Abou-Auda e colaboradores (2006) e Özkan e colaboradores (2000), realizaram um estudo de solubilidade do sistema GLI: β -CD, obtendo o mesmo diagrama do tipo Bs, porém com valores de K_a iguais a 1.094, 195 e 323, respectivamente. Nota-se, portanto, que os valores obtidos neste trabalho são menores do que os valores obtidos pelos dois primeiros autores supracitados, porém são maiores do que aqueles obtidos por Özkan e colaboradores (2000).

Deve-se ressaltar que todos os autores supracitados não apresentaram curvas de média, desvios padrão e cálculos referentes aos parâmetros termodinâmicos (variações de entalpia, energia livre de Gibbs e termo entrópico) do sistema GLI: β -CD. Além disso, submeteram este sistema a apenas uma temperatura (25 °C). No estudo de solubilidade, ao submeter o sistema estudado a um intervalo de temperaturas, pode-se determinar os parâmetros termodinâmicos, bem como inferir a influência da temperatura nas constantes de afinidade e conseqüentemente no fenômeno de inclusão.

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho e descritos na Tabela 6, pode-se inferir, portanto, que conforme a temperatura aumenta, a afinidade entre GLI e β -CD diminui, uma vez que os baixos valores de K_a sugerem uma menor concentração do composto de inclusão formado comparado às espécies livres em solução. Essa tendência também foi observada no trabalho de Soltani e colaboradores (2024), os quais obtiveram os valores de K_a pelo método de Benesi-Hildebrand nas temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35 °C.

Apesar dos valores de K_a serem considerados pequenos, o processo de formação dos sistemas pode ser entendido como espontâneo visto que em todas as temperaturas foram obtidos valores negativos de ΔG° . Analisando os valores de $T\Delta S^\circ$ e ΔH° , pode-se inferir que o processo de formação do sistema GLI: β -CD é favorecido entalpicamente, devido a contribuição do termo entálpico ser maior que a contribuição entrópica ($|\Delta H^\circ| > |T\Delta S^\circ|$). Deve-se ressaltar que para determinar os valores termodinâmicos supracitados foi considerada a região I dos diagramas. Esses resultados corroboram com aqueles obtidos por Soltani e colaboradores (2024), os quais também observaram que o processo de formação deste sistema é espontâneo e favorecido entalpicamente.

No que se refere à termodinâmica dos processos envolvendo os compostos de inclusão, a contribuição entálpica está relacionada com a quebra e formação de interações não covalentes em solução. Quando se tem processos exotérmicos, isto é, com ΔH° negativo, pode-se entender que as interações formadas no processo de inclusão são mais estáveis do que àquelas anteriores à inclusão. Por outro lado, em processos endotérmicos, isto é, com ΔH° positivo, as interações formadas são menos estáveis do que àquelas anteriores à inclusão. No que se refere à contribuição entrópica, ela se relaciona com o maior ou menor grau de ordenação do sistema associada à solvatação/dessolvatação, mobilidade molecular e conformação estrutural das espécies presentes no processo (FERNANDES et al., 2007; REKHARSKY; INOUE, 1998).

Neste caso, como a contribuição entálpica é maior do que a entrópica, isso indica que o processo de inclusão ocorre a partir da saída de moléculas de água do interior da cavidade da β -CD. Concomitantemente a isso, tem-se a formação de novas interações não covalentes mais estáveis entre as espécies livres (GLI e β -CD) do que aquelas anteriores à inclusão. Analisando os valores positivos dos termos entrópicos, pode-se inferir que o composto de inclusão GLI: β -CD exibe uma menor rigidez estrutural, uma vez que valores positivos de entropia sugerem uma diminuição no grau de ordenação do sistema, o qual pode estar relacionado a um aumento na liberdade conformacional e/ou uma redução no grau de solvatação em sistemas supramoleculares.

3.1.2. Sistema GLI:HP- β -CD – diagramas de solubilidade de fase e parâmetros termodinâmicos

O sistema GLI:HP- β -CD, em todas as temperaturas, exibiu um diagrama de solubilidade de fase do tipo A_L , devido a linearidade existente entre as concentrações de fármaco GLI e HP- β -CD, como exposto nas Figuras 20, 21 e 22.

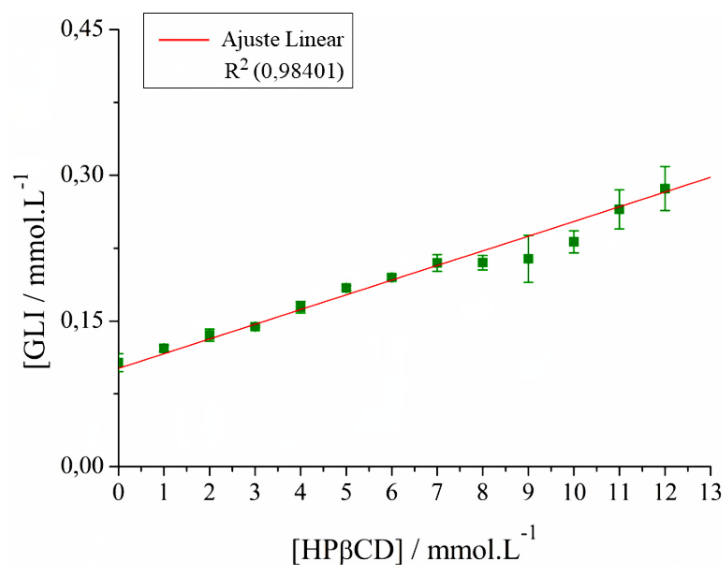


Figura 20 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo A_L para o sistema GLI:HP- β -CD na temperatura de 37 °C em água.

Pode-se inferir, portanto, que à medida que há o aumento da concentração de HP- β -CD em solução, ocorre o aumento da solubilidade de GLI. Além disso, por meio deste perfil é possível entender que a solubilidade do composto de inclusão formado é superior à do fármaco GLI livre.

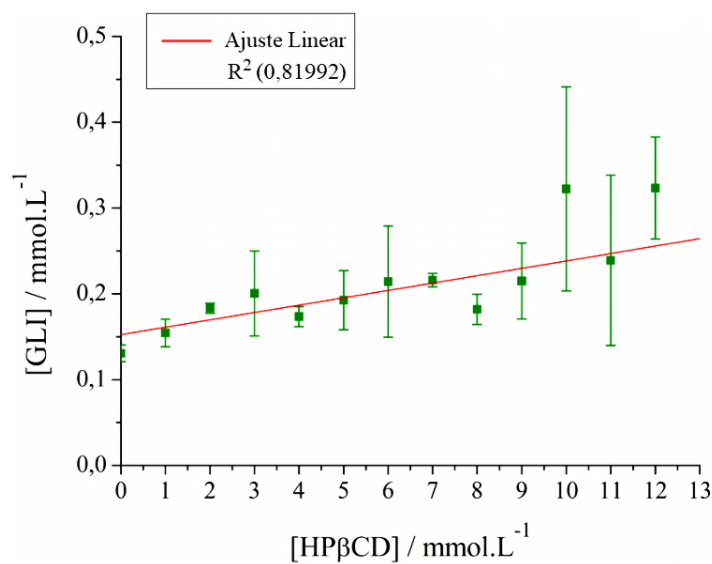


Figura 21 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo A_L para o sistema GLI:HP- β -CD na temperatura de 47 °C em água.

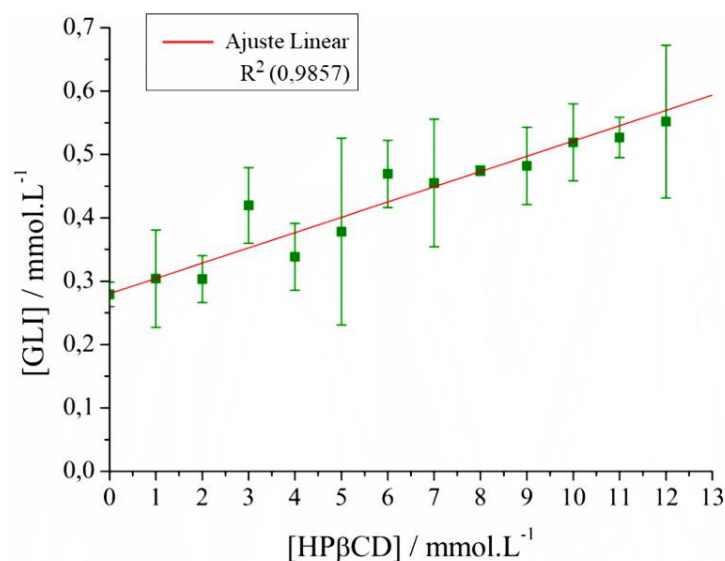


Figura 22 – Diagrama de solubilidade de fase do tipo A_L obtido para o sistema GLI:HP- β -CD na temperatura de 57 °C em água.

Com base nos diagramas de solubilidade de fase obtidos, calcularam-se os valores de K_a , a partir da Equação (4), em cada temperatura (37, 47 e 57 °C), admitindo estequiometria 1:1, com $m = 1$. A partir dos valores de K_a , foi possível determinar os parâmetros termodinâmicos por meio das Equações (5), (6) e (7). Todas as equações citadas estão descritas no Capítulo 2, Seção 2.4.2. Para indicar e demonstrar a linearidade entre as concentrações de GLI e HP- β -CD foram realizados ajustes lineares, e desse modo foi possível calcular os valores de coeficiente de correlação (R^2) em cada temperatura. Os dados obtidos a partir das equações mencionadas, referentes aos parâmetros termodinâmicos do sistema GLI:HP- β -CD, estão reunidos na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros termodinâmicos calculados para o sistema GLI:HP- β -CD em 37, 47 e 57 °C.

Sistema GLI:HP-β-CD				
T (°C)	K_a	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	$T\Delta S^\circ$ (kJ.mol ⁻¹)
37	151,75	-12,95	-23,74	-10,79
47	56,81	-10,75	-23,74	-12,99
57	88,16	-12,29	-23,74	-11,44

Do mesmo modo como explicado na seção 3.1.1 deste capítulo, considera-se o valor de ΔH° como sendo o mesmo para as três temperaturas, sendo neste caso igual a $-23,74 \text{ kJ.mol}^{-1}$. Este valor foi extraído por meio do coeficiente angular obtido na relação gráfica do logaritmo natural (ln) de K_a em função do inverso da temperatura ($1/T$), exposta na Figura 23.

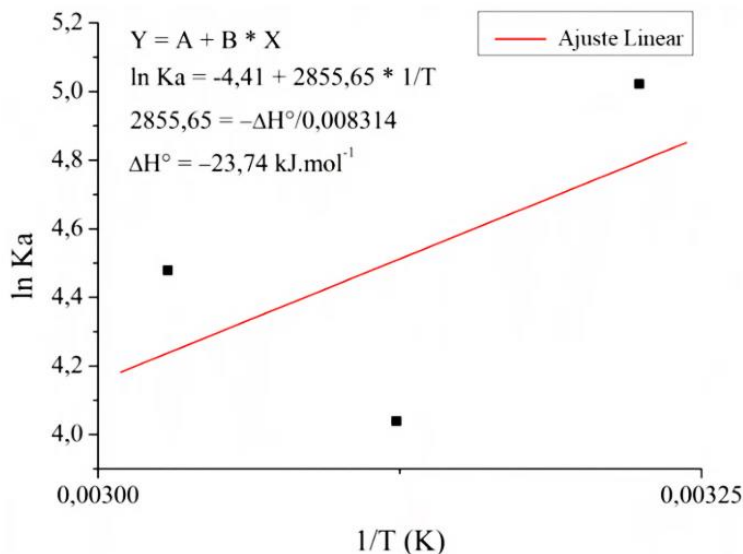


Figura 23 – Relação gráfica entre $\ln K_a$ e $1/T$ para o sistema GLI:HP- β -CD. Com $R^2 = 0,566$.

A partir dos dados descritos na Tabela 7, nota-se que, de 37 para 47 °C, há uma expressiva diminuição nos valores de K_a , enquanto de 47 para 57 °C, esse valor aumenta. Isso pode ser explicado pela presença, nos diagramas apresentados nas Figuras 21 e 22, de desvios-padrão relativamente maiores em determinadas concentrações, os quais influenciam na inclinação da reta, no valor de K_a e na variação de entalpia.

Essa influência pode ser observada na Figura 23, a qual apresenta a relação gráfica entre o $\ln K_a$ e o inverso da temperatura ($1/T$), de modo que o ponto em 47 °C está mais distante do que os pontos em 37 e 57 °C e conseqüentemente, essa relação não apresenta linearidade. Porém, o ajuste linear realizado tem como finalidade a determinação da variação de entalpia (ΔH°) do sistema.

Como exposto anteriormente, o sistema GLI:HP- β -CD apresentou um diagrama de solubilidade de fase do tipo A_L , estando em consonância com o diagrama e o perfil obtidos por Sharma e colaboradores (2011). Por outro lado, os autores citados, não expuseram curvas com médias, desvios padrão e cálculos referentes aos parâmetros termodinâmicos, diferentemente

deste trabalho no qual se realizaram triplicatas para determinar a concentração do fármaco em solução e foi possível calcular os valores de ΔG° , $T\Delta S^\circ$ e ΔH° deste sistema. No trabalho referido, os autores obtiveram um valor de K_a igual a 183,76 a 25 °C, o qual é maior do que os valores obtidos neste trabalho.

Conforme os resultados expostos na Tabela 7, pode-se inferir que a afinidade entre GLI e HP- β -CD diminui à medida que a temperatura aumenta, visto que os baixos valores de K_a obtidos indicam uma menor concentração do sistema formado comparado às espécies livres em solução. Além disso, também indicam certa influência da temperatura no processo de formação do composto de inclusão, assim como observado para o sistema GLI: β -CD.

Os valores de K_a obtidos neste trabalho podem ser considerados pequenos quando comparados a outros sistemas supramoleculares com CDs relatados na literatura, assim como observado para o sistema β -CD (DENADAI et al., 2007; JAMBHEKAR; BREEN, 2016). Apesar disso, pode-se entender que o processo de formação deste sistema foi espontâneo visto que em todas as temperaturas foram observados valores negativos de ΔG° . Ao analisar os valores de $T\Delta S^\circ$ e ΔH° , verifica-se que o processo de formação do sistema GLI:HP- β -CD é favorecido entalpicamente, devido a contribuição do termo entálpico ser maior que a contribuição entrópica ($|\Delta H^\circ| > |T\Delta S^\circ|$).

Assim como observado no sistema GLI: β -CD, ao apresentar maior contribuição entálpica, pode-se entender que o composto de inclusão GLI:HP- β -CD é formado a partir da saída de moléculas de água do interior da cavidade da HP- β -CD, seguida da formação de interações não covalentes mais estáveis entre GLI e HP- β -CD em solução. Além disso, com base nos valores negativos dos termos entrópicos pode-se inferir que o composto GLI:HP- β -CD exibe uma maior rigidez estrutural quando comparado às espécies livres, uma vez que valores negativos de entropia significam um aumento no grau de ordenação do sistema, o que em sistemas supramoleculares pode estar relacionada à redução na liberdade conformacional e mobilidade molecular e/ou no aumento do grau de solvatação.

Embora exista a calorimetria de titulação isotérmica, a qual é uma técnica amplamente empregada para investigar de fato a termodinâmica do processo de formação de sistemas supramoleculares, neste estudo não foi possível aplicá-la devido à baixa solubilidade do fármaco em água. Ao comparar os dois sistemas, pode-se verificar que a afinidade entre GLI e β -CD é maior que a afinidade entre GLI e HP- β -CD, uma vez que os valores de K_a para o sistema

GLI: β -CD são maiores do que àqueles para o sistema GLI:HP- β -CD. Por outro lado, comparando os valores de entalpia, verifica-se que o sistema GLI:HP- β -CD exibe maior ΔH° , ou seja, é mais exotérmico do que o sistema GLI: β -CD, sugerindo que as interações entre o fármaco e a HP- β -CD são mais estáveis do que as interações entre GLI e β -CD. Desse modo, outras técnicas analíticas fazem-se necessárias para avaliar e caracterizar os sistemas formados.

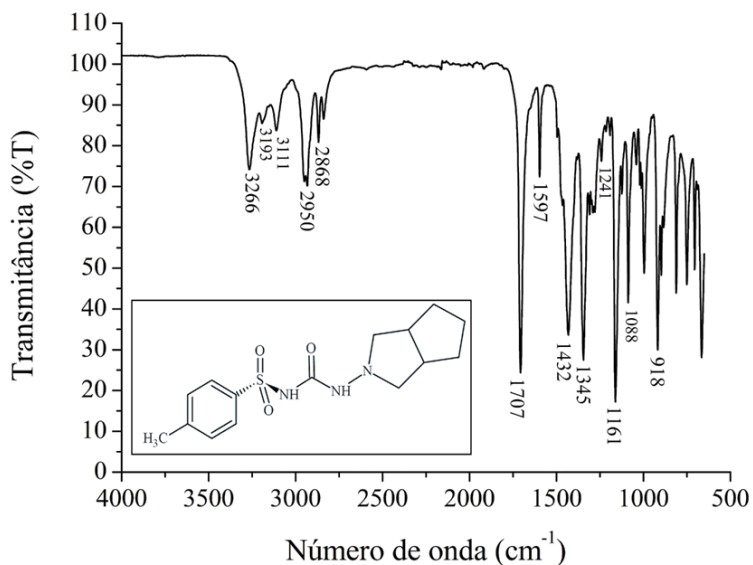
3.2 Caracterização dos compostos de inclusão

3.2.1 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho

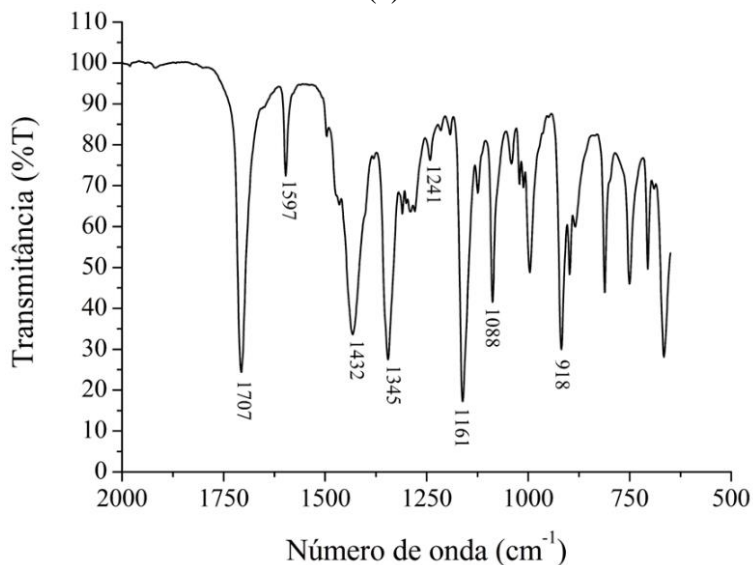
Os compostos de inclusão obtidos pelo método de liofilização e as misturas mecânicas foram analisados por espectroscopia vibracional na região do infravermelho. Quando aplicada à análise de compostos de inclusão, esta técnica fornece informações sobre os modos vibracionais das moléculas hóspedes, hospedeiras e nos sistemas hóspede-hospedeiros estudados.

