

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

**Mônica Caroline Carvalho**

Estudo das Interações Intermoleculares de Ciclodextrinas com  
Fármacos Antidiabéticos

**Mônica Caroline Carvalho**

Estudo das Interações Intermoleculares de Ciclodextrinas com  
Fármacos Antidiabéticos

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, 2026

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus por todas as bênçãos e por ter me permitido chegar até aqui.

Agradeço a minha família pelo apoio incondicional, meus pais Paulo e Elena, meu irmão João Paulo, por todos os sacrifícios feitos para me proporcionar educação, alimento e ambiente o mais propício possível para eu me desenvolver. E principalmente por suportarem a distância e minha ausência em tantas datas importantes.

Agradeço ao meu orientador Fred por me aceitar no grupo, pela paciência, por todos os ensinamentos, não somente neste período do mestrado como também quando professor na graduação. Pelo exemplo como pessoa e profissional, sempre empenhado em realizar um ótimo trabalho.

Agradeço ao Guilherme, pelo apoio, ajuda e compreensão.

Agradeço a cada um dos meus colegas que tanto me ajudaram: Amanda, Bianca, Daniel, Dieguinho, Eline, Flávio, Jorge, Ivy, Natália. Também ao meu amigo Ralf pelo apoio.

Agradeço ao Laremar do Departamento de Química da UFMG pelo suporte nas análises de RMN e a Dra. Ivana (UFMG) pela por todo auxílio com as análises, contribuindo muito para a realização deste trabalho.

Agradeço à ACHÊ por ter cedido gentilmente o fármaco cloridrato de metformina que foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a CNPq, CAPES, FAPEMIG (em especial ao edital RED-0045-23 pelo financiamento da bolsa), UNIFEI e PPGMQ-MG, por fomentarem a pesquisa, pelo local e pela bolsa concedida.

## Resumo

O cloridrato de metformina (MET) e cloridrato de fenformina (FEN) são fármacos anti-hiperglicêmicos da classe das biguanidas, sendo um fármaco de primeira linha no tratamento de diabetes tipo II (DM2). O MET apresenta como limitação sua baixa biodisponibilidade, enquanto o FEN foi retirado do mercado devido aos efeitos colaterais atribuídos ao seu uso. As CDs que são de grande interesse para a indústria, em especial a farmacêutica, devido sua capacidade de alterar propriedades próprias de fármacos como solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade. O presente trabalho teve como objetivo estudar dos parâmetros termodinâmicos envolvidos entre os fármacos FEN e MET e as CDs naturais ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD), e as CDs modificadas (CM- $\beta$ -CD, HP- $\beta$ -CD e M- $\beta$ -CD) e caracterizar estruturalmente os compostos formados. Para a determinação dos parâmetros termodinâmicos foi realizada a técnica de calorimetria de titulação isotérmica (ITC), sendo feito, adicionalmente o efeito da variação da temperatura para o sistema FEN:CM- $\beta$ -CD. Os compostos de inclusão no estado sólido foram obtidos por liofilização. A caracterização dos compostos de inclusão no estado sólido foi realizada por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR-ATR). E a confirmação da inclusão foi realizada por experimentos uni e bidimensionais de  $^1\text{H}$  RMN. Ao se comparar os sistemas formados pelo fármaco MET e FEN por titulação calorimétrica foi possível verificar que a presença do anel aromático na estrutura do FEN favoreceu a formação de compostos de inclusão com as CDs  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e CM- $\beta$ -CD. Com os resultados dos experimentos de  $^1\text{H}$  RMN foi possível confirmar a formação de compostos de inclusão para os sistemas FEN: $\beta$ -CD e FEN:CM- $\beta$ -CD e sugerir as possíveis estruturas para os compostos formados.

Palavras-chaves: Cloridrato de metformina; cloridrato de fenformina; sistemas supramoleculares.

## Abstract

Metformin hydrochloride (MET) and phenformin hydrochloride (FEN) are antihyperglycemic drugs belonging to the biguanide class, with MET being a first-line therapy for the treatment of type II diabetes mellitus (DMII). MET is limited by its low bioavailability, whereas FEN was withdrawn from the market due to adverse side effects associated with its use. Cyclodextrins (CDs) are of great interest to industry, particularly the pharmaceutical sector, because of their ability to modify intrinsic drug properties such as solubility, stability, and bioavailability. The aim of this study was to investigate the thermodynamic parameters involved in the interactions between the drugs FEN and MET and natural cyclodextrins ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD, and  $\gamma$ -CD), as well as modified cyclodextrins (CM- $\beta$ -CD, HP- $\beta$ -CD, and M- $\beta$ -CD), and to structurally characterize the compounds formed. Thermodynamic parameters were determined using isothermal titration calorimetry (ITC); additionally, the effect of temperature variation was evaluated for the FEN:CM- $\beta$ -CD system. Solid-state inclusion compounds were obtained by freeze drying. The inclusion compounds were characterized by vibrational spectroscopy in the infrared region (FTIR-ATR), and inclusion was confirmed by one- and two-dimensional  $^1\text{H}$  NMR experiments. By comparing the systems formed by MET and FEN using calorimetric titration, it was possible to verify that the presence of an aromatic ring in the FEN structure favored the formation of inclusion compounds with  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD, and CM- $\beta$ -CD. Based on the  $^1\text{H}$  NMR results, the formation of inclusion compounds was confirmed for the FEN: $\beta$ -CD and FEN:CM- $\beta$ -CD systems, and possible structures for the complexes formed were proposed.

Keywords: Metformin hydrochloride; phenformin hydrochloride; supramolecular systems.

## Lista de Figuras

Figura 1-1: Diagrama esquemático da diabetes.....	3
Figura 1-2: Representação da estrutura do cloridrato de metformina.....	4
Figura 1-3: Protonação/desprotonação do MET em diferentes valores de pH. Adaptado de Hernández et al., 2015. ....	5
Figura 1-4: Representação da estrutura do cloridrato de fenformina. ....	7
Figura 1-5: a) representação estrutural da $\alpha$ -ciclodextrina e b) representação estrutural da unidade glicosídica. ....	10
Figura 1-6: Esquema da trajetória da radiação pela amostra na técnica de FTIR-ATR. ....	13
Figura 1-7: Esquema de funcionamento de uma titulação calorimétrica.....	15
Figura 1-8: Perfil de curva de titulação de (a) fluxo de calor liberado na titulação (b) valores de entalpia molar de injeção integrados. Imagem adaptada de.(Bouchemal; Mazzaferro, 2012) .....	16
Figura 3-1: Espectro FTIR-ATR para o cloridrato de metformina.....	26
Figura 3-2: Espectro FTIR-ATR para a $\beta$ -CD.....	27
Figura 3-3: Espectros FTIR-ATR para: — MET; — $\beta$ -CD; — CI e — MF. ....	28
Figura 3-4: Espectro FTIR-ATR para o FEN. ....	29
Figura 3-5: Espectro FTIR-ATR para: — FEN; — $\beta$ -CD; — CI e — MF.....	30
Figura 3-6: Espectro FTIR-ATR para a CM- $\beta$ -CD. ....	31
Figura 3-7: Espectro FTIR-ATR para: — FEN; — CM- $\beta$ -CD; — CI e — MF. ....	32
Figura 3-8: Curvas de titulação para (a) ■ MET à 100 mmol L-1 em água; ■ água em $\alpha$ -CD à 1 mmol L-1 e ■ MET à 100 mmol L-1 em $\alpha$ -CD à 1 mmol L-1 (b) Figura final MET à 100 mmol L-1 em $\alpha$ -CD à 1 mmol L-1.....	34
Figura 3-9: Curvas de titulação para (a) ■ MET à 50 mmol L-1 em água; ■ água em $\beta$ -CD à 1 mmol L-1 e ■ MET à 50 mmol L-1 em $\beta$ -CD à 1 mmol L-1 (b) Figura final MET à 50 mmol L-1 em $\beta$ -CD à 1 mmol L-1.....	35
Figura 3-10: Curvas de titulação para (a) ■ MET à 100 mmol L-1 em água; ■ água em $\gamma$ -CD à 1 mmol L-1 e ■ MET à 100 mmol L-1 em $\gamma$ -CD à 1 mmol L-1 (b) Figura final MET à 100 mmol L-1 em $\gamma$ -CD à 1 mmol L-1. ....	36

Figura 3-11: Curvas de titulação para (a) ■ água em MET à 1 mmol L-1; ■ CM-β-CD à 12 mmol L-1 em água e ■ CM-β-CD à 12 mmol L-1 em MET à 1 mmol L-1 (b) Figura final CM-β-CD à 12 mmol L-1 em MET à 1 mmol L-1. ....	38
Figura 3-12: Curvas de titulação para (a) ■ MET à 100 mmol L-1 em água; ■ água em HP-β-CD à 1 mmol L-1 e ■ MET à 100 mmol L-1 em HP-β-CD à 1 mmol L-1 (b) Figura final MET à 100 mmol L-1 em HP-β-CD à 1 mmol L-1. ....	39
Figura 3-13: Curvas de titulação para (a) ■ água em MET à 1 mmol L-1; ■ M-β-CD à 30 mmol L-1 em água e ■ M-β-CD à 30 mmol L-1 em MET à 1 mmol L-1 (b) Figura final M-β-CD à 30 mmol L-1 em MET à 1 mmol L-1. ....	40
Figura 3-14: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ α-CD à 60 mmol L-1 em água ■ α-CD à 60 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final α-CD à 60 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	41
Figura 3-15: Curvas de titulação para (a) ■ FEN à 50 mmol L-1 em água; ■ água em α-CD à 1 mmol L-1 ■ FEN à 50 mmol L-1 em α-CD à 1 mmol L-1 (b) Figura final FEN à 50 mmol L-1 em α-CD à 1 mmol L-1.....	42
Figura 3-16: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ β-CD à 14 mmol L-1 em água ■ β-CD à 14 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final β-CD à 14 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	43
Figura 3-17: Curvas de titulação para (a) ■ FEN à 50 mmol L-1 em água; ■ água em β-CD à 1 mmol L-1 ■ FEN à 50 mmol L-1 em β-CD à 1 mmol L-1 (b) Figura final FEN à 50 mmol L-1 em β-CD à 1 mmol L-1.....	44
Figura 3-18: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ γ-CD à 60 mmol L-1 em água ■ γ-CD à 60 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final γ-CD à 60 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	46
Figura 3-19: Curvas de titulação para (a) ■ FEN à 50 mmol L-1 em água; ■ água em γ-CD à 1 mmol L-1 ■ FEN à 50 mmol L-1 em γ-CD à 1 mmol L-1 (b) Figura final FEN à 50 mmol L-1 em γ-CD à 1 mmol L-1. ....	47
Figura 3-20: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ CM-β-CD à 12 mmol L-1 em água ■ CM-β-CD à 12 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final CM-β-CD à 12 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	48

Figura 3-21: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ CM-β-CD à 20 mmol L-1 em água ■ CM-β-CD à 20 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final CM-β-CD à 20 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	49
Figura 3-22: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ HP-β-CD à 60 mmol L-1 em água ■ HP-β-CD à 60 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final HP-β-CD à 60 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	51
Figura 3-23: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ M-β-CD à 30 mmol L-1 em água ■ M-β-CD à 30 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final M-β-CD à 30 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	52
Figura 3-24: Curvas de titulação à 15°C para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ CM-β-CD à 20 mmol L-1 em água ■ CM-β-CD à 20 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final CM-β-CD à 20 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	53
Figura 3-25 Curvas de titulação à 35°C para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ CM-β-CD à 20 mmol L-1 em água ■ CM-β-CD à 20 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final CM-β-CD à 20 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	54
Figura 3-26: Curvas de titulação à 45°C para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L-1; ■ CM-β-CD à 20 mmol L-1 em água ■ CM-β-CD à 20 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1 (b) Figura final CM-β-CD à 20 mmol L-1 em FEN à 1 mmol L-1. ....	54
Figura 3-27: Sistema CMβCD e FEN em razão molar de 20:1 em função da temperatura a) Variação do Keq e b) parâmetros termodinâmicos: ΔH°, TΔS e ΔG°. ....	56
Figura 3-28: Espectro de RMN 1H à 400 MHz para o MET em D2O/H2O. ....	58
Figura 3-29: Espectro de RMN 1H para a β-CD em D2O/H2O. ....	59
Figura 3-30: Espectro de RMN 1H para o composto formado pelo MET e β-CD b) expansão do espectro na região de δ entre 2.9 e 4.0 ppm. ....	60
Figura 3-31: Mapa de correlação 1H/1H 2D ROESY para o composto formado MET:β-CD em D2O/H2O. ....	61
Figura 3-32: Espectro de RMN 1H para o FEN à 400 MHz em D2O/H2O. ....	62
Figura 3-33: Espectro de RMN 1H para o composto formado entre FEN e β-CD (a) na região entre 2,3 e 4,1 ppm (b) na região entre 4,0 e 7,4 ppm. ....	63
Figura 3-34: Mapa de correlação 1H/1H 2D ROESY para o composto formado FEN:β-CD, em D2O/H2O, as regiões em destaque referem-se aos H1 e H2 do FEN. ....	64

Figura 3-35: Possíveis estruturas para o composto de inclusão FEN: $\beta$ -CD. ....	65
Figura 3-36: Espectro de RMN $^1\text{H}$ para a CM- $\beta$ -CD. ....	66
Figura 3-37: Espectro de RMN $^1\text{H}$ para o composto formado entre FEN e CM- $\beta$ -CD (a) na região entre 2,8 e 7,4 ppm (b) na região entre 6,0 e 7,4 ppm. ....	67
Figura 3-38: Mapa de correlação $^1\text{H}/^1\text{H}$ 2D ROESY para o composto formado FEN:CM- $\beta$ -CD, em $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ . ....	68
Figura 3-39: Possíveis estruturas para o composto de inclusão FEN:CM- $\beta$ -CD. ....	69

## Lista de Tabelas

Tabela 1-1: Propriedades das CDs naturais. ....	11
Tabela 2-1: Descrição das concentrações das soluções de MET e das CDs utilizadas na realização das titulações à 25°C. ....	22
Tabela 2-2: Descrição das concentrações das soluções de MET e das CDs utilizadas na realização das titulações à 25°C. ....	23
Tabela 2-3: Massas dos fármacos e das CDs usados na formação dos compostos de inclusão. ..	21
Tabela 2-4: Massas dos fármacos e das CDs usados na realização das misturas físicas. ....	21
Tabela 3-1: Parâmetros termodinâmicos para (a) FEN à 1 mmol L-1 com $\beta$ CD à 14 mmol L-1 (b) FEN à 50 mmol L-1 com $\beta$ -CD à 1 mmol L-1. ....	44
Tabela 3-3-2: Parâmetros termodinâmicos para (a) FEN à 1 mmol L-1 com CM- $\beta$ -CD à 12 mmol L-1 (b) FEN à 1 mmol L-1 com CM- $\beta$ -CD à 20 mmol L-1. ....	49
Tabela 3-3: Valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) para os hidrogênios da molécula de FEN. ....	63
Tabela 3-4: Valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) para os hidrogênios da molécula de FEN. ....	67

## Lista de abreviaturas

CD	Ciclodextrina
$\alpha$ -CD	Alfa-ciclodextrina
$\beta$ -CD	Beta-ciclodextrina
$\gamma$ -CD	Gama-ciclodextrina
CM- $\beta$ -CD	Carboximetil-beta-ciclodextrina
HP- $\beta$ -CD	Hidroxipropil-beta-ciclodextrina
M- $\beta$ -CD	Metil-beta-ciclodextrina
FEN	Cloridrato de fenformina
MET	Cloridrato de metformina
$\delta$	Estiramento da ligação
$\nu$	Deformação angular
NOE	Nuclear Overhauser effect
ROE	Rotating frame Overhauser Effect
ROESY	Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	2
1.1	Diabetes Mellitus .....	2
1.2	Cloridrato de metformina e cloridrato de fenformina.....	4
1.3	Química supramolecular .....	8
1.4	Ciclodextrinas .....	9
1.5	Técnicas utilizadas no estudo.....	12
1.5.2	Calorimetria de titulação isotérmica (ITC).....	14
1.6	Objetivos.....	18
1.6.1	Objetivos Gerais.....	18
1.6.2	Objetivos Específicos.....	18
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
2.1	Reagentes .....	20
2.2	Produção dos compostos de inclusão para caracterizações estruturais.....	20
2.3	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	21
2.4	Calorimetria de titulação isotérmica .....	22
2.5	Ressonância magnética nuclear (RMN).....	24
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26
3.1	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	26
3.1.1	Sistema formado pelo MET e $\beta$ -CD. ....	26
3.1.2	Sistema formado pelo FEN e $\beta$ -CD. ....	29
3.1.3	Sistema formado pelo FEN e CM- $\beta$ -CD.....	31
3.2	Calorimetria de titulação isotérmica .....	33
3.2.1	Sistemas formados pelo MET e as CDs naturais .....	33
3.2.2	Sistemas formados pelo MET e CDs modificadas .....	37
3.2.3	Sistemas formados por FEN com as CDs naturais. ....	40
3.2.4	Sistemas formados por FEN com as CDs modificadas .....	48
3.2.5	Sistema FEN:CM- $\beta$ -CD em diferentes temperaturas. ....	53
3.3	Ressonância magnética nuclear (RMN).....	57
3.3.1	Sistema formado pelo MET e $\beta$ -CD. ....	57
3.3.2	Sistema formado pelo FEN e $\beta$ -CD. ....	62

3.3.3 Sistema formado pelo FEN e CM- $\beta$ -CD.....	65
4 CONCLUSÕES .....	71
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

**CAPÍTULO 1**  
**INTRODUÇÃO**

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus é uma doença crônica que faz parte de um grupo de condições metabólicas caracterizadas por alterações no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, geralmente associadas à resistência à insulina ou à deficiência na sua produção. No caso do Diabetes, a principal característica é a hiperglicemia, que pode ocorrer devido à destruição das células  $\beta$ -pancreáticas ou a uma ação ineficaz da insulina nos tecidos (ADA, 2014; Schuster; Duvuuri, 2002). Esta é uma condição que afeta milhões de pessoas em todo o mundo e seu impacto aumenta a cada ano. Estima-se que até o ano de 2030 cerca de 578 milhões de pessoas terão diabetes, o que evidencia a necessidade de estratégias de prevenção e manejo adequados (Pouya Saeedia et al., 2019).

O diagnóstico em fase inicial e tratamento adequado são fundamentais para a redução de prejuízos para a qualidade de vida dos pacientes que apresentam tal condição. Muitas complicações são atreladas a hiperglicemia a longo prazo associada a falta de tratamento adequado da diabetes mellitus que envolve retinopatia e perda da visão; insuficiência renal; amputação de membros. Além disso, outros importantes riscos associados a diabetes são: hipertensão e doenças cardiovasculares, arterial periférica e cerebrovascular (Schuster; Duvuuri, 2002; Tan et al., 2019). Os casos diagnosticados são classificados em grupos (Figura 1-1), diabetes mellitus tipo I (DM1) e diabetes mellitus tipo II (DM2), essa classificação é importante para o entendimento da causa e principalmente para a determinação do tratamento mais eficaz.



controle da hiperglicemia em pacientes com DM2 são: as sulfonilureias; meglitininas ou glidina; inibidores da alfa-glicosidase; tiazolidinedionas e as biguanidas (DeMarsilis et al., 2022). Para a realização do presente trabalho serão utilizados dois fármacos anti-hiperglicêmicos da classe das biguanidas: o cloridrato de metformina e o cloridrato de fenformina. A escolha destes dois fármacos se deu devido a DM2 ser uma doença com grande impacto no mundo por afetar milhões de pessoas, portanto a importância de se buscar estratégias para um melhor tratamento. Além disso, ao tamanho das estruturas destes fármacos, tratando-se de duas moléculas pequenas e semelhantes entre si. Isto possibilita que o trabalho atue como modelo para novos trabalhos.

## 1.2 Cloridrato de metformina e cloridrato de fenformina

As biguanidas são uma classe de medicamentos de uso oral utilizados no tratamento de diabetes mellitus, DM2, tem origem na planta *Galega officinalis*, que historicamente foi utilizada na medicina popular no tratamento de sintomas associados a diabetes mellitus por sua propriedade anti-hiperglicêmica. Seu uso como agente antidiabético está associado ao princípio ativo guanidina presente na planta, muito tóxico para uso crônico, que mais tarde foi utilizado na síntese das biguanidas que apresentam menor toxicidade mantendo sua capacidade de reduzir os níveis de glicose no sangue (Kim, 2021; Triggle, 2022). No ano de 1957, foram sintetizados as biguanidas, dentre elas o cloridrato de metformina e o cloridrato de fenformina que apresentaram atividade hipoglicêmica.

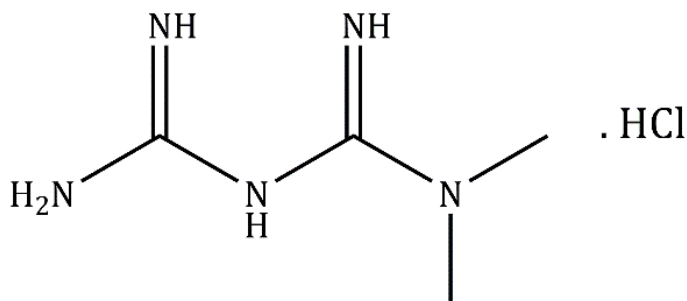


Figura 1-2: Representação da estrutura do cloridrato de metformina.

O cloridrato de metformina (Figura 1-2), no presente estudo será denominado MET, é um sólido cristalino branco, muito solúvel em água (300 mg mL<sup>-1</sup> a 25°C). Sua fórmula molecular é

$C_4H_{11}N_5.HCl$  e massa molecular igual a  $165,63 \text{ g mol}^{-1}$  (Metry et al., 2021). Ligeiramente solúvel em álcool etílico e insolúvel em acetona. Em sua forma de cloridrato, o MET é bastante estável a temperatura ambiente e a luz (Da Trindade; Kogawa; Salgado, 2018).

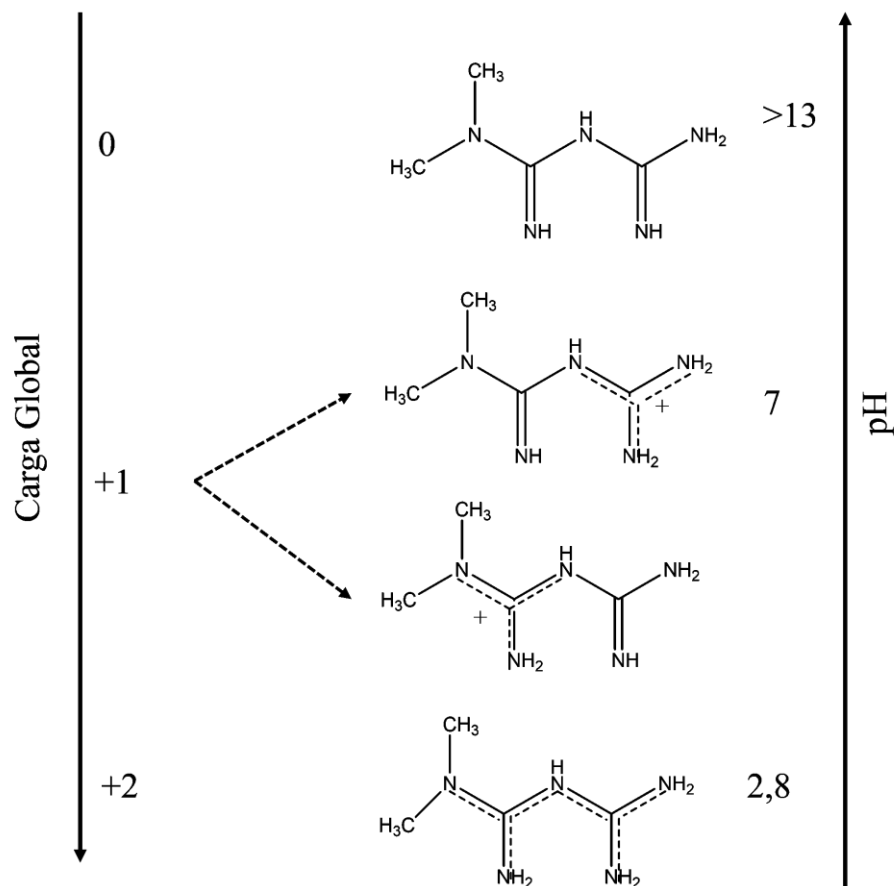


Figura 1-3: Protonação/desprotonação do MET em diferentes valores de pH. Adaptado de Hernández et al., 2015.

As diferentes formas do MET são descritas na Figura 1-3, os valores de  $pK_1$  (2,8) e  $pK_2$  (11,6) referem-se, respectivamente, a biprotonação/monoprotonação e monoprotonação/forma neutra. o MET se encontra biprotonado em  $pH \sim 2,8$  (carga global +2), enquanto em um pH mais alto, próximo de neutro, se encontra monoprotonado. Para o MET monoprotonado são possíveis duas formas, conforme é mostrado na Figura 1-3 (Hernández et al., 2015).

O MET é um fármaco de primeira linha no tratamento do DM2 e o mais utilizado para esta finalidade, sendo prescrito para em 70 % dos pacientes recém diagnosticados em todo o mundo,

sendo 55,6 % utilizado em monoterapia e 14,4 % combinado com uma sulfonilureia. Como tratamento de segunda linha, é em sua maioria prescrito em combinação com inibidor um de DPP-4 (23,5 %) ou com uma sulfonilureia (20,9 %). O que representa, aproximadamente 200 milhões de pessoas em todo o mundo fazem uso do MET atualmente (Gomes et al., 2019; Schernthaner; Schernthaner, 2020). A ampla utilização deste fármaco se deve a sua eficácia no controle dos níveis de glicose no sangue sem efeito na concentração de insulina, não associado a hipoglicemia clínica, seu uso é seguro a longo prazo e baixo custo para o paciente (Bailey, 1992; Galicia-Garcia et al., 2020; Triggle, 2022).

A absorção do MET por via oral acontece no trato gastrointestinal, absorvido principalmente pelo intestino delgado (Abbasi; Heath; McGinness, 2024; Bailey, 2017; Feng et al., 2022; Song; Zhang; Meng, 2021). Doses orais de 500 a 1.000 mg, o tempo médio que o fármaco atinge a máxima concentração plasmática é de 2,5 horas (Abbasi; Heath; McGinness, 2024). Os mecanismos de ação antidiabética estão associados à inibição da produção de glicose pelo fígado, e desta forma, melhorando a atuação da insulina e diminuindo a resistência à mesma, sem causar ganho de peso, ou aumento na secreção de insulina (Cao et al., 2022; Feng et al., 2022). Ao ser ingerido, não se liga às proteínas plasmáticas, mas se distribui rapidamente em vários tecidos do corpo. A maior concentração tecidual alcançada é quase cem vezes maior do que a do plasma sanguíneo, se concentrando principalmente no fígado, rim, intestino delgado. O MET não é metabolizado pelo fígado, sendo secretado pelos rins em sua forma original (Feng et al., 2022). Possui uma meia-vida de eliminação entre 6 e 7 horas, podendo ocorrer em um tempo maior caso o paciente apresente função renal comprometida (Bailey, 2017; Mbara et al., 2021). A meia vida biológica apresentada pelo fármaco varia entre 1,5 e 4,5 horas, sendo, portanto, necessárias doses frequentes durante o dia como forma de manter concentrações plasmáticas eficazes (Corti et al., 2007).

Por se tratar de um fármaco hidrofílico, a permeabilidade do MET nas membranas lipídicas é limitada, considerando que o ambiente onde ocorre sua absorção, sua biodisponibilidade oral é em média de 55 %. Embora já existam disponíveis no mercado formulações de liberação prolongada e não prolongada, a biodisponibilidade oral em as ambas as formulações é semelhante (Abbasi; Heath; McGinness, 2024). A sua baixa biodisponibilidade é uma limitação, pois isto exige ao paciente administração de maiores doses no dia (Setter et al., 2003).