A partir dos espectros obtidos pode-se verificar perturbações nos modos vibracionais, como deslocamentos, desaparecimentos, alargamentos e/ou variações de intensidade das bandas, e desse modo pode-se fornecer indícios sobre as possíveis interações entre as moléculas hóspedes e hospedeiras. Agregado ao FTIR, o acessório ATR apresenta rápida amostragem, isto é, as amostras podem ser colocadas diretamente sob o cristal sem um preparo prévio, além disso as amostras não são destruídas durante o processo de análise (MURA, 2015).

Os espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR para o fármaco GLI e para as moléculas hospedeiras livres, β -CD e HP- β -CD, estão expostos nas Figuras 24, 25 e 26, respectivamente. O espectro da GLI foi dividido em duas partes, Figuras 24a e 24b, para que se possa ter uma melhor visualização das bandas presentes na região entre 2000 e 650 cm^{-1} . A partir dos espectros obtidos foram atribuídos os principais modos vibracionais da GLI, β -CD e HP- β -CD.



(a)



(b)

Figura 24 – (a): Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para o fármaco GLI. (b): Expansão do espectro na faixa de 2000 a 650 cm⁻¹.

Para o fármaco GLI, as bandas características foram observadas e atribuídas aos seguintes modos vibracionais: em 3266 e 3193 cm⁻¹ tem-se o estiramento (ν) (N–H) referente às amidas secundárias do grupo sulfonilureia; em 3111 cm⁻¹ tem-se o ν (C–H) presente no anel aromático; de 2950 a 2868 cm⁻¹ tem-se o ν (C–H) alifático pertencente ao anel azabiciclooctil; em 1707 cm⁻¹ tem-se o ν (C=O) referente ao grupo carbonila; em 1597 cm⁻¹ tem-se a deformação angular (δ) (N–H) referente às amidas secundárias do grupo sulfonilureia; em 1432 cm⁻¹ tem-se o ν (C=C)

pertencente ao anel aromático; em 1345 cm^{-1} tem-se $\nu(\text{S}=\text{O})$ assimétrico; em 1241 cm^{-1} tem-se o $\nu(\text{C}-\text{N})$ pertencente ao anel azabicyclooctil; em 1161 cm^{-1} tem-se o $\nu(\text{S}=\text{O})$ simétrico; em 1088 cm^{-1} tem-se o $\nu(\text{SO}_2)$ e por fim em 918 cm^{-1} tem-se $\nu(\text{C}-\text{C})$ e $\delta(\text{C}-\text{C}-\text{N}-\text{C})$ referente ao anel azabicyclooctil. Essas atribuições estão destacadas nas Figuras 24a e 24b e estão de acordo com os dados prévios publicados na literatura (AL-OMARY, 2017; ÖZKAN et al., 2000; PANDA et al., 2021).

Para β -CD, as bandas características foram atribuídas aos seguintes modos vibracionais: em 3298 cm^{-1} tem-se o $\nu(\text{O}-\text{H})$ referente aos grupos hidroxilas; em 2925 cm^{-1} tem-se o $\nu(\text{C}-\text{H})$; de 1412 a 1205 cm^{-1} tem-se a $\delta(\text{C}-\text{H})$; e em 1021 cm^{-1} tem-se $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ cíclico presente nos grupos glicosídicos. Tanto as atribuições para β -CD quanto para HP- β -CD estão destacadas nos espectros apresentados nas Figuras 25 e 26, respectivamente, e estão de acordo com os dados prévios publicados na literatura (DE PAULA et al., 2012; EGYED, 1990; MEIRA et al., 2018).

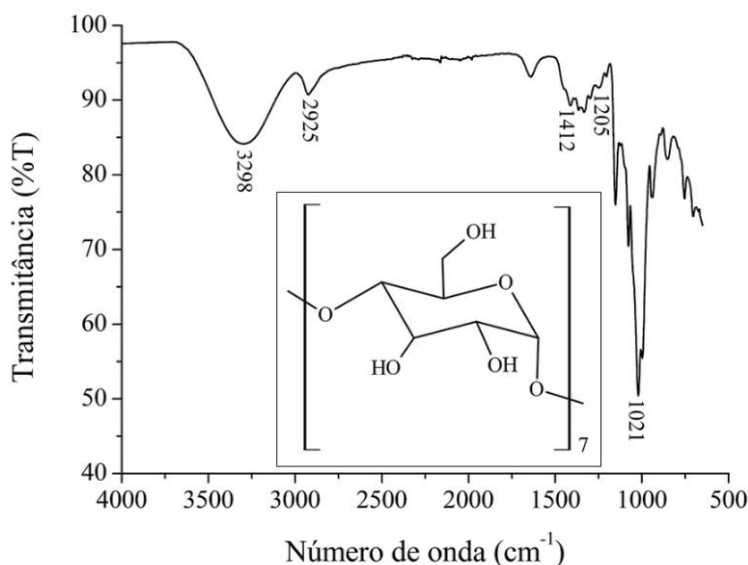


Figura 25 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para a β -CD, representada pelo monômero de glicose.

A HP- β -CD é uma β -CD modificada, apresentando em sua estrutura grupos hidroxipropil que substituem os hidrogênios das hidroxilas do C2, C3 e/ou C6, o que resulta em espectros de absorção na região do infravermelho semelhantes para ambas. Contudo, o espectro da HP- β -CD tem como diferença a presença de mais bandas atribuídas aos $\nu(\text{C}-\text{H})$ em decorrência dos grupos hidroxipropil, quando comparado com o espectro da β -CD. Para HP- β -CD, as bandas

características foram atribuídas aos seguintes modos vibracionais: em 3349 cm^{-1} tem-se o $\nu(\text{O-H})$ referente aos grupos hidroxilas; de 2972 a 2927 cm^{-1} tem-se $\nu(\text{C-H})$; de 1408 a 1209 cm^{-1} tem-se a $\delta(\text{C-H})$; e por fim em 1011 cm^{-1} tem-se o $\nu(\text{C-O-C})$ cíclico presente nos grupos glicosídicos.

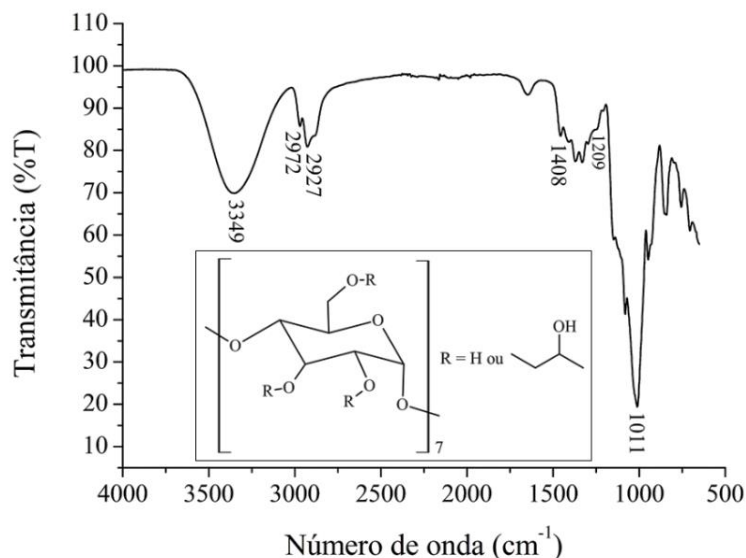


Figura 26 – Espectro de absorção na região do infravermelho obtido por FTIR-ATR para a HP-β-CD, representada pelo monômero de glicose e R igual a hidrogênio ou ao grupo hidroxipropil.

Após atribuídos os principais modos vibracionais de cada uma das moléculas livres, realizaram-se comparações qualitativas entre os espectros apresentados acima e os respectivos espectros dos compostos de inclusão (CI GLI:β-CD e CI GLI:HP-β-CD) e das misturas mecânicas (MM(GLI:β-CD) e MM(GLI:HP-β-CD)) nas devidas proporções molares 1:1, 1:2 e 2:1. Estas comparações qualitativas entre os espectros se tornam úteis para verificar possíveis perturbações nos modos vibracionais das moléculas livres (hóspede e hospedeira), que podem sugerir possíveis interações entre essas espécies.

3.2.1.1 Sistema GLI:β-CD

Os espectros de absorção na região do infravermelho do composto de inclusão (CI GLI:β-CD) e da mistura mecânica (MM(GLI:β-CD)), na proporção 1:1, estão dispostos nas Figuras 27a e 27b, respectivamente.

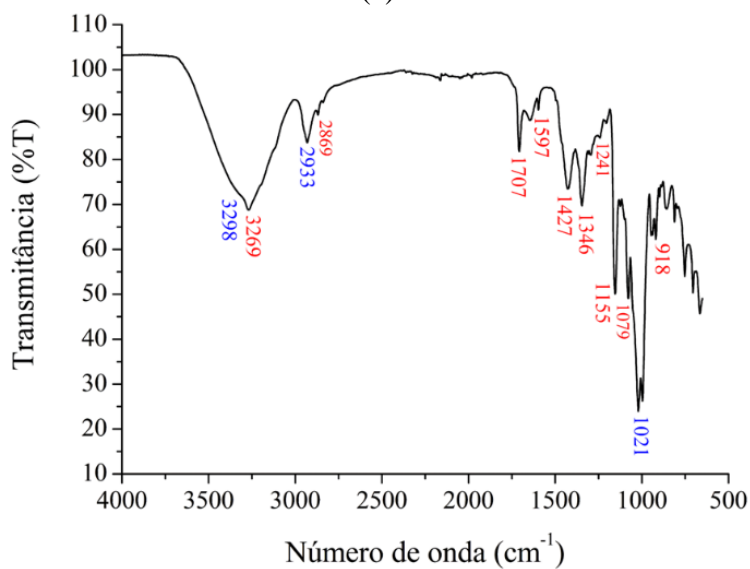
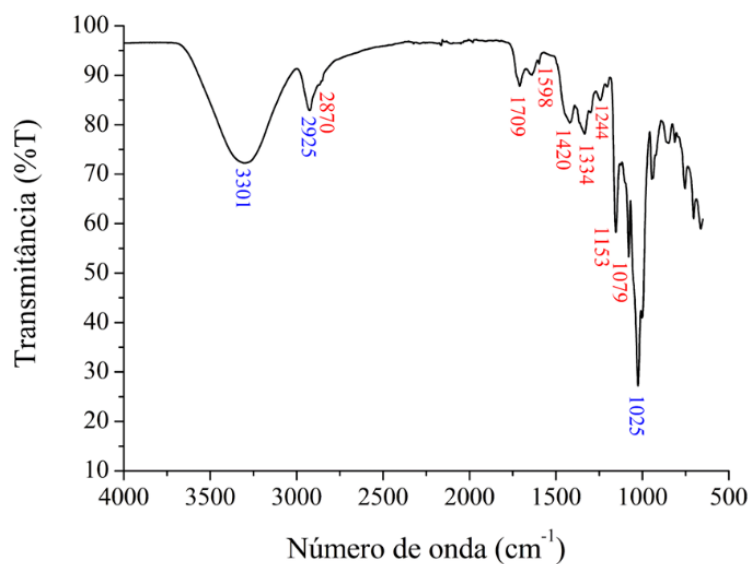
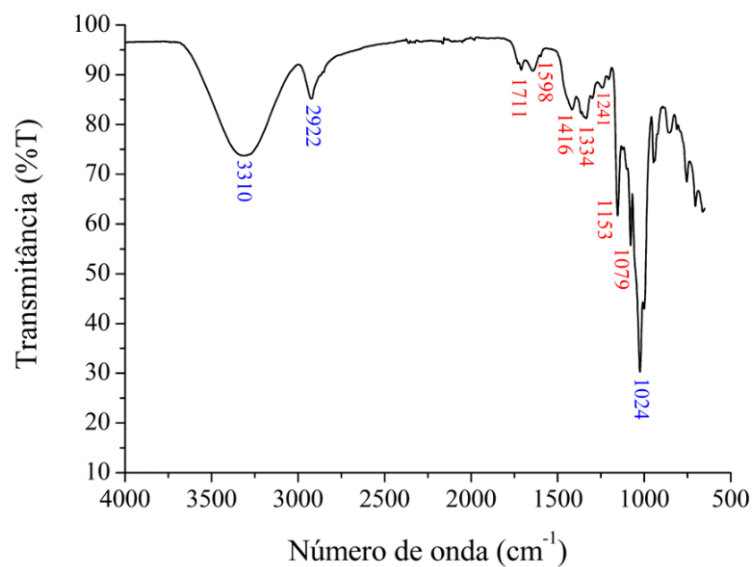


Figura 27 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:β-CD; (b) da MM(GLI:β-CD) na proporção 1:1. Os valores dos modos vibracionais do fármaco e da β-CD estão destacados em vermelho e azul, respectivamente.

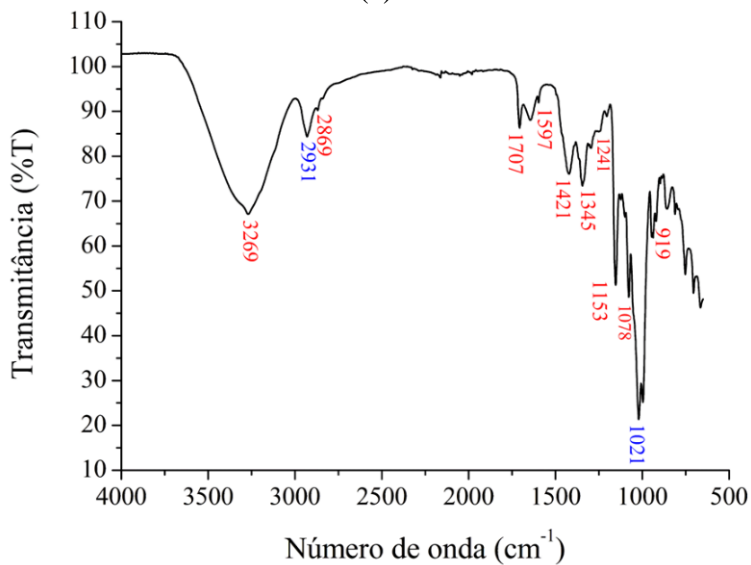
Em ambos os espectros são observadas bandas características do fármaco GLI e da β -CD. Entretanto, no espectro do CI pode-se destacar o desaparecimento da banda em 918 cm^{-1} , referente ao estiramento e a deformação angular das ligações C–C e C–C–N–C, respectivamente, que constituem o anel azabicyclooctil. Além disso, ocorre um deslocamento da banda de 1345 para 1334 cm^{-1} atribuída ao estiramento assimétrico da ligação S=O. Por outro lado, no espectro da MM essas perturbações supracitadas não foram observadas.

Tanto o desaparecimento quanto o deslocamento das bandas, indicam que os modos vibracionais citados estão sendo afetados pela β -CD, devido ao novo ambiente químico proporcionado por esta CD ao fármaco. Desse modo, esses resultados podem sugerir indícios de que o anel azabicyclooctil e a ligação S=O da GLI estejam interagindo com a β -CD.

No que se refere ao CI GLI: β -CD e à MM(GLI: β -CD), na proporção 1:2, os espectros de absorção na região do infravermelho estão expostos nas Figuras 28a e 28b, respectivamente.



(a)



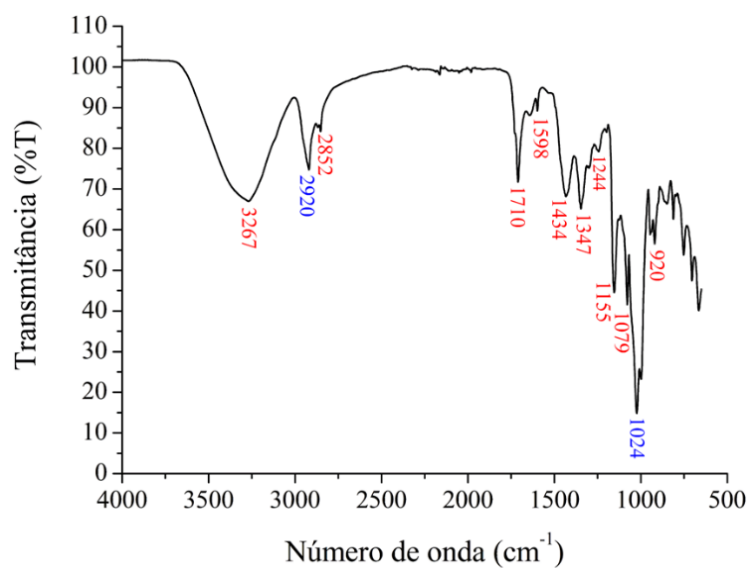
(b)

Figura 28 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:β-CD; (b) da MM(GLI:β-CD) na proporção 1:2. Os valores dos modos vibracionais do fármaco e da β-CD estão destacados em vermelho e azul, respectivamente.

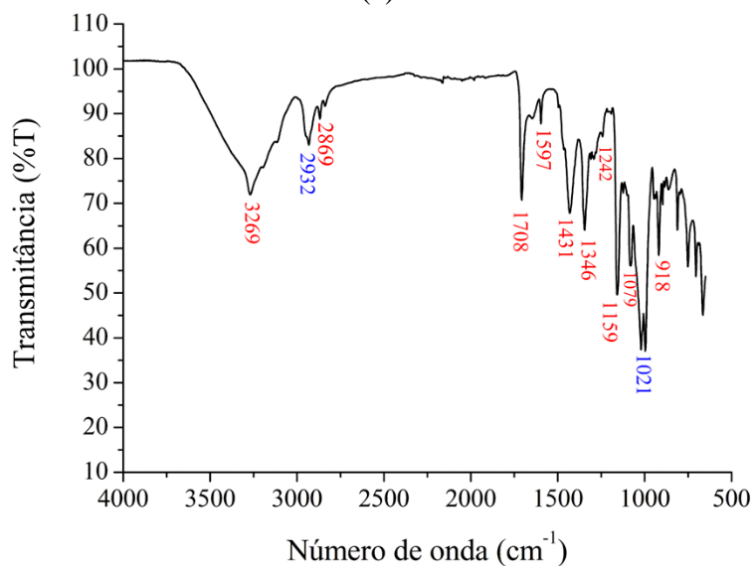
Neste caso, foi possível averiguar que o CI GLI:β-CD na proporção 1:2 apresentou as mesmas alterações mencionadas no espectro do composto 1:1. Isto significa que ocorreu o desaparecimento da banda na região de 918 cm^{-1} e o deslocamento da banda em 1345 para 1334 cm^{-1} , referentes aos modos vibracionais do anel azabicyclooctil e da ligação S=O, respectivamente. Desse modo, esse sistema dispõe das mesmas explicações dadas anteriormente

para o sistema 1:1. Entretanto, como esse sistema apresenta proporção 1:2, pode-se sugerir a possibilidade de, simultaneamente, uma molécula de β -CD estar interagindo com a ligação S=O e uma outra molécula de β -CD estar interagindo com o anel azabiciclooctil.

Por fim, os espectros de absorção na região do infravermelho do CI GLI: β -CD e da MM(GLI: β -CD), na proporção 2:1, estão dispostos nas Figuras 29a e 29b, respectivamente.



(a)



(b)

Figura 29 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI: β -CD; (b) da MM(GLI: β -CD) na proporção 2:1. Os modos vibracionais do fármaco e da β -CD estão destacados em vermelho e em azul, respectivamente.

Tanto no espectro do composto de inclusão, quanto no espectro da mistura mecânica, tem-se a presença de bandas características do fármaco GLI e da β -CD. No entanto, diferente dos outros sistemas apresentados anteriormente, este espectro exibiu somente o deslocamento da banda em 2868 para 2852 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-H alifático do anel azabicciclooctil, enquanto no espectro da mistura mecânica esse deslocamento não ocorreu. O deslocamento dessa banda indica que o modo vibracional citado está sendo afetado pela β -CD, devido ao novo ambiente químico proporcionado por esta CD ao fármaco, sugerindo assim possíveis interações entre as espécies envolvendo essa região da molécula do fármaco.

Com base nesses resultados obtidos por FTIR-ATR, pode-se propor as estruturas dos sistemas supramoleculares GLI: β -CD 1:1, 1:2 e 2:1, as quais estão exibidas na Figura 30. Entretanto, vale destacar que esta técnica não confirma a formação dos compostos de inclusão, uma vez que ela investiga os modos vibracionais das moléculas (estiramentos, ângulos e torções), enquanto o fenômeno da inclusão envolve interações não covalentes entre as espécies. Portanto, quando se estuda sistemas envolvendo ciclodextrinas é importante confirmar a inclusão e as estruturas dos compostos formados.

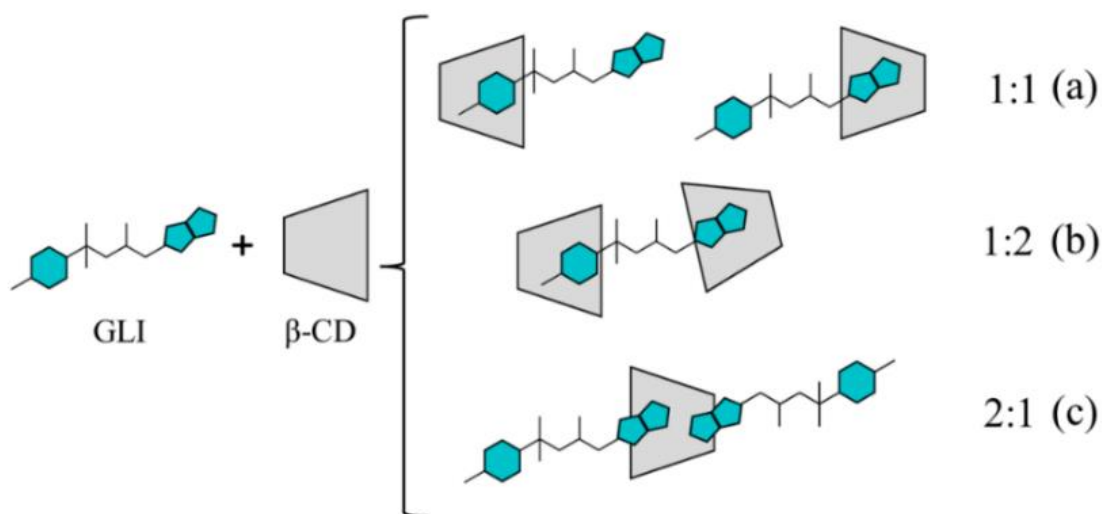


Figura 30 - Estruturas propostas para os sistemas GLI: β -CD 1:1, 1:2 e 2:1, a partir dos dados de FTIR-ATR.

3.2.1.2 Sistema GLI:HP- β -CD

Os espectros de absorção na região do infravermelho do composto de inclusão (GLI:HP- β -CD) e da mistura mecânica (MM(GLI:HP- β -CD)), na proporção 1:1, estão dispostos nas Figuras 31a e 31b, respectivamente. Os valores destacados em vermelho são referentes às bandas atribuídas ao fármaco e em azul são referentes às bandas atribuídas a HP- β -CD.

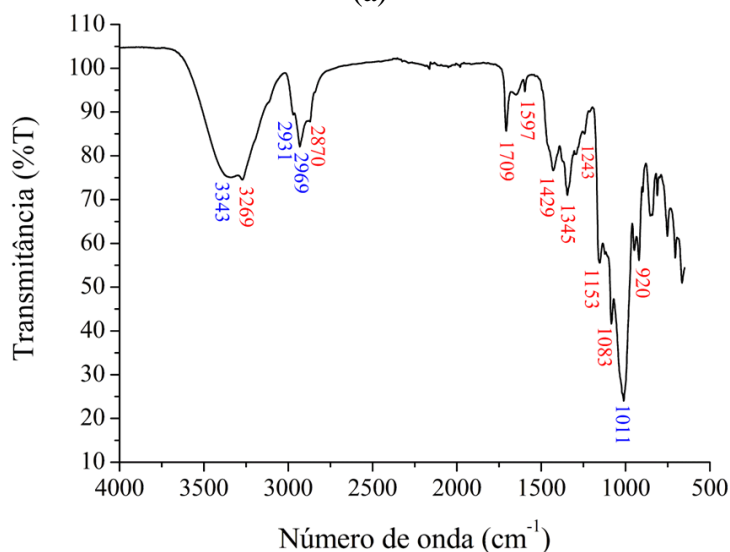
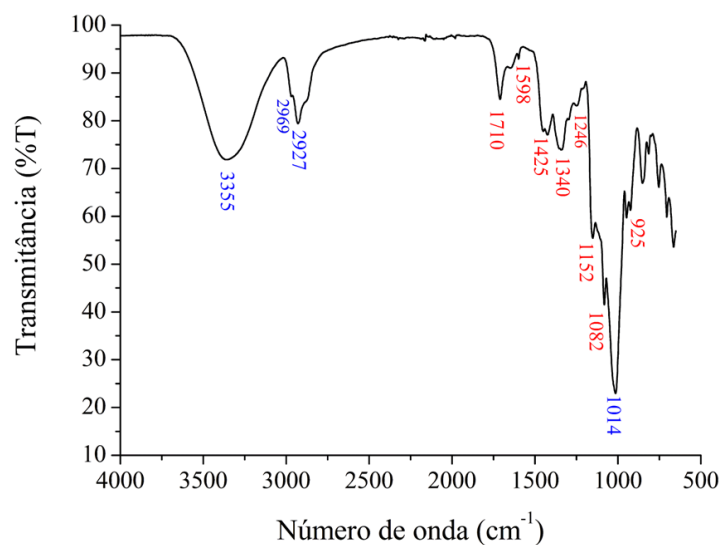
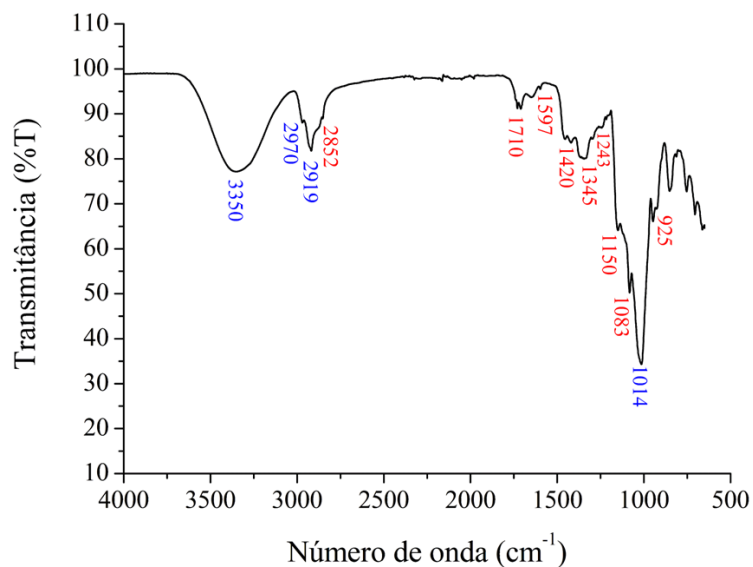


Figura 31 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:HP- β -CD; (b) da MM(GLI:HP- β -CD) na proporção 1:1. Os modos vibracionais do fármaco e da HP- β -CD estão destacados em vermelho e em azul, respectivamente.

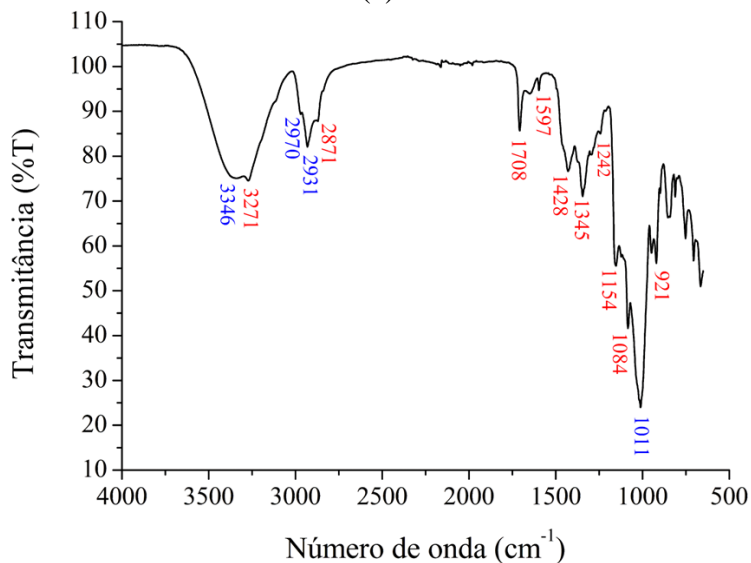
Observa-se que ambos os espectros exibem bandas características do fármaco GLI e da HP- β -CD. Entretanto, no espectro do composto de inclusão houve um desaparecimento da banda em 2868 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-H alifático presente no anel azabicyclooctil, enquanto no espectro da mistura mecânica essa banda continua aparente.

Nesse caso, o desaparecimento dessa banda, indica que este modo vibracional citado está sendo afetado pela HP- β -CD, devido ao novo ambiente químico proporcionado por esta CD ao fármaco. Portanto, esses resultados podem sugerir indícios de que o anel azabicyclooctil da GLI esteja interagindo com a HP- β -CD.

Seguindo com as análises, os espectros de absorção na região do infravermelho do composto de inclusão (CI GLI:HP- β -CD) e da mistura mecânica (MM(GLI:HP- β -CD)), na proporção 1:2, são exibidos nas Figuras 32a e 32b, respectivamente.



(a)



(b)

Figura 32 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do CI GLI:HP- β -CD; (b) da MM(GLI:HP- β -CD) na proporção 1:2. Os modos vibracionais do fármaco e da HP- β -CD estão destacados em vermelho e em azul, respectivamente.

Em ambos os espectros tem-se a presença das bandas características do fármaco GLI e da HP- β -CD, contudo o espectro do composto de inclusão apresenta deslocamentos de determinadas bandas diferentemente do espectro da mistura mecânica que não exibe essas perturbações.

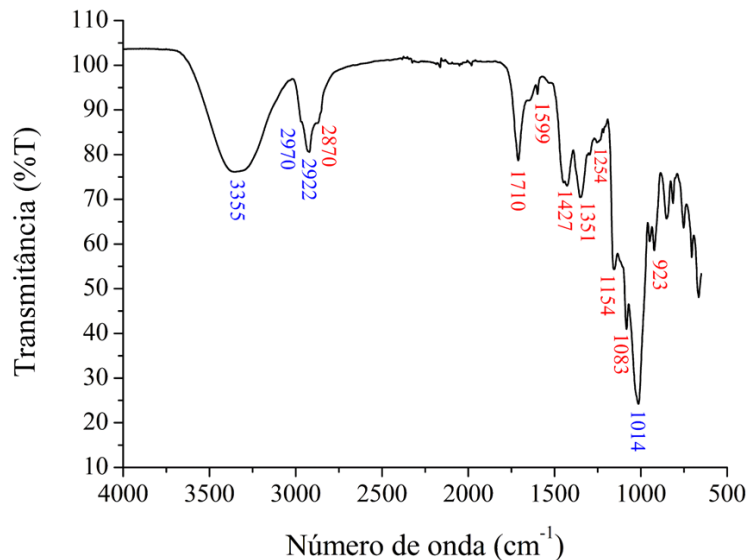
Primeiramente, tem-se o deslocamento da banda em 2868 para 2852 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-H alifático do anel azabicyclooctil, como também tem-se o

deslocamento da banda em 1432 para 1420 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=C presente no anel aromático, ambos pertencentes ao fármaco GLI.

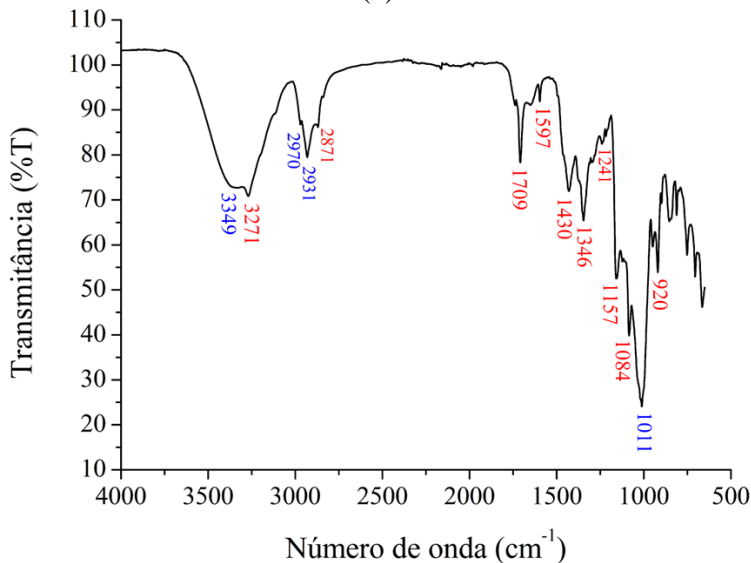
Os deslocamentos dessas bandas indicam que os modos vibracionais citados estão sendo afetados pela HP- β -CD, como resultado do novo ambiente químico proporcionado por esta CD ao fármaco. Desse modo, esses resultados podem sugerir indícios de que o anel azabicyclooctil e a ligação C=C da GLI estejam interagindo com a HP- β -CD. Como esse sistema apresenta proporção 1:2, pode-se sugerir a possibilidade de, simultaneamente, uma molécula de HP- β -CD estar interagindo com o anel aromático e uma outra molécula de HP- β -CD estar interagindo com o anel azabicyclooctil, como ilustrado na Figura 34b.

Por fim, os espectros de absorção na região do infravermelho do composto de inclusão (GLI:HP- β -CD) e da mistura mecânica (MM(GLI:HP- β -CD)), na proporção 2:1, estão apresentados nas Figuras 33a e 33b, respectivamente.

Como descrito nos sistemas anteriores, em ambos os espectros há a presença de bandas características do fármaco GLI e da HP- β -CD. Entretanto, o espectro do composto de inclusão exibe um deslocamento da banda em 1241 para 1254 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C-N presente no anel azabicyclooctil, ao contrário do espectro da mistura mecânica que não apresentou essa alteração. O deslocamento dessa banda indica que este modo vibracional citado está sendo afetado pela HP- β -CD, devido ao novo ambiente químico proporcionado por esta CD ao fármaco. Assim sendo, esses resultados podem sugerir indícios de que o anel azabicyclooctil esteja interagindo com a HP- β -CD.



(a)



(b)

Figura 33 – Espectros de absorção na região do infravermelho obtidos por FTIR-ATR: (a) do composto de inclusão (CI) GLI:HP-β-CD; (b) da mistura mecânica (MM(GLI:HP-β-CD)) na proporção 2:1. Os modos vibracionais do fármaco e da HP-β-CD estão destacados em vermelho e em azul, respectivamente.

Analisando, de uma forma geral, os resultados obtidos e descritos nesta seção para os sistemas GLI:β-CD e GLI:HP-β-CD nas devidas proporções molares (1:1, 1:2 e 2:1), pode-se inferir que a técnica de FTIR colaborou para a caracterização dos compostos de inclusão no estado sólido, como descrito na literatura, ao fornecer informações referentes às perturbações dos

modos vibracionais envolvidos em cada sistema (DE PAULA et al., 2012). Com base nesses resultados obtidos por FTIR-ATR, pode-se propor as estruturas supramoleculares dos sistemas GLI:HP- β -CD 1:1, 1:2 e 2:1, as quais estão exibidas na Figura 34.

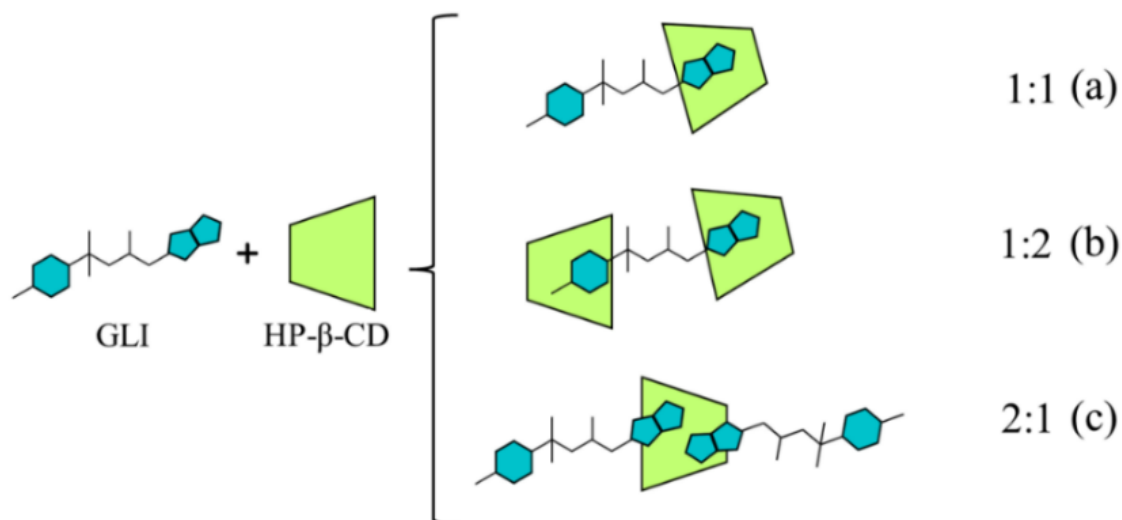


Figura 34 - Estruturas propostas para os sistemas GLI:HP- β -CD 1:1, 1:2 e 2:1, a partir dos dados de FTIR-ATR.