Os efeitos adversos mais comuns associados ao uso de MET são problemas gastrointestinais (náuseas, vômito, diarreia), que são diminuídos com o uso contínuo. O uso a longo prazo está também relacionado com deficiência de vitamina B12 que é resultado da má absorção desta ligada a alterações na microbiota (Triggle, 2022).

O cloridrato de fenformina (Figura 1-4), sendo denominado neste trabalho como FEN, é um sólido branco, solúvel em água, sua fórmula molecular é  $C_{10}H_{15}N_5.HCl$  e massa molecular 241,72 g mol (Kuwayti; Rado, 1959). FEN, assim como o MET, pertence a classe das biguanidas, possuindo semelhante estrutura, exceto pela presença de um anel aromático no FEN. O FEN, assim como o MET pode sofrer duas protonações, o que  $pK_1$ , referente a primeira protonação do FEN, equivalente à -13,27. Enquanto o valor de  $pK_2$  equivale a -3,26 para a segunda protonação. A primeira protonação ocorre em pH alcalino ( $>13,9$ ), enquanto a segunda protonação ocorre em pH ácido ( $< 4$ ) (Orgován; Noszál, 2011). Foi sintetizado no ano de 1957 e apresentou eficácia no tratamento da DM2, porém no ano de 1970 foi retirado do mercado devido ao risco aumentado de acidose láctica atribuído ao seu uso, que é especialmente prejudicial à saúde de pessoas mais idosas (Fimognari et al., 2008).

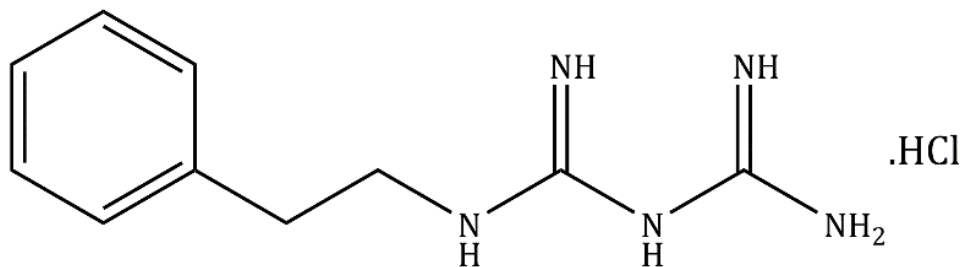


Figura 1-4: Representação da estrutura do cloridrato de fenformina.

Conforme mencionado anteriormente, o MET é de grande importância no tratamento do DM2, sendo utilizado por milhões de pessoas em todo o mundo, isto justifica a busca por estratégias que visam melhorar sua biodisponibilidade. Além disso encontrar estratégias de reduzir efeitos adversos atribuídos ao uso da FEN como forma de inserir no mercado mais uma opção no tratamento do DM2. Para isto, estes fármacos serão testados com diferentes ciclodextrinas (CD) a fim de formar sistemas supramoleculares.

Os sistemas supramoleculares do tipo hóspede-hospedeiro formados por CDs são amplamente estudados e de grande interesse para a indústria farmacêutica devido sua capacidade

de interagir com diversas moléculas orgânicas, como fármacos, modificando propriedades intrínsecas destas moléculas tais como solubilidade em água, estabilidade química, biodisponibilidade (De Sousa et al., 2008).

### 1.3 Química supramolecular

Jean-Marie Lehn, Charles Pedersen, e Donald J. Cram receberam o Prêmio Nobel de Química no ano de 1987 em reconhecimento ao seu trabalho em química supramolecular. A química supramolecular, entendida como a química além da molécula, é a área da química onde são estabelecidas apenas interações intermoleculares entre as espécies, não se tratando das ligações covalentes, tendo como base as identidades organizadas de maior complexidade que resultam da associação de mais duas espécies químicas mantidas juntas por interações intermoleculares (LEHN, 1987; Vicens; Vicens, 2011).

Três vertentes podem ser descritas no desenvolvimento da química supramolecular, cada uma delas diz respeito a um tema. Sendo descritas como (i) reconhecimento molecular, reatividade supramolecular, catálise e transporte, se baseia no design e na pré-organização; (ii) automontagem e à auto-organização, auto processos em geral, se baseia no design e implementa programação e sistemas programados; (iii) adaptação e evolução, se baseia na auto-organização por meio da seleção (Lehn, 2002).

O reconhecimento molecular diz respeito à capacidade das moléculas de reconhecer e interagir umas com as outras por meio de interações não covalentes. É um conceito fundamental para a formação de estruturas e funções complexas em sistemas biológicos e químicos (Lehn, 2002). As interações ocorrem em um meio altamente organizado, onde a espécie interage seletivamente com uma outra, como a modelo chave-fechadura para enzimas e substratos, e a química hóspede-hospedeiro, sendo um conceito mais amplo onde uma molécula hospedeira interage com uma molécula hóspede formando uma supramolécula (Ariga; Kunitake, 2006).

A automontagem se refere ao processo pelo qual componentes individuais se agregam espontaneamente para formar estruturas organizadas, depende das propriedades intrínsecas dos componentes, como sua forma, tamanho e interações químicas. As moléculas ou partículas se unem por meio de interações não covalentes (por exemplo, ligação de hidrogênio, forças de van der Waals, interações hidrofóbicas) para formar estruturas maiores e mais complexas. A auto-

organização abrange a automontagem no que diz respeito a sistemas que podem gerar espontaneamente estruturas organizadas por meio de processos dinâmicos. E envolve além da agregação de componentes, o desenvolvimento de padrões, estruturas ou comportamentos que surgem das interações entre os componentes. Esse processo pode incluir mecanismos de feedback, adaptação e evolução, levando a sistemas mais complexos e funcionais (Lehn, 2002).

Os conceitos de adaptação e evolução são introduzidos na química supramolecular. São dependentes da auto-organização por meio da seleção, além do design, e implementam diversidade química e dinâmica informada. Reflete uma mudança em direção à compreensão de como os sistemas supramoleculares podem evoluir e se adaptar ao longo do tempo, semelhante aos sistemas biológicos (Lehn, 2002).

#### 1.4 Ciclodextrinas

As CDs (Figura 1-5) são macromoléculas que pertencem à família dos oligossacarídeos cíclicos formadas por unidades de glicose unidas por ligação do tipo  $\alpha$ -1,4 D-glicose, e são produzidas a partir da degradação enzimática do amido pela enzima *ciclodextrina glicosil transferase* (CGTase). Resultado do tipo de ligação apresentado pelas CDs, é uma estrutura semelhante a base de um cone, os grupos hidroxilas voltados para o exterior resultando em uma superfície hidrofílica e cavidade hidrofóbica, característica que explica sua capacidade de formar compostos de inclusão com diversas moléculas orgânicas hidrofóbicas ou com parte hidrofóbica que interage por ligações não covalentes com cavidade da CD (Szejtli, 2004). Esta interação é conhecida como do tipo hóspede-hospedeiro, em que a CD atua como hospedeiro, enquanto as espécies que são incluídas em sua cavidade são classificadas como hóspede (Barbosa et al., 2019).

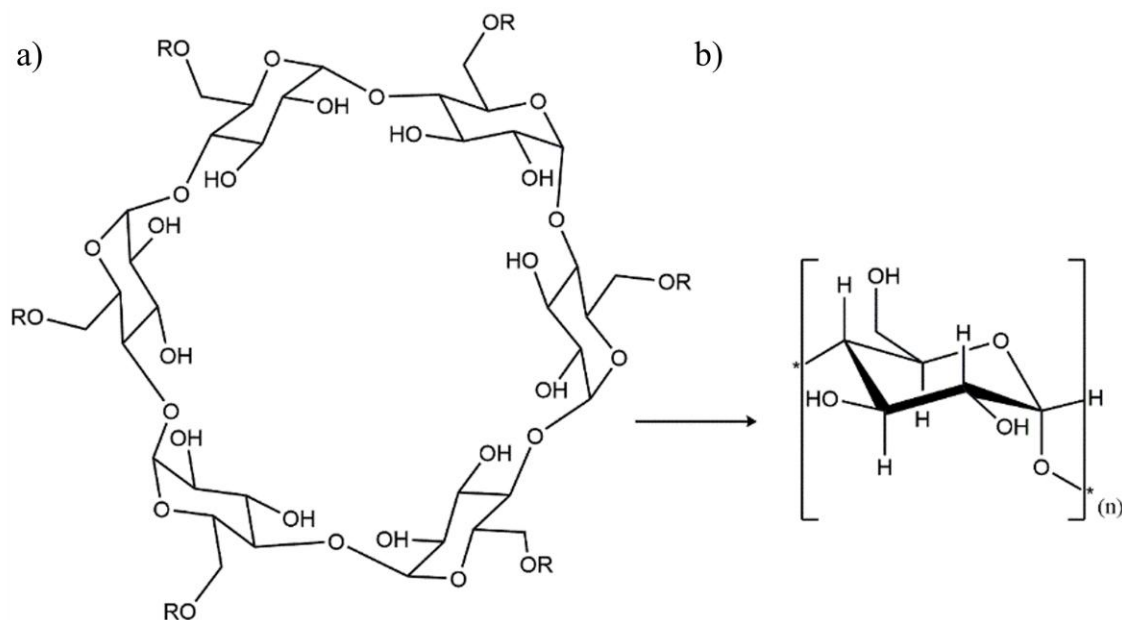


Figura 1-5: a) representação estrutural da  $\alpha$ -ciclodextrina e b) representação estrutural da unidade glicosídica.

A formação dos compostos de inclusão é comumente realizada em solução aquosa, e que se dá pela substituição das moléculas de água presentes na cavidade da CD pela molécula hóspede, ou por sua parte hidrofóbica (Loftsson; Duchêne, 2007). As moléculas de água inicialmente presentes na cavidade da CD são mantidas por interações de Van der Waals e interações hidrofóbicas (Angelova et al., 2025). Este processo acontece em equilíbrio, em solução coexistem moléculas hóspedes livres e incluídas as moléculas de CDs, conforme descrito na Equação 1.1. Além de compostos de inclusão, é conhecida também a capacidade das CDs em formar compostos de interação superficial, ou seja, os grupos hidroxilas do exterior da CD podem interagir com outras moléculas por ligações de hidrogênio (Loftsson; Duchêne, 2007).



Na Equação 1.1, onde um número  $m$  de moléculas do hóspede  $H$ , interagem com um número  $n$  de moléculas de CD formado um composto de inclusão  $H_mCD_n$  que apresenta características próprias, diferentes das observadas para a molécula hóspede e a CD puros (Loftsson; Másson; Brewster, 2004).

As CDs são amplamente estudadas devido a suas características estruturais próprias, conforme mencionado anteriormente, permite a formação de sistemas supramoleculares de grande interesse para diversas áreas da indústria, especialmente a farmacêutica. As CDs vêm sendo utilizadas em formulações farmacêuticas como forma a atribuir modificações de propriedades específicas de uma grande variedade de fármacos. Estes sistemas podem ser utilizados como forma de aumentar a solubilidade do fármaco em água; aumento de estabilidade química; biodisponibilidade entre outras (Liu; Guo, 2002).

São conhecidas três CDs de ocorrência natural que apresentam diferentes propriedades que estão descritas na Tabela 1-1. A  $\alpha$ -ciclodextrina ( $\alpha$ -CD),  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) e  $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD), se diferem pelo número de glicose em suas estruturas, sendo 6, 7 e 8 unidades de glicose para  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD, respectivamente (Szejtli, 1998). Como consequência direta da diferença do número de unidade de glicoses, o tamanho de suas cavidades, a solubilidade em água também é diferente para CDs naturais. Das CDs naturais,  $\beta$ -CD é a que apresenta menor solubilidade em água, isto se deve a sua conformação que favorece as interações intramoleculares e desfavorece as interações intermoleculares com as moléculas de água circundantes (Loftsson; Duchêne, 2007).

Tabela 1-1: Propriedades das CDs naturais.

CD	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
Unidades de glicose	6	7	8
Massa molecular ( $\text{g mol}^{-1}$ )	972,0	1135,0	1297,0
Solubilidade em água ( $\text{g L}^{-1}$ a $25^\circ\text{C}$ )	145,0	18,5	232,0
Diâmetro da cavidade (Å)	4,7	6,0	7,5
Altura da CD (Å)	7,9	7,9	7,9

Dentre as CDs naturais, a mais utilizada é a  $\beta$ -CD, das CDs naturais é a mais abundantemente formada na síntese e de sua cavidade compatível com um número considerável de moléculas orgânicas (Valente; Söderman, 2014). Apesar de suas vantagens em comparação com as demais CDs naturais, a  $\beta$ -CD apresenta baixa solubilidade em água, apesar de ter em sua estrutura maior número de hidroxilas que a  $\alpha$ -CD. Isto é explicado pelas interações intramoleculares que são formadas entre os grupos OH secundários da superfície externa da  $\beta$ -CD, desfavorecendo a interação com as moléculas de água. Esta característica é considerada uma

limitação para o uso farmacêutico, pois torna inviável uso parental. A estratégia encontrada pela indústria é a modificação química, a substituição do hidrogênio das hidroxilas, ou de parte delas, por diferentes grupos funcionais de forma a melhorar a solubilidade (Davis; Brewster, 2004).

Embora exista uma grande quantidade de trabalhos publicados na literatura que abordem na formação de compostos de inclusão envolvendo CDs e diferentes fármacos com foco em seu estudo termodinâmico. Ainda há uma ausência de trabalhos que tratem de estudos termodinâmicos envolvendo diferentes CDs com os fármacos antidiabéticos MET e FEN, sendo uma lacuna que o presente trabalho se propõe a preencher. Além disto, o presente estudo traz a determinação dos parâmetros termodinâmicos por titulações colorimétricas, técnica que permite também a terminação da estequiometria envolvida na interação entre as espécies, e a caracterização estrutural dos compostos formados por meio de técnicas espectroscópicas.

## **1.5 Técnicas utilizadas no estudo**

### **1.5.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho**

A técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV) se baseia no entendimento de que a excitação de uma molécula em um nível de energia vibracional para outro quando esta absorve radiação na região do infravermelho em comprimento de onda específico. O espectro de infravermelho é único para cada molécula sendo como sua impressão digital, desta forma a técnica é utilizada para diferenciar moléculas similares (Pavia et al., 2010).

Uma molécula é ativa no infravermelho somente quando há variação em seu momento de dipolo, o que faz com que moléculas homonucleares e apolares sejam pouco ativas no espectro de IV. Além disto, um maior momento de dipolo determina uma maior polaridade da molécula e maior intensidade da banda referente a ligação no espectro. Em uma molécula diatômica e heteronuclear, os átomos ligados por ligação covalente têm sua ligação estirada (o estiramento de uma ligação é representado por  $\nu$ ), onde a distância entre eles varia, aumentando e diminuindo. Já moléculas com maior número de átomos podem sofrer outros tipos de vibração, entre três átomos podem ocorrer vibrações de deformação angular ( $\delta$ ) no plano e fora do plano, além de estiramento simétrico e assimétrico. Em um espectro de infravermelho, a intensidade das bandas é dada em %

de transmitância pelo número de onda, expresso em  $\text{cm}^{-1}$  que, em geral, abrangem uma faixa entre 4000 e  $400 \text{ cm}^{-1}$  (Pavia et al., 2010; SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018).

Esta técnica é particularmente útil para o estudo de compostos de inclusão formados por CDs tanto no estado sólido quanto em solução, sendo útil para verificar alterações nos modos vibracionais de hospedes e hospedeiros no processo de inclusão. Observação de mudanças em bandas características das moléculas, como desaparecimento, alargamento, variações na intensidade da banda e ou mudanças em seu número de onda, são indicativos de possível formação do complexo. A ocorrência destas mudanças pode ser resultado da restrição das vibrações de estiramento das moléculas causada pela inclusão da molécula hóspede na cavidade da CD (Mura, 2015).

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) com acessório de reflectância total atenuada (ATR) é uma técnica de simples realização que não requer preparo específico da amostra o que gera uma alta reprodutibilidade dos espectros (Crupi et al., 2007). O experimento é esquematizado na Figura 1-6.

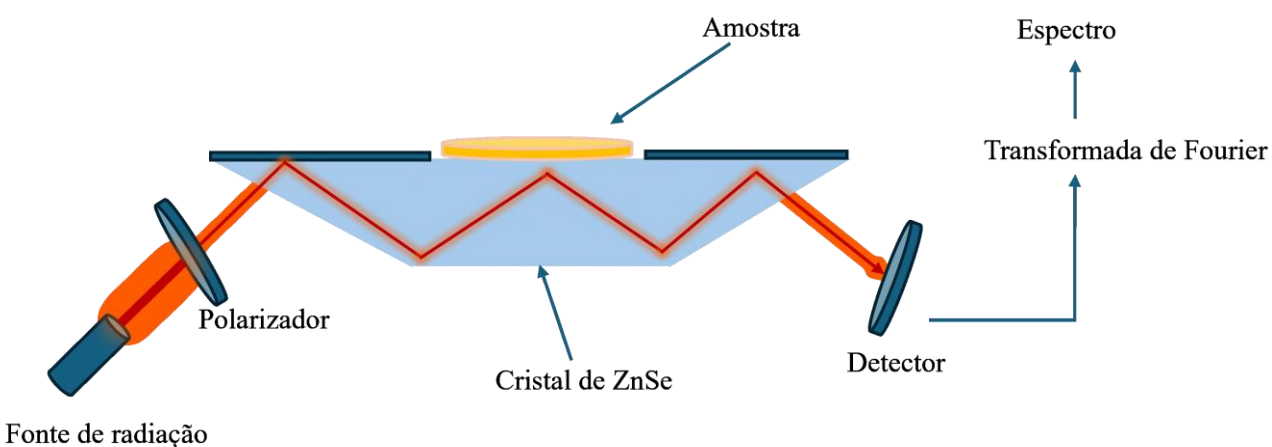


Figura 1-6: Esquema da trajetória da radiação pela amostra na técnica de FTIR-ATR.

Conforme mostrado na Figura 1-6, o feixe de radiação IV passa pela amostra que é pressionada pelo pistão, localizada acima do cristal, a energia refletida é comparada com a que é refletida na ausência da amostra. O sinal recebido pelo detector é dado pelo tempo em função da intensidade do sinal que é posteriormente convertido pela operação matemática chamada transformada de Fourier. O espectro resultante é dado pela absorbância (%) em função do

comprimento de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018). A sua simples operação e informações fornecidas torna a técnica FTIR-ATR muito utilizada para a caracterização dos compostos de inclusão e misturas físicas formados por CDs e moléculas hóspedes (Crupi et al., 2007).

### 1.5.2 Calorimetria de titulação isotérmica (ITC)

A calorimetria de titulação isotérmica (Isothermal Titration Calorimetry - ITC) é uma técnica amplamente empregada em diversos estudos de sistemas supramoleculares, em especial sistemas do tipo hóspede-hospedeiro envolvendo CDs. Isto se deve a sua capacidade de determinar por meio de uma única técnica os parâmetros termodinâmicos envolvidos na interação entre duas espécies em solução, a estequiometria e a constante de associação. Estes parâmetros são obtidos pela medição da variação do calor liberado ou absorvido durante o processo de interação (Bastos; Velazquez-Campoy, 2021; Lima Cavalcanti et al., 2023).

A realização do cálculo dos valores termodinâmicos, os dados de fluxo de calor fornecidos pelo calorímetro são analisados utilizando o modelo matemático da isoterma de Wiseman (equação 1.2), desta forma, a estequiometria de interação ( $n$ ), a constante de equilíbrio ( $K_{eq}$ ) e a variação da entalpia ( $\Delta H^\circ$ ) são calculados e (Turnbull; Daranas, 2003; Velazquez-Campoy, 2015), e partindo destes valores calculados, é possível determinar a variação da energia livre de Gibbs do processo ( $\Delta G^\circ$ ) e variação do termo entrópico ( $T\Delta S^\circ$ ), calculando a partir das equações 1.2 e 1.3 (Levine, 2012).

$$\frac{dQ_t}{V_0 d[L]_t} = \left( \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \frac{1-r-X_R}{\sqrt{X_R^2 - 2X_R(1-r) + (1+r)^2}} \right) \Delta H \quad \text{Equação 1.2}$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad \text{Equação 1.3}$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad \text{Equação 1.4}$$

Na Equação 1.3 onde  $R$  é a constante dos gases ideais ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ),  $T$  é a temperatura expressa em Kelvin.

O esquema de procedimento de uma titulação isotérmica, conforme descrito na Figura 1-6, o equipamento é formado por um revestimento adiabático, no seu interior estão localizadas as celas de referência (contendo somente o solvente) e titulação (contendo o titulado) mantidas sob mesma temperatura (isotérmica). A seringa onde está contido o titulante. A técnica consiste em injeções consecutivas de pequenos volumes do titulante com intervalo de tempo pré-determinado ao titulado sob agitação constante (Bouchemal; Mazzaferro, 2012; Lima Cavalcanti et al., 2023).

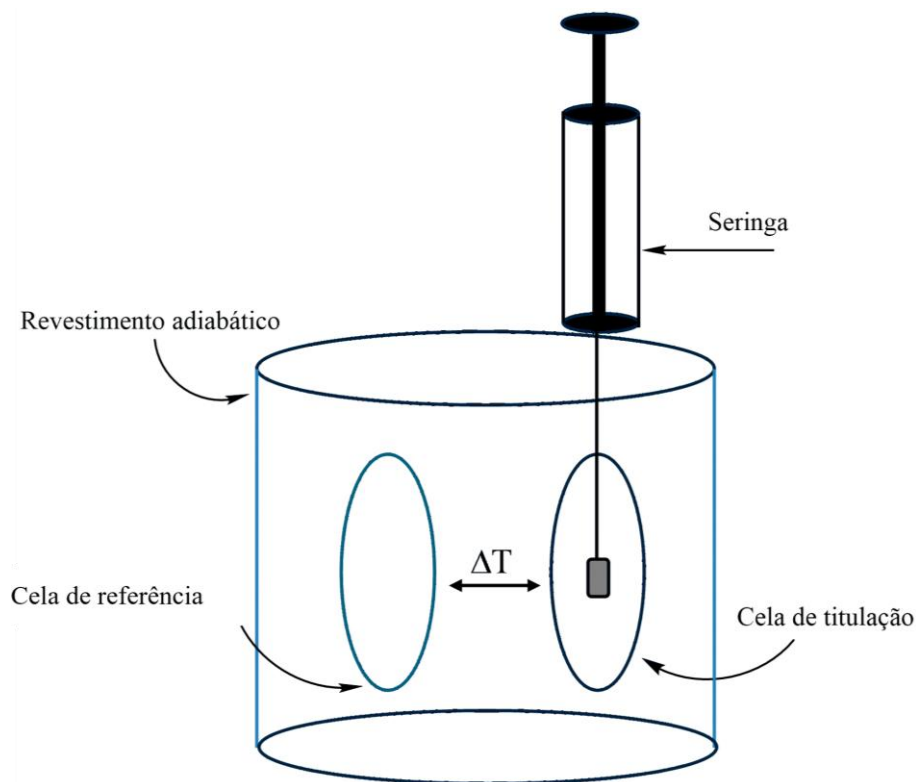


Figura 1-7: Esquema de funcionamento de uma titulação calorimétrica.

A variação na temperatura gerada pela interação das espécies é detectada pelo calorímetro e convertida em um sinal a cada injeção, como demonstrado na Figura 1-7a, a área sob cada sinal é integrada (Figura 1-7b) obtendo para cada injeção um valor que relaciona a quantidade de calor liberado ou absorvido pela razão molar (Bouchemal; Mazzaferro, 2012; Lima Cavalcanti et al., 2023).

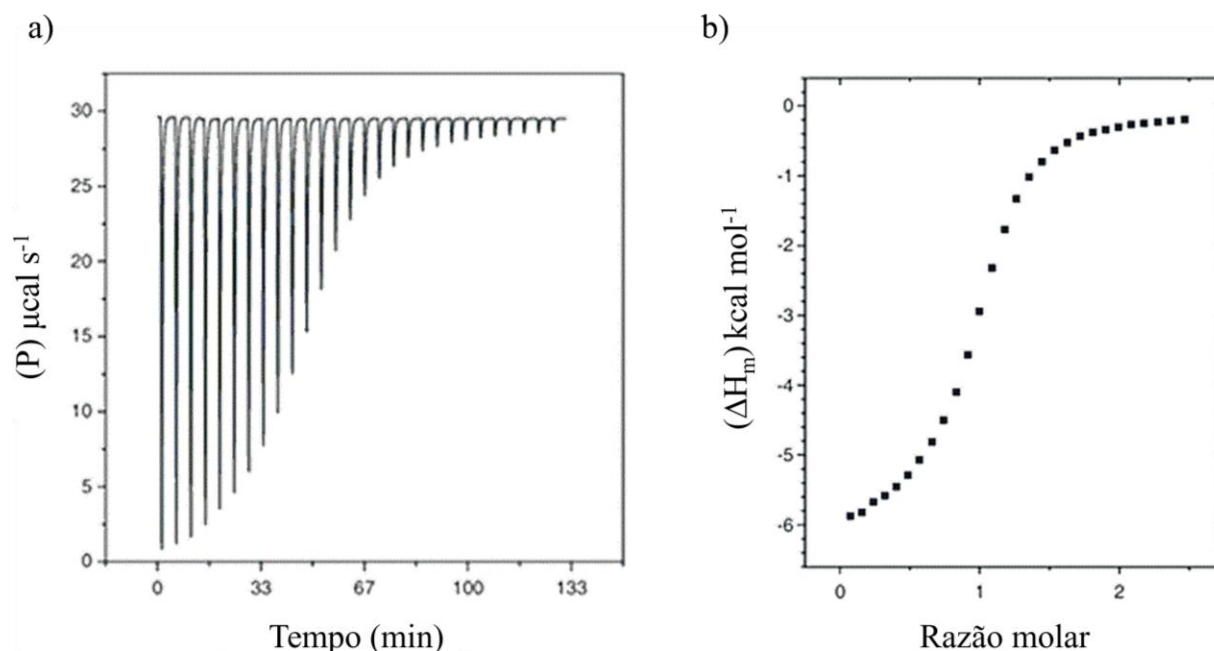


Figura 1-8: Perfil de curva de titulação de (a) fluxo de calor liberado na titulação (b) valores de entalpia molar de injeção integrados. Imagem adaptada de.(Bouchemal; Mazzaferro, 2012)

Antes do início do experimento, a cela de titulação é preenchida com a solução do titulante, a cada injeção ocorre a interação das moléculas do titulante com as moléculas do titulado, neste processo são desfeitas e formadas novas interações intermoleculares, o que resulta em uma liberação ou absorção de calor que é medida pelo calorímetro (Bouchemal; Mazzaferro, 2012). Demonstradas na Figura 1-8a, no eixo y compreende a  $P$  (potência térmica) dado pelo fluxo de calor medido pelo tempo. Cada pico de  $P$  é integrado (Figura 1-8b) e seu resultado é dado como entalpia molar. A quantidade de calor envolvido no balanço das interações entre as espécies, à pressão constante, é equivalente à variação da entalpia  $\Delta H^\circ$  (Levine, 2012). Após todas as moléculas do titulante interagirem com as moléculas do titulado, o excesso de titulante na cela de titulação é verificado quando a entalpia deixa de variar (Bouchemal; Mazzaferro, 2012).

### 1.5.3 Ressonância magnética nuclear (RMN)

Ressonância magnética nuclear (RMN), é uma técnica espectroscópica capaz de fornecer importantes informações acerca da estrutura de moléculas, baseiam-se na excitação de núcleos atômicos em um campo magnético externo, que resultam em sinais característicos de acordo com

seus ambientes químicos (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018). Possui grande utilidade no estudo de sistemas supramoleculares, pois apresenta capacidade de comprovar a inclusão da espécie hospedeira na cavidade da CD, diferentemente de outras técnicas, que sugerem de forma indireta a formação do composto de inclusão (Jug et al., 2014).