Todavia, para se ter uma completa discussão e compreensão do fenômeno de inclusão, bem como evidenciar a formação dos compostos de inclusão, outras técnicas analíticas se fazem necessárias, uma vez que os sistemas supramoleculares estudados se baseiam em interações intermoleculares fracas e a técnica de FTIR não é sensível o suficiente para detectar as modificações do sistema com precisão e comprovar a inclusão do fármaco, uma vez que ela analisa unicamente os modos vibracionais das moléculas, fornecendo indícios de possíveis interações entre as espécies (MURA, 2015).

3.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das técnicas analíticas mais úteis e robustas para esclarecer a estrutura química dos sistemas formados por CDs. Esta técnica fornece informações precisas sobre a dinâmica molecular entre a espécie hóspede e as CDs, seja no estado sólido ou em solução. A partir dos experimentos uni e bidimensionais

presentes nessa técnica, pode-se investigar como os grupos constituintes da molécula hóspede estão interagindo com as CDs, principalmente com suas cavidades e deste modo, evidenciar a formação dos compostos de inclusão (FORGO; VINCZE; KÖVÉR, 2003; IMTIAZ; MUZAFFAR; ALI, 2021; MURA, 2014; SCHNEIDER et al., 1998).

Referente às moléculas das CDs investigadas, Schneider e colaboradores (1998) atribui e detalha os sinais de hidrogênios dessas espécies em diferentes solventes, não sendo necessária a discussão dos espectros de RMN ^1H . Considerando os experimentos de RMN ^1H para a β -CD a 400 MHz e utilizando DMSO- d_6 como solvente, os autores atribuíram que os sinais dos hidrogênios H3, H5 e H6, apresentam deslocamentos químicos (δ) próximos de 3,64; 3,59 e 3,64 ppm, respectivamente. Os demais hidrogênios, H1, H2 e H4, apresentam valores próximos de 4,82; 3,29 e 3,34, respectivamente.

Por outro lado, para a HP- β -CD, os experimentos de Hao e colaboradores (2021) atribuem os sinais dos hidrogênios H1, H2, H3, H4, H5 e H6 apresentando δ próximos a 4,79, 3,39, 3,70, 3,25, 3,51 e 3,57, respectivamente. As Figuras 35a e 35b ilustram a representação estrutural do monômero glicosídico e o cone truncado da CD com os hidrogênios identificados.

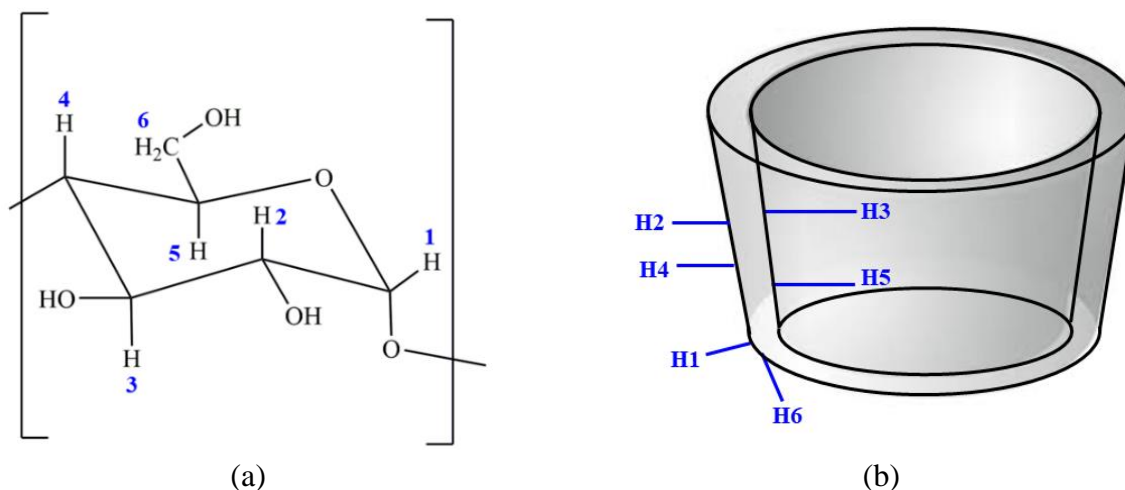


Figura 35 - Representação estrutural: (a) Monômero de glicose da β -CD; (b) Cone truncado.

Ambos estão com a respectiva numeração dos hidrogênios.

Os hidrogênios do fármaco GLI sem a presença de moléculas de CD foram atribuídos com base em uma análise de experimentos unidimensionais de ^1H e bidimensionais de $^1\text{H}/^1\text{H}$ e $^1\text{H}/^{13}\text{C}$. O espectro de RMN ^1H do fármaco, obtido a 600 MHz em CDCl_3 , está exibido na Figura

36. O uso desse solvente se deve a maior capacidade de solubilizar o fármaco em solução, possibilitando a obtenção de um espectro com melhor resolução.

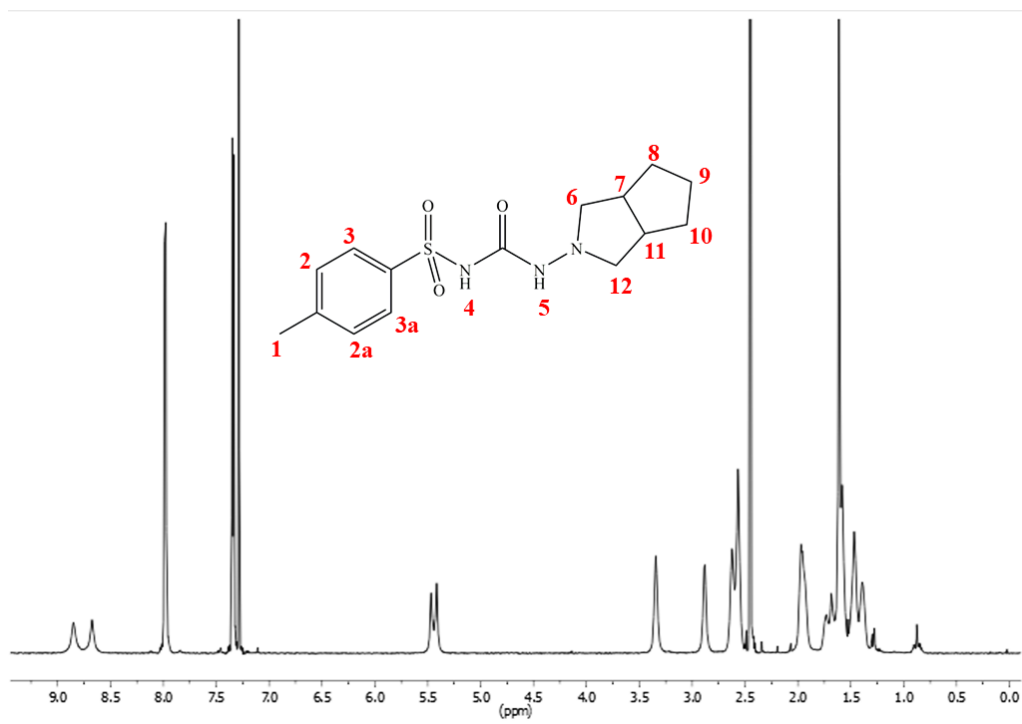


Figura 36 – Espectro de RMN de ¹H da GLI a 600 MHz em CDCl₃.

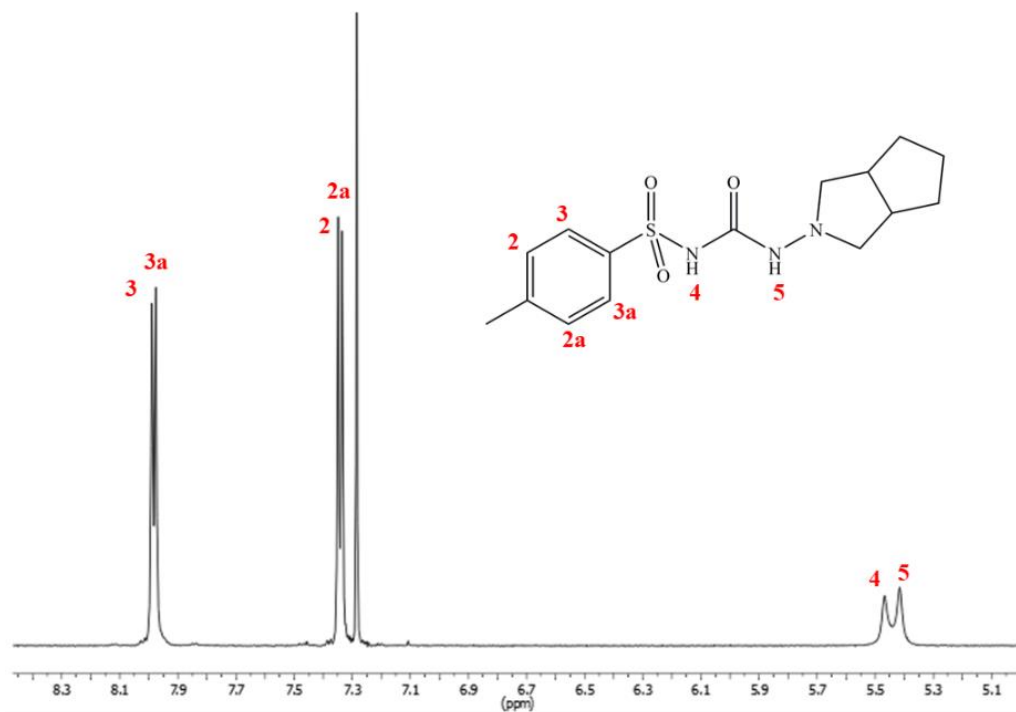


Figura 37 – Expansão do espectro de RMN de ¹H da GLI para a região de δ entre 5,0 a 8,5 ppm.

Para uma visualização mais clara dos sinais de hidrogênio da GLI, o espectro de RMN foi dividido em duas regiões. A primeira expansão foi na região entre 5,0 e 8,5 ppm, enquanto a segunda foi na região entre 1,0 e 3,5 ppm. Essas duas expansões estão apresentadas nas Figuras 37 e 38, respectivamente.

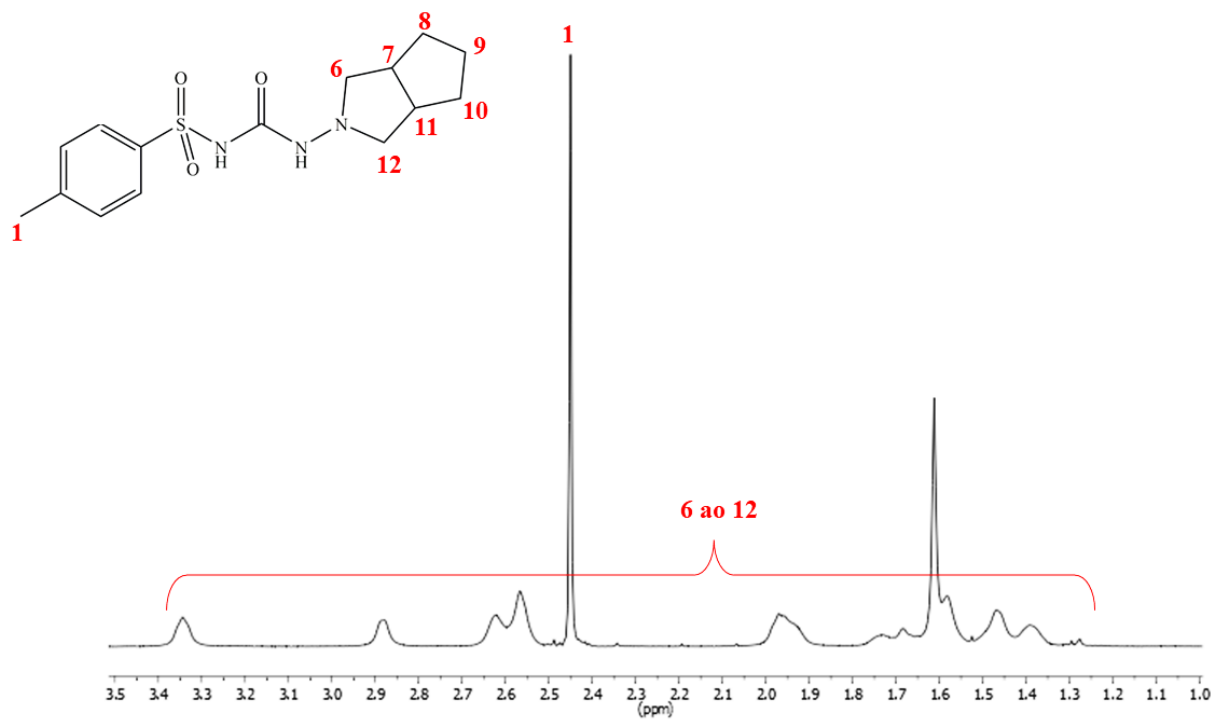


Figura 38 – Expansão do espectro de RMN de ^1H da GLI para a região de δ entre 1,0 a 3,5 ppm.

As atribuições dos sinais dos hidrogênios para o fármaco GLI estão descritas na Tabela 8. Os sinais de hidrogênio observados para a GLI estão de acordo com os sinais relatados na literatura, utilizando o CDCl_3 como solvente (AL-OMARY, 2017; SANTA MARÍA et al., 2009).

Tabela 8 - Valores de deslocamento químico (δ) para os hidrogênios do fármaco GLI, a 600 MHz em CDCl_3 .

Hidrogênios		δ ^1H (ppm)	Hidrogênios		δ ^1H (ppm)
H1	($-\text{CH}_3$)	2,42	H3a	($-\text{CH}$)	7,95
H2	($-\text{CH}$)	7,32	H4	($-\text{NH}$)	5,44
H2a	($-\text{CH}$)	7,31	H5	($-\text{NH}$)	5,39
H3	($-\text{CH}$)	7,96	H6 – H12	($-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}$)	3,31 – 1,36

3.2.2.1. Sistema GLI: β -CD

O espectro de RMN ^1H do composto de inclusão GLI: β -CD de razão molar 1:1 foi obtido a 600 MHz, utilizando DMSO-d_6 como solvente. A mudança no solvente pode ser explicada pelo

fato da β -CD não ser totalmente solubilizada em CDCl_3 , o qual foi utilizado para o fármaco livre. O referido espectro encontra-se exposto na Figura 39 com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio referentes ao fármaco GLI e a β -CD.

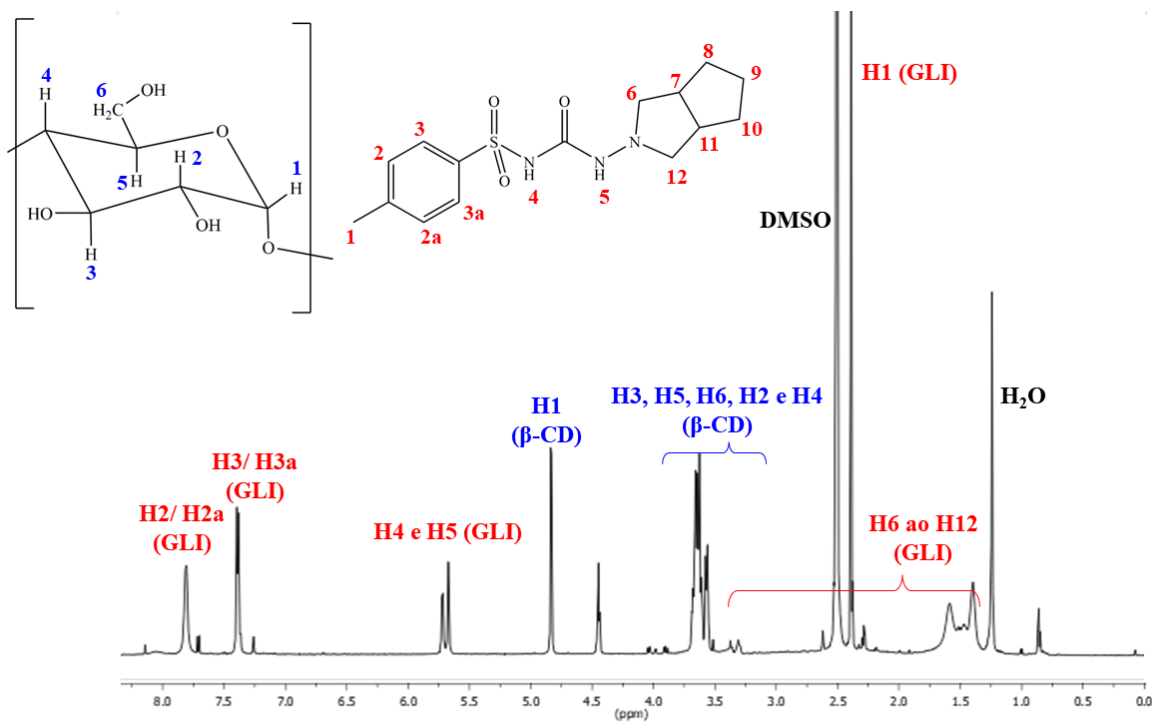


Figura 39 – Espectro de RMN ^1H do composto GLI: β -CD a 600 MHz em DMSO-d_6 com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.

A fim de melhorar a visualização dos sinais, foram realizadas expansões neste espectro entre 4,5 e 8,2, e entre 1,0 e 3,8, as quais se encontram nas Figuras 40 e 41, respectivamente.

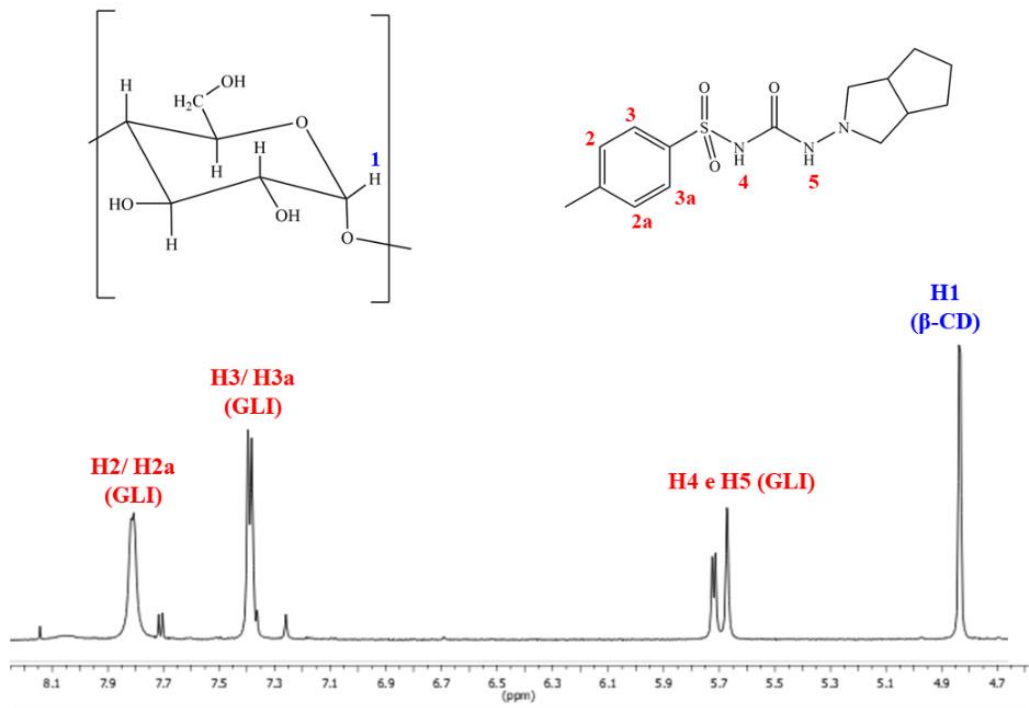


Figura 40 – Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto GLI:β-CD na região de δ entre 4,5 e 8,2 ppm.

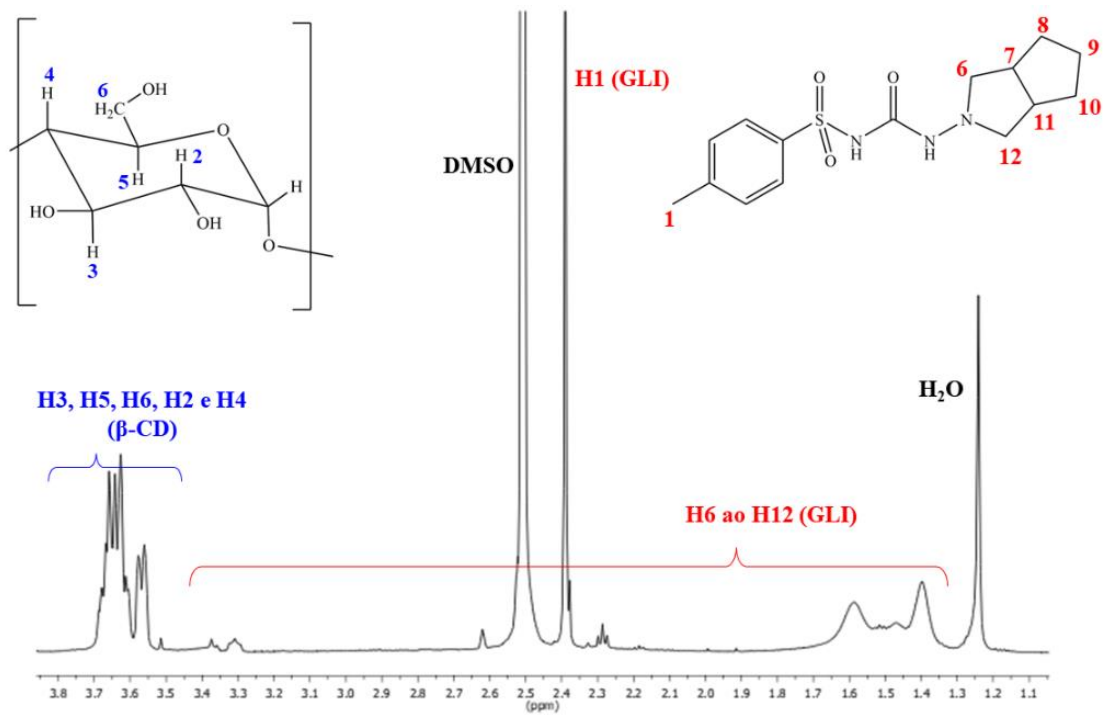


Figura 41 – Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto GLI:β-CD na região de δ entre 1,0 e 3,8 ppm.

Deve-se destacar que os experimentos de RMN ^1H têm sido amplamente empregados para detalhar as estruturas de sistemas supramoleculares. A partir da variação dos δ dos H livres e envolvidos, pode-se confirmar a inclusão das moléculas hóspedes na cavidade das CDs (MURA, 2014; SCHNEIDER et al., 1998).

Neste caso, apesar de não ser possível avaliar a variação dos deslocamentos químicos, devido a mudança no solvente, pode-se destacar a presença dos sinais de hidrogênio do fármaco GLI e da β -CD no espectro de RMN ^1H do composto GLI: β -CD, como ilustrado anteriormente na Figura 39.

A fim de confirmar as correlações espaciais a curta distância entre os hidrogênios da GLI e os hidrogênios da β -CD, foram realizados experimentos 2D ROESY ^1H - ^1H . Esses experimentos se baseiam no Efeito Nuclear Overhauser (NOE), sendo este um fenômeno observado na espectroscopia de RMN. Esses efeitos não se propagam pelas ligações químicas e sim pelo espaço, ocorrendo entre átomos de hidrogênio que estão a curtas distâncias entre si, de 4 a 6 Å. Os experimentos ROESY são bastante úteis e capazes de evidenciar correlações espaciais de estruturas de alta complexidade como proteínas e compostos de inclusão (MURA, 2014; SCHNEIDER et al., 1998). O mapa de correlação espacial do composto GLI: β -CD está exibido na Figura 42.

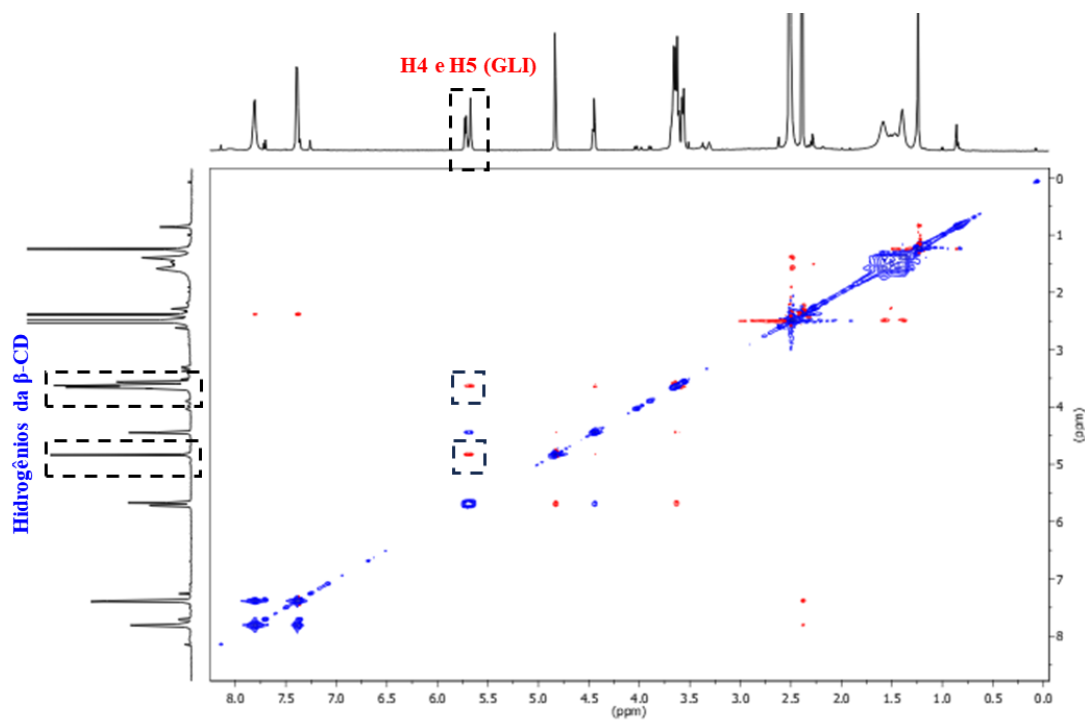


Figura 42 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY ^1H - ^1H do composto de inclusão GLI: β -CD a 600 MHz em DMSO-d_6 , com as respectivas atribuições dos principais sinais de hidrogênio.

No mapa de correlação 2D ROESY foram observadas manchas de correlação a curta distância entre os hidrogênios H4 e H5 dos grupos amidas, destacados em vermelho, pertencentes ao fármaco GLI e os hidrogênios internos da β -CD. Essas correlações indicam que a inclusão do fármaco na cavidade da β -CD ocorre pelas amidas do grupo sulfonilureia do fármaco, confirmando a formação e a estrutura do composto de inclusão GLI: β -CD de razão molar 1:1. Outras correlações menos evidentes foram consideradas ruídos.

Entretanto, as pequenas quantidades e a baixa intensidade das manchas de correlação presentes no mapa demonstram a existência de fracas interações entre as moléculas de GLI e β -CD. É importante destacar que os baixos valores de K_a obtidos nos estudos de solubilidade, corroboram com os resultados destes experimentos de RMN, uma vez que indicam uma menor concentração do composto GLI: β -CD em solução, e desse modo, fracas interações entre as espécies.

3.2.2.2. Sistema GLI:HP-β-CD

O espectro de RMN de ^1H do composto de inclusão GLI:HP-β-CD foi obtido a 600 MHz, em DMSO- d_6 e está apresentado na Figura 43, juntamente com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio da HP-β-CD e do fármaco.

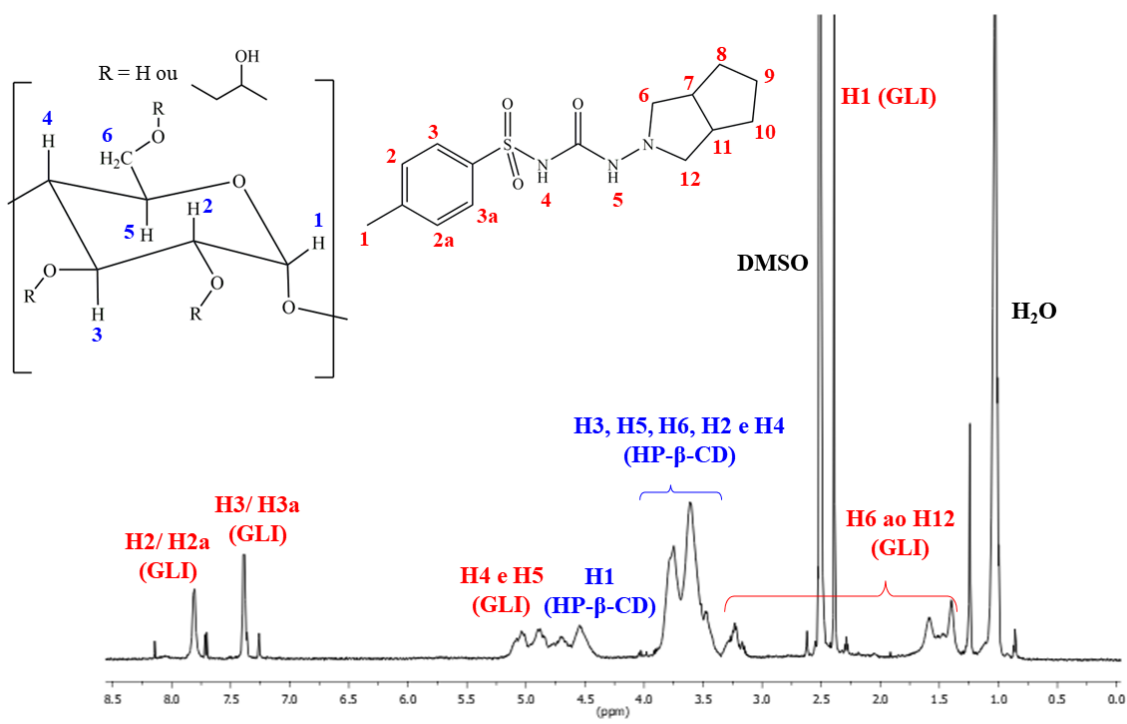


Figura 43 - Espectro de RMN ^1H do composto GLI:HP-β-CD a 600 MHz em DMSO- d_6 com as respectivas atribuições dos sinais de hidrogênio.

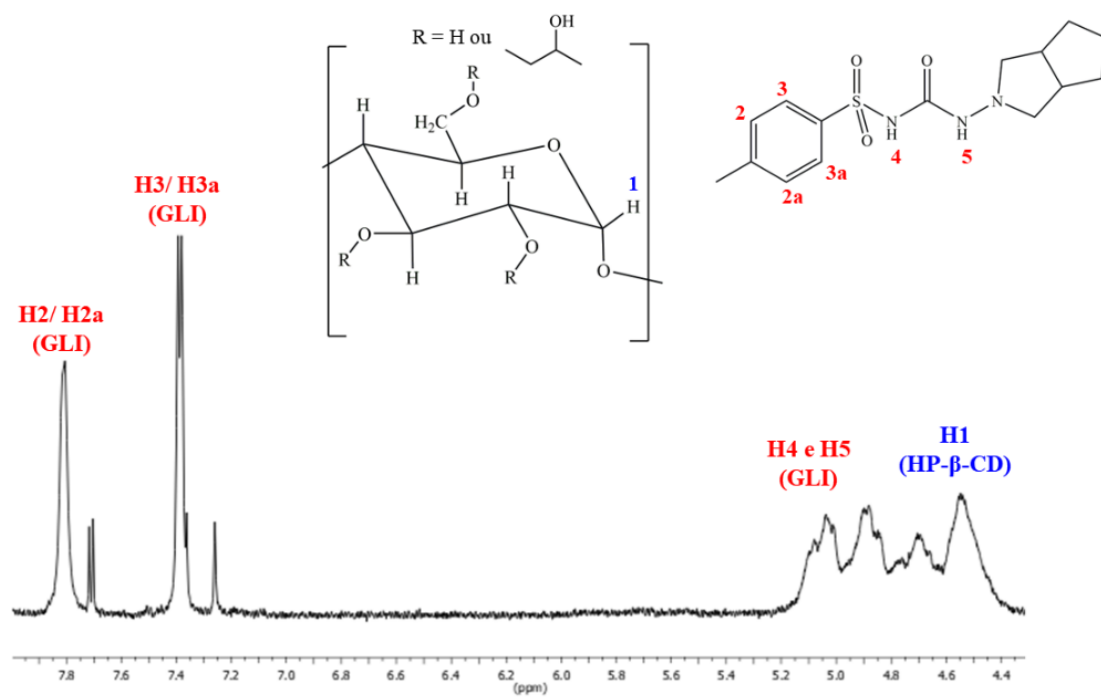


Figura 44 – Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto GLI:HP-β-CD na região de δ entre 4,2 e 8,0 ppm.

Além disso, nas Figuras 44 e 45 são exibidas as expansões desse espectro para uma visualização mais clara dos sinais de hidrogênio.

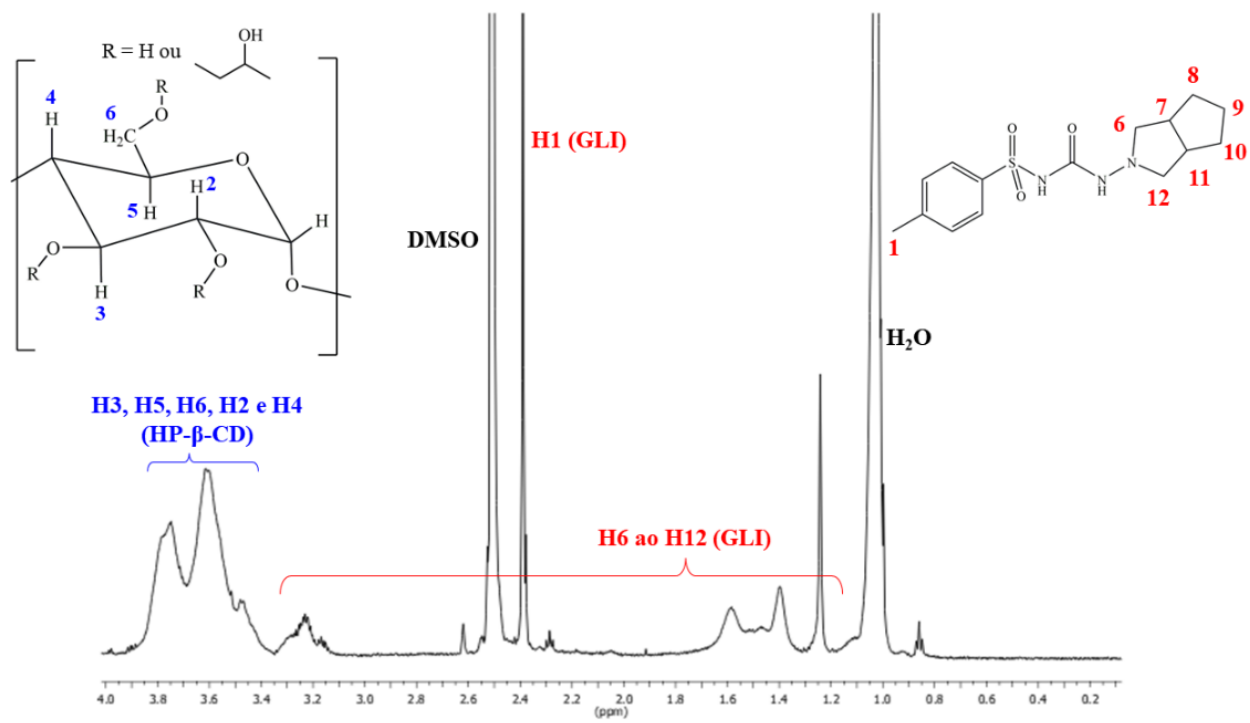


Figura 45 – Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto GLI:HP- β -CD na região de δ entre 0,0 e 4,0 ppm.

Do mesmo modo como descrito anteriormente, devido à baixa solubilização da HP- β -CD em CDCl_3 , fez-se necessária a mudança do solvente para a obtenção de um espectro com maior resolução. Conseqüentemente, conforme discutido para o sistema GLI: β -CD, não foi possível avaliar a variação de δ dos hidrogênios para esse sistema. Contudo, pode-se observar a presença tanto dos sinais de hidrogênios da HP- β -CD quanto da GLI no espectro de RMN ^1H do composto GLI:HP- β -CD.

Além disso, experimentos 2D-ROESY foram realizados, obtendo um mapa de correlação, apresentado na Figura 46, sendo possível analisar a correlação espacial entre os hidrogênios do fármaco GLI e da HP- β -CD. Entretanto, neste caso, não foram constatadas manchas de correlação a curta distância entre os hidrogênios dessas espécies. Desse modo, pode-se inferir que não há interações entre o fármaco e a cavidade da HP- β -CD, formando, provavelmente em solução outro tipo de sistema supramolecular, como por exemplo, um composto de associação GLI:HP- β -CD.