Experimentos unidimensionais de RMN fornecem informações acerca da interação entre as moléculas hóspede e hospedeiras pela observação de variações de deslocamento químico ( $\Delta\delta$ ), Equação 1.4, para os hidrogênios das espécies após a interação. Interações entre as espécies em um sistema supramolecular podem ser observadas por alterações do deslocamento químico por indicar mudança no ambiente químico sentido por um determinado próton. Um deslocamento à esquerda, ou seja, para mais alta frequência, demonstra uma maior desblindagem eletrônica deste próton gerada sua pela proximidade com átomos retiradores de elétrons (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018). É uma evidência que corrobora para a determinação da formação de um composto de inclusão quando se é observado uma variação de deslocamento químico nos hidrogênios que estão direcionados para a cavidade da CD que são o H3 e H5 (Jug et al., 2014; Schneider et al., 1998).

$$\Delta\delta = \delta_{\text{composto formado}} - \delta_{\text{espécie livre}} \quad \text{Equação 1.4}$$

Conforme mostrado na Equação 1.4, o valor de  $\Delta\delta$  é calculado subtraindo o valor de  $\delta$  observado para cada hidrogênio da espécie livre do valor encontrado para o determinado hidrogênio no composto formado.

O NOE (Nuclear Overhauser effect) ocorre quando núcleos de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) ligados a carbonos ( $^{13}\text{C}$ ), ao serem submetidos a um campo magnético externo ( $B_0$ ) e irradiados por um campo de radiofrequência ( $B_1$ ), são promovidos para um estado de maior energia. Quando o campo  $B_1$  é desligado, esses prótons retornam ao estado fundamental, transferindo energia para os átomos de  $^{13}\text{C}$  mais próximos de forma espacial. Como consequência, o sinal do carbono diretamente ligado ao hidrogênio é intensificado em relação ao sinal dos carbonos vizinhos, sendo essa intensidade proporcional ao número de hidrogênios acoplados (Claridge, 1999; Pavia et al., 2010).

A compreensão do NOE é fundamental no uso de técnicas bidimensionais que exploram interações espaciais, como o  $^1\text{H}/^1\text{H}$  2D ROESY (Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy). Esse método bidimensional, baseado na detecção do efeito ROE (Rotating-frame

Overhauser Effect), permite identificar núcleos de hidrogênio que se encontram próximos espacialmente (até aproximadamente 5 Å), mesmo que não estejam conectados por ligações covalentes, diferindo, portanto, do NOE convencional (Claridge, 1999). Essa característica torna o 2D ROESY especialmente útil em estudos de compostos de inclusão de ciclodextrinas (CDs), pois possibilita observar correlações cruzadas entre os prótons internos da cavidade da CD e os prótons da molécula hóspede. Dessa forma, a técnica fornece informações essenciais sobre a proximidade espacial, a orientação do hóspede no interior da cavidade para a elucidação estrutural do composto de inclusão formado (Mura, 2014; Schneider et al., 1998).

## **1.6 Objetivos**

### **1.6.1 Objetivos Gerais**

O presente trabalho tem como objetivo realizar um estudo termodinâmico e caracterização estrutural com dois fármacos pertencentes à classe das biguanidas, que apresentam estrutura química diferentes, em sistemas supramoleculares utilizando ciclodextrinas.

### **1.6.2 Objetivos Específicos**

- Realizar um estudo dos parâmetros termodinâmicos envolvidos na interação dos fármacos com cada uma das CDs estudadas;
- Determinar a estequiometria envolvida na interação entre os fármacos e as CDs;
- Determinar as estruturas dos compostos de inclusão formados por técnicas espectroscópicas.

# **CAPÍTULO 2**

## **METODOLOGIA**

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento do presente trabalho, bem como a utilização das técnicas de espectroscopia na região do infravermelho FTIR-ATR e calorimetria de titulação isotérmica (ITC) ocorreram na Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI). Os experimentos de ressonância magnética nuclear (RMN) unidimensionais e bidimensionais foram realizados em parceria com a Dr<sup>a</sup> Ivana Silva Lula do departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

### 2.1 Reagentes

Para o preparo das soluções utilizadas nas titulações e preparo dos compostos de inclusão, foi utilizada exclusivamente água tipo I (Milli-Q<sup>®</sup>). Os fármacos utilizados neste estudo, foram adquiridos dos fabricantes Sigma-Aldrich (FEN) e (MET) gentilmente cedido pela Achê. As CDs presentes no estudo naturais foram adquiridas do fabricante Sigma-Aldrich. São as CDs naturais  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD, suas características foram descritas na seção 1.4. E as CDs modificadas CM- $\beta$ -CD (1375 g mol<sup>-1</sup>), HP- $\beta$ -CD (1400 g mol<sup>-1</sup>) e M- $\beta$ -CD (1320 g mol<sup>-1</sup>). Os reagentes foram utilizados conforme disponibilizados pelo fabricante, sem realização de purificação adicional.

### 2.2 Produção dos compostos de inclusão para caracterizações estruturais

Os compostos de inclusão foram obtidos pelo método de liofilização, o procedimento realizado consistiu no preparo de soluções visando a formação do sistema supramolecular, formado por uma massa da espécie hóspede e da espécie hospedeira em proporção molar de 1:1, conforme descrito na Tabela 2-1. A solução formada de cada um dos sistemas foi submetida a um rápido congelamento pelo contato com nitrogênio líquido, isto é fundamental para se evitar possível precipitação da espécie de menor solubilidade. As soluções congeladas, foram levadas ao liofilizador JJ Científica modelo LJJ104 e mantidas sob vácuo até que toda a água presente seja sublimada, restando apenas o sólido.

Tabela 2-1: Massas dos fármacos e das CDs usados na formação dos compostos de inclusão na proporção molar de 1:1.

Sistema	Massa do fármaco (mg)	Massa da CD (mg)
FEN:β-CD	50,0	227,0
FEN:CM-β-CD	10,0	5,5
MET:β-CD	50,0	340,0

Os sistemas escolhidos que passaram pelo método de liofilização em que sua a interação foi verificada pela técnica de ITC FEN:β-CD, FEN:CM-β-CD, e para o sistema MET:β-CD. Após a pesagem das massas, conforme descrito na Tabela 2-2, preparadas com volume de água suficiente para a completa dissolução dos sólidos e mantidas sob agitação magnética na placa de agitação de modelo IKA® C-MAG HS7.

Tabela 2-2: Massas dos fármacos e das CDs usados na realização das misturas físicas na proporção molar de 1:1.

Sistema	Massa do fármaco (mg)	Massa da CD (mg)
FEN:β-CD	1,00	4,60
FEN:CM-β-CD	0,29	0,17
MET:β-CD	1,00	6,30

A mistura física foi preparada para os mesmos sistemas na proporção molar de 1:1 das espécies, assim como realizado para o método de liofilização a fim de serem caracterizadas por FTIR-ATR e posteriormente seus resultados comparados com os obtidos para os compostos liofilizados. Os sistemas foram nomeados da seguinte forma: MF(FEN:β-CD), MF(FEN:CM-β-CD) e MF(MET:β-CD). As massas utilizadas são descritas na Tabela 2-4, foram mantidas sob agitação no vórtex IKA® MS3 até a obtenção de uma mistura homogênea.

### 2.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

A caracterização dos compostos de inclusão no estado sólido foi feita pela técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier equipado com acessório de

refletância total atenuada (FTIR-ATR), os experimentos foram realizados e os espectros foram obtidos pelo espectrômetro Spectrum 100 (Perkin Elmer®) na faixa espectral de comprimento de onda entre 4000 e 650  $\text{cm}^{-1}$ , em 64 varreduras, com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros das espécies hóspede e hospedeira foram obtidos separadamente, e posteriormente os espectros dos compostos de inclusão obtidos pela técnica de liofilização e mistura física (Vieira et al., 2023).

## 2.4 Calorimetria de titulação isotérmica

O procedimento realizado para a cada umas das titulações calorimétricas é descrito da seguinte forma:

- 1) preparação das soluções aquosas dos titulantes e titulados em água Milli-Q®, conforme descrito nas Tabelas 2-3 e 2-4;
- 2) preenchimento da cela de referência com água Milli-Q®;
- 3) preenchimento da cela de titulação com a solução do titulado;
- 4) preenchimento da seringa com a solução do titulante;
- 5) configuração do microcalorímetro e início da titulação;
- 6) diluições;
- 7) tratamento dos dados. As etapas são detalhadas a seguir.

Tabela 2-3: Descrição das concentrações das soluções de MET e das CDs utilizadas na realização das titulações à 25°C.

	Concentração de MET ( $\text{mmol.L}^{-1}$ )	Concentração da CD ( $\text{mmol.L}^{-1}$ )
MET: $\alpha$ -CD	100,0	1,0
$\beta$ -CD: MET	50,0	1,0
MET: $\beta$ -CD	100,0	1,0
MET: $\gamma$ -CD	100,0	1,0
M- $\beta$ -CD: MET	1,0	30,0
MET:HP- $\beta$ -CD	100,0	1,0
HP- $\beta$ -CD:MET	1,0	60,0
MET:CM- $\beta$ -CD	1,0	12,0
MET:CM- $\beta$ -CD	1,0	8,0

Tabela 2-4: Descrição das concentrações das soluções de MET e das CDs utilizadas na realização das titulações à 25°C.

	Concentração de FEN (mmol.L <sup>-1</sup> )	Concentração da CD (mmol.L <sup>-1</sup> )
FEN:α-CD	50,0	1,0
α-CD:FEN	1,0	60,0
FEN:β-CD	1,0	14,0
β-CD:FEN	50,0	1,0
FEN:γ-CD	50,0	1,0
γ-CD: FEN	1,0	60,0
FEN:CM-β-CD	1,0	12,0
FEN:CM-β-CD	1,0	20,0
FEN:HP-β-CD	1,0	60,0
FEN:M-β-CD	1,0	30,0

A etapa 1) do procedimento, foram utilizadas diferentes concentrações das espécies para realizar as titulações visando obter uma curva com perfil de sigmoide ou semelhante, de forma a verificar a interação entre as espécies e calcular os parâmetros termodinâmicos envolvidos na interação. Os fármacos estudados apresentam alta solubilidade em água na temperatura aplicadas nas titulações, o que permitiu que ambos fossem trabalhados tanto como titulante quanto como titulado de modo a realizar os ajustes necessários para obtenção da curva (Hernández et al., 2015; Orgován; Noszál, 2011).

A etapa 5), para a realização da titulação foi configurado o programa do microcalorímetro em 25 injeções consecutivas do titulante, a primeira injeção com volume de 1 µL, sendo esta injeção descartada para a eliminação do efeito de difusão, e as demais injeções com volume de 10µL. Cada injeção foi realizada com intervalo de 300 s e a temperatura foi mantida à 25 °C (Morais et al., 2024).

A etapa 6), a fim de descontar o calor envolvida na diluição do titulado e do titulante em água, o procedimento foi realizado para titulação do titulante em água Milli-Q® e água Milli-Q® no titulado. As curvas obtidas nesta etapa foram subtraídas da curva da titulação na etapa 7).

A etapa 7), os dados obtidos após a subtração das diluições foram analisados pelo software ORINGIN 7.0 com extensão para ITC, realizando o ajuste não linear para a curva obtida, sendo

determinados os valores de constante de associação ( $K_a$ ), variação da entalpia padrão da interação ( $\Delta H^\circ$ ) e coeficiente estequiométrico ( $n$ ). Para os cálculos de energia livre de Gibbs padrão ( $\Delta G^\circ$ ) e do termo entrópico ( $T\Delta S^\circ$ ), foram utilizadas as Equações 1.2 e 1.3, descritas na seção 1.5.1 (Vieira et al., 2023).

## **2.5 Ressonância magnética nuclear (RMN)**

No presente foram realizados experimentos de RMN  $^1\text{H}$  uni e bidimensionais, para a confirmação da inclusão dos fármacos estudados na cavidade das CDs. Foi, primeiramente, realizada a caracterização das espécies livres pelo método unidimensional (MET, FEN,  $\beta$ -CD e CM- $\beta$ -CD), posteriormente para os compostos liofilizados em razão molar de 1:1 (MET: $\beta$ -CD; FEN: $\beta$ -CD e FEN:CM- $\beta$ -CD) (Passos et al., 2011). Para cada sistema foram identificados os deslocamentos químicos  $\delta$  dos hidrogênios das espécies livre, após isto, foram calculadas suas variações  $\Delta\delta$  quando unidas (Jug et al., 2014).

Os experimentos bidimensionais,  $^1\text{H}/^1\text{H}$  2D ROESY, foram aplicados aos compostos liofilizados para a verificação de proximidade espacial entre os hidrogênios dos fármacos com os das CDs como forma de confirmar do composto de inclusão. As condições experimentais: equipamento utilizado na realização dos experimentos Bruker AVANCE NEO, operado à 400 MHz e o solvente utilizado no preparo das soluções foi  $\text{D}_2\text{O}$  ou  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  5%. Para as análises foram utilizadas aproximadamente 10 mg de cada uma das amostras em 0,7 ml de solvente.

**CAPÍTULO 3**  
**RESULTADOS E DISCUSSÕES**

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

#### 3.1.1 Sistema formado pelo MET e $\beta$ -CD.

A caracterização estrutural dos compostos no estado sólido foi realizada se utilizando da técnica de FTIR-ATR para a determinação dos espectros de absorção na região do infravermelho vibracional para as espécies livres (Figura 3-1 e Figura 3-2) para posterior comparação com os espectros obtidos para o composto liofilizado e mistura física do MET e  $\beta$ -CD (Figura 3-3). Estes experimentos foram realizados com a finalidade de verificar mudanças nos modos vibracionais das moléculas hóspedes e hospedeiras como forma de fornecer evidências da formação de compostos de inclusão entre os fármacos estudados e as CDs.

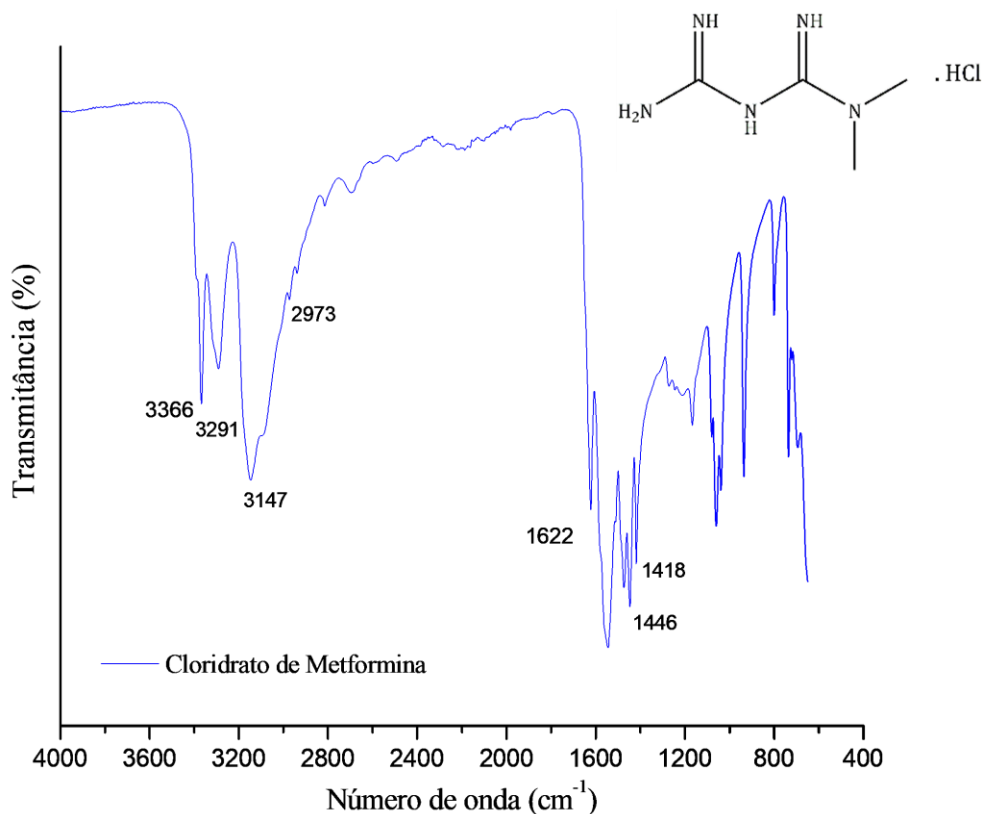


Figura 3-1: Espectro FTIR-ATR para o cloridrato de metformina.

O espectro para o MET livre é descrito na Figura 3-1. Duas bandas de estiramento da ligação N-H nas regiões de 3366 e 3291  $\text{cm}^{-1}$ . A presença das bandas nas regiões de 3147, 1622  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento das ligações N-H e C=N respectivamente, são bandas típicas para as biguanidas (Mura, 2015). Outras regiões que podem ser observadas para o MET são as bandas referentes ao estiramento das ligações  $\text{CH}_3$  presentes em sua estrutura em 1446 e 1418  $\text{cm}^{-1}$ .

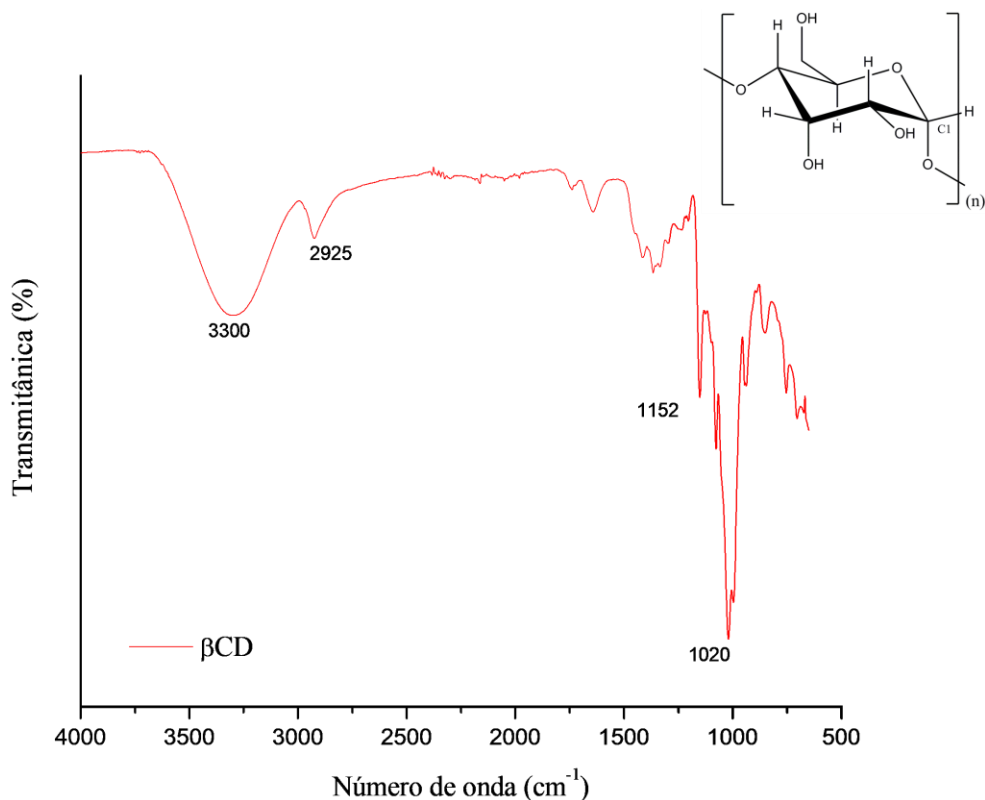


Figura 3-2: Espectro FTIR-ATR para a  $\beta$ -CD.

Os modos vibracionais observados para o espectro da  $\beta$ -CD (Figura 3-2) é possível verificar a presença das bandas na região de 3300  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento da ligação -OH que bastante característico para as CDs. Outras bandas referentes ao estiramento das ligações -CH e -CO nas regiões de 2925 e 1152  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Uma banda também característica para as CDs está em 1020  $\text{cm}^{-1}$ , esta banda é referente a ligação glicosídica (C-O-C), sendo coerente com os dados reportados na literatura (Rezende et al., 2009).

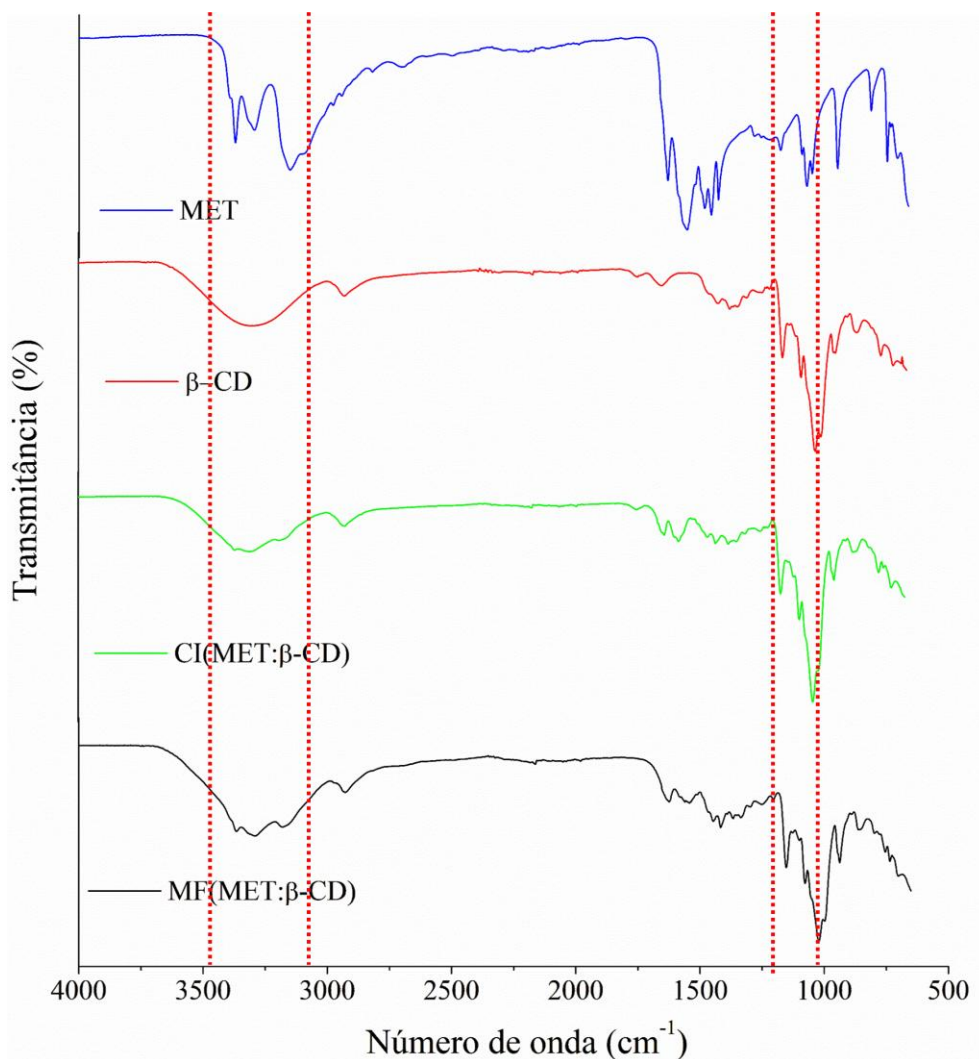


Figura 3-3: Espectros FTIR-ATR para: — MET; —  $\beta$ -CD; — CI e — MF.

Com base na Figura 3-3, são apresentados os espectros no infravermelho para o MET, a  $\beta$ -CD, o composto liofilizado e a mistura física. Ao se comparar os espectros atribuídos a mistura física (MF) e ao composto liofilizado (CI), é possível verificar uma diferença de intensidade da banda na região do espectro que compreende os estiramentos das ligações OH e NH (entre 3403 e 3140  $\text{cm}^{-1}$ ). Nesta região é observada para a mistura física uma clara combinação das bandas de OH e NH, da CD e do fármaco respectivamente.

Para o CI é verificada uma sobreposição quase total da banda de NH pela banda de OH. Sendo assim é possível verificar que há diferenças estruturais para os compostos no estado sólido formados por técnicas distintas.

O número de onda referente a vibração da ligação C-O-C, típica da ligação glicosídica da CD, um apresentou um pequeno deslocamento de seu número de onda para o composto liofilizado, diferindo da mistura física, o que demonstra diferença do composto formado no estado sólido por métodos diferentes. Entretanto, partindo dos resultados obtidos pela técnica de FTIR-ATR não é demonstrada comprovação de formação de um composto de inclusão.

### 3.1.2 Sistema formado pelo FEN e $\beta$ -CD.

Para a caracterização do sistema FEN:  $\beta$ -CD, na Figura 3-4 é apresentado o espectro de absorção na região do infravermelho para o FEN livre. O espectro da  $\beta$ -CD foi apresentado na Figura 3-2 e seus modos vibracionais foram descritos. Na Figura 3-5 são apresentados e comparados os espectros para o FEN, a  $\beta$ -CD, o composto liofilizado e a mistura física.

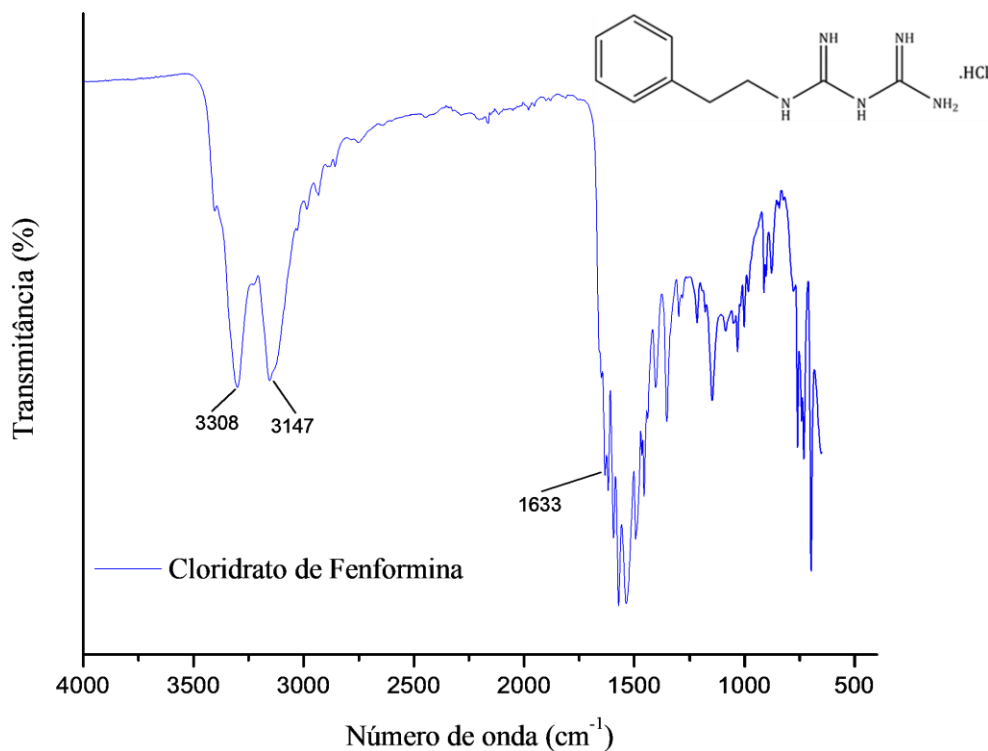


Figura 3-4: Espectro FTIR-ATR para o FEN.

Conforme mostrado na Figura 3-4, as bandas observadas para o espectro do fármaco puro nas regiões de 3308 e 3147 cm<sup>-1</sup> são atribuídas aos estiramentos das ligações N-H, bandas em

número de onda bastante similar ao observado para o MET por se tratar de uma biguanida. A banda observada na região de  $1633\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento da ligação C=C que se refere ao anel aromático presente na estrutura do FEN.