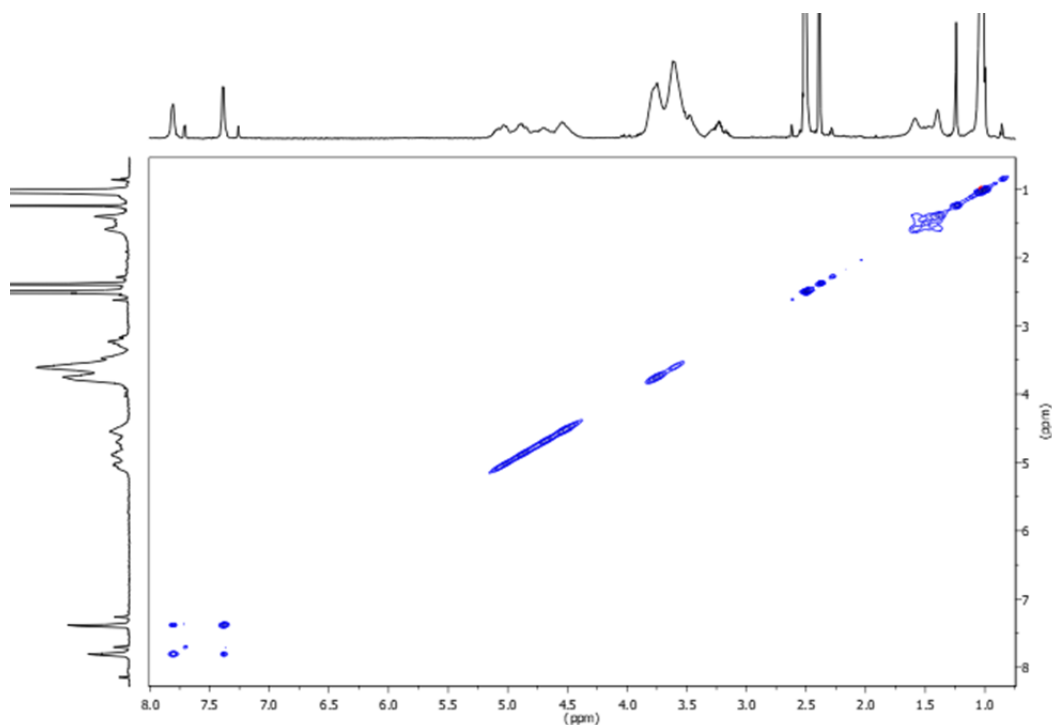


Figura 46 – Mapa de correlação de RMN 2D-ROESY ^1H - ^1H do sistema supramolecular GLI:HP- β -CD a 600 MHz em DMSO- d_6 .

Os compostos de associação consistem em diferentes tipos de associação entre as moléculas, desde que não envolva a inclusão da molécula hóspede na cavidade das CDs. Pode-se citar, por exemplo, agregados e nanoagregados automontados, os quais são descritos por também contribuírem para a solubilização de moléculas pouco solúveis (DE JESUS et al., 2012; MESSNER et al., 2010).

No trabalho de De Jesus e colaboradores (2012), os experimentos de RMN uni e bidimensionais ROESY $^1\text{H}/^1\text{H}$ revelaram nenhuma correlação entre a riboflavina e as CDs investigadas. Portanto, os autores concluíram que a ausência de efeitos NOE nos hidrogênios do interior da cavidade e o aumento da solubilidade da riboflavina é consequência da formação de compostos de não-inclusão.

Para o sistema GLI:HP- β -CD deste trabalho, pode-se inferir também que os grupos substituintes hidroxipropil da HP- β -CD que podem dificultar ou impedir o processo de inclusão do fármaco. Segundo Szenté e Szejtli (1999), um dos fatores que podem influenciar a formação de compostos de inclusão são os grupos substituintes nas hidroxilas primárias e secundárias das ciclodextrinas modificadas.

Aliado a isso, os baixos valores de K_a obtidos nos estudos de solubilidade, corroboram com os resultados dos experimentos de RMN deste trabalho, uma vez que indicam uma menor concentração do sistema supramolecular GLI:HP- β -CD em solução, e desse modo, fracas interações entre as espécies. Adicionalmente, comparando os resultados obtidos dos dois sistemas em estudo, pode-se inferir que os experimentos de RMN foram capazes de confirmar a formação do composto de inclusão GLI: β -CD enquanto entre o fármaco e a HP- β -CD, os experimentos sugerem a formação de outro tipo de sistema supramolecular, provavelmente um composto de não-inclusão.

3.3 Estudo de estabilidade

Neste estudo em particular, avaliou-se a estabilidade do fármaco GLI em diferentes faixas de pH, principalmente em meio ácido devido a formação de produtos de degradação, como descrito por Bansal e colaboradores (2007). De modo complementar, foi avaliado o efeito causado pela presença de β -CD e HP- β -CD nas soluções aquosas do fármaco em meio ácido, neutro e alcalino. As soluções foram analisadas por espectroscopia eletrônica de absorção na região do ultravioleta-visível, programando o espectrofotômetro para fazer leituras num intervalo de 15 minutos por 24 horas.

A partir dos espectros de absorção de todos os sistemas estudados, foi possível obter perfis de estabilidade, comparando os valores de absorbância do fármaco GLI em função do tempo, na ausência e presença de β -CD e HP- β -CD, nos meios ácido, neutro e alcalino, verificando o efeito causado por estas espécies na estabilidade do fármaco.

3.3.1 Sistemas em meio ácido – espectros e perfis de estabilidade

Analisando os espectros dos sistemas GLI:HCl, GLI:HCl: β -CD e GLI:HCl:HP- β -CD, apresentados na Figura 47a, 47b e 47c, respectivamente, pode-se observar que em todos houve uma diminuição dos valores de absorbância máxima na região de 228 nm. Além disso, ocorre um deslocamento da primeira leitura em 228 nm, destacada nos espectros em preto, para 226 nm na última leitura, destacada em vermelho.

A direção da seta maior indica o sentido das leituras, em que o valor acima é a absorvância inicial e o valor abaixo é a absorvância final. Cabe ressaltar que o deslocamento de 228 para 226 nm está dentro do limite de análise da espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis (± 4 nm), não sendo possível pressupor algo referente aos sistemas analisados. Por outro lado, a diminuição dos valores de absorvância pode sugerir a ocorrência da hidrólise ácida do fármaco a temperatura ambiente.

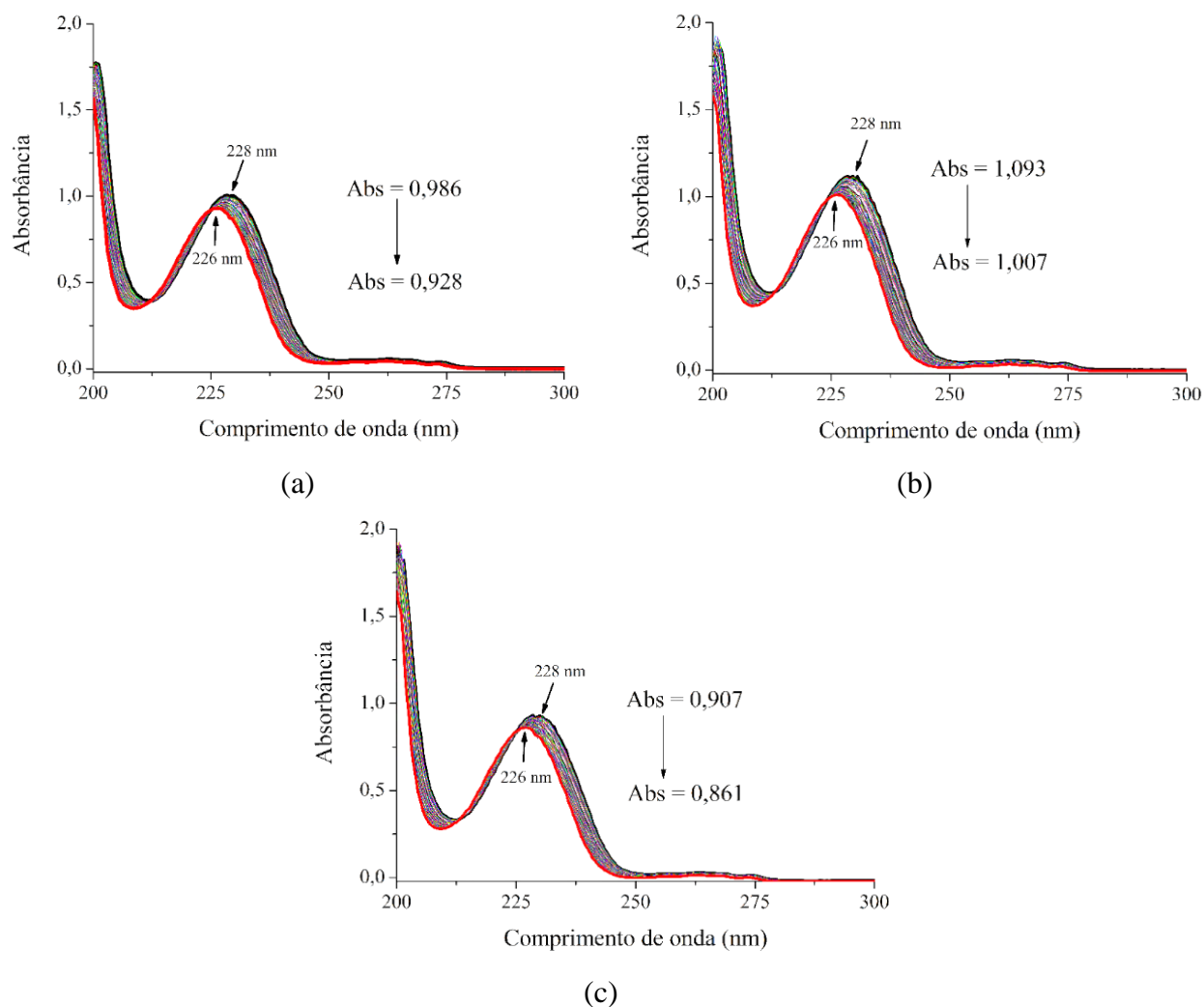


Figura 47 - Espectros de absorção na região do UV-Vis, na faixa de 200 a 300 nm, (a) sistema GLI:HCl; (b) para o sistema GLI:HCl: β -CD; (c) para o sistema GLI:HCl:HP- β -CD. A primeira leitura está destacada em preto e a última leitura em vermelho.

Para avaliar e comparar as variações entre os valores de absorvância, sem alterar os intervalos entre os dados, mas inseri-los em uma escala comum, utilizou-se a normalização dos dados como uma ferramenta matemática. A Figura 48 reúne os perfis de estabilidade, a partir da relação gráfica entre as absorvâncias normalizadas (Ab_{Snorm}) em função do tempo (t) dos sistemas GLI:HCl, GLI:HCl: β -CD e GLI:HCl:HP- β -CD.

Todos os sistemas exibiram perfis semelhantes a uma hipérbole, porém com variações distintas nos valores das absorvâncias normalizadas. As linhas horizontais pontilhadas em vermelho e em azul indicam o tempo em que houve mudança nos perfis do sistema GLI:HCl: β -CD e GLI:HCl:HP- β -CD em comparação ao perfil GLI:HCl.

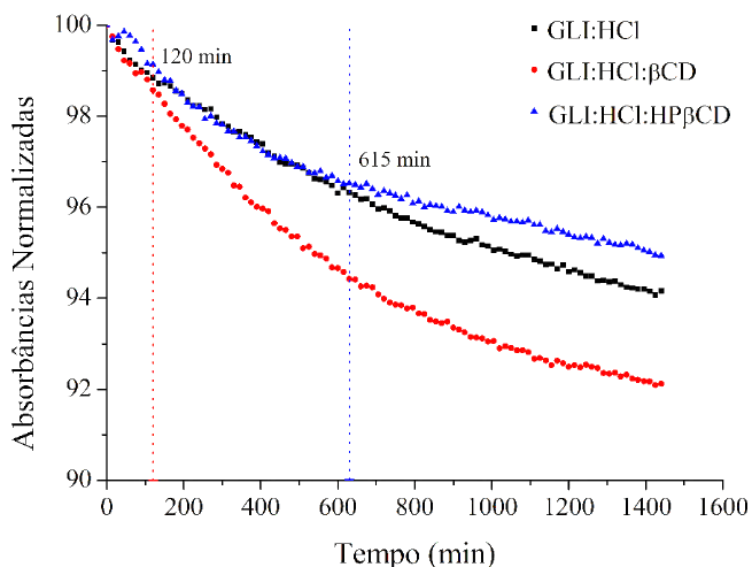


Figura 48 – Perfis de estabilidade dos sistemas GLI:HCl (preto), GLI:HCl: β -CD (vermelho) e GLI:HCl:HP- β -CD (azul).

Para o sistema GLI:HCl, no tempo igual a zero minutos ($t = 0$) a Ab_{Snorm} foi igual a 100 %, enquanto no tempo igual a 1440 minutos ($t = 1440$) a Ab_{Snorm} foi igual a 94 %, resultando em uma variação (ΔAbs) igual a 6 %. Para o sistema GLI:HCl: β -CD, no $t = 0$, a Ab_{Snorm} foi igual a 100 %, enquanto no $t = 1440$, ela foi igual a 92 %, resultando em um ΔAbs igual a 8 %. Por fim, o sistema GLI:HCl:HP- β -CD apresentou em $t = 0$, uma Ab_{Snorm} igual a 100% enquanto no $t = 1440$ ela foi igual a 95 %, apresentando um ΔAbs igual a 5 %.

A partir dos perfis apresentados, pode-se destacar também que após 120 minutos, o sistema contendo β -CD exibiu uma expressiva e gradual diminuição dos valores de Ab_{Snorm}

comparando-se com os demais perfis neste meio reacional. Por outro lado, o sistema contendo HP- β -CD somente exibiu uma alteração em seu perfil após 615 minutos, projetando-se acima do perfil do sistema GLI:HCl.

Com base nesses resultados, pode-se inferir, que a presença de β -CD em meio ácido ocasionou um efeito na hidrólise ácida do fármaco, após 120 minutos, desempenhando uma evidente função catalítica na degradação da GLI neste meio do que quando comparada aos outros sistemas. Em contrapartida, a HP- β -CD desempenhou um sutil efeito na degradação do fármaco, após 615 minutos, apresentando a menor variação de Abs_{norm} dentre os demais sistemas neste meio reacional, indicando menor influência sobre a hidrólise ácida da GLI.

Esses comportamentos observados para β -CD e HP- β -CD em meio ácido também foram relatados na literatura em sistemas com outros fármacos. Alsarra e colaboradores (2007), por exemplo, verificaram que a presença de β -CD em meio ácido acelerou a degradação do fármaco cefotaxima sódica em comparação com outras CDs modificadas, devido apresentar maiores valores de constantes de velocidade referentes à degradação do fármaco. Os autores sugeriram que esse efeito observado foi devido à natureza do composto formado entre cefotaxima sódica e β -CD, como também pelos mecanismos de de-esterificação e/ou ruptura do anel β -lactâmico provocados pelos grupos hidroxilas adjacentes da β -CD.

Por outro lado, Linares e Longhi (2003) constataram que a estabilidade do fármaco naftoquinona aumentou na presença de HP- β -CD em meio ácido, uma vez que as taxas de degradação foram menores do que quando comparadas com as do fármaco livre. Neste caso, os autores indicaram que o mecanismo pode não ter sido afetado pela HP- β -CD, porém ela provocou uma diminuição no grau de hidrólise do fármaco.

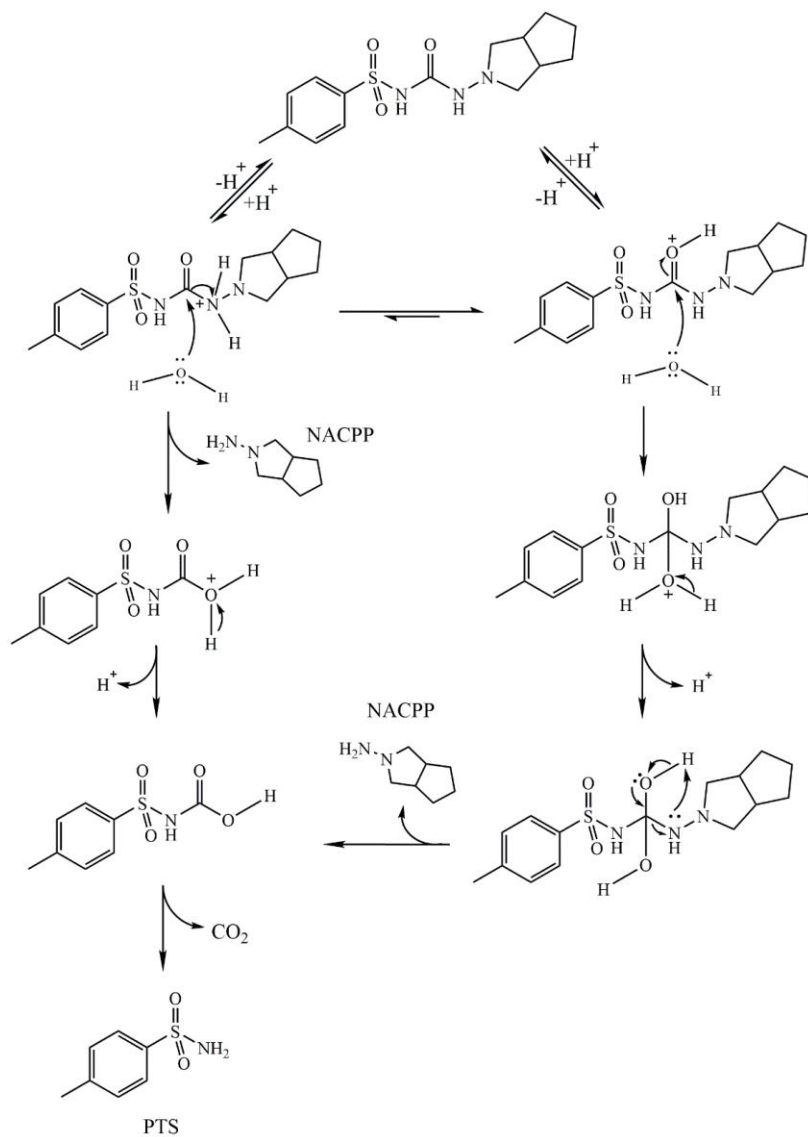


Figura 49 – Esquema reacional referente a degradação da glimepirida em meio ácido a temperatura ambiente, formando PTS e NACPP, adaptado de Bansal e colaboradores (2008).

Conforme descrito e proposto por Bansal e colaboradores (2008), a hidrólise do fármaco GLI origina-se na protonação das ligações N-H e/ou C=O, à qual é facilitada em meio ácido a temperatura ambiente. Posteriormente, ocorre um ataque nucleofílico de uma molécula de água à carbonila do fármaco, resultando na quebra da ligação do grupo amino alifático e na formação de dois produtos principais, a *para*-toluilsulfonamida (PTS) e a *N*-aminociclopentapirrolidina (NACPP), além da liberação de CO₂, como ilustrado na Figura 49.