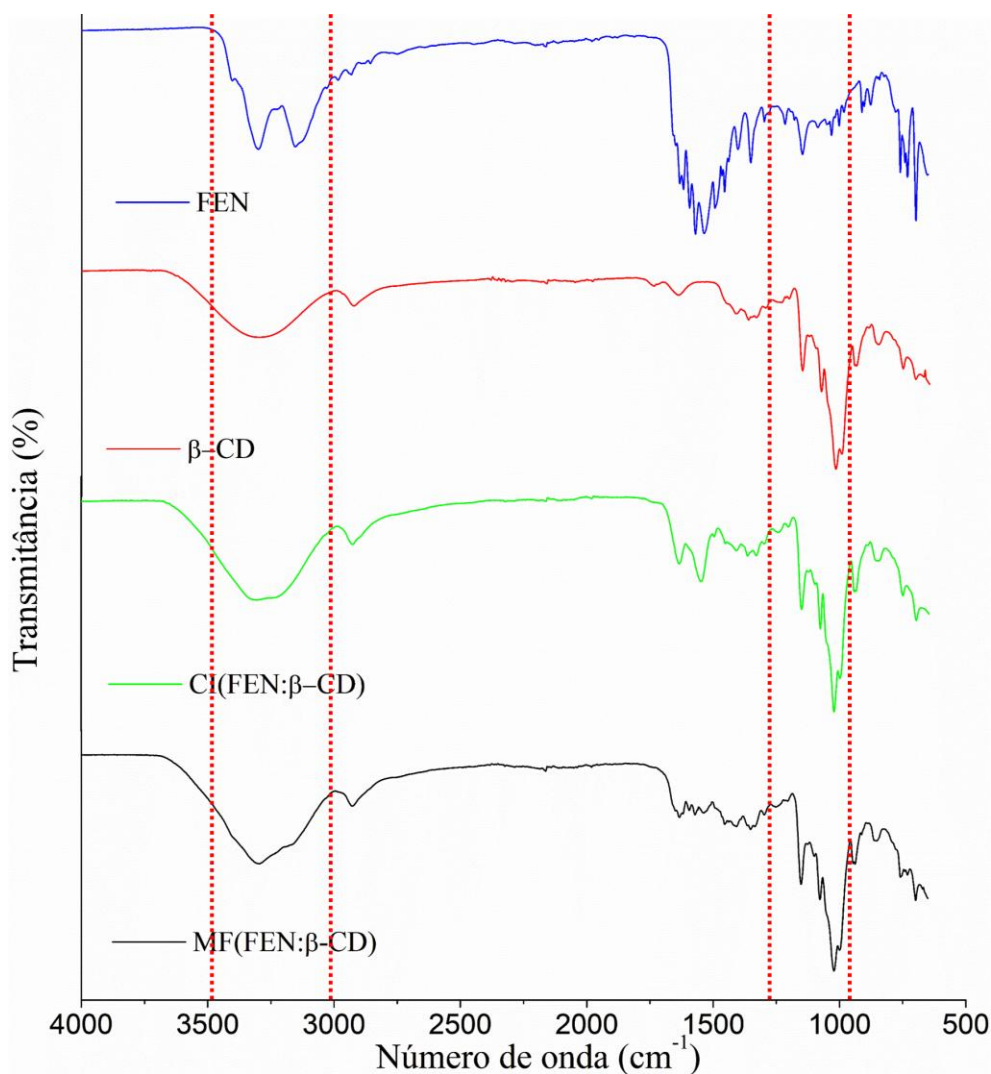


Figura 3-5: Espectro FTIR-ATR para: — FEN; —  $\beta$ -CD; — CI e — MF.

A Figura 3-5 apresenta os espectros de IV para o FEN, a  $\beta$ -CD, composto liofilizado e a mistura física. Na região que compreende os estiramentos das ligações OH e NH (entre 3500 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ ), é verificada a combinação das bandas de OH da CD e NH do fármaco, no entanto, é observada uma maior intensidade da banda para a MF. Já na região de 1020  $\text{cm}^{-1}$  que compreende a ligação glicosídica C-O-C, não foi verificado um deslocamento significativo desta banda. Desta forma, não foi possível inferir que houve a inclusão do FEN na cavidade da  $\beta$ -CD.

### 3.1.3 Sistema formado pelo FEN e CM-β-CD.

A caracterização do sistema formado pelo FEN e a CM-β-CD é realizada abaixo, sendo apresentado o espectro de absorção na região do infravermelho para a CM-β-CD pura (Figura 3-6), o espectro para o FEN já foi apresentado na Figura 3-5. Em seguida está descrito os espectros comparados para o FEN, a CM-β-CD, o composto liofilizado e a mistura física (Figura 3-7).

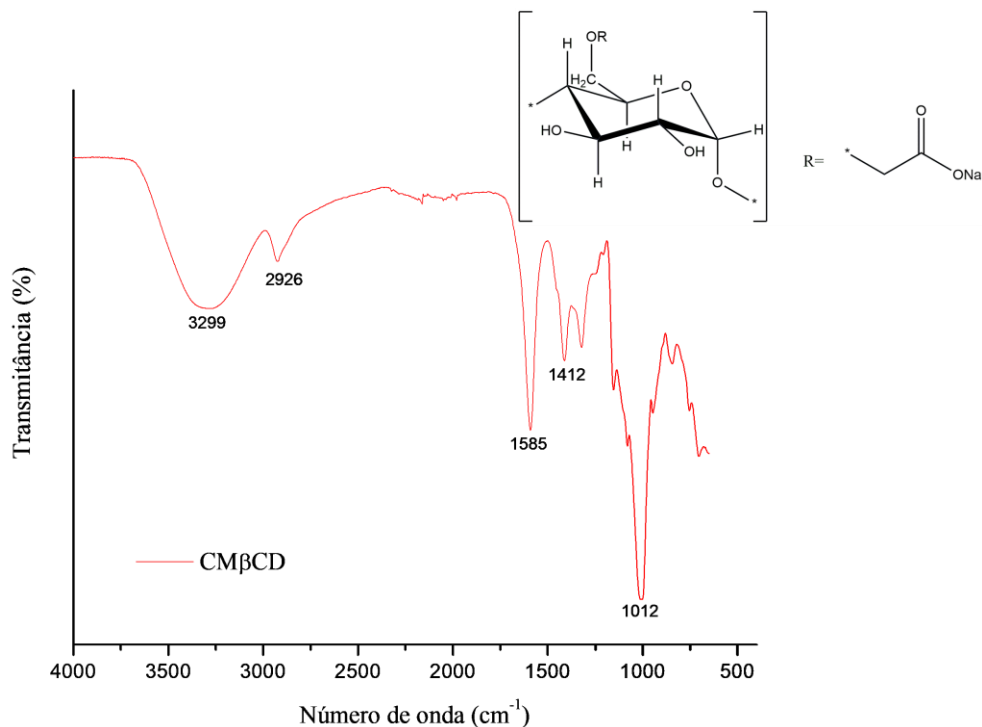


Figura 3-6: Espectro FTIR-ATR para a CM-β-CD.

O espectro para a CM-β-CD, como descrito na Figura 3-6, por tratar-se de uma β-CD modificada, tem suas bandas características referente a ligações que também estão presentes na estrutura da β-CD, caracterizada anteriormente na Figura 3-2. Estiramento das ligações -OH, -CH, C-C e C-O-C, que são comuns as CDs, são atribuídos nos números de onda 3299, 2926, 1412 e 1012 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. Na região de 1585 cm<sup>-1</sup> é atribuída ao estiramento da ligação C=O presente no grupo carboximetil da CM-β-CD (Pavia et al., 2010).

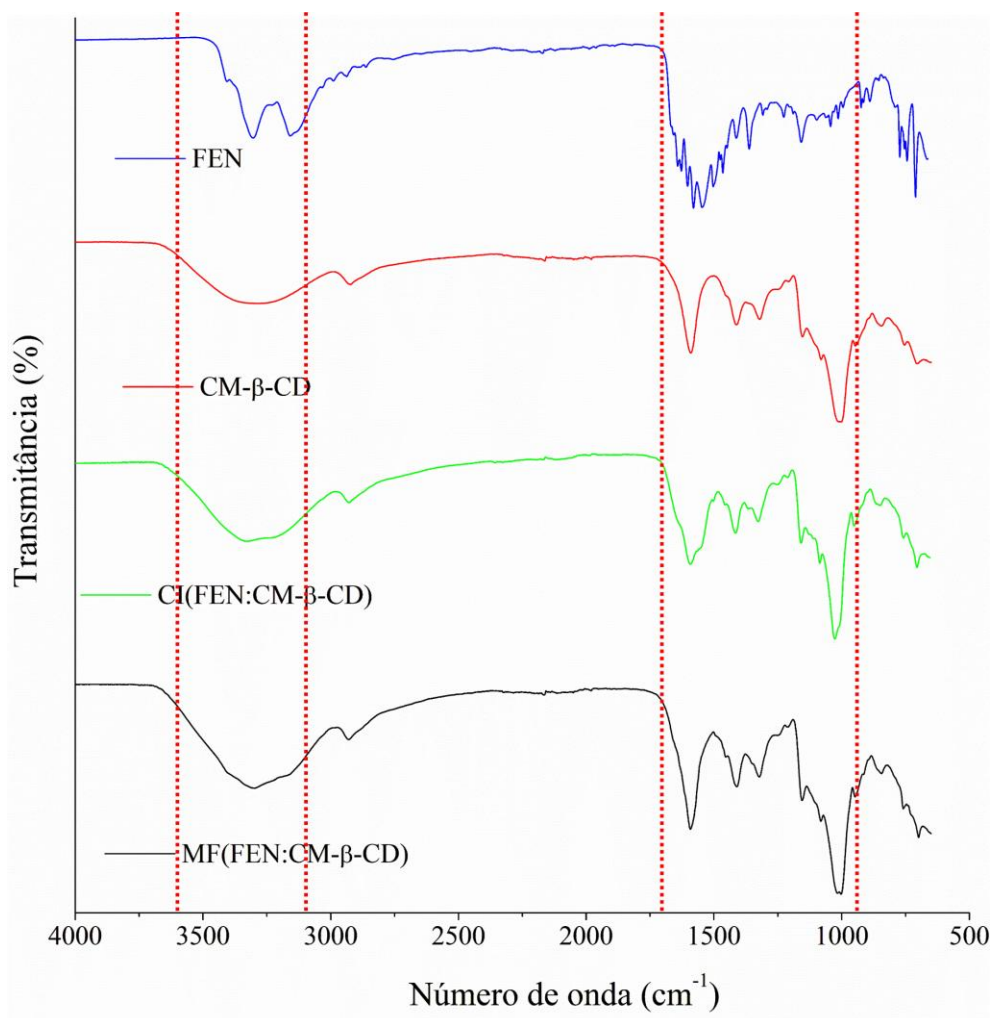


Figura 3-7: Espectro FTIR-ATR para: — FEN; — CM-β-CD; — CI e — MF.

Conforme observado na Figura 3-7, ao serem comparados os espectros referentes ao FEN, a CM-β-CD, o composto liofilizado e mistura física, foi observado tanto para o composto liofilizado quanto para a mistura física, é possível verificar que houve uma sobreposição uma combinação das bandas de OH e NH, para ambos os espectros. Porém no espectro referente à MF é verificada uma maior intensidade da banda nesta. Isto é verificado para a banda na região de  $1012\text{ cm}^{-1}$ , que compreende o estiramento da ligação glicosídica, não havendo deslocamento desta banda, somente é observada uma maior intensidade ao se comparar com o espectro atribuído ao CI. Com base nos resultados obtidos por esta técnica, não é possível confirmar a formação de um composto de inclusão entre as espécies, sendo necessário a realização de outras técnicas

espectroscópicas (Marques et al., 2019), como experimentos uni e bidimensionais de RMN, fornecendo, além disto, a estrutura dos compostos formados.

## **3.2 Calorimetria de titulação isotérmica**

### **3.2.1 Sistemas formados pelo MET e as CDs naturais**

As titulações calorimétricas realizadas para fármaco MET se iniciaram com as CDs naturais, entendendo que as CDs naturais apresentam como principal diferença entre si o número de unidades de glicose em suas estruturas, o que resulta em tamanhos diferentes de cavidade ( $\alpha$ -CD <  $\beta$ -CD <  $\gamma$ -CD), conforme descrito na seção 1.4. Tendo em vista que o processo de inclusão depende da forma e o tamanho do hóspede em relação ao hospedeiro, se faz interessante avaliar qual das CDs possui tamanho de cavidade suficiente, com o intuito de maximizar a interação intermolecular, e para acomodar o fármaco, ou parte dele (García-Río et al., 2006, 2010; Inoue; Yoshihisa et al., 1993).

São descritos abaixo os gráficos contendo as curvas de diluições e titulação, Figura 3-8a, e a curva final gerada após feitas as subtrações das diluições, Figura 3-8b. As condições empregadas a titulação foram: MET à 100 mmol L<sup>-1</sup>, como titulante na seringa, e  $\alpha$ -CD à 1mmol.L<sup>-1</sup>, na cela de titulação como titulado.

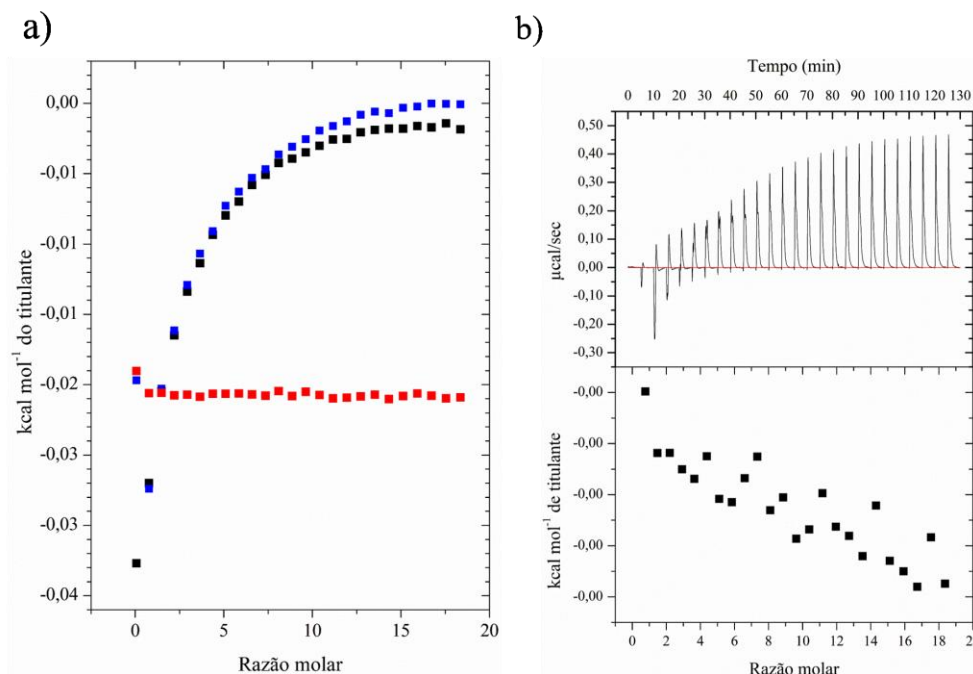


Figura 3-8: Curvas de titulação para (a) ■ MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em água; ■ água em α-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> e ■ MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em α-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em α-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Na Figura 3-8a, a curva observada para a diluição do MET em água apresentou perfil bastante semelhante ao observado para a titulação, enquanto a diluição da α-CD, não apresentou variação expressiva de entalpia. Desta forma, ao se realizar a subtração dos efeitos de diluição não foi verificada variação na entalpia expressiva, ou seja, sendo observada uma fraca interação entre o MET e a α-CD não havendo indícios de formação de um composto de inclusão.

Abaixo estão descritas as curvas obtidas para as diluições e titulação realizada para o sistema formado pelo MET à 50 mmol L<sup>-1</sup>, e como titulante na seringa e a β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>, na cela de titulação como titulado (Figura 3-9a). E a curva final obtida após as subtrações das diluições (Figura 3-9b).

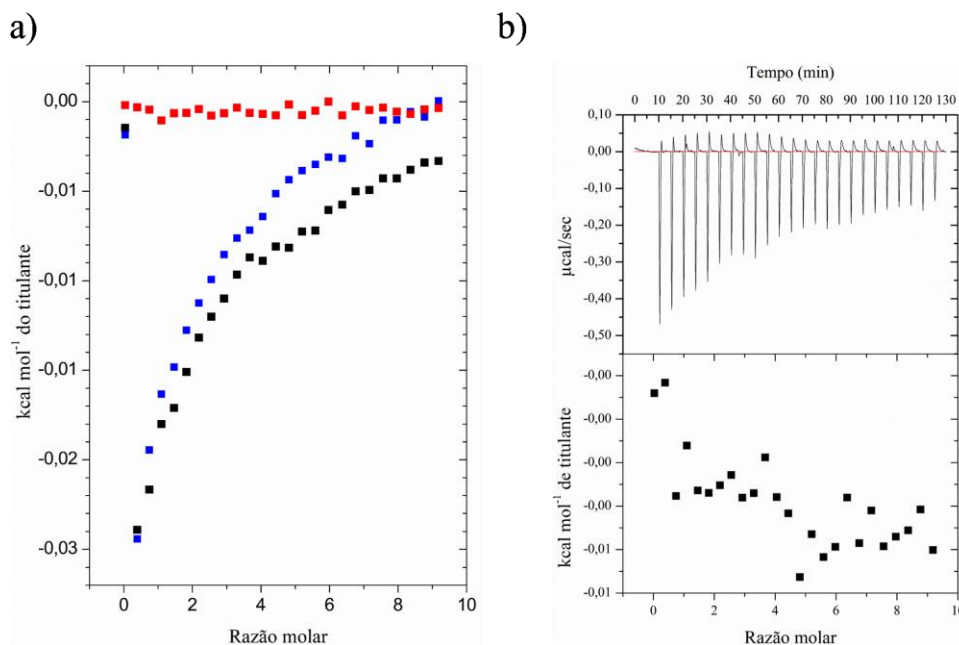


Figura 3-9: Curvas de titulação para (a) ■ MET à 50 mmol L<sup>-1</sup> em água; ■ água em β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> e ■ MET à 50 mmol L<sup>-1</sup> em β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final MET à 50 mmol L<sup>-1</sup> em β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Conforme os resultados observados na Figura 3-9a é verificado que o fluxo de calor envolvido na titulação é bastante próximo do calor envolvido na diluição da solução de MET, o que justifica a reta obtida após a subtração das diluições (Figura 3-10b), demonstra que não houve formação de um composto de inclusão, apenas uma interação muito fraca entre o MET e a β-CD nas dadas condições.

O sistema formado pelo MET com a γ-CD foi avaliado sob as condições experimentais MET à 100 mmol L<sup>-1</sup>, como titulante e a γ-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>, como titulado. Os perfis das curvas obtidas nas diluições e titulação são descritos na Figura 3-10a e o perfil da curva resultante após as diluições é descrito na Figura 3-10b.

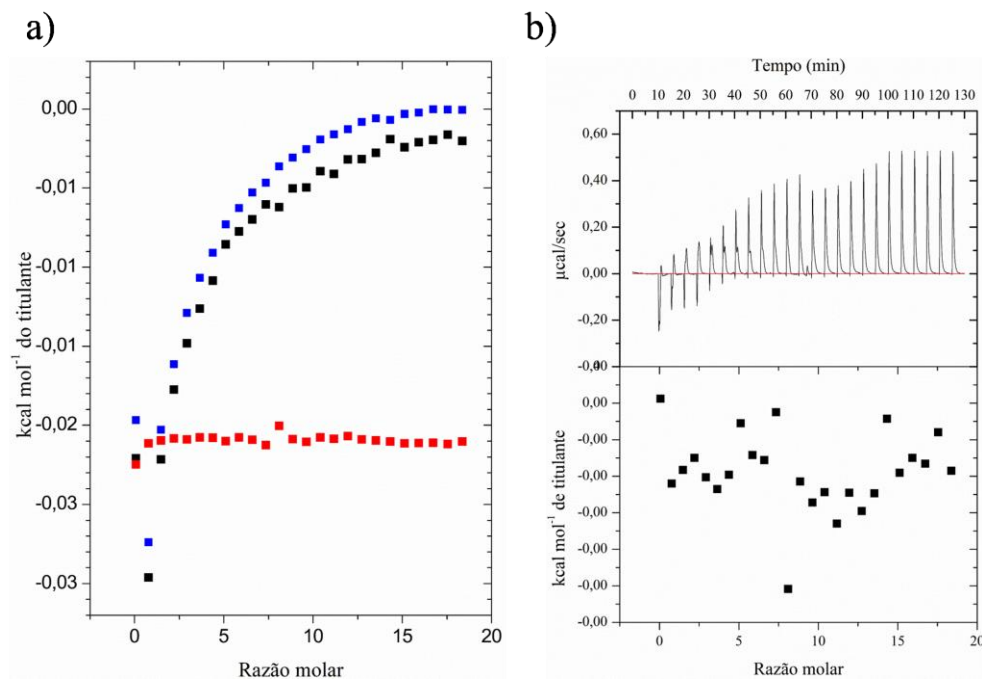


Figura 3-10: Curvas de titulação para (a) ■ MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em água; ■ água em γ-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> e ■ MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em γ-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em γ-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Para o sistema formado entre o MET e a γ-CD não foi verificada variação de entalpia significativa, conforme demonstrado pela reta gerada após serem subtraídas as diluições (Figura 3-10b), é possível determinar que não houve formação de um composto de inclusão entre o MET e a γ-CD, apenas uma interação muito fraca entre as espécies. Os resultados obtidos para o sistema foram semelhantes aos obtidos nas titulações envolvendo o MET e as demais CDs naturais nas condições aplicadas no estudo.

Conforme os dados obtidos pela técnica de ITC, os experimentos realizados entre o MET e as CDs naturais, não foi verificada interações expressivas, nem formação de compostos de inclusão mesmo em altas concentrações do titulante (Turnbull; Daranas, 2003), isto pode ser explicado pelo fato da molécula de MET ser bastante pequena, o que favorece sua solvatação no solvente (água). Moléculas menores e altamente solvatadas possuem muitas moléculas de água associadas a elas, podendo interagir mais fortemente com a água. O processo de inclusão na cavidade da CD implica na dessolvatação da molécula hóspede, sua alta solvatação pode desfavorecer interações que ocorreriam entre a molécula hóspede e a cavidade da CD. A formação

de complexos de inclusão também está relacionada a mudanças na entropia, para moléculas menores que são muito solvatadas, a liberação de água na dessolvatação não é suficiente para gerar uma mudança entropicamente favorável, o que pode contribuir para a não espontaneidade no sentido da formação do complexo. O processo de formação de complexos entre CDs e moléculas hóspedes é governado por interações não covalentes, como interações hidrofóbicas e van der Waals. Uma molécula hóspede altamente solvatada, essas interações podem ser enfraquecidas, uma vez que a água pode reduzir a efetividade das interações intermoleculares entre as espécies (Cova; Milne; Pais, 2019). Além de seu tamanho também ocorrem forças do tipo íons-dipolo entre a parte negativa das moléculas de água com a parte positiva das moléculas do MET, o que propicia sua solvatação (Atkins; Jones, 2011).

### 3.2.2 Sistemas formados pelo MET e CDs modificadas

De acordo com o que é relatado na literatura que demonstra que a compatibilidade de tamanho da cavidade da  $\beta$ -CD com diferentes moléculas, conforme foi mencionado no capítulo 1.4. Sendo assim, outras titulações foram realizadas, desta vez do fármaco MET com três CDs modificadas, sendo duas neutras (HP- $\beta$ -CD, M- $\beta$ -CD) e uma negativamente carregada (CM- $\beta$ -CD). Estas titulações tiveram como objetivo verificar se presença de grupos substituintes nas estruturas das CDs poderiam favorecer sua interação com o fármaco. Em especial com as CDs carregadas negativamente, que poderia maximizar interações do tipo íon-íon entre o fármaco (um sal) e as moléculas hóspedes.

A titulação realizada para o sistema formado pela CM- $\beta$ -CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> com o MET à 1 mmol L<sup>-1</sup>, é discutida a seguir na Figura 3-11. Na Figura 3-11a estão descritas as curvas obtidas para as diluições do MET e CM- $\beta$ -CD e na Figura 3-11b, é descrita a curva resultante após as subtrações das diluições.

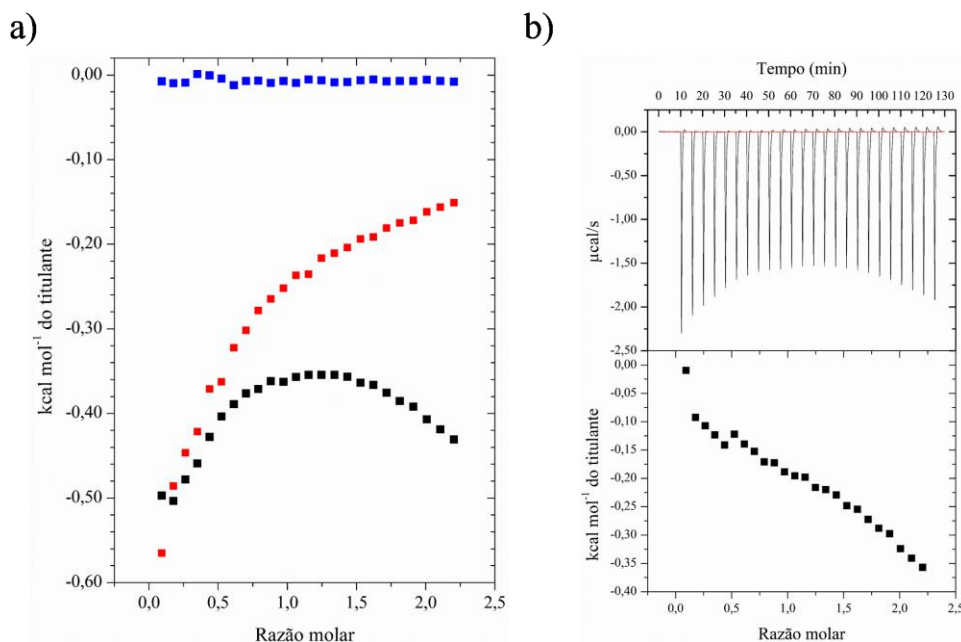


Figura 3-11: Curvas de titulação para (a) ■ água em MET à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ CM-β-CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> em água e ■ CM-β-CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> em MET à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final CM-β-CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> em MET à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Conforme observado na Figura 3-11b, após realizadas as subtrações dos efeitos de diluição a curva obtida para o sistema envolvendo o MET e a CM-β-CD, a variação da entalpia não apresentou perfil que se aproxime de uma sigmoide, embora possa ser verificada variação de entalpia, a curva obtida pode estar relacionada a interações eletrostáticas atrativas entre os contra íons a carga positiva do fármaco com a carga negativa da CD.

A seguir são descritas as curvas obtidas para a titulação e diluições para o sistema formado pelo MET à 100 mmol L<sup>-1</sup>, como titulante e a HP-β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> (Figura 3-12a). O perfil da curva resultante das subtrações das diluições é descrito na Figura 3-12b.

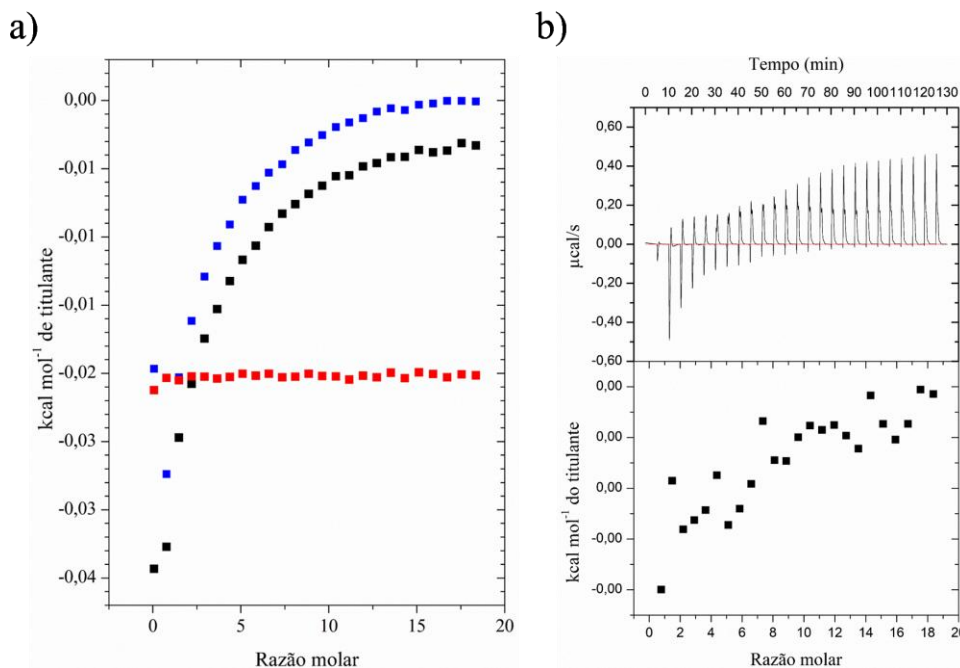


Figura 3-12: Curvas de titulação para (a) ■ MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em água; ■ água em HP-β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> e ■ MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em HP-β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final MET à 100 mmol L<sup>-1</sup> em HP-β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Conforme foi observado na Figura 3-12a, o perfil da curva de titulação obtido para o sistema foi semelhante ao obtido para a diluição do MET em água, enquanto para diluição da HP-β-CD foi obtida uma reta. Desta forma, após feitas as subtrações, não foi verificada variação de entalpia expressiva entre as espécies, o que demonstra que a interação observada entre o MET e a HP-β-CD foi muito fraca.