Com base no esquema reacional supracitado e nos experimentos de RMN descritos no tópico 3.2.2.1 deste capítulo, pode-se propor uma explicação para o comportamento do sistema GLI:HCl:β-CD.

Após a formação do composto de inclusão GLI:β-CD pela interação entre os hidrogênios da cavidade com os hidrogênios dos grupos amida do fármaco, pode-se sugerir a ocorrência da protonação da ligação –NH pelas hidroxilas da β-CD. Em seguida, um ataque nucleofílico à carbonila da GLI pelas hidroxilas primárias da β-CD ou até pelas moléculas de água, provocando a quebra da ligação do tipo amida e resultando na formação de PTS e NACPP em solução. As hidroxilas primárias localizadas em C6 são consideradas mais nucleofílicas, enquanto as hidroxilas secundárias situadas em C2 são consideradas mais ácidas e em C3 mais inacessíveis, tornando-as menos reativas, devido o impedimento estérico e as ligações de hidrogênio presentes na estrutura das CDs (KHAN et al., 1998; PRZYBYLA; YILMAZ; REMZI BECER, 2020).

3.3.2 Sistemas em meio neutro – espectros e perfis de estabilidade

Os espectros dos sistemas GLI:H₂O, GLI:H₂O:β-CD e GLI:H₂O:HP-β-CD, expostos nas Figuras 50a, 50b e 50c, respectivamente. A direção da seta indica o sentido das leituras, em que o valor acima é a absorbância inicial e o valor abaixo é a absorbância final.

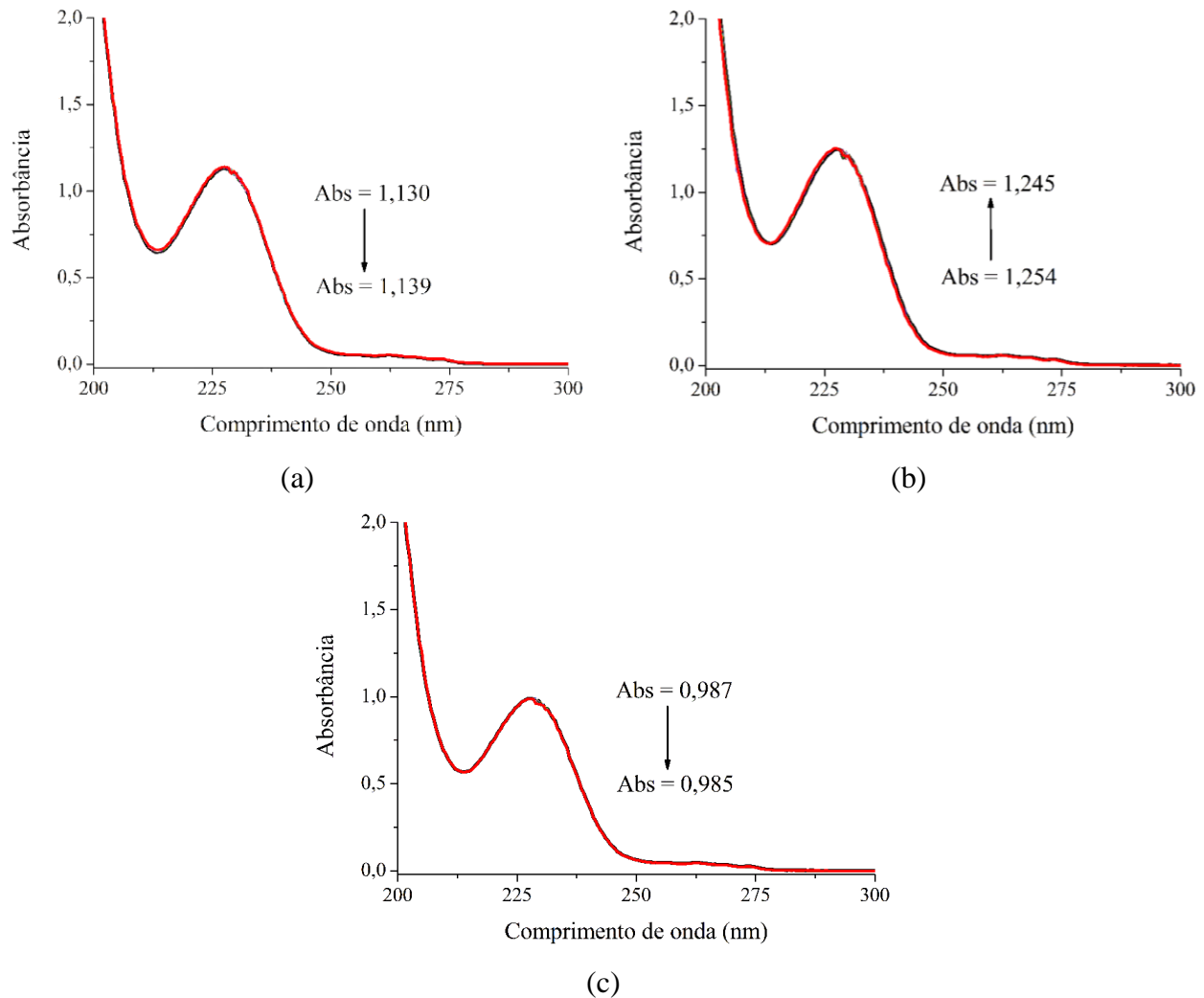


Figura 50 - Espectros de absorção na região do UV-Vis, na faixa de 200 a 300 nm: (a) do sistema GLI:H₂O; (b) do sistema GLI:H₂O:β-CD; (c) do sistema GLI:H₂O:HP-β-CD. A primeira leitura está destacada em preto e a última leitura em vermelho.

Ao analisá-los, pode-se verificar que todos os espectros de absorção não apresentaram reduções ou aumentos expressivos nos valores de absorbância ao longo do tempo, o que sugere a estabilidade do fármaco em solução seja na presença ou ausência das CDs.

A Figura 51 reúne os perfis de estabilidade dos sistemas GLI:H₂O, GLI:H₂O:β-CD e GLI:H₂O:HP-β-CD, a partir da relação gráfica entre as Abs_{norm} em função do tempo. Todos os sistemas apresentaram perfis lineares e constantes entre as absorbâncias normalizadas, com pequenas variações entre os valores de Abs_{norm}.

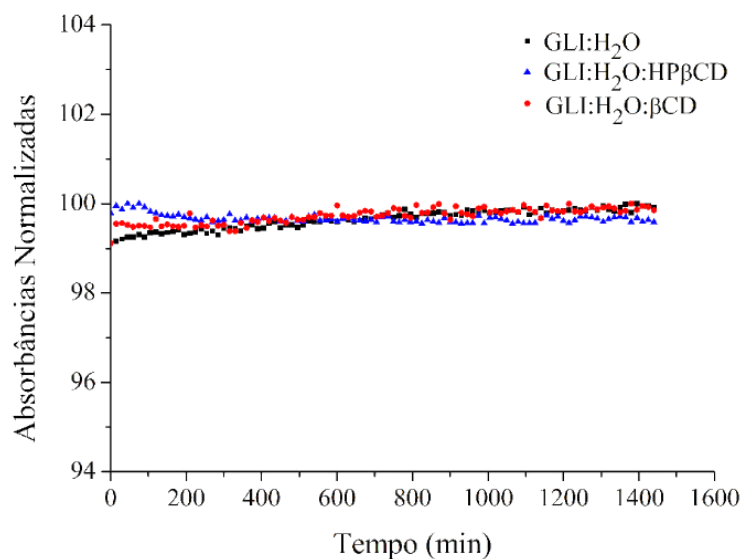


Figura 51 – Perfis de estabilidade dos sistemas GLI:H₂O (preto), GLI:H₂O:β-CD (vermelho) e GLI:H₂O:HP-β-CD (azul).

A partir desses resultados, pode-se inferir que o fármaco GLI em meio aquoso, a temperatura ambiente, não sofreu hidrólise, como também pode-se verificar que a presença das CDs não afeta a estabilidade do fármaco GLI em solução, demonstrando que a β-CD e a HP-β-CD neste meio não apresentaram efeitos catalíticos ou protetores. A hidrólise do fármaco em meio aquoso somente foi observada a 85 °C por Bansal e colaboradores (2007).

Como a hidrólise e conseqüentemente a degradação do fármaco são facilitadas pelo meio ácido, pode-se inferir que em meio aquoso, não ocorre a protonação do oxigênio da ligação C=O ou do nitrogênio da ligação N-H, logo não se tem o ataque nucleofílico da hidroxila das CDs ou da molécula de água à carbonila do fármaco, de modo que os produtos PTS e NACPP não são

formados em solução, o que explica os comportamentos lineares e sem alterações ao longo do tempo, quer seja na presença ou ausência das CDs.

3.3.3 Sistemas em meio alcalino – espectros e perfis de estabilidade

Os espectros dos sistemas GLI:NaOH, GLI:NaOH: β -CD e GLI:NaOH:HP- β -CD estão exibidos nas Figuras 52a, 52b e 52c, respectivamente. A direção da seta na Figura 52a indica o sentido das leituras, em que o valor acima é a absorvância final e o valor abaixo é a absorvância inicial, enquanto nas Figuras 52b e 52c o valor acima é absorvância inicial enquanto o valor abaixo é a final.

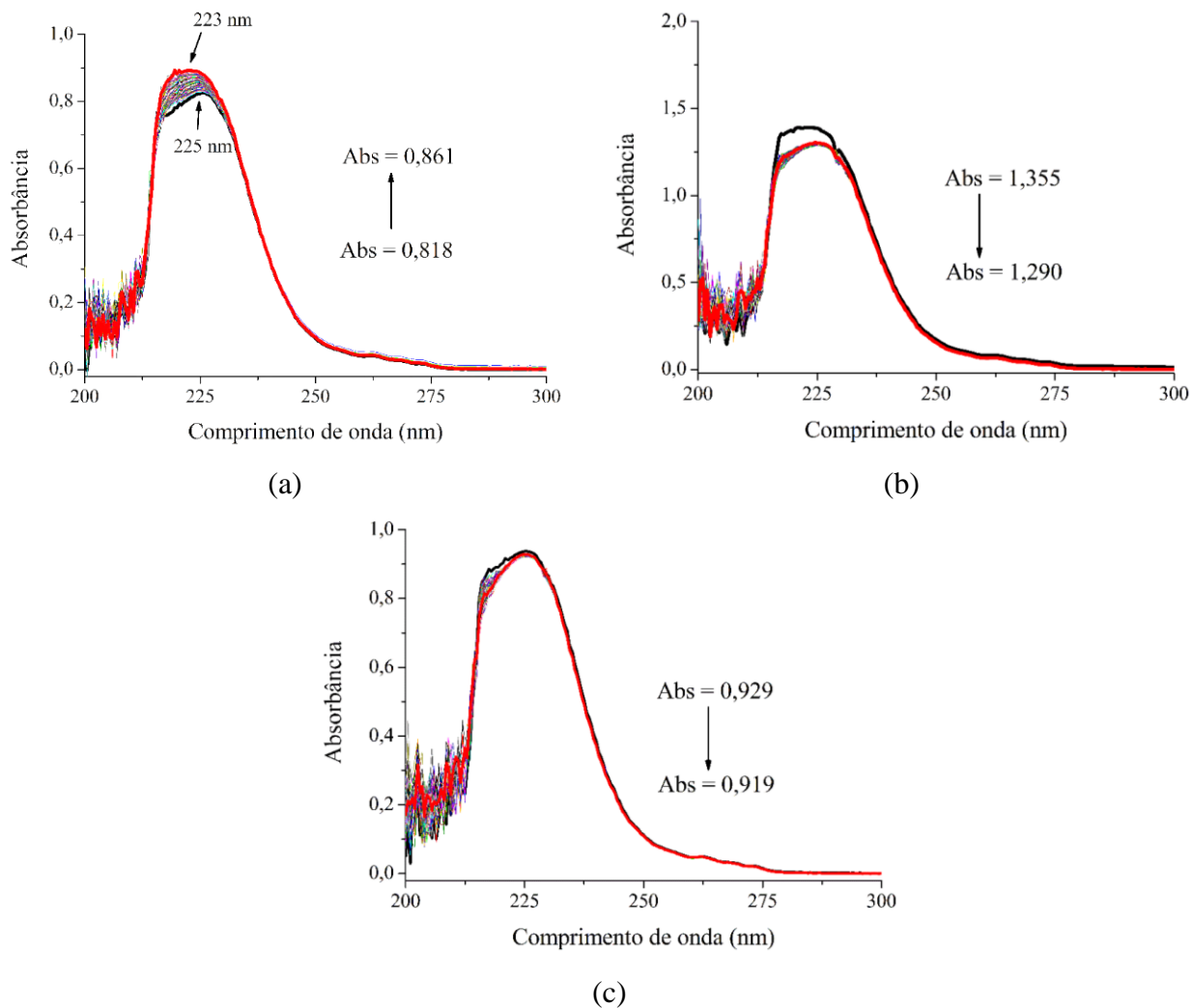


Figura 52 – Espectros de absorção na região do UV-Vis, na faixa de 200 a 300 nm: (a) do sistema GLI:NaOH; (b) do sistema GLI:NaOH:β-CD; (c) do sistema GLI:NaOH:HP-β-CD.

Analisando o espectro do sistema GLI:NaOH, verificou-se um aumento nos valores de absorbância. Este aumento pode estar relacionado a um aumento na concentração de GLI em solução em função do tempo, visto que este fármaco exibe um perfil de solubilidade dependente do pH, como tabelado por Seedher e Kanojia (2009) e exposto no Capítulo 1, Seção 1.2.1 deste trabalho. Esses autores verificaram que a solubilidade da GLI é maior em meio alcalino do que nos meios ácido e neutro.

No espectro do sistema GLI:NaOH pode-se observar também um deslocamento da banda na região de 225 nm, referente a primeira leitura, destacada em preto, para 223 nm, referente a última leitura, destacada em vermelho. Por outro lado, analisando os espectros dos sistemas

GLI:NaOH: β -CD e GLI:NaOH:HP- β -CD, os valores de absorvância mantiveram-se constantes, com exceção daqueles obtidos em $t = 0$, pois foram maiores do que as demais leituras em sequência. Esses maiores valores podem estar associados ao aumento inicial da solubilidade do fármaco em função da adição das CDs.

A Figura 53 reúne os perfis de estabilidade dos sistemas GLI:NaOH, GLI:NaOH: β -CD e GLI:NaOH:HP- β -CD, a partir da relação gráfica entre as Ab_{Snorm} em função do tempo. Verificam-se dois tipos de perfis, sendo que para o sistema GLI:NaOH observa-se um perfil linear crescente, enquanto para os sistemas GLI:NaOH: β -CD e GLI:NaOH:HP- β -CD, observam-se perfis lineares e constantes, porém com intervalos de valores distintos. Para o sistema GLI:NaOH, no $t = 0$ a Ab_{Snorm} foi igual a 95 % e em $t = 1440$ a Ab_{Snorm} foi igual a 100 %, resultando em uma variação (ΔAb) igual a 5 %. Em contrapartida, para os sistemas contendo β -CD e HP- β -CD, os valores de Ab_{Snorm} permaneceram na faixa entre 94 e 95% e entre 99 e 98%, respectivamente.

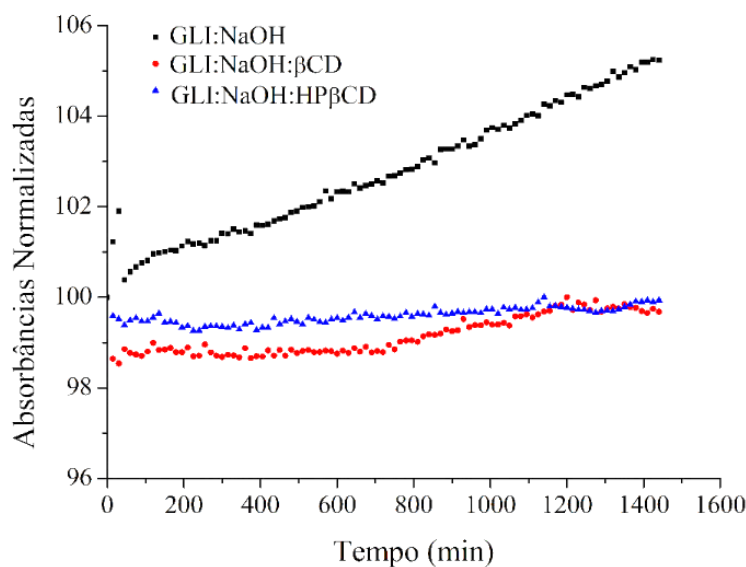


Figura 53 – Perfis de estabilidade dos sistemas GLI:NaOH (preto), GLI:NaOH: β -CD (vermelho) e GLI:NaOH:HP- β -CD (azul).

A partir desses resultados, pode-se inferir que o fármaco GLI não sofreu hidrólise alcalina a temperatura ambiente, bem como a presença das CDs não exibiu efeito catalítico na hidrólise alcalina do fármaco em solução, visto que apresentaram perfis de estabilidade lineares e constantes, sem variações expressivas nos valores de Ab_{Snorm} , diferentemente do observado no

perfil do sistema GLI:NaOH. É importante destacar que a hidrólise e, conseqüentemente, a degradação do fármaco GLI em meio alcalino somente foi constatada a 85 °C por Bansal e colaboradores (2007) indicando a influência da temperatura neste processo.

O aumento gradual dos valores de $Ab_{S_{norm}}$ observado para o sistema GLI:NaOH pode estar relacionado à presença de espécies desprotonadas da GLI em solução. Como descrito no Capítulo 1 Seção 1.2.1, a GLI apresenta caráter anfótero e em pH alcalino se comporta como um ácido fraco, com valor de pK_a igual a 5,8. Como neste sistema o pH foi igual a 13,0, é provável a ocorrência da desprotonação do grupo sulfonamida e a formação de espécies que apresentam maior absorvância ao longo do tempo.

Por outro lado, os perfis de estabilidade dos sistemas GLI:NaOH: β -CD e GLI:NaOH:HP- β -CD demonstram que ambas as CDs evitaram esse aumento gradual dos valores de $Ab_{S_{norm}}$ da GLI neste meio reacional, fazendo com que permanecessem em determinada faixa de $Ab_{S_{norm}}$, indicando que a associação entre o fármaco e essas CDs, neste caso, pode estar afetando a formação de espécies desprotonadas da GLI em meio alcalino.

A priori e na temperatura analisada, este comportamento observado para β -CD e HP- β -CD se mostrou divergente do que é descrito na literatura, uma vez que quando associadas a outras espécies químicas que contêm grupos funcionais do tipo amida, como por exemplo acetanilidas e fármacos β -lactâmicos, as CDs se comportam como catalisadores das reações de hidrólise alcalina, acelerando a degradação dessas espécies em solução (GRANADOS; DE ROSSI, 1993; POPIELEC; LOFTSSON, 2017).