Em seguida foi realizada a titulação entre o MET e a M-β-CD nas seguintes condições: M-β-CD à 30 mmol L<sup>-1</sup>, como titulante e o MET à 1 mmol L<sup>-1</sup>, como titulado. Abaixo estão descritos os perfis de curva para as diluições e titulação para as espécies (Figura 3-13a) e o perfil da curva resultante das subtrações das diluições (Figura 3-13b).

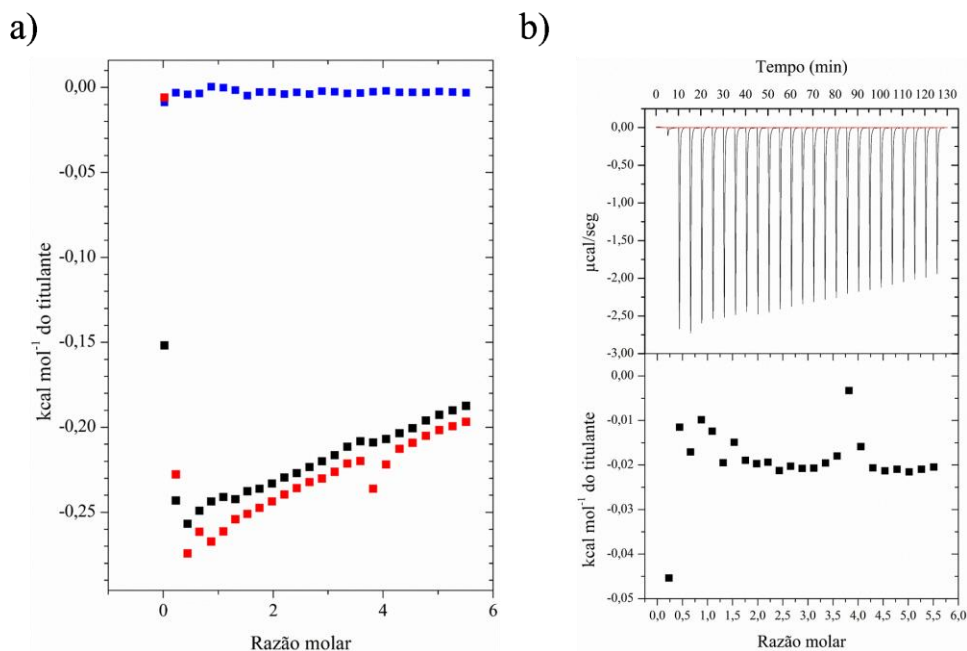


Figura 3-13: Curvas de titulação para (a) ■ água em MET à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ M-β-CD à 30 mmol L<sup>-1</sup> em água e ■ M-β-CD à 30 mmol L<sup>-1</sup> em MET à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final M-β-CD à 30 mmol L<sup>-1</sup> em MET à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Conforme verificado na Figura 3-13a, o perfil da curva obtida para a titulação entre o fármaco e a CD foi muito semelhante ao perfil da curva obtida para a diluição da CD, enquanto a diluição do MET não apresentou variação significativa de fluxo de calor. O que justifica o perfil da curva resultante ser muito próximo de uma reta, não possibilitando a realização de ajuste não linear, portanto é possível inferir que não houve interação entre o MET e a M-β-CD.

### 3.2.3 Sistemas formados por FEN com as CDs naturais.

Os fármacos do presente estudo (MET e FEN), como pertencentes a classe das biguanidas, apresentam semelhante estrutura, se diferenciando apenas pela presença de um anel aromático na estrutura do FEN. Tendo em vista diversos trabalhos documentados na literatura que demonstram a interação do anel aromático de diferentes moléculas com a cavidade de CDs (De Sousa et al., 2008; Sohajda et al., 2010; Vieira et al., 2023), foi investigada a influência do anel aromático na estrutura do FEN na interação com as CDs utilizadas no estudo.

Assim como procedido para o fármaco MET, foram realizadas titulações entre o FEN e as CDs naturais. Como já mencionado anteriormente, é interessante avaliar com base apenas no tamanho das cavidades das CDs naturais, qual delas seria mais adequada para a formação de compostos de inclusão com o fármaco FEN. Desta forma, as titulações calorimétricas para o FEN se iniciaram pelas CDs naturais.

Abaixo estão descritos os perfis das curvas obtidas para os sistemas formados pelo FEN e a  $\alpha$ -CD, nas seguintes condições:  $\alpha$ -CD à  $60 \text{ mmol L}^{-1}$  em FEN à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  (Figura 3-14a) e perfil da curva obtida após feitas as diluições (Figuras 3-14b). Objetivando obter uma melhor curva, também foi testado o mesmo sistema nas seguintes condições: FEN à  $50 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\alpha$ -CD à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  (Figura 3-15a) e as curvas resultantes das subtrações realizadas para o sistema (Figura 3-15b)

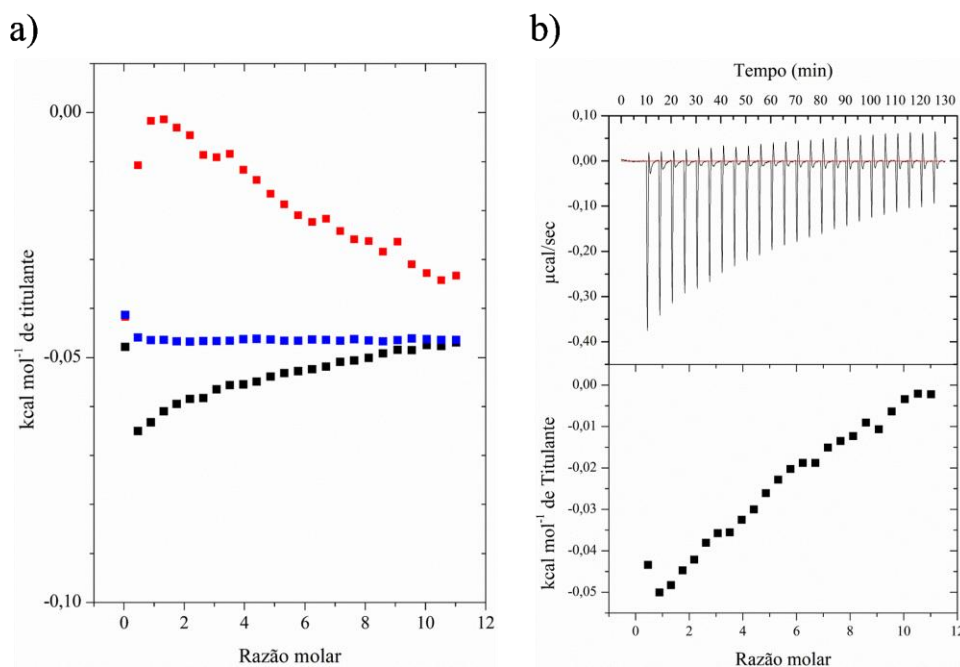


Figura 3-14: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ; ■  $\alpha$ -CD à  $60 \text{ mmol L}^{-1}$  em água ■  $\alpha$ -CD à  $60 \text{ mmol L}^{-1}$  em FEN à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  (b) Figura final  $\alpha$ -CD à  $60 \text{ mmol L}^{-1}$  em FEN à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$ .

Conforme verificado na Figura 3-14b, com base na curva resultante das subtrações das diluições, embora o fluxo de calor tenha sido baixo, foi possível realizar o ajuste linear para a

curva. O resultado se difere ao obtido para o MET, o que demonstra que a presença do anel aromático favoreceu a interação do fármaco com a CD.

A estequiometria ( $n$ ) encontrada foi de  $5,55 \pm 0,19$ , o valor fracionário indica que em solução coexistem diferentes equilíbrios (Passos et al., 2011), o alto valor para a estequiometria também pode indicar interação do fármaco com a superfície externa hidrofílica da CD, além disto, a grande quantidade de moléculas de FEN em solução pode favorecer a formação de agregados de FEN. Constante de associação ( $K_{eq}$ )  $673,0 \pm 99,60$  o que demonstra que a afinidade entre as espécies é baixa, resultados semelhantes são observados na literatura para outros sistemas com a  $\alpha$ -CD (Wszelaka-Rylik; Gierycz, 2013). O processo foi exotérmico e espontâneo verificado pelos valores negativos de  $\Delta H^\circ$  e  $\Delta G^\circ$  ( $-0,30 \pm 0,01$ ) e ( $-16,14 \pm 0,0$ ), respectivamente. O valor do termo entrópico ( $T\Delta S$ ) encontrado para interação ( $15,84$ ), o que indica que a interação mais dependente da entropia do que da entalpia ( $|T\Delta S^\circ| > |\Delta H^\circ|$ ).

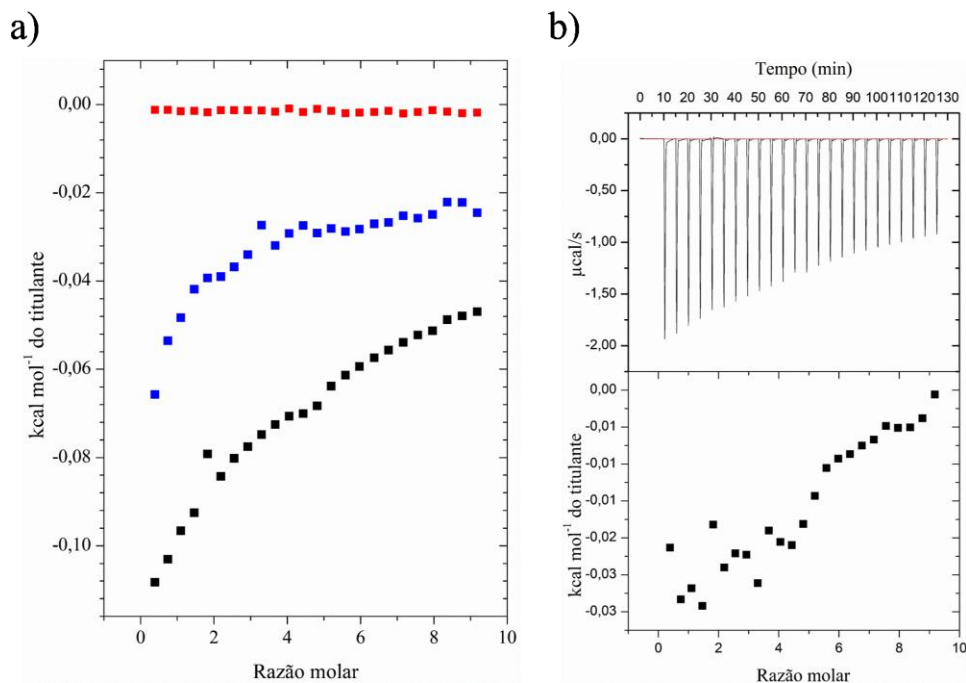


Figura 3-15: Curvas de titulação para (a) ■ FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em água; ■ água em  $\alpha$ -CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> ■ FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em  $\alpha$ -CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em  $\alpha$ -CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Com base nos resultados observados na Figuras 3-15a, a curva obtida para a titulação possui perfil próximo do observado para a diluição do FEN, enquanto para a diluição não foi verificada variação de entalpia significativa. Feitas as subtrações das diluições resulta em uma reta, indicando que nas condições aplicadas a este sistema, não foi favorecida a interação entre o FEN e o  $\alpha$ -CD.

Abaixo estão descritos os perfis das curvas para o sistema  $\beta$ -CD:FEN nas seguintes condições  $\beta$ -CD à 14 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> e suas diluições (Figura 3-16a) e a curva resultante após feitas as subtrações (Figura 3-16b). Com objetivo de obter melhor ajuste de curva, foi testado o mesmo sistema nas condições FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em  $\beta$ -CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> e suas diluições (Figura 3-17a) e a curva resultante das subtrações (Figura 3-17b).

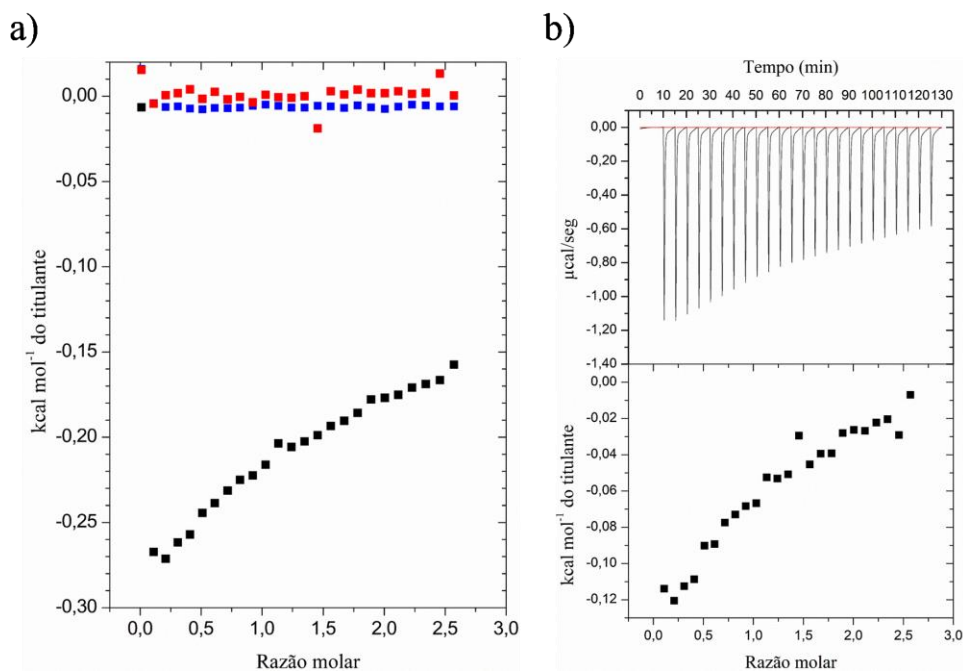


Figura 3-16: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■  $\beta$ -CD à 14 mmol L<sup>-1</sup> em água ■  $\beta$ -CD à 14 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final  $\beta$ -CD à 14 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

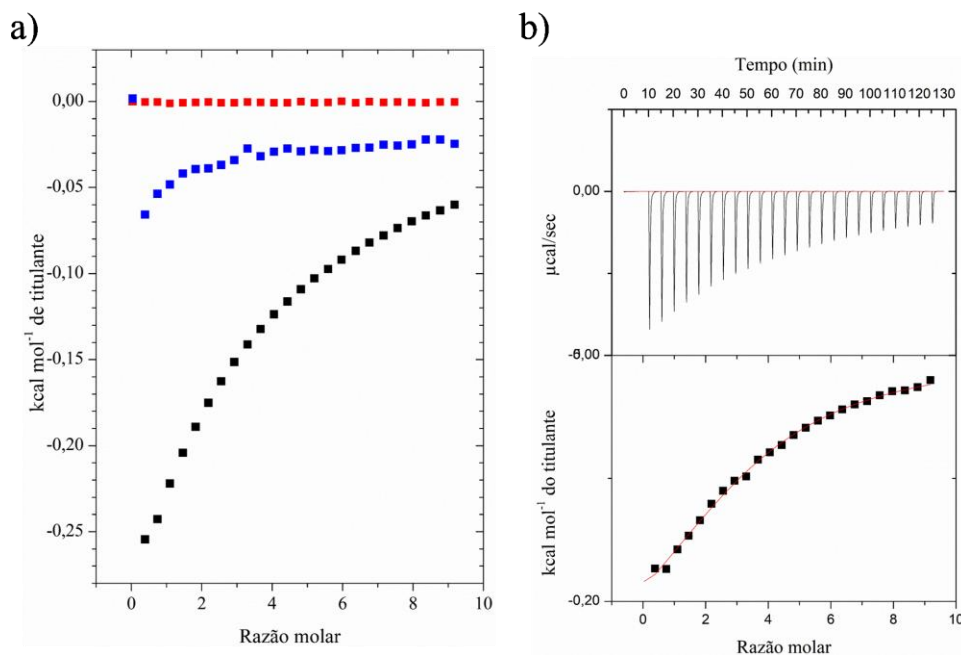


Figura 3-17: Curvas de titulação para (a) ■ FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em água; ■ água em β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> ■ FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Com base nos perfis das curvas obtidas, se difere do que foi obtido para o FEN foi verificada interação com a β-CD, desta forma foi possível realizar os ajustes não lineares para as curvas e determinar os parâmetros termodinâmicos para a interação entre as espécies, bem com a estequiometria atribuída. São descritos abaixo na Tabela 3-1 os dados obtidos para as duplicatas para os sistemas.

Tabela 3-1: Parâmetros termodinâmicos para (a) βCD à 14 mmol L<sup>-1</sup> com FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> com β-CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

	n	K	ΔH° (kJ/mol)	TΔS° (kJ/mol)	ΔG° (kJ/mol)
(a)	1,09 ± 0,05	1650,0 ± 395,9	-0,87 ± 0,09	17,28 ± 0,44	-18,14 ± 0,34
(b)	2,38 ± 0,58	385,0 ± 186,06	-1,44 ± 0,22	13,3 ± 1,08	-14,76 ± 0,91

De acordo com os dados resultantes do ajuste não linear, é possível determinar que a interação entre as espécies foi espontânea e exotérmica para o sistema em ambas as condições, apresentando valores de  $\Delta G^\circ$  e  $\Delta H^\circ$  negativos.

A estequiometria para os sistemas se difere sendo  $n (1,09 \pm 0,05)$  para o sistema (a), quando utilizada a razão molar de 14:1, e em (b), enquanto para o sistema com razão molar de 50:1 a estequiometria atribuída foi de 2,38 esta maior estequiometria observada pode ser explicada pelo grande número de moléculas da CD em solução, podendo ocorrer interações de agregação do FEN em solução. Os valores fracionários encontrados para a estequiometria sugerem a existência de múltiplos equilíbrios em solução de compostos com diferentes estequiometrias (Passos et al., 2011). E o alto valor pode indicar interação com a parte externa da CD.

O valor de  $K$  maior para o sistema  $\beta$ CD à  $14 \text{ mmol L}^{-1}$   $K$  em FEN à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  ( $1650,0 \pm 395,9$ ) se comparado com o sistema FEN à  $50 \text{ mmol L}^{-1}$  com  $\beta$ -CD à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$   $K$  ( $385,0 \pm 186,06$ ), sugere este ser o sistema mais termodinamicamente favorável dentre os dois sistemas devido ao maior número de espécies incluídas em solução do que espécies livres.

A contribuição da entalpia para a interação está diretamente relacionada formação de novas interações cooperativas entre as espécies hóspede e hospedeiras com a saída de moléculas de água da cavidade da CD sendo substituídas por moléculas hóspedes. Já a contribuição do termo entrópico está relacionada com o equilíbrio de dessolvatação das moléculas hóspedes, as moléculas de água adquirem maior grau de liberdade, enquanto é formada uma estrutura mais rígida com menor grau de liberdade atribuída a inclusão (Morais et al., 2024). A interação que ocorre para ambos os sistemas é dependente da entropia, de acordo com os valores mais altos observados para o termo entrópico quando comparados com os valores dos termos entálpicos ( $|T\Delta S^\circ| > |\Delta H^\circ|$ ).

Por fim foi testado o FEN com a  $\gamma$ -CD. São descritos os perfis das curvas para o sistema nas seguintes condições  $\gamma$ -CD à  $60 \text{ mmol L}^{-1}$  em FEN à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  e suas diluições (Figura 3-18a) e a curva resultante após feitas as subtrações (Figura 3-18b). Com objetivo de obter melhor resultado, foi testado o sistema nas condições FEN à  $50 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\gamma$ -CD à  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  e suas diluições (Figura 3-19a) e a curva resultante das subtrações (Figura 3-19b).

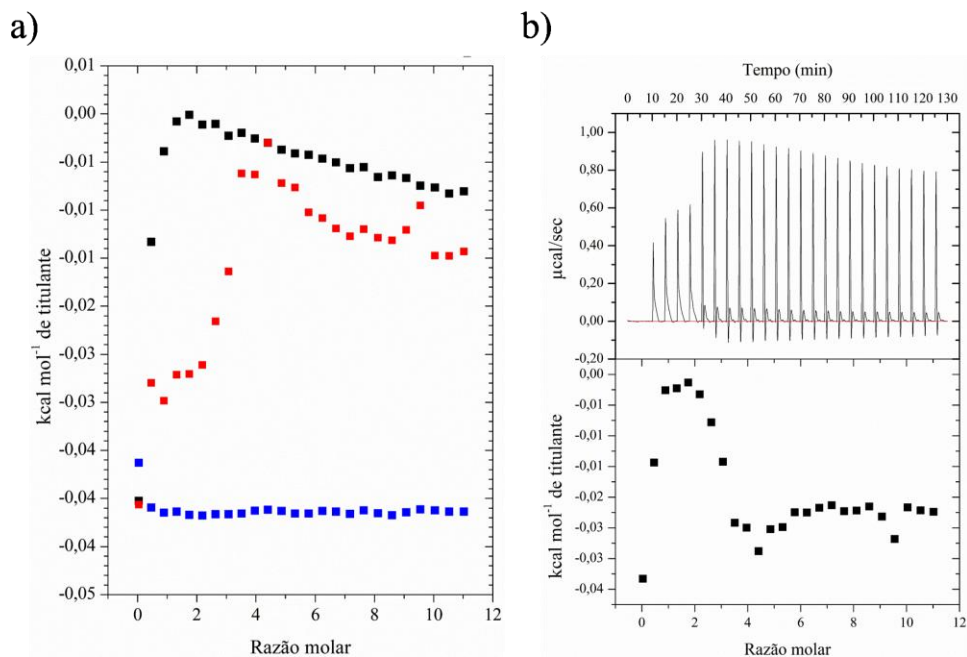


Figura 3-18: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ γ-CD à 60 mmol L<sup>-1</sup> em água ■ γ-CD à 60 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final γ-CD à 60 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

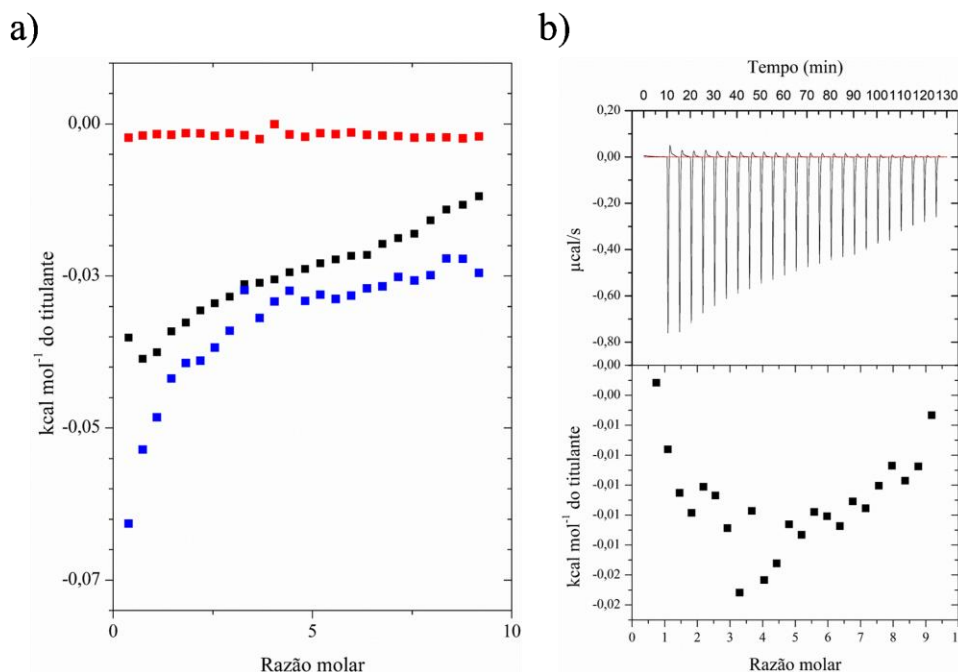


Figura 3-19: Curvas de titulação para (a) ■ FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em água; ■ água em  $\gamma$ -CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> ■ FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em  $\gamma$ -CD à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final FEN à 50 mmol L<sup>-1</sup> em  $\gamma$ -CD à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Com base nos perfis das curvas de titulação e diluições apresentados nas Figuras 3-18a e 3-19a, é possível verificar que a curva obtida para a titulação se aproxima do que é observado para a diluição do FEN, enquanto não é verificada variação de entalpia para a diluição da  $\gamma$ -CD. Sendo assim, após subtraídas as diluições é obtida uma curva com perfil próximo à de uma reta, demonstrando que não variação de entalpia, o que sugere que há uma interação muito fraca entre as espécies.

Assim é possível inferir que o tamanho da cavidade da  $\gamma$ -CD não é adequado para a formação de um composto de inclusão com o fármaco, a presença do anel aromático do FEN não favoreceu sua interação neste sistema, o resultado é coerente com o que é documentado na literatura para outras moléculas que contêm anel aromático em sua estrutura (García-Río et al., 2006; Park et al., 2022).

### 3.2.4 Sistemas formados por FEN com as CDs modificadas

Abaixo estão descritos os perfis das curvas para o sistema FEN:CM- $\beta$ -CD, Figura 3-20a é apresentada os perfis das curvas das diluições e titulação para o sistema formado CM- $\beta$ -CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> com o FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>, na Figura 3-20b é a apresentado o perfil da curva resultante das diluições. Com objetivo de se obter melhor ajuste da curva, o sistema foi testado em diferente condição, a Figura 3-21a, são exibidos os perfis das curvas de titulação e diluição para o sistema CM- $\beta$ -CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> com o FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>, Figura 3-21b é apresentado o perfil da curva resultante das subtrações.

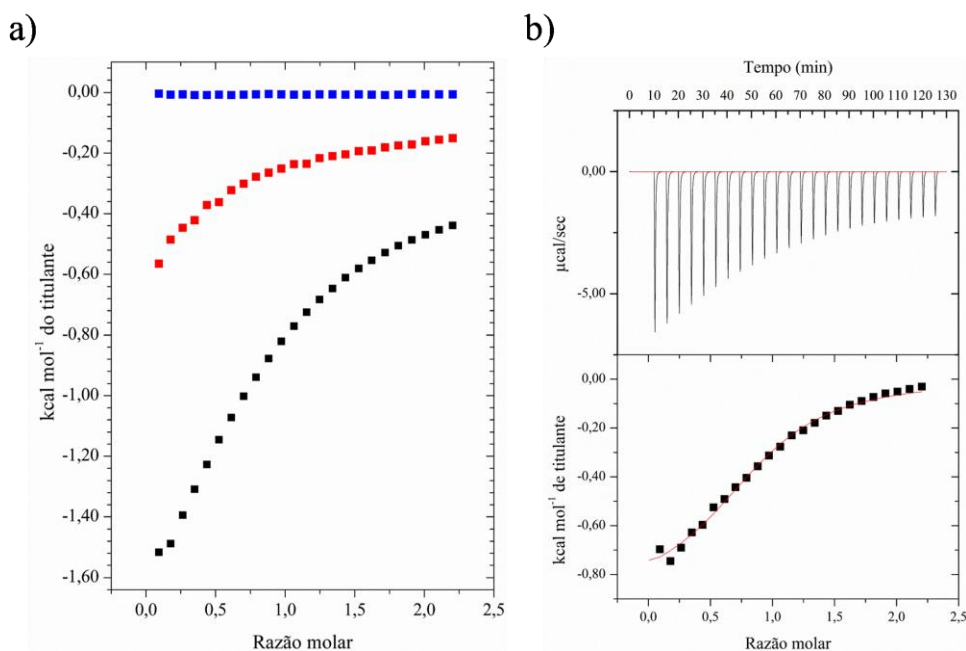


Figura 3-20: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ CM- $\beta$ -CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> em água ■ CM- $\beta$ -CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final CM- $\beta$ -CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

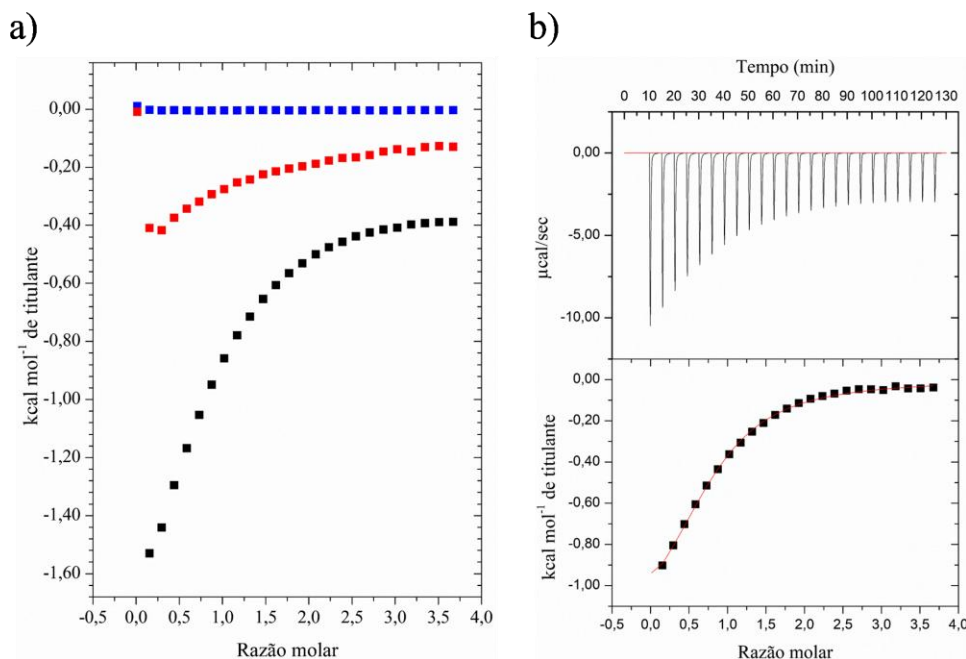


Figura 3-21: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em água ■ CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Com base no perfil da curva obtida após as subtrações das diluições, foi possível determinar os parâmetros termodinâmicos envolvidos na interação entre as espécies. Os valores médios para as duplicatas para os sistemas FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> com CMβCD à 12 mmol L<sup>-1</sup> e FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> com CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> são descritos na tabela abaixo.

Tabela 3-3-2: Parâmetros termodinâmicos para (a) FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> com CM-β-CD à 12 mmol L<sup>-1</sup> (b) FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> com CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup>.

	n	K	ΔH° (kJ/mol)	TΔS° (kJ/mol)	ΔG° (kJ/mol)
(a)	0,89 ± 0,06	3690,0 ± 791,9	-4,77 ± 0,71	15,59 ± 1,23	-20,36 ± 0,51
(b)	0,90 ± 0,05	1535,0 ± 219,2	-9,30 ± 0,60	8,51 ± 1,01	-17,82 ± 0,40

Conforme descrito na Tabela 3-3-2, a interação entre as espécies FEN e CM-β-CD foi espontânea em ambas as condições experimentais, sendo verificado pelos valores negativos obtidos para ΔG° (-20,36 ± 0,51) e (-18,16 ± 0,08) em (a) e (b), respectivamente. Foi observado

que com o aumento da concentração da CM- $\beta$ -CD houve uma diminuição da constante de equilíbrio K ( $3690,0 \pm 791,9$ ) em (a) para ( $1530,0 \pm 56,56$ ) em (b), do termo entrópico ( $T\Delta S^\circ$ ) e energia livre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ), isto demonstra que a interação entre o fármaco e a CD é menos favorável em titulações com maiores concentrações do titulado. A interação entre as espécies, em ambos os sistemas, foi contribuída mais fortemente pelo termo entrópico mais do que pela entropia, isto é demonstrado pelos valores mais altos ( $|T\Delta S| > |\Delta H|$ ) para o termo entrópico em ambas as condições experimentais.

Os valores de N obtidos foram de  $0,89 \pm 0,06$  em (a) aproximadamente uma estequiometria de 1:1. Já em (b) é  $0,77 \pm 0,12$  o valor fracionário de N sugere a ocorrência de múltiplos equilíbrios em solução, estequiometria de 1:1 e 1:2 (Passos et al., 2011). A maior concentração de CM- $\beta$ -CD em (b),  $20 \text{ mmol L}^{-1}$ , possibilita que haja diferentes interações ocorrendo simultaneamente em solução.

Ao ser comparado com o resultado apresentado para o sistema envolvendo o MET e a CM- $\beta$ -CD, a presença do anel aromático do FEN, favoreceu a formação de um sistema supramolecular. Além disto, os valores de K e  $\Delta G^\circ$  para o sistema envolvendo o fármaco com a CD natural  $\beta$ -CD, é verificado um aumento na estabilidade dos compostos formados entre o FEN a CM- $\beta$ -CD, resultados semelhantes são descritos na literatura para compostos formados entre fármaco com carga positiva e a CM- $\beta$ -CD. Na literatura é descritos comportamento similar, isto pode ser explicado por interações eletrostáticas atrativas adicionais entre a molécula do fármaco com a CD (Zia; Rajewski; Stella, 2001).

Comparando o sistema FEN:CM- $\beta$ -CD com o sistema FEN: $\beta$ -CD, é verificado um aumento da constante de associação (K) o que demonstra que a presença do grupo substituinte da CD levou à uma maior afinidade entre as espécies que pode ser devido as interações eletrostáticas atrativas entre a parte positiva do fármaco com a parte negativa da CD. Além disto, também houve uma diminuição, ou seja, um  $\Delta G^\circ$  mais negativo para o sistema com a CD modificada, o que mostra um ganho na estabilidade e espontaneidade dos compostos de inclusão formados (Levine, 2012). E um maior fluxo de calor demonstrado pelo valor mais negativo de  $\Delta H^\circ$ , mesmo em concentrações mais baixas do titulante, que é reflexo do maior número interações sendo formadas e desfeitas no processo de inclusão. Os valores de  $T\Delta S^\circ$  não variaram de forma expressiva ao se comparar os dois sistemas, o que demonstra que a maior espontaneidade da interação tem contribuição maior do termo entálpico.

A seguir são apresentados os perfis das curvas atribuídas ao sistema formado pela HP- $\beta$ -CD à 60 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> e as respectivas diluições da HP- $\beta$ -CD em água e do FEN em água (Figura 3-23a). E a curva resultante após as subtrações das diluições (Figura 3-23b).

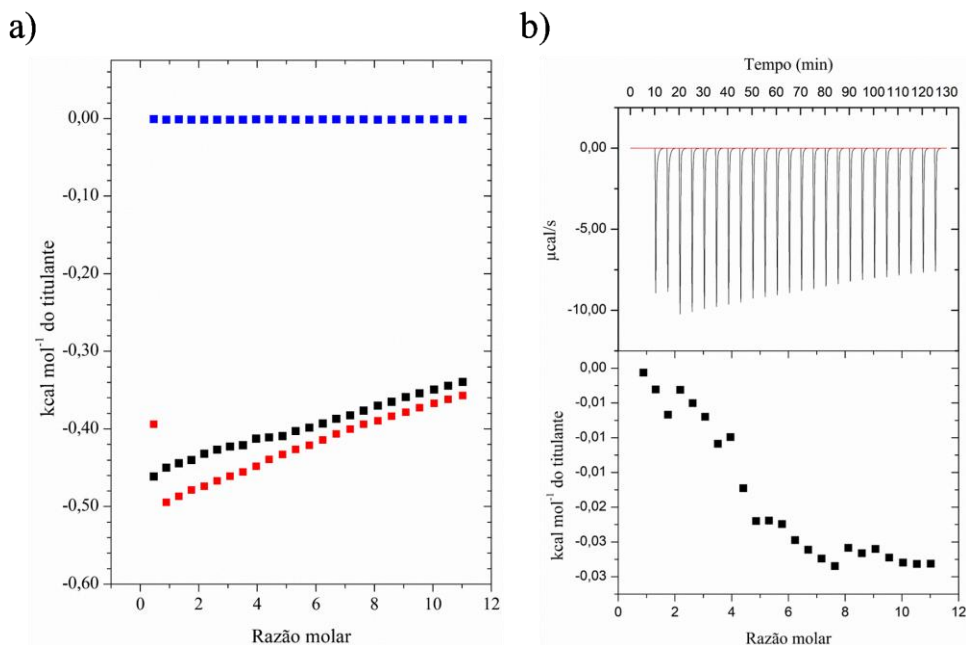


Figura 3-22: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ HP- $\beta$ -CD à 60 mmol L<sup>-1</sup> em água ■ HP- $\beta$ -CD à 60 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final HP- $\beta$ -CD à 60 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

De acordo com as curvas atribuídas as diluições e a titulação do FEN com a HP- $\beta$ -CD (Figura 3-22a), é possível verificar que o perfil da curva para a titulação tem perfil próximo ao apresentado para a diluição da HP- $\beta$ -CD em água, e não é observada variação expressiva de entalpia para a diluição do fármaco. Sendo assim, após feitas as subtrações das diluições, não é verificada variação de entalpia, logo não é entendido que não houve interação entre as espécies, resultado semelhante ao obtido para o MET. Pode-se inferir que a presença do anel aromático não foi capaz de alterar a interação com a CD.

O sistema avaliado obteve resultado que se difere do que foi apresentado entre o FEN e a  $\beta$ -CD, o que sugere que a presença de grupos substituintes da  $\beta$ -CD pode ter ocasionado em um impedimento espacial que impossibilitou a inclusão do fármaco na cavidade da CD, sendo coerente com outros sistemas descritos na literatura (Morais et al., 2024).

Foi avaliado também a interação do FEN com a M- $\beta$ -CD, pelo seguinte sistema: M- $\beta$ -CD à 30 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>. Abaixo estão descritos os perfis das curvas diluição para o FEN e para a M- $\beta$ -CD e a titulação para o sistema (Figura 3-23a) e a curva resultante obtido após as devidas subtrações (Figura 3-23b).

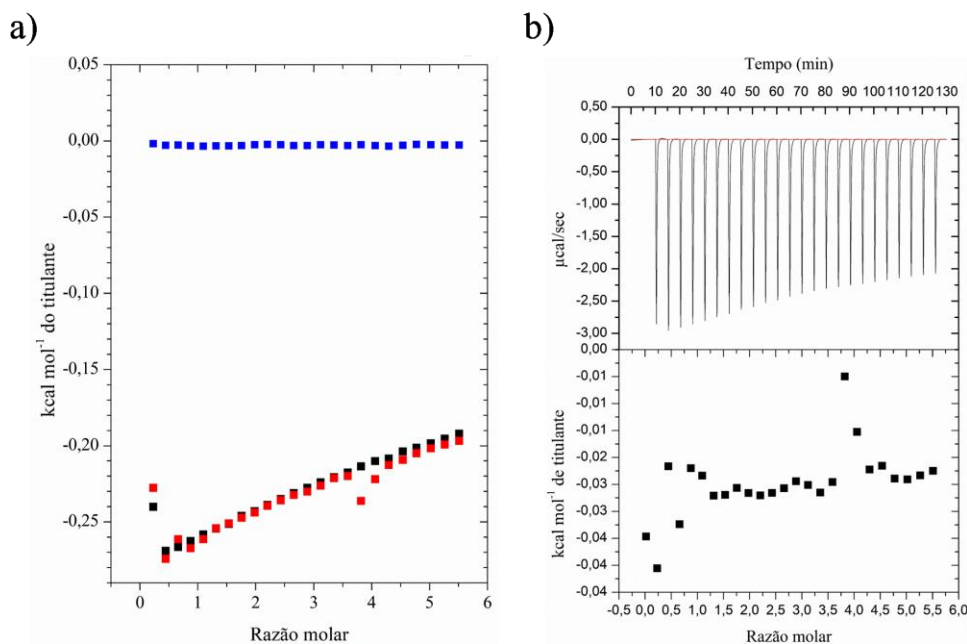


Figura 3-23: Curvas de titulação para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ M- $\beta$ -CD à 30 mmol L<sup>-1</sup> em água ■ M- $\beta$ -CD à 30 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final M- $\beta$ -CD à 30 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

De acordo com os resultados apresentado na Figura 3-23a, é possível verificar que a curva atribuída a titulação é muito semelhante à obtida para a diluição da M- $\beta$ -CD em água, enquanto para a diluição do FEN não é verificada variação de entalpia. Sendo assim, após feitas as subtrações o perfil obtido é uma reta (Figura 3-23b), o que demonstra que não há variação de entalpia atribuída ao sistema formado pelo fármaco e pela CD, ou seja, o calor envolvido é proveniente do efeito da diluição da M- $\beta$ -CD. O resultado é semelhante ao obtido para o MET, o que indica que a presença do anel aromático não alterou a interação entre as espécies do sistema. Assim como o que foi apresentado para o sistema FEN:HP- $\beta$ -CD, a presença do grupo substituinte metil ligado a  $\beta$ -CD pode gerar um impedimento espacial que impede a aproximação do FEN a cavidade da M- $\beta$ -CD.

### 3.2.5 Sistema FEN:CM- $\beta$ -CD em diferentes temperaturas.

Considerando a maior interação entre o FEN CM- $\beta$ -CD verificada nas titulações nas seguintes concentrações: FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> como titulado, e CM- $\beta$ -CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> como titulante, foi realizado um estudo do efeito da variação da temperatura nos parâmetros termodinâmicos para o sistema. Abaixo nas Figuras 3-24, 3-25 e 3-26 estão descritas as curvas obtidas para as titulações para o sistema FEN:CM- $\beta$ -CD nas temperaturas de 15, 35 e 45°C.

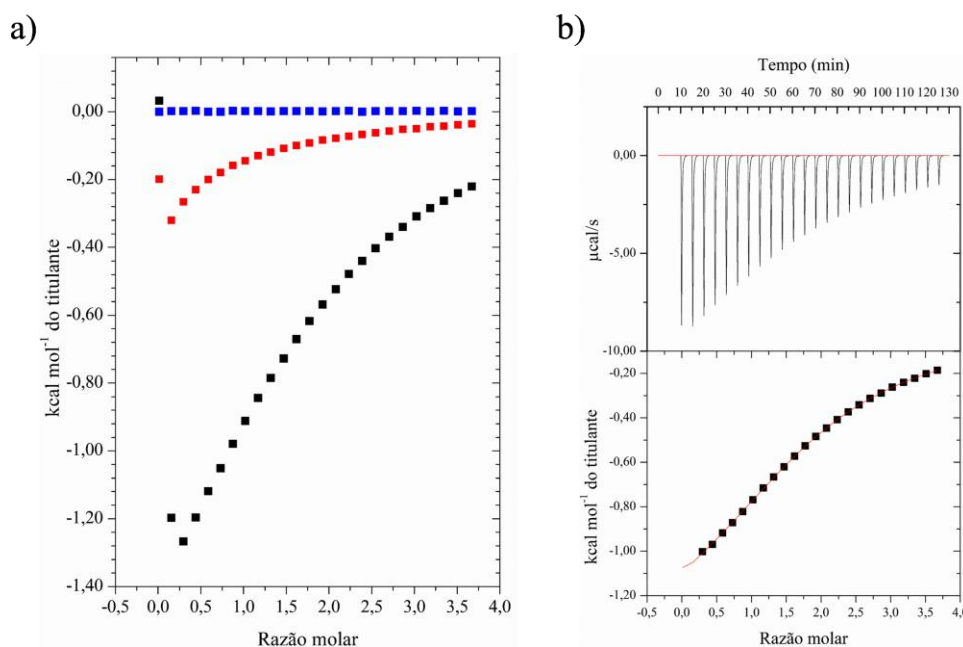


Figura 3-24: Curvas de titulação à 15°C para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ CM- $\beta$ -CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em água ■ CM- $\beta$ -CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final CM- $\beta$ -CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

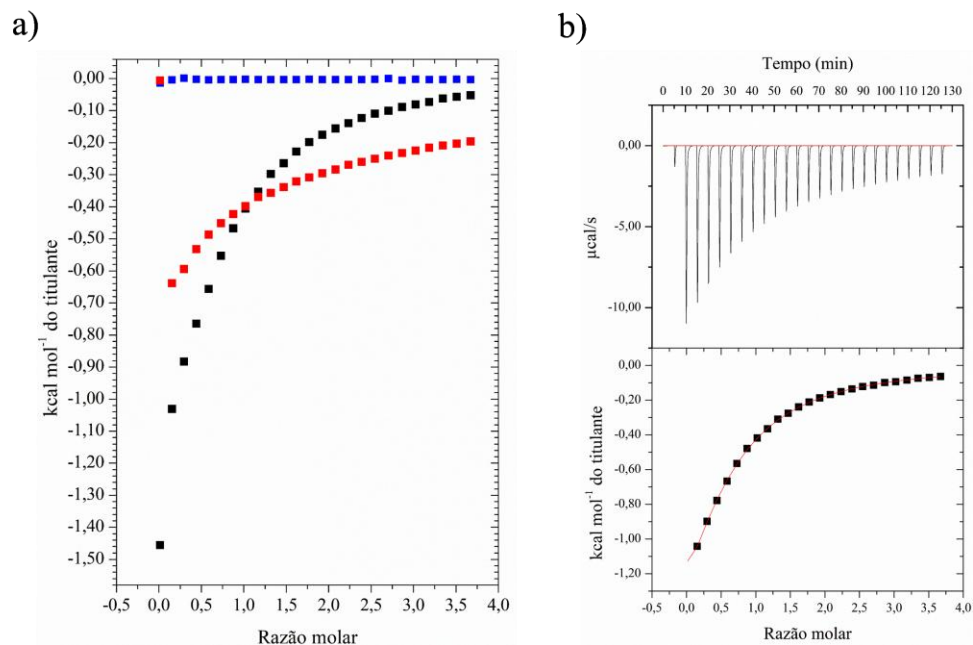


Figura 3-25 Curvas de titulação à 35°C para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em água ■ CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

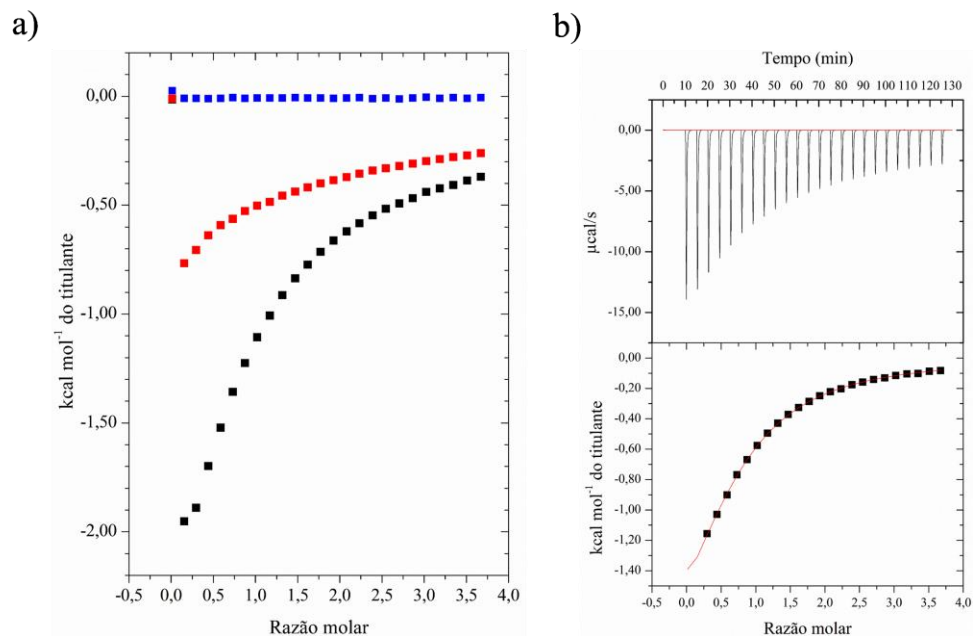


Figura 3-26: Curvas de titulação à 45°C para (a) ■ água em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>; ■ CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em água ■ CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> (b) Figura final CM-β-CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> em FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup>.

Tabela 3-3: Parâmetros termodinâmicos para CM- $\beta$ -CD à 20 mmol L<sup>-1</sup> com FEN à 1 mmol L<sup>-1</sup> em função da temperatura.

Temperatura (°C)	n	K	$\Delta H^\circ$ (kJ/mol)	$T\Delta S^\circ$ (kJ/mol)	$\Delta G^\circ$ (kJ/mol)
15	1,75±0,01	1650,0±28,28	-5,76±0,02	12,41±0,06	-17,75±0,04
35	0,54±0,00	1440,0±14,14	-10,95±0,34	7,43±0,30	-18,63±1,10
45	0,64±0,0	1425,0±7,07	-12,20±0,16	6,57±0,14	-19,21±0,01

Partindo dos resultados obtidos para as titulações nas diferentes temperaturas (15, 25, 35 e 45°C), foi avaliada a influência da temperatura na constante de equilíbrio ( $K_{eq}$ ), assim como nos parâmetros termodinâmicos. Abaixo estão descritos o gráfico dos valores  $K_{eq}$  (Figura 3-27a) e os parâmetros termodinâmicos (Figura 3-27b) para o sistema em função da temperatura.

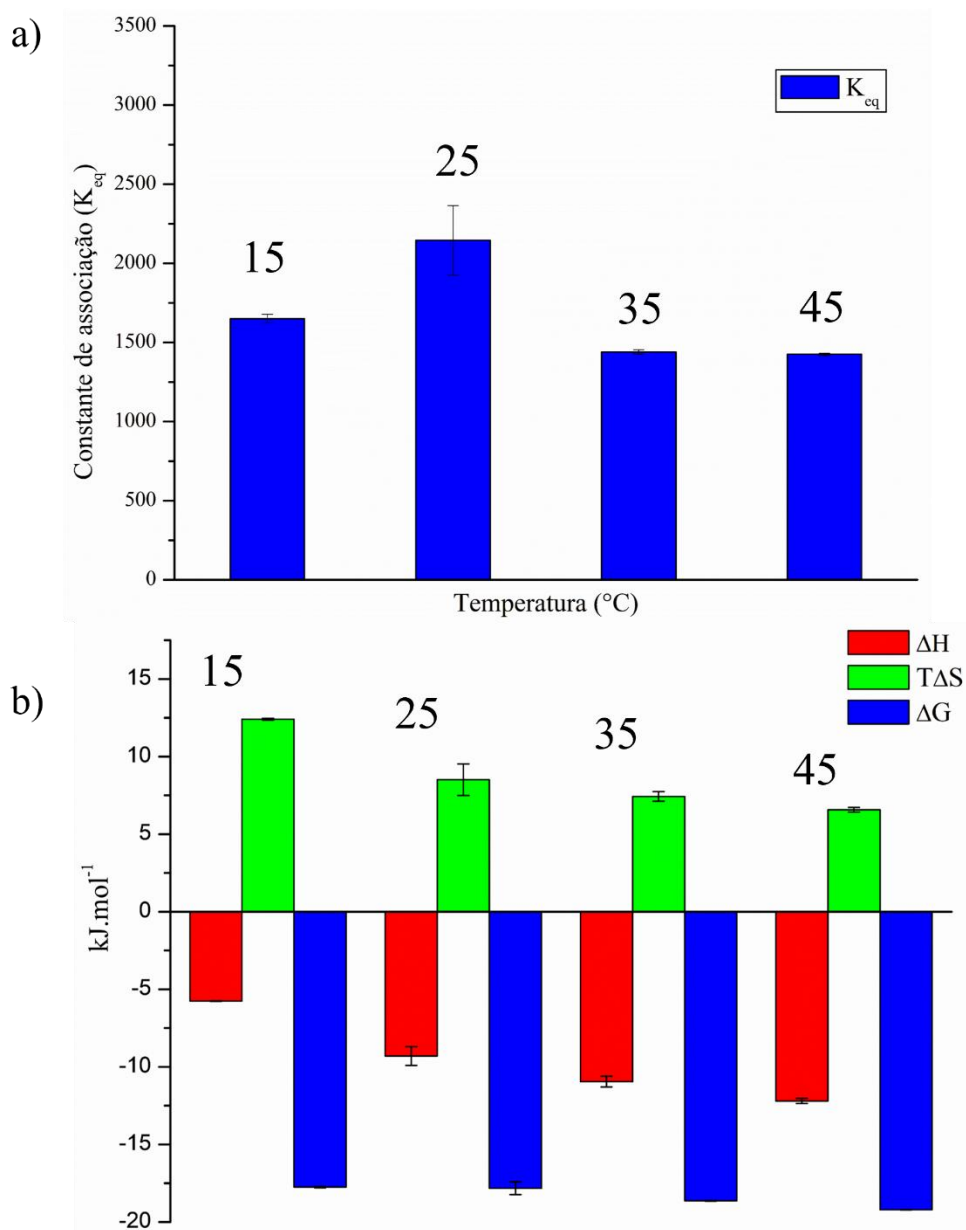


Figura 3-27: Sistema CM $\beta$ CD e FEN em razão molar de 20:1 em função da temperatura  
a) Variação do  $K_{eq}$  e b) parâmetros termodinâmicos:  $\Delta H^\circ$ ,  $T\Delta S$  e  $\Delta G^\circ$ .

Tendo em vista os valores de  $K_{eq}$ , conforme mostrado na Figura 3-37a, a variação da constante  $K_{eq}$  apesar de ser verificado uma maior constante à 25°C é observado também um maior erro associado, colocando seu valor bastante próximo dos valores associados as demais temperaturas avaliadas. Sendo assim é possível entender que a variação de temperatura não interfere significativamente na afinidade entre as espécies FEN e CM $\beta$ CD.

Os parâmetros termodinâmicos em função da temperatura, conforme mostrado na Figura 3-37b, é observado que não há variação significativa no  $\Delta G^\circ$  nas temperaturas avaliadas no presente estudo, o que é resultado da compensação dos termos entrópicos e entálpicos. Enquanto os valores de  $T\Delta S$  diminuem com o aumento da temperatura o  $\Delta H$  cresce com a medida que a temperatura aumenta. Comportamento similar é observado na literatura para sistema composto pela CM $\beta$ CD e outro fármaco (Morais et al., 2024).

### **3.3 Ressonância magnética nuclear (RMN).**

#### **3.3.1 Sistema formado pelo MET e $\beta$ -CD.**

Para o estudo do sistema formado pelo fármaco MET com a  $\beta$ -CD, não foi verificada interação entre as espécies pelas técnicas anteriormente utilizadas, desta forma a técnica de RMN teve como objetivo verificar por meio da estrutura obtida se corrobora com os resultados obtidos pelas técnicas de ITC e FTIR-ATR. Foram realizados experimentos unidimensionais visando a caracterização das espécies livres, determinando os deslocamentos químicos para os hidrogênios presentes na estrutura do MET,  $\beta$ -CD (Figuras 3-24 e 3-25). Posteriormente, feita a caracterização do composto obtido por liofilização na razão molar de 1:1 (Figura 3-26), para melhor visualização, o espectro expandido (Figura 3-29b).