No entanto, é importante ressaltar que não foram constatadas investigações prévias na literatura que abordassem ou o efeito das CDs na estabilidade das sulfonilureias ou especificamente na estabilidade da gliclazida em soluções de caráter ácido, neutro e alcalino. Portanto, este estudo em particular se tornou relevante para que fosse possível compreender o comportamento dos sistemas em cada meio reacional e o impacto das CDs na suscetibilidade hidrolítica da gliclazida, os quais podem ser avaliados em futuras investigações em meio biológico.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram obtidos sistemas constituídos pelo fármaco GLI e por moléculas de β -CD e HP- β -CD por meio da técnica de liofilização. Estes sistemas foram caracterizados por técnicas espectroscópicas em meio aquoso e no estado sólido, as quais foram fundamentais para determinar a termodinâmica do processo de inclusão, bem como fornecer indícios de interações entre as moléculas de GLI e β -CD ou GLI e HP- β -CD. Os sistemas GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD apresentaram diagramas de solubilidade de fase do tipo Bs e do tipo AL, respectivamente.

O perfil do tipo Bs indica que o composto formado apresenta solubilidade limitada conforme há o aumento da concentração de β -CD em solução. O perfil do tipo AL indica que a solubilidade do composto de inclusão formado é superior ao do fármaco livre, demonstrado pela relação linear entre as concentrações de HP- β -CD e GLI.

Além disso, a partir do estudo de solubilidade, verificou-se que o processo de formação dos sistemas GLI: β -CD e GLI:HP- β -CD foi espontâneo em todas as temperaturas analisadas, dados os valores negativos de ΔG . Para ambos os sistemas, os valores de ΔH , em módulo, foram maiores do que os valores de variação de entropia, sugerindo que as interações formadas na associação entre as espécies são mais estáveis do que àquelas anteriores à associação.

A partir dos resultados obtidos por FTIR-ATR foi possível verificar indícios referentes às interações entre as espécies em todos os sistemas analisados. Entretanto, somente com os experimentos de RMN foi possível confirmar a formação do composto de inclusão GLI: β -CD 1:1, devido às correlações dipolares de $^1\text{H}/^1\text{H}$ entre os grupos amida do fármaco e a cavidade dessa CD. Entretanto, não foi possível comprovar a formação do composto GLI:HP- β -CD 1:1, uma vez que não se obteve correlações entre os hidrogênios. Portanto, pode-se inferir a formação de outro tipo de sistema supramolecular entre essas espécies.

O estudo de estabilidade revelou que, em meio ácido, a β -CD acelerou a degradação da GLI após duas horas, enquanto a HP- β -CD desempenhou um efeito retardante após 10 horas. Em meio neutro, constatou-se que as CDs não desempenharam ação catalítica ou protetora e, portanto, não influenciam na estabilidade do fármaco em solução aquosa. O aumento da concentração do fármaco observado em meio alcalino não foi visualizado quando foram adicionadas as CDs e diferentemente do que é relatado na literatura para as amidas, ambas as CDs não afetaram a estabilidade do fármaco neste meio.

CAPÍTULO 5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL-GAWAD, A. E. G. H. et al. Improvement of the Ocular Bioavailability of Econazole Nitrate upon Complexation with Cyclodextrins. **AAPS PharmSciTech**, v. 18, n. 5, 2017.

ABOU-AUDA, H. S. et al. Studies on Solubility, Bioavailability and Hypoglycemic Activity of Gliclazide β -cyclodextrin Complexes. **International Journal of Pharmacology**, v. 2, n. 6, 2006.

AL OMARI, M. M. et al. Novel inclusion complex of ibuprofen tromethamine with cyclodextrins: Physico-chemical characterization. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 50, n. 3, 2009.

AL-OMARY, F. A. M. Gliclazide. Em: **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**. 1. ed. United States: Academic Press Inc., 2017. v. 42.

AL-SALEH, Y. et al. Sulfonylureas in the Current Practice of Type 2 Diabetes Management: Are They All the Same? Consensus from the Gulf Cooperation Council (GCC) Countries Advisory Board on Sulfonylureas. **Diabetes Therapy**, v. 12, n. 8, 2021.

ALSARRA, I. et al. Effect of β -cyclodextrin derivatives on the kinetics of degradation of cefotaxime sodium in solution state. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 17, n. 5, 2007.

ALY, A. M.; QATO, M. K.; AHMAD, M. Enhancement of the dissolution rate and bioavailability of Glipizide. **Pharmaceutical Technology**, v. 27, n. 6, 2003.

AMIDON, G. L. et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, 1995.

AMOD, A. The Place of Sulfonylureas in Guidelines: Why Are There Differences? **Diabetes Therapy**, v. 11, n. 1, 2020.

ARTI, S. et al. Host-guest interaction of trimethoprim drug with cyclodextrins in aqueous solutions: Calorimetric, spectroscopic, volumetric and theoretical approach. **Journal of Molecular Liquids**, v. 329, 2021.

BANSAL, G. et al. Characterization of mass ionizable degradation products of gliclazide by LC/ESI-MS. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 31, n. 14, 2008.

BERTONHI, L. G.; DIAS, J. C. R. Diabetes mellitus tipo 2: aspectos clínicos, tratamento e conduta dietoterápica Type 2 Diabetes mellitus: clinical aspects, treatment and dietary management. **Revista Ciências Nutricionais Online**, v. 2, 2018.

BRAGA, S. S. Cyclodextrins: Emerging medicines of the new millennium. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, 2019.

BRANDÃO, T. A. S. et al. Characterization of Sesquiterpene Polygodial-Beta Cyclodextrin Inclusion Complex. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 46, 2003.

BRANDÃO, T. A. S. et al. Catalytic and inhibitory effects of β -cyclodextrin on the hydrolysis of benzoic anhydride. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 17, n. 5, 2004.

BUXTON, I. L. O.; BENET, L. Z. Farmacocinética: a dinâmica da absorção, distribuição, ação e eliminação dos fármacos. Em: BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. (Eds.). **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. p. 2101.

CHRISTOFORIDES, E. et al. Structural Studies of Piperine Inclusion Complexes in Native and Derivative β -Cyclodextrins. **Biomolecules**, v. 12, n. 12, 2022.

CRINI, G. Review: A history of cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 21, 2014.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 1, 2007.

DAVIS, M. E.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: Past, present and future. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 12, 2004.

DE JESUS, M. B. et al. Non-inclusion complexes between riboflavin and cyclodextrins. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 6, 2012.

DE PAULA, E. E. 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, n. 1–2, 2012.

DE SOUSA, F. B. et al. Supramolecular complex of fluoxetine with β -cyclodextrin: An experimental and theoretical study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 353, n. 1–2, 2008.

DE SOUSA, F. B. **Estudo e Caracterização Físico-Química de Sistemas Supramoleculares Nanoagregados e de Matrizes Poliméricas Associados à Ciclodextrina**. Tese (Doutorado em Ciências)—Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

DEEPTHI, B. et al. A Modern Review of Diabetes Mellitus: An Annihilatory Metabolic Disorder. **Journal of In Silico & In Vitro Pharmacology**, v. 3, n. 1, 2017.

DEL VALLE, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: A review. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 9, 2004.

DELBIANCO, M. et al. Carbohydrates in supramolecular chemistry. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 4, 2016.

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

EGYED, O. Spectroscopic studies on β -cyclodextrin. **Vibrational Spectroscopy**, v. 1, 1990.

EL-BADRY, M. et al. Study of omeprazole stability in aqueous solution: influence of cyclodextrins. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 19, n. 5, 2009.

EL-SABAWI, D.; HAMDAN, I. I. Improvement of dissolution rate of gliclazide through sodium salt formation. **Dissolution Technologies**, v. 21, n. 4, 2014.

FERNANDES, V. C. et al. Caracterização físico-química de complexos de insulina:dimetil- β - ciclodextrina e insulina:hidroxipropil- β -ciclodextrina e avaliação da influência do tipo de complexo na produção de microesferas biodegradáveis. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 4, 2007.

FOROUHI, N. G.; WAREHAM, N. J. Epidemiology of diabetes. **Medicine (United Kingdom)**, v. 47, n. 1, 2019.

GRANADOS, A.; DE ROSSI, R. H. Effect of Cyclodextrins on the Hydrolysis of the Amides. **Journal of Organic Chemistry**, v. 58, n. 7, 1993.

HAIMHOFFER, Á. et al. Cyclodextrins in drug delivery systems and their effects on biological barriers. **Scientia Pharmaceutica**, v. 87, n. 4, 2019.

HAO, X. et al. Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Complexed Resveratrol Enhanced Antitumor Activity in a Cervical Cancer Model: In Vivo Analysis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 2021.

HEDGES, A. R. Industrial Applications of Cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, 1998.

HENQUIN, J.-C. The fiftieth anniversary of hypoglycaemic sulphonamides. How did the mother compound work? **Diabetologia**, v. 35, 1992.

HIDAKA, S. et al. Effect of β -Cyclodextrin on the Degradation Rate of Amoxicillin in Acidic Solution. **Pharmaceutical Science Journal**, v. 130, n. 6, 2010.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase-Solubility Techniques. **Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation**, v. 4, 1964.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas, 10th Edition.** , 2021. Disponível em: www.diabetesatlas.org.

JACOB, S.; NAIR, A. B. Cyclodextrin complexes: Perspective from drug delivery and formulation. **Drug Development Research**, v. 79, n. 5, 2018.

JAMBHEKAR, S. S.; BREEN, P. Cyclodextrins in pharmaceutical formulations II: Solubilization, binding constant, and complexation efficiency. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, 2016.

JANSOOK, P.; OGAWA, N.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 535, n. 1–2, 2018.

JIANG, Y. et al. Enhanced anti-tumor effect of 9-nitro-camptothecin complexed by hydroxypropyl- β -cyclodextrin and safety evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 415, n. 1–2, 2011.

KAPOOR, M. P. et al. Structural Investigation of Hesperetin-7-O-Glucoside Inclusion Complex with β -Cyclodextrin: A Spectroscopic Assessment. **Molecules**, v. 27, n. 17, 2022.

KATSUHIKO, A.; KUNITAKE, TOYOKI. **Supramolecular chemistry : Fundamentals and Applications**. 208. ed. Liepzig: Springer-Verlag Heidelberg, 2006.

KHAN, A. R. et al. Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 98, 1998.

LEHN, J.-M. Supramolecular Chemistry-Scope and Perspectives Molecules, Supramolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 27, n. 1, 1988.

LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSSON, B. The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, n. 3, 2010.

LESLIE, R. D. et al. Diabetes at the crossroads: relevance of disease classification to pathophysiology and treatment. **Diabetologia**, v. 59, n. 1, 2016.

LINARES, M. S.; LONGHI, M. R. Effects of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the chemical stability of a naphthoquinone in aqueous solutions. **Pharmazie**, v. 58, n. 1, 2003.

LO, Y.-K. et al. Comparison of the Solubility and Dissolution Rate of Gliclazide- β -cyclodextrin Inclusion Complexes Prepared by Liquid/liquid Extraction and Neutralization. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 14, n. 3, 2006.

LOFTSSON, T. et al. Cyclodextrins in drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 2, n. 2, 2005.

LOFTSSON, T.; DUCHÊNE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1–2, 2007.

LUCIO, D. et al. Nanoaggregation of inclusion complexes of glibenclamide with cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, n. 1–2, p. 263–271, 2017.

MAPA, B. DE C. et al. Gliclazide: Biopharmaceutics characteristics to discuss the biowaiver of immediate and extended release tablets. **Applied Sciences**, v. 10, n. 20, 2020.

MCMAHON, F. G. Sulfonylureas, Science and Serendipity. Em: **Molecular Modification in Drug Design**. American Chemical Society: Advances in Chemistry, 1964. v. 45.

MEIRA, L. H. DA R. **Estudo da interação e competição entre o dodecil sulfato de sódio e fármacos anti-hipertensivos com beta-ciclodextrina**. Tese (Doutorado em Química)—Itajubá: Universidade Federal de Itajubá, 2018.

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

MELANDER, A. Kinetics-Effect Relations of Insulin-Releasing Drugs in Patients with Type 2 Diabetes Brief Overview. **Diabetes**, v. 53, n. 3, 2004.

MELANDER, A.; LEBOVITZ, H. E.; FABER, O. K. Sulfonylureas Why, Which, and How? **Diabetes Care**, v. 13, 1990.

MESSNER, M. et al. Self-assembled cyclodextrin aggregates and nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 387, n. 1–2, 2010.

MONTEIRO, J. B. et al. Enzymatic hydrolysis of diloxanide furoate in the presence of β -cyclodextrin and its methylated derivatives. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 267, n. 1–2, 2003.

MOYANO, J. R. et al. Nuclear Magnetic Resonance Investigations of the Inclusion Complexation of Gliclazide with β -Cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 1, 1997.

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

MURA, P. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 113, 2015.

OLIVO, G. et al. New horizons for catalysis disclosed by supramolecular chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 50, n. 13, 2021.

ÖZKAN, Y. et al. Improvement of water solubility and in vitro dissolution rate of gliclazide by complexation with β -cyclodextrin. **Pharmaceutica Acta Helveticae**, v. 74, 2000.

PAN, Y. C.; HU, X. Y.; GUO, D. S. Biomedical Applications of Calixarenes: State of the Art and Perspectives. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 60, n. 6, 2021.

PANDA, B. P. et al. Design, Fabrication and Characterization of PVA/PLGA Electrospun Nanofibers Carriers for Improvement of Drug Delivery of Gliclazide in Type-2 Diabetes. **Proceedings**, v. 78, n. 14, 2021.

PATIL, M. P.; GAIKWAD, J. Characterization of gliclazide-polyethylene glycol solid dispersion and its effect on dissolution. **Article Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 1, 2011.

PAULIDOU, A. et al. Similar modes of inclusion in complexes of β -cyclodextrin with sulfonylurea hypoglycemic drugs. **CrystEngComm**, v. 12, n. 2, 2010.

POPIELEC, A.; LOFTSSON, T. Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, n. 2, 2017.

POULSON, B. G. et al. Cyclodextrins: Structural, Chemical, and Physical Properties, and Applications. **Polysaccharides**, v. 3, n. 1, 2022.

PRAPHANWITTAYA, P. et al. Aqueous solubility of kinase inhibitors: I the effect of hydrophilic polymers on their γ -cyclodextrin solubilization. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 55, 2020.

PRZYBYLA, M. A.; YILMAZ, G.; REMZI BECER, C. Natural cyclodextrins and their derivatives for polymer synthesis. **Polymer Chemistry**, v. 11, n. 48, p. 7582–7602, 2020.

PUSKÁS, I. et al. Recent List of Cyclodextrin-Containing Drug Products. **Periodica Polytechnica Chemical Engineering**, v. 67, n. 1, p. 11–17, 2023.

RADI, A. E.; EISSA, S. Electrochemical Study of Gliclazide and Its Complexation with beta-Cyclodextrin. **Electroanalysis**, v. 22, n. 24, p. 2991–2996, 2010.

RAMACHANDRAN, A. Know the signs and symptoms of diabetes. **Indian Journal of Medical Research**, v. 140, n. 5, 2014.

REKHARSKY, M. V; INOUE, Y. Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, 1998.

REVATHI, R. et al. Spectrophotometric Estimation of Gliclazide in bulk and pharmaceutical dosage forms. **IRJP**, v. 1, n. 1, p. 277–281, 2010.

SALEEM, M. N. et al. Detection and Degradation Studies of Nile Blue Sulphate Using Electrochemical and UV-Vis Spectroscopic Techniques. **Catalysts**, v. 13, n. 1, 2023.

SANTA MARÍA, D. et al. The behavior of Gliclazide in solution and in the solid state: A case of organic compound presenting a solid-solution structure. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 47, n. 6, 2009.

SAOKHAM, P. et al. Solubility of cyclodextrins and drug/cyclodextrin complexes. **Molecules**, v. 23, n. 5, 2018.

SAPKAL, N. P. et al. Evaluation of some Methods for Preparing Gliclazide- β -Cyclodextrin Inclusion Complexes. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 4, 2007.

SARMAH, A. K.; SABADIE, J. Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 22, 2002.

SCHEEN, A. J. Sulphonylureas in the management of type 2 diabetes: To be or not to be? **Diabetes Epidemiology and Management**, v. 1, 2021.

SCHNEIDER, H.-J. et al. NMR Studies of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. **Chemical Reviews**, v. 98, p. 1755–1785, 1998.

SCHÖNBECK, C. et al. Soluble 1:1 complexes and insoluble 3:2 complexes – Understanding the phase-solubility diagram of hydrocortisone and γ -cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, n. 2, 2017.

SCHÖNBECK, C.; GAARDAHL, K.; HOUSTON, B. Drug Solubilization by Mixtures of Cyclodextrins: Additive and Synergistic Effects. **Molecular Pharmaceutics**, v. 16, n. 2, 2019.

SEEDHER, N.; KANOJIA, M. Co-solvent solubilization of some poorly-soluble antidiabetic drugs Solubilization antidiabetic drugs. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 14, n. 2, p. 185–192, 2009.

SHARMA, G. et al. Dissolution Rate Enhancement of Poorly Soluble Gliclazide by Complexation with Hydroxy Propyl B Cyclodextrin. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 2, n. 3, 2011.

SOLA, D. et al. Sulfonylureas and their use in clinical practice. **Archives of Medical Science**, v. 11, n. 4, 2015.

SOLTANI, S. et al. Experimental and computational studies of gliclazide inclusion complexes with β -cyclodextrin. **Journal of Molecular Structure**, v. 1295, 2024.

SONG, L. X. et al. Inclusion complexation, encapsulation interaction and inclusion number in cyclodextrin chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 9–10, 2009.

STELLA, V. J.; HE, Q. Cyclodextrins. **Toxicologic Pathology**, v. 36, n. 1, 2008.

SUN, H. et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional, and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 183, 2022.

SZEJTLI, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, 1998.

SZENTE, L.; SZEJTLI, J. Highly soluble cyclodextrin derivatives: chemistry, properties, and trends in development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 36, 1999.

THULÉ, P. M.; UMPIERREZ, G. Sulfonylureas: A new look at old therapy topical collection on pharmacologic treatment of type 2 diabetes. **Current Diabetes Reports**, v. 14, n. 4, 2014.

VENTURINI, C. DE G. et al. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Química Nova**, v. 31, n. 2, 2008.

WANKAR, J. et al. Recent Advances in Host–Guest Self-Assembled Cyclodextrin Carriers: Implications for Responsive Drug Delivery and Biomedical Engineering. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 44, 2020.

WILLIAMS, G. T. et al. Advances in applied supramolecular technologies. **Chemical Society Reviews**, v. 50, n. 4, 2021.

ZHANG, J.; MA, P. X. Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: Recent progress and future perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 9, 2013.