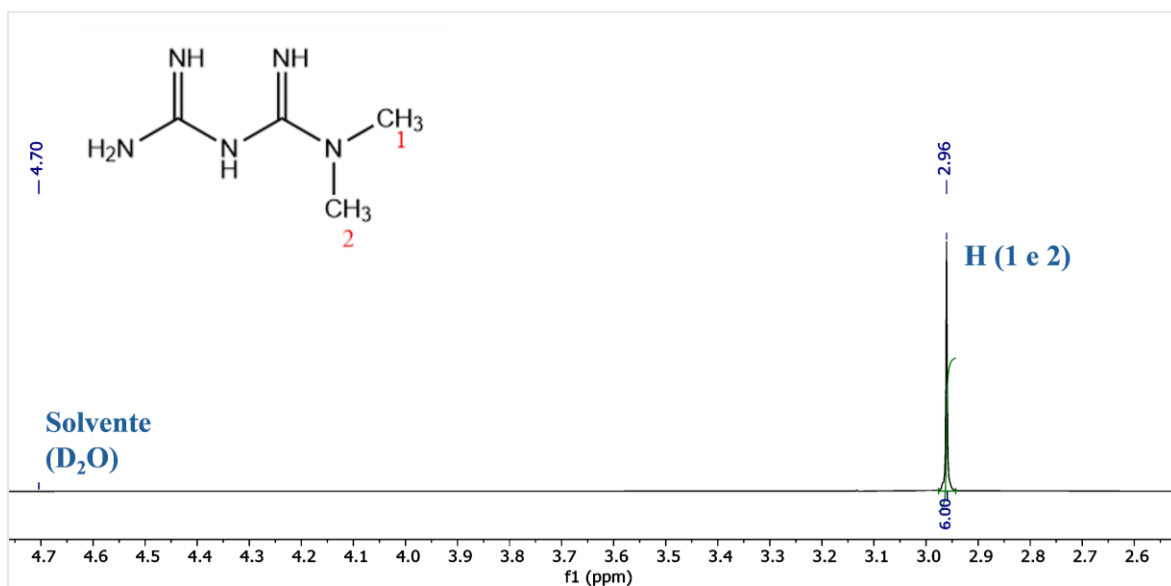


Figura 3-28: Espectro de RMN <sup>1</sup>H à 400 MHz para o MET em D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O.

Na figura 3-25 é descrito o espectro de RMN <sup>1</sup>H para o MET livre, não são visualizados os hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio neste espectro, pois estes são trocados por deutério do solvente D<sub>2</sub>O, uma vez que sua ligação à átomos eletronegativos os tornam lábeis (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018). A estrutura do MET apresenta dois grupos metila (-CH<sub>3</sub>) totalizando seis hidrogênios, que são equivalentes, portanto, é observada a formação de um único sinal com um único pico (singlete), com deslocamento químico (δ) localizado na região de 2,96 ppm (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018).

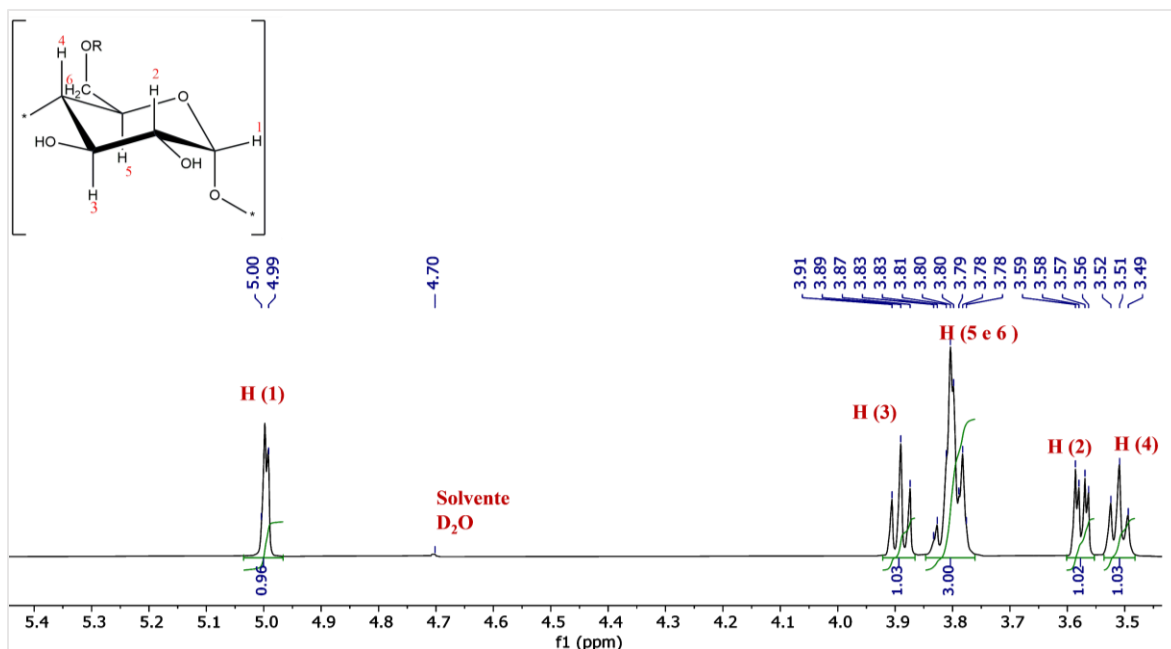


Figura 3-29: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para a  $\beta$ -CD em  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ .

Na figura 3-26 é apresentado o espectro de RMN  $^1\text{H}$  para a  $\beta$ -CD, que corresponde com o que é verificado na literatura. É possível verificar os deslocamentos químicos para os hidrogênios internos H3 e H5 com valores de  $\delta$  3,88 e 3,82 ppm, respectivamente. Os hidrogênios externos H1, H2, H4 e H6 com valores de  $\delta$  5,0; 3,58; 3,51 e 3,80 respectivamente (Schneider et al., 1998).

Após feita a caracterização das espécies livres, foi realizada a comparação dos deslocamentos químicos para os hidrogênios do MET e  $\beta$ -CD para o composto liofilizado (Figura 3-27). Verificadas variações dos deslocamentos químicos será possível determinar se houve interação entre as espécies.

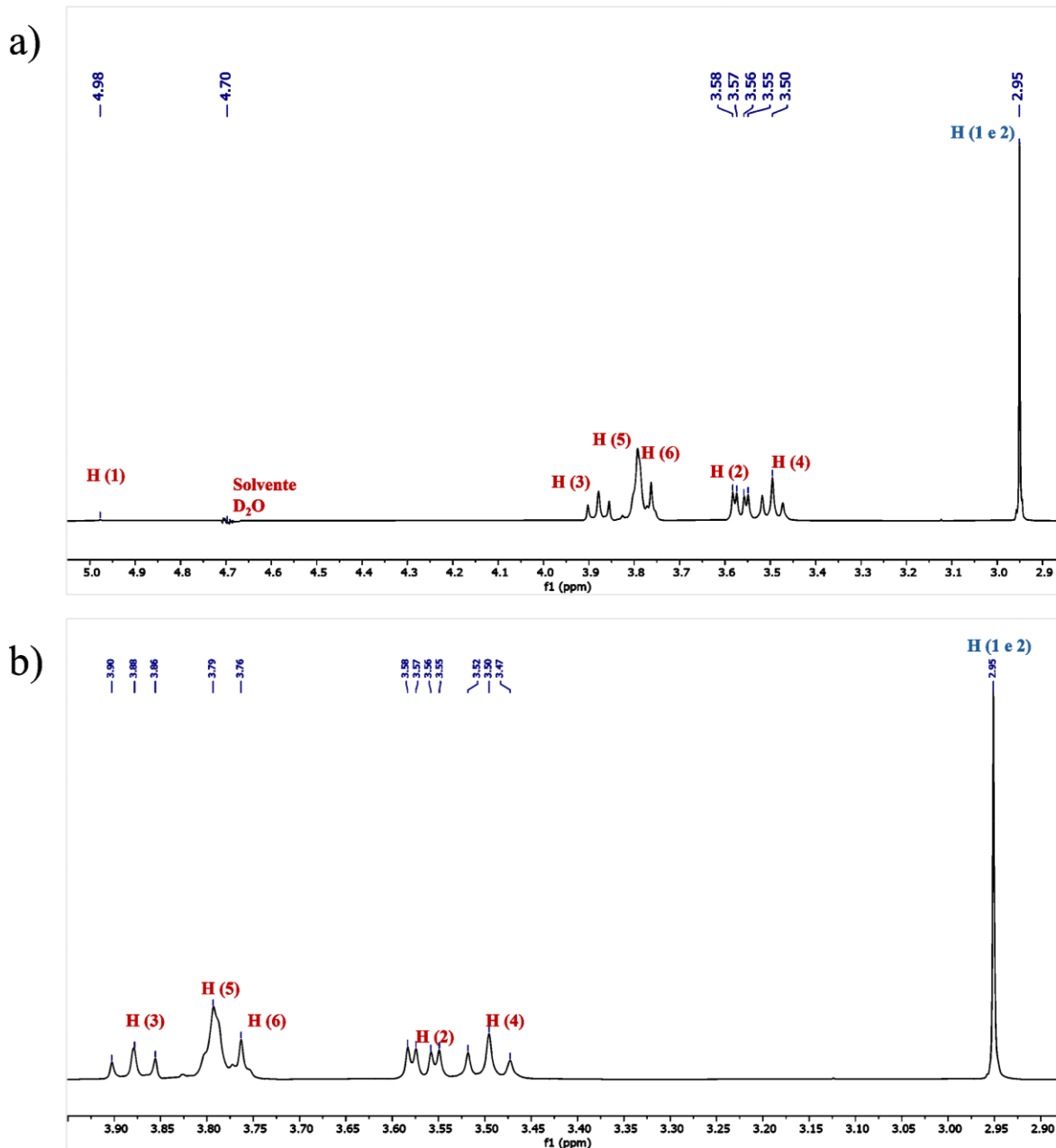


Figura 3-30: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o composto formado pelo MET e  $\beta$ -CD b) expansão do espectro na região de  $\delta$  entre 2.9 e 4.0 ppm.

De acordo com a Figura 3-27, os valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) atribuídos aos hidrogênios dos grupos metila presentes na estrutura do MET, em sua forma livre e no composto formado são 2,96 e 2,95 ppm respectivamente. A variação do deslocamento químico ( $\Delta\delta$ ) verificado para o MET foi 0,01ppm. Foi realizado posteriormente o experimento de  $^1\text{H}/^1\text{H}$  2D

ROESY para a verificação se de proximidade espacial entre os hidrogênios do MET e da cavidade da  $\beta$ -CD.

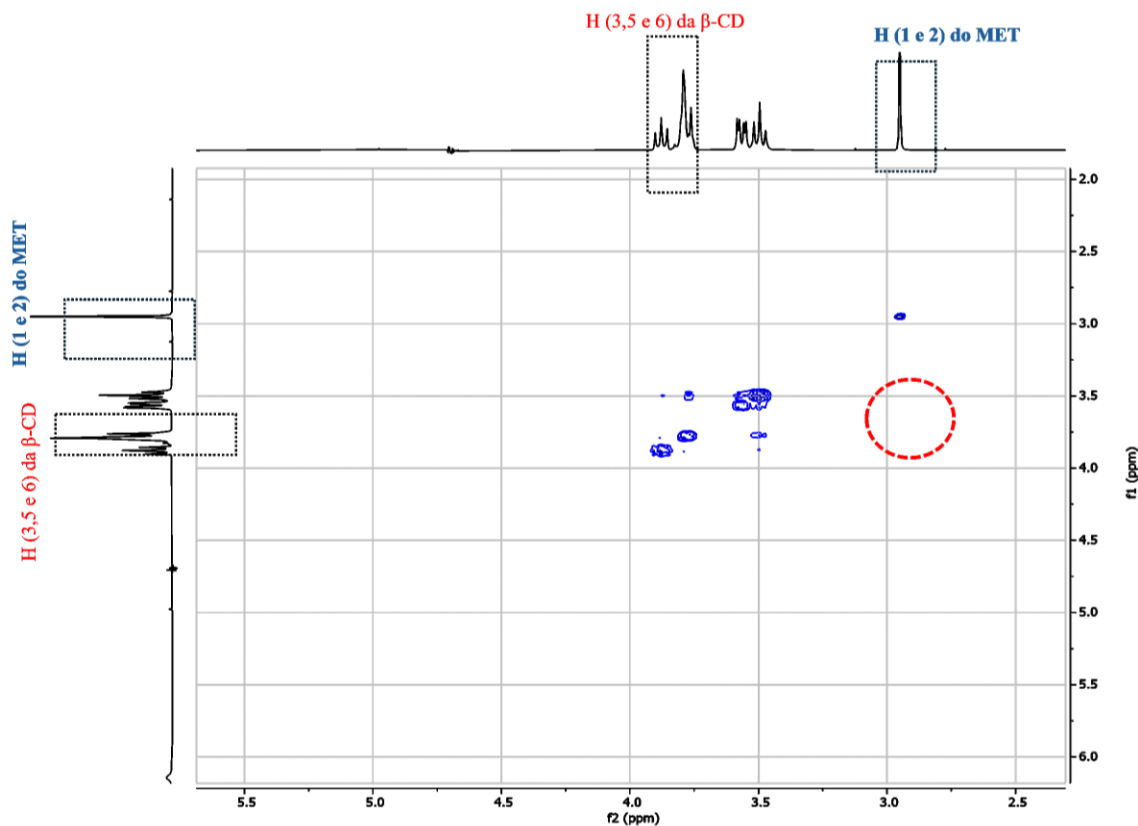


Figura 3-31: Mapa de correlação  $^1\text{H}/^1\text{H}$  2D ROESY para o composto formado MET: $\beta$ -CD em  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ .

Conforme demonstrado pelo experimento  $^1\text{H}/^1\text{H}$  2D ROESY na Figura 3-28, não foi observada correlação entre os hidrogênios do fármaco e da CD, ou seja, não foi verificada mancha de correlação entre os hidrogênios do MET e os hidrogênios internos da  $\beta$ -CD, que estaria localizada na região circulada em vermelho na imagem. Desta forma é possível inferir que não houve formação de um composto de inclusão entre as espécies o MET e a  $\beta$ -CD, corroborando com o que foi obtido pela técnica de ITC. Além disto, não foi observada interação do fármaco com a parte externa da CD, o que indica que não existe a formação de um composto de não inclusão.

### 3.3.2 Sistema formado pelo FEN e $\beta$ -CD.

Foram realizados experimentos uni e bidimensionais de RMN  $^1\text{H}$  para o FEN puro (Figura 3-29) e o composto formado entre o fármaco e a  $\beta$ -CD (Figura 3-30), assim como feito para os compostos de MET, para verificação de possíveis mudanças nos deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos hidrogênios presentes na estrutura do FEN quando em presença de cada uma destas CDs. Para verificação de manchas de correlação entre fármaco e CD, foi realizado experimentos de  $^1\text{H}/^1\text{H}$  2D ROESY (Figura 3-30).

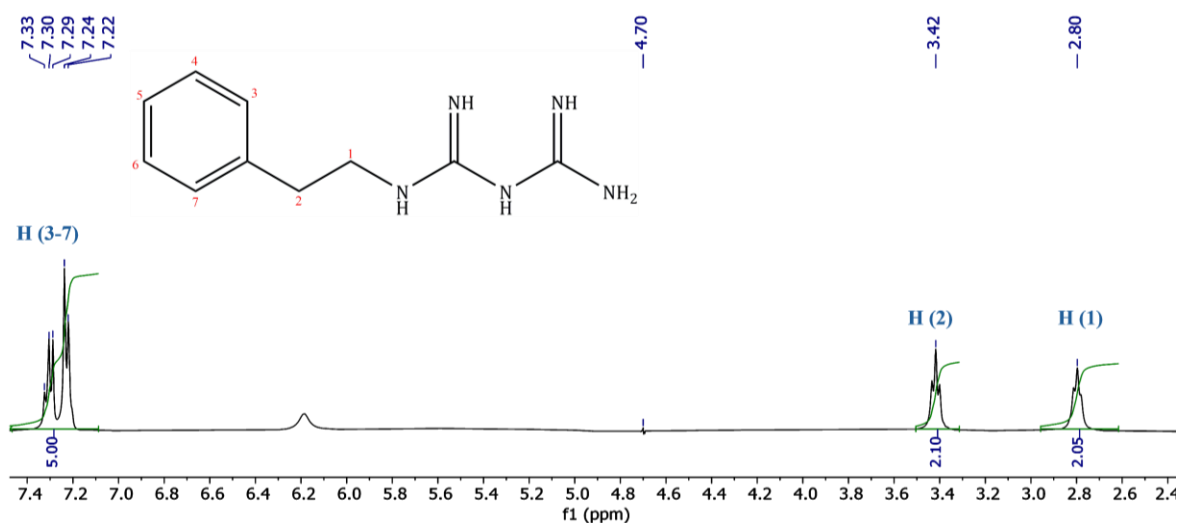


Figura 3-32: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o FEN à 400 MHz em  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ .

Para a verificação de variação do deslocamento químico  $\Delta\delta$ , o mesmo procedimento foi realizado para o composto liofilizado. Após isto, os cálculos foram realizados comparando os  $\delta$  do FEN livre e em presença da  $\beta$ -CD.

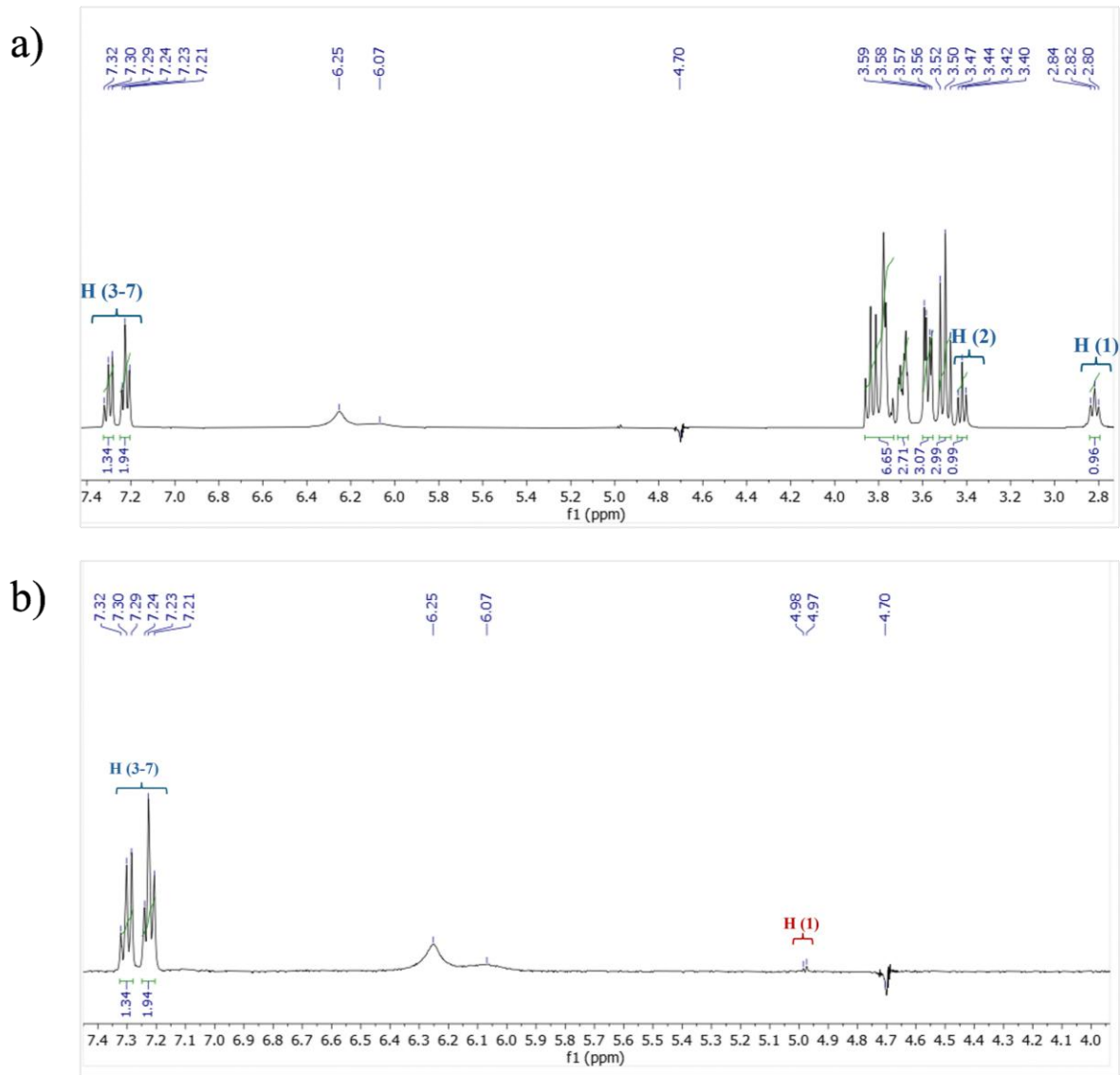


Figura 3-33: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o composto formado entre FEN e  $\beta$ -CD (a) na região entre 2,3 e 4,1 ppm (b) na região entre 4,0 e 7,4 ppm.

Tabela 3-4: Valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) para os hidrogênios da molécula de FEN.

Hidrogênio	FEN $\delta$ $^1\text{H}/\text{ppm}$	FEN: $\beta$ -CD $\delta$ $^1\text{H}/\text{ppm}$	$\Delta\delta$
1	2,72	2,82	0,1
2	3,34	3,42	0,08
3-7	7,20	7,22	0,02

Os valores de deslocamentos químicos para observados para o FEN estão descritos na tabela 3-3, pode-se verificar que houve uma variação de deslocamentos químicos ( $\Delta\delta$ ) para os hidrogênios da estrutura do FEN quando em presença da  $\beta$ -CD. Sendo em ordem crescente de  $\Delta\delta$   $H1 > H2 > H(3-7)$ . É possível verificar os hidrogênios referentes ao anel aromático apresenta deslocamento químico em 7,20 ppm, valor coerente com o que é relatado na literatura (Pavia et al., 2010). Já o deslocamento químico para o H2, que está localizado mais próximo ao anel aromático, se encontra mais desblindado, portanto apresenta um valor de deslocamento químico de 3,34 ppm. O H1, que se encontra mais distante do anel aromático, por estar menos desblindado que o H2 apresenta um menor valor de deslocamento químico, 2,72 ppm (Pavia et al., 2010).

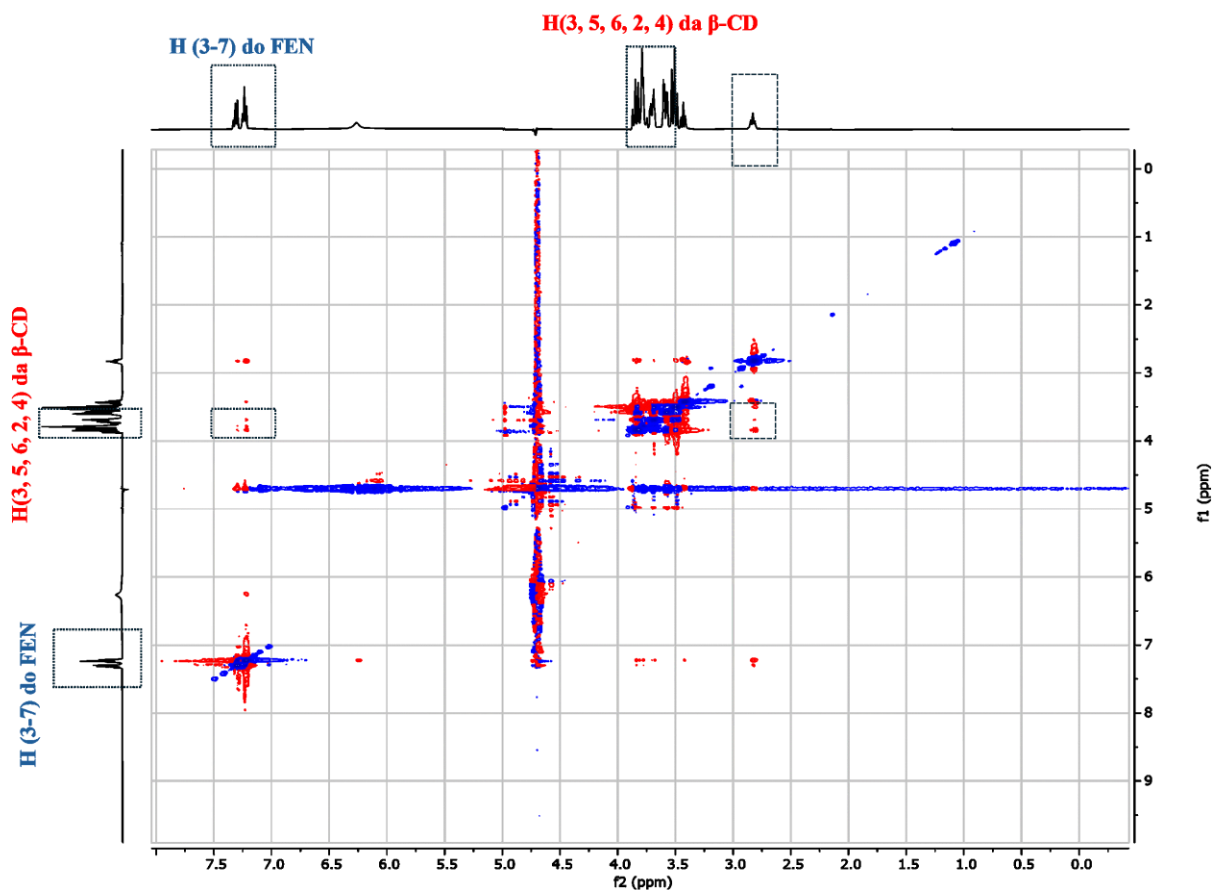


Figura 3-34: Mapa de correlação  $^1H/^1H$  2D ROESY para o composto formado FEN: $\beta$ -CD, em  $D_2O/H_2O$ , as regiões em destaque referem-se aos H1 e H2 do FEN.

De acordo com os resultados observados no mapa de correlação  $^1H/^1H$  2D ROESY (Figura 3-31), é verificada manchas de correlação entre os hidrogênios do anel aromático, assim como o

H1 do FEN com os hidrogênios internos da  $\beta$ -CD, H3 e H5, o que comprova uma inclusão profunda do FEN na cavidade da  $\beta$ -CD, corroborando com os resultados verificados pela técnica de ITC. Desta forma foi possível sugerir possíveis estruturas para o composto de inclusão formado, que são descritas na Figura 3-32.

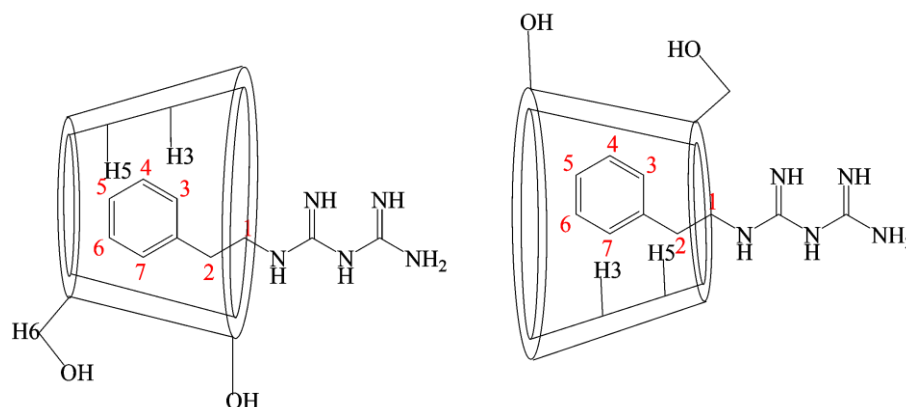


Figura 3-35: Possíveis estruturas para o composto de inclusão FEN: $\beta$ -CD.

As possíveis estruturas para o composto de inclusão formado para o sistema FEN: $\beta$ -CD são descritas na Figura 3-32, onde de inclusão do anel aromático do FEN na cavidade da  $\beta$ -CD pode ocorrer por ambas as extremidades da CD, podendo coexistir as duas formas em solução.

### 3.3.3 Sistema formado pelo FEN e CM- $\beta$ -CD.

A seguir é descrito o espectro de RMN  $^1\text{H}$  para a CM- $\beta$ -CD (Figura 3-33), e os valores de seus deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são descritos para posterior comparação com os deslocamentos observados para o composto formado (Figura 3-34) para o cálculo da variação de deslocamento químico ( $\Delta\delta$ ). E para confirmação da formação do composto de inclusão e descrição de sua estrutura,  $^1\text{H}/^1\text{H}$  2D ROESY (Figura 3-35).

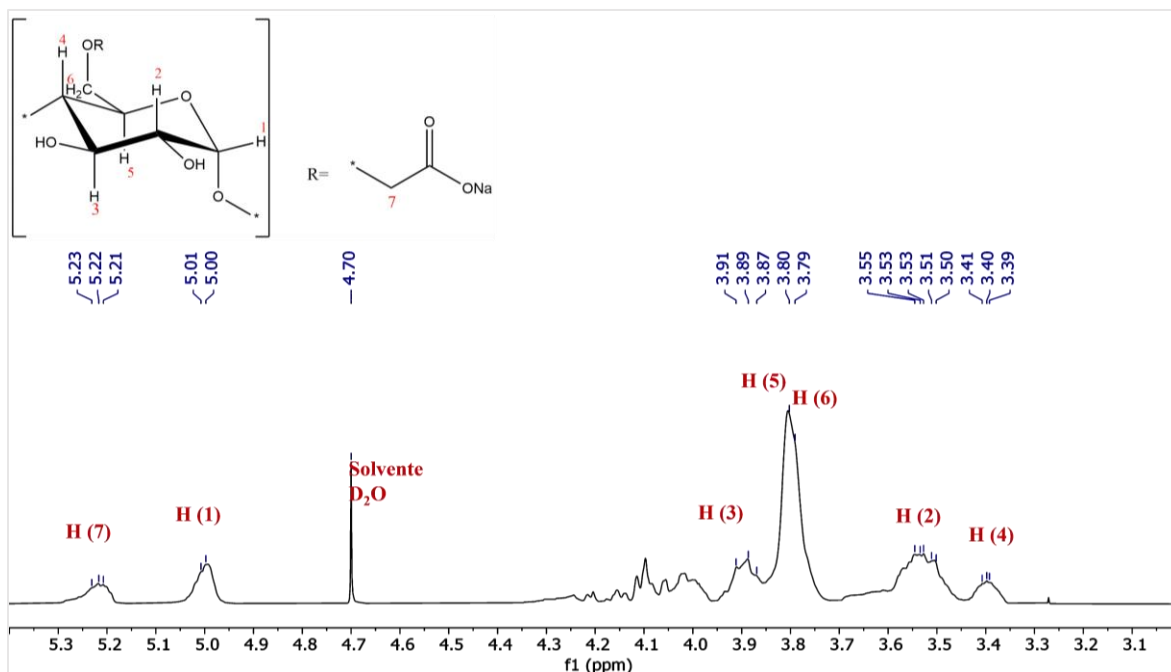


Figura 3-36: Espectro de RMN 1H para a CM-β-CD.

Os valores de deslocamento químico para a CM-β-CD, conforme observado na figura 3-33, onde os hidrogênios internos H3 e H5 estão localizados na região entre 3,80 e 3,91 ppm. Já os hidrogênios externos H1 apresenta  $\delta$  de 5,0 ppm, enquanto os demais hidrogênios externos, H2, H4 e H6, estão localizados na região entre de  $\delta$  3,40 até 3,79 ppm. E os hidrogênios do grupo substituinte carboximetil, H7 em 5,22 ppm (He et al., 2019).

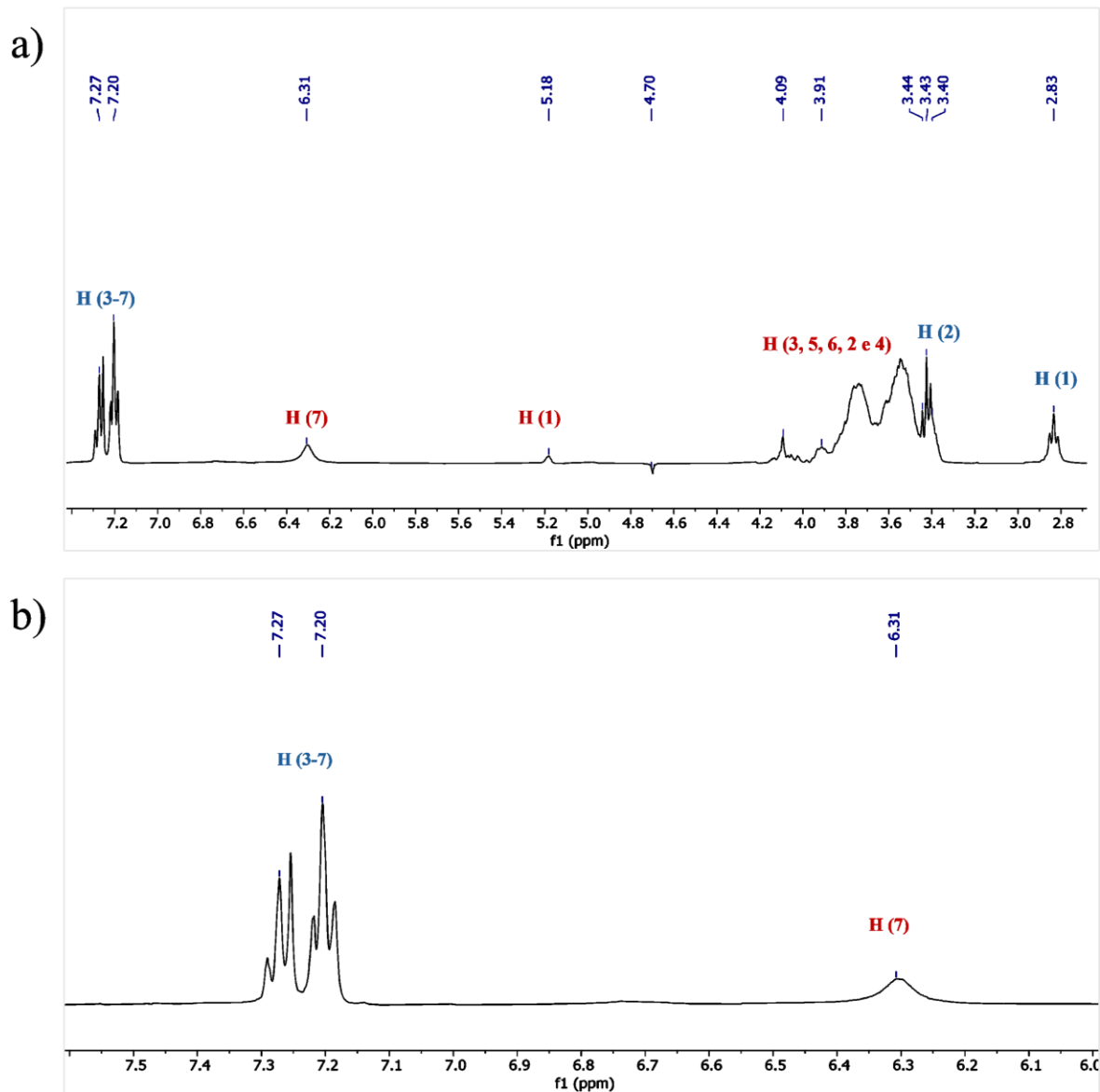


Figura 3-37: Espectro de RMN <sup>1</sup>H para o composto formado entre FEN e CM-β-CD (a) na região entre 2,8 e 7,4 ppm (b) na região entre 6,0 e 7,4 ppm.

Tabela 3-5: Valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) para os hidrogênios da molécula de FEN.

Hidrogênio	FEN $\delta$ <sup>1</sup> H/ppm	FEN:CM-β-CD $\delta$ <sup>1</sup> H/ppm	$\Delta\delta$
1	2,72	2,83	0,11
2	3,34	3,43	0,09
3-7	7,20	7,23	0,03

Como descrito na Tabela 3-4, foi verificado a ocorrência de variação de deslocamentos químicos para os hidrogênios do fármaco sendo em ordem crescente  $H1 > H2 > H(3-7)$ . Além disto, também é observado deslocamento químico para os hidrogênios da CD, destacando-se os hidrogênios externos  $H7$  e  $H1$ , o que sugere uma interação do fármaco com a superfície externa da CD. O que poderá ser melhor entendido pelo experimento de correlação  $^1H/^1H$  2D ROESY.

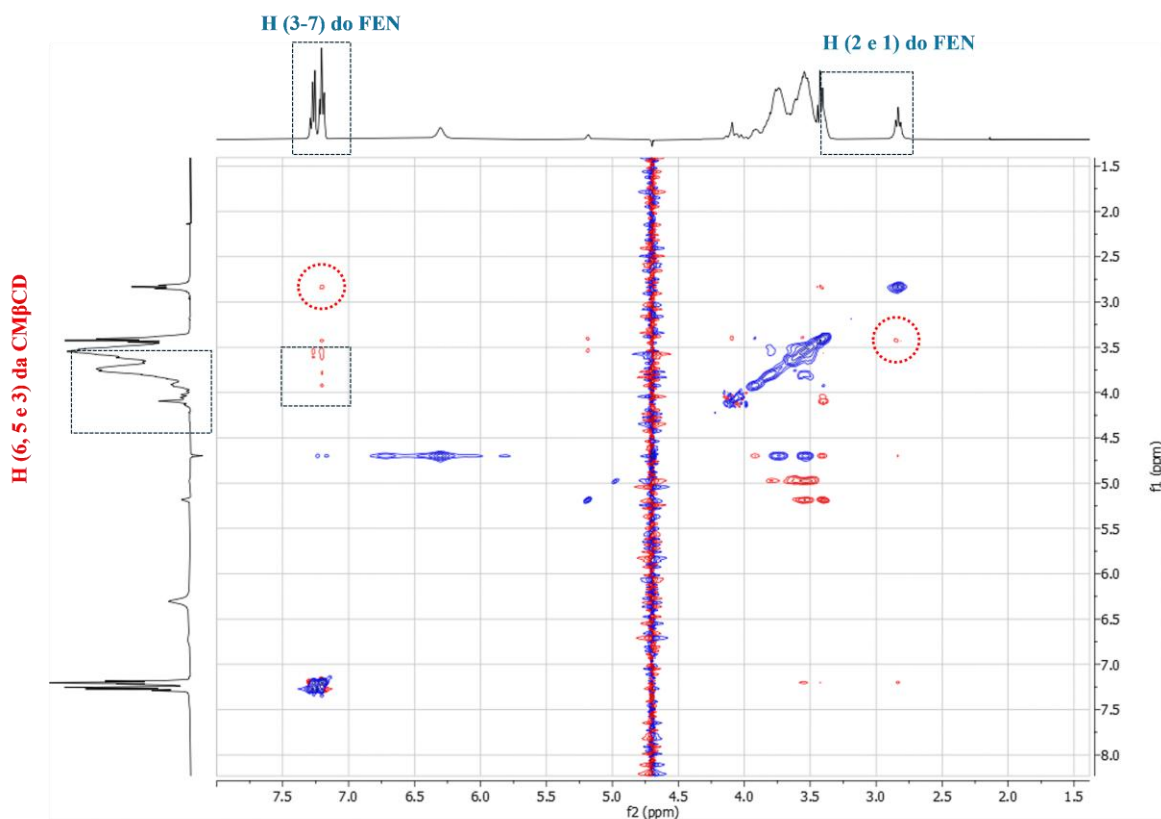


Figura 3-38: Mapa de correlação  $^1H/^1H$  2D ROESY para o composto formado FEN:CM- $\beta$ -CD, em D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O.

De acordo com o mapa de correlação  $^1H/^1H$  2D ROESY (Figura 3-38) é confirmada a formação do composto de inclusão entre o FEN e a CM- $\beta$ -CD, sendo possível verificar manchas de correlação entre os Hs do anel aromático do FEN com os Hs internos da CD, também são observadas manchas de correlação entre os Hs do FEN (circuladas em vermelho). Os resultados corroboram com os dados obtidos pelas técnicas utilizadas anteriormente. Diferente do que foi observado para o sistema FEN: $\beta$ -CD, a inclusão do FEN na cavidade da CM- $\beta$ -CD não é profunda, conforme ilustrado na Figura 3-38, o que é verificado pela não proximidade do H1 e H2 do FEN

com os hidrogênios internos da CD, o que sugere que a presença de grupos substituintes da CD limita a inclusão a inclusão do fármaco. No composto formado é observado a interação dos hidrogênios do anel aromático do FEN com hidrogênios internos da CD, entretanto, o mesmo não é verificado para os H1 e H2 do FEN, o que é entendido que não há inclusão desta parte da estrutura do fármaco.

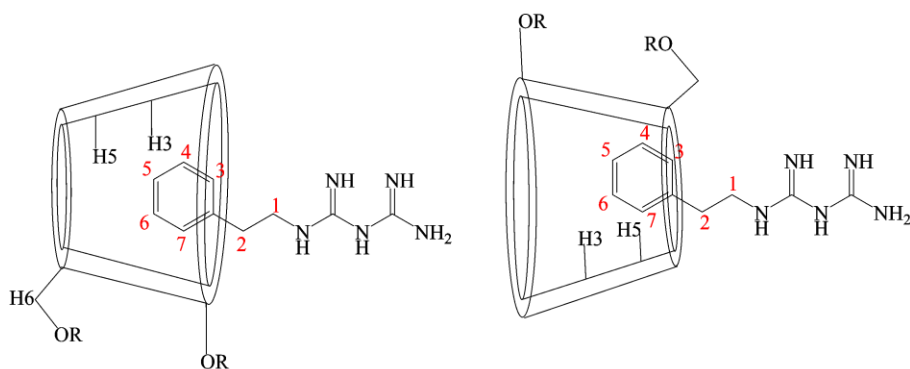


Figura 3-39: Possíveis estruturas para o composto de inclusão FEN:CM- $\beta$ -CD.

As possíveis estruturas para o composto de inclusão formado entre o FEN e a CM- $\beta$ -CD é descrito na Figura 3-36, sendo considerada a estequiometria sugerida pelos resultados obtidos pela técnica de ITC. As possibilidades são a inclusão do anel aromático do FEN são semelhantes as observadas para o composto de inclusão do sistema FEN: $\beta$ -CD.

**CAPÍTULO 4**  
**CONCLUSÕES**

## 4 CONCLUSÕES

Para os sistemas formados entre o MET e as CDs utilizadas no estudo, foi verificado que não houve formação de compostos de inclusão entre o MET com nenhuma das CDs naturais. Nos experimentos de FTIR-ATR realizados para o composto MET: $\beta$ -CD, não foi possível verificar alteração dos modos vibracionais do MET e nem da  $\beta$ -CD, apenas sobreposição de bandas do MET para as misturas física e compostos liofilizados.

Além disto, foram realizados experimentos de RMN uni e bidimensionais para o composto liofilizado de MET: $\beta$ -CD, não sendo verificada formação de um composto de inclusão entre o fármaco e a CD, corroborando os resultados obtidos pelas técnicas realizadas anteriormente. Desta forma é possível concluir que a estrutura do MET não é favorável para interação com as CDs utilizadas no estudo.

Os resultados obtidos pelas titulações calorimétricas demonstraram que a presença do anel aromático na estrutura do FEN favoreceu a interação com diferentes CDs, demonstrada por interações com as CDs  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e CM- $\beta$ -CD. Nestes sistemas a interação ocorreu de forma espontânea, sendo favorecida pela entropia mais do que pela entalpia, sendo o sistema FEN:CM- $\beta$ -CD o mais termodinamicamente favorável. O estudo que avaliou o efeito da variação da temperatura para o sistema CM- $\beta$ -CD:FEN demonstrou fraca influência das temperaturas trabalhadas no estudo para o favorecimento da interação entre as espécies. Pelos experimentos de FTIR-ATR, não foi possível identificar alterações nos modos vibracionais do fármaco e das CDs devido a sobreposições de bandas do FEN. Os resultados observados para os experimentos uni e bidimensionais corroboraram com os resultados de ITC, confirmando a formação de compostos de inclusão para os sistemas FEN: $\beta$ -CD e FEN:CM- $\beta$ -CD.

**CAPÍTULO 5**  
**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, Mehrnaz; HEATH, Braeden; MCGINNESS, Lauren. **Advances in metformin-delivery systems for diabetes and obesity management.** *Diabetes, Obesity and Metabolism* John Wiley and Sons Inc, , 1 set. 2024.

ADA, American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, v. 37, n. SUPPL.1, jan. 2014.

ANGELOVA, Silvia *et al.* **Cyclodextrins' Internal Cavity Hydration: Insights from Theory and Experiment.** *Inorganics* Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 jan. 2025.

ARIGA, Katsuhiko; KUNITAKE, Toyoki. *Supramolecular Chemistry-Fundamentals and Applications Advanced.* 2006.

ATKINS, Peter; JONES, Loretta. **Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente.** 5. ed. [S.l.: S.n.].

BAILEY, Clifford J. **Metformin: historical overview.** *Diabetologia* Springer Verlag, , 1 set. 2017.

BAILEY, Cuffordj. Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care*, v. 15, jun. 1992.

BARBOSA, Priscila Fernanda Pereira *et al.* Chemical Modifications of Cyclodextrin and Chitosan for Biological and Environmental Applications: Metals and Organic Pollutants Adsorption and Removal. *Journal of Polymers and the Environment*, v. 27, n. 6, p. 1352–1366, 15 jun. 2019.

BASTOS, Margarida; VELAZQUEZ-CAMPOY, Adrian. Isothermal titration calorimetry (ITC): a standard operating procedure (SOP). *European Biophysics Journal*, v. 50, n. 3–4, p. 363–371, 1 maio 2021.

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

CAO, Gui *et al.* **Mechanism of metformin regulation in central nervous system: Progression and future perspectives. Biomedicine and Pharmacotherapy** Elsevier Masson s.r.l., , 1 dez. 2022.

CORTI, Giovanna *et al.* Physical-chemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- $\beta$ -cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, n. 3, p. 480–486, 5 nov. 2007.

COVA, Tânia F.; MILNE, Bruce F.; PAIS, Alberto A. C. C. Host flexibility and space filling in supramolecular complexation of cyclodextrins: A free-energy-oriented approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 205, p. 42–54, 1 fev. 2019.

CRUPI, V. *et al.* UV-vis and FTIR-ATR spectroscopic techniques to study the inclusion complexes of genistein with  $\beta$ -cyclodextrins. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 44, n. 1, p. 110–117, 9 maio 2007.

DA TRINDADE, Mariana Teixeira; KOGAWA, Ana Carolina; SALGADO, Hérica Regina Nunes. **Metformin: A Review of Characteristics, Properties, Analytical Methods and Impact in the Green Chemistry. Critical Reviews in Analytical Chemistry** Taylor and Francis Ltd., , 2 jan. 2018.

DAVIS, Mark E.; BREWSTER, Marcus E. **Cyclodextrin-based pharmaceuticals: Past, present and future. Nature Reviews Drug Discovery**, dez. 2004.

DE SOUSA, Frederico B. *et al.* Supramolecular self-assembly of cyclodextrin and higher water soluble guest: Thermodynamics and topological studies. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 26, p. 8426–8436, 2 jul. 2008.

DEMARSILIS, Antea *et al.* Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update and future directions. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 137, 1 dez. 2022.

FENG, Jin *et al.* **Mitochondria as an important target of metformin: The mechanism of action, toxic and side effects, and new therapeutic applications.** **Pharmacological Research** Academic Press, , 1 mar. 2022.

FIMOGNARI, Filippo Luca *et al.* **Older age and phenformin therapy: A dangerous association.** **Internal and Emergency Medicine**, dez. 2008.

GALICIA-GARCIA, Unai *et al.* Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 17, p. 1–34, 1 set. 2020.

GARCÍA-RÍO, L. *et al.* Evidence for complexes of different stoichiometries between organic solvents and cyclodextrins. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 4, n. 6, p. 1038–1048, 2006.

GARCÍA-RÍO, Luis *et al.* The role of water release from the cyclodextrin cavity in the complexation of benzoyl chlorides by dimethyl- $\beta$ -cyclodextrin. **Tetrahedron**, v. 66, n. 13, p. 2529–2537, 27 mar. 2010.

GOMES, Marilia B. *et al.* Treatment of type 2 diabetes mellitus worldwide: Baseline patient characteristics in the global DISCOVER study. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 151, p. 20–32, 1 maio 2019.

HE, Muye *et al.* Cyclodextrin/chitosan nanoparticles for oral ovalbumin delivery: Preparation, characterization and intestinal mucosal immunity in mice. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 14, n. 2, p. 193–203, 1 mar. 2019.

HERNÁNDEZ, Belén *et al.* Protonation-deprotonation and structural dynamics of antidiabetic drug metformin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 114, p. 42–48, 1 out. 2015.

INOUE; YOSHIHISA *et al.* Calorimetric titration of inclusion complexation of naphthalenesulfonates with  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -cyclodextrins: Enthalpy-entropy compensation. **American Chemical Society**, jun. 1993.

JUG, Mario *et al.* Comparative analysis of binary and ternary cyclodextrin complexes with econazole nitrate in solution and in solid state. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 91, p. 81–91, 25 mar. 2014.

KIM, Hyun Woo. **Metabolomic approaches to investigate the effect of metformin: An overview**. **International Journal of Molecular Sciences** MDPI, , 1 out. 2021.

KUWAYTI, K.; RADO, Peter P. CLINICAL EXPERIENCE WITH DBI (PHENFORMIN) IN THE MANAGEMENT OF DIABETES. **the canadian medical association**, v. 80, n. 10, 1959.

LEHN, Jean-Marie. Toward complex matter: Supramolecular chemistry and self-organization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, p. 4763–4768, 2002.

LENH, JEAN-MARIE. Supramolecular Chemistry Scope And Perspectives Molecules - Supermolecules - Molecular Devices. 8 dez. 1987.

LEVINE, Ira N. **Físico-Química**. 6. ed. [S.l.: S.n.]. v. 1

LIMA CAVALCANTI, Iago Dillion *et al.* **Isothermal titration calorimetry (ITC) as a promising tool in pharmaceutical nanotechnology**. **International Journal of Pharmaceutics** Elsevier B.V., , 25 jun. 2023.

LIU, Lei; GUO, Qing-Xiang. The Driving Forces in the Inclusion Complexation of Cyclodextrins. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 42, p. 1–14, 2002.

LOFTSSON, Thorsteinn; DUCHÊNE, Dominique. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1–2, p. 1–11, 1 fev. 2007.

LOFTSSON, Thorsteinn; MÁSSON, Már; BREWSTER, Marcus E. MINIREVIEW Self-Association of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. **Pharmacists Association J Pharm Sci**, v. 93, p. 1091–1099, maio 2004.

MARQUES, Clara Suprani *et al.*  $\beta$ -Cyclodextrin inclusion complexes with essential oils: Obtention, characterization, antimicrobial activity and potential application for food preservative sachets. **Food Research International**, v. 119, p. 499–509, 1 maio 2019.

MBARA, Kingsley C. *et al.* **Metformin turns 62 in pharmacotherapy: Emergence of non-glycaemic effects and potential novel therapeutic applications.** **European Journal of Pharmacology** Elsevier B.V., , 5 maio 2021.

METRY, Melissa *et al.* Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Metformin Hydrochloride. **Journal of Pharmaceutical Sciences** , v. 110, n. 4, p. 1513–1526, 1 abr. 2021.

MORAIS, Diego C. *et al.* Thermodynamic investigation of biperiden hydrochloride and cyclodextrins supramolecular systems. **Chemical Physics Letters**, v. 851, 16 set. 2024.

MURA, Paola. **Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review.** **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** Elsevier, , 1 set. 2015.

ORGOVÁN, Gábor; NOSZÁL, Béla. Electrodeless, accurate pH determination in highly basic media using a new set of 1H NMR pH indicators. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, n. 5, p. 958–964, 5 abr. 2011.

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

PASSOS, Joel J. *et al.* Multi-equilibrium system based on sertraline and  $\beta$ -cyclodextrin supramolecular complex in aqueous solution. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 421, n. 1, p. 24–33, 12 dez. 2011.

PAVIA, Donald L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. 4<sup>o</sup> ed. [S.l.]: CENGAGE LEARNING, 2010.

POUYA SAEEDIA *et al.* Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045 Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 2019.

REZENDE, Bruno A. *et al.* Complexation with  $\beta$ -cyclodextrin confers oral activity on the flavonoid dioclein. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 367, n. 1–2, p. 133–139, 9 fev. 2009.

SCHERNTHANER, Guntram; SCHERNTHANER, Gerit Holger. **The right place for metformin today**. **Diabetes Research and Clinical Practice** Elsevier Ireland Ltd, , 1 jan. 2020.

SCHNEIDER, Hans-Jörg *et al.* NMR Studies of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. **American Chemical Society**, v. 98, p. 1755–1785, nov. 1998.

SCHUSTER, Dara P.; DUVUURI, Vani. DIABETES MELLITUS. **UPDATES IN INTERNAL MEDICINE**, p. 79–107, 2002.

SETTER, Stephen M. *et al.* **Metformin Hydrochloride in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus: A Clinical Review with a Focus on Dual Therapy.** *Clinical Therapeutics* Excerpta Medica Inc., , 2003.

SOHAJDA, Tamás *et al.* Separation of vinca alkaloid enantiomers by capillary electrophoresis applying cyclodextrin derivatives and characterization of cyclodextrin complexes by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, n. 5, p. 1258–1266, dez. 2010.

SOLOMONS, T. W. GRAHAM; FRYHLE, CRAIG B.; SNYDER, SCOTT A. **Química orgânica.** 12<sup>o</sup> ed. [S.l.]: GEN, 2018. v. 1

SONG, Anni; ZHANG, Chun; MENG, Xianfang. Mechanism and application of metformin in kidney diseases: An update. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 138, 1 jun. 2021.

SZEJTLI, József. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. **American Chemical Society**, v. 98, p. 1743–1753, 6 set. 1998.

SZEJTLI, József. Past, present, and future of cyclodextrin research\*. **Pure Appl. Chem**, v. 76, n. 10, p. 1825–1845, 2004.

TAN, Sin Yee *et al.* Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 13, n. 1, p. 364–372, 1 jan. 2019.

TRIGGLE, Chris R. ;. Mohammed, Ibrahim; MacDonald, Ross; Bshesh, Khalifa; Hollenberg, Morley D. ;. Marei, Isra; Hill, Michael A. Metformin Is it a drug for all reasons and diseases. **Metabolism**, 2022.

TURNBULL, W. Bruce; DARANAS, Antonio H. On the Value of c: Can Low Affinity Systems Be Studied by Isothermal Titration Calorimetry? **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 48, p. 14859–14866, 3 dez. 2003.

VALENTE, Artur J. M.; SÖDERMAN, Olle. **The formation of host-guest complexes between surfactants and cyclodextrins.** *Advances in Colloid and Interface Science*, mar. 2014.

VELAZQUEZ-CAMPOY, Adrian. Geometric features of the Wiseman isotherm in isothermal titration calorimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 122, n. 3, p. 1477–1483, 1 dez. 2015.

VICENS, Jacques; VICENS, Quentin. Emergences of supramolecular chemistry: From supramolecular chemistry to supramolecular science. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 71, n. 3–4, p. 251–274, dez. 2011.

VIEIRA, Bianca B. M. *et al.* Biperiden Hydrochloride/ $\beta$ -Cyclodextrins supramolecular system and its cytotoxicity against lung adenocarcinoma cells. **Journal of Molecular Liquids**, v. 386, 15 set. 2023.

WSZELAKA-RYLIK, Małgorzata; GIERYCZ, Paweł. Isothermal titration calorimetry (ITC) study of natural cyclodextrins inclusion complexes with drugs. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 2029–2035, mar. 2013.

ZIA, V.; RAJEWSKI, R. A.; STELLA, V. J. Effect of Cyclodextrin Charge on Complexation of Neutral and Charged Substrates: Comparison of (SBE) 7M-CD to HP-CD. **Pharmaceutical Research**, v. 18, p. 667–673, 2001.

**Artigo Publicado durante o Mestrado**