



Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina

Lyra, M.A.M.¹; Alves, L.D.S.¹; Fontes, D. A. F.¹; Soares-Sobrinho, J. L.^{1,2}; Rolim-Neto, P.J.^{1*}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco UFPE, Recife, PE, Brasil.

²Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, UFPI, Piauí, PI, Brasil.

Recebido 02/04/2010 / Aceito 18/08/2010

RESUMO

As ciclodextrinas (CDs) têm sido bastante utilizadas no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, particularmente devido às suas propriedades complexantes, a qual promove incremento na solubilidade de fármacos poucos solúveis. O ambiente lipofílico da cavidade interna das CDs propicia condições favoráveis para a formação de complexos de inclusão (CI) com compostos hidrófobos. Variações nas propriedades físico-químicas das moléculas hóspedes podem ser identificadas através de metodologias analíticas, que permitem detectar a formação dos complexos. O objetivo deste trabalho foi discutir os principais métodos utilizados na caracterização de CI com base numa revisão da literatura. Entre as diversas técnicas para caracterizar CI com CDs, nos estados líquido e sólido, tem-se a espectroscopia de absorção visível e ultravioleta, técnica de fluorescência, espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, cromatografia líquida de alta eficiência, cristalográficas de Raio-X, estudos térmicos, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de Raman, calorimetria de titulação isotérmica, ensaios de dissolução, dentre outros.

Palavras-chave: Espectroscopia. Complexo de inclusão. Ciclodextrinas. Métodos analíticos.

INTRODUÇÃO

As ciclodextrinas (CDs) têm sido bastante utilizadas no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, particularmente devido às suas propriedades complexantes, as quais proporcionam incremento de solubilidade e

conseqüente aumento da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis, estabilidade, redução de irritações (gástrica, dérmica ou ocular) bem como diminuição ou eliminação de odores ou sabores desagradáveis em formulações líquidas Guedes et al., 2008).

As CDs são oligossacarídeos cíclicos, compostos por unidades de glicose unidas através de ligações α -1,4, originados da degradação do amido pelas enzimas glicosiltransferases, sintetizadas por alguns microrganismos (Jun et al., 2007). As que são obtidas com maior rendimento são comumente conhecidas como CDs naturais e contém seis, sete ou oito unidades de glicose, sendo denominadas de α - ciclodextrinas (α -CD), β -ciclodextrinas (β -CD) e γ -ciclodextrinas (γ -CD) respectivamente (Cannavà et al., 2008). Nessas moléculas, os grupos hidroxilas primários e secundários estão orientados para o exterior do anel formado, na porção estreita e larga respectivamente, conferindo-lhe um exterior bastante hidrofílico e uma cavidade hidrofóbica, onde as moléculas hóspedes ou parte delas são encapsuladas (Sá-Barreto & Cunha-Filho, 2008).

A principal força motriz que favorece a encapsulação molecular consiste na substituição das moléculas de água que possuem elevada entalpia por moléculas hóspedes de menor entalpia. Trata-se de um processo energeticamente viável por promover uma alteração favorável de entalpia, aumento de entropia e redução da energia total do sistema, fatores que contribuem para o aumento da estabilidade do complexo formado. Interações eletrostáticas de Van der Waals, interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, também contribuem para formação e estabilização dos complexos de inclusão (CIs) (Gornas et al., 2009).

Fármacos poucos solúveis freqüentemente apresentam comportamento de biodisponibilidade *in vivo* inferior quando comparados àqueles de alta solubilidade. Logo, a formação de CIs está dentre as alternativas mais vantajosas e eficientes quando se busca melhoria nas propriedades de dissolução e biodisponibilidade de fármacos pouco hidrossolúveis (Spricigo et al., 2008; Lima et al., 2008).

Apesar do número crescente de trabalhos utilizando CDs na formação de CI, a abordagem sobre as técnicas de caracterização continua sendo de grande interesse no âmbito analítico. As propriedades físico-químicas dos

Autor correspondente: Pedro José Rolim Neto - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica - Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco - UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá, s/n - Cidade Universitária CEP 50740-521 - Recife - PE - Brasil - telefone: (81) 3272-1383 email:prolim@ufpe.br

fármacos e das CDs isoladamente são diferentes daquelas apresentadas quando estão complexados. Partindo deste conceito, qualquer metodologia que tenha sensibilidade suficiente para medir estas diferenças pode ser utilizada para caracterizar estes complexos sob diferentes pontos de vista, permitindo direcionar os fenômenos de inclusão de acordo com as necessidades (Britto et al., 2004; Cunha-Filho & Sá-Barretto, 2007).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi discutir com base numa revisão da literatura os principais métodos utilizados para caracterização de CIs de fármacos com CDs.

MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

Uma das principais características das CDs é o fato de formarem CIs em solução, e também no estado sólido. As fracas interações que ocorrem entre a molécula complexada e a CD, característica intrínseca do sistema molecular, dificultam a utilização de algumas técnicas analíticas aplicadas à solução. Por outro lado, a caracterização de CIs no estado sólido é considerada de grande interesse devido às possibilidades de patentes (Britto et al., 2004).

Variações nas propriedades físico-químicas das moléculas hóspedes podem ser identificadas através de metodologias analíticas, que permitam detectar a formação dos complexos (Uekama et al., 1998). A maioria dos estudos de caracterização de CIs com CDs em solução são por espectroscopia de absorção UV-Vis, técnica de fluorescência e espectroscopia de RMN (Franco et al., 2009; Miller et al., 2007).

Para os estudos que envolvem complexos em fase sólida, são utilizadas com mais frequência as técnicas de difração de Raio-X, estudos térmicos, espectroscopia de FIRT e estudos de dissolução (Cannavà et al., 2008; Lu et al., 2009). Existem relatos de outras técnicas de caracterização que estão sendo recentemente utilizadas, como a espectroscopia de Raman, eletroforese capilar, potenciometria, ITC, dicroísmo circular, entre outros (Venturine et al., 2008).

Caracterização da formação de complexos em estado líquido

Diagrama de solubilidade de fase

A abordagem mais utilizada para o estudo de complexação é o método descrito por Higuchi & Connors (1965), sendo considerada a primeira verificação de CIs em solução. Esse estudo analisa os efeitos da adição do agente complexante sobre o composto a ser solubilizado, permitindo obter a constante de estabilidade (K_c) e a estequiometria de formação do complexo, a partir da solubilidade intrínseca do substrato (S_0) e a inclinação da reta resultante do diagrama de solubilidade (Equação 1).

$$K_{1:1} = \frac{\text{Inclinação}}{S_0 \times (1 - \text{Inclinação})} \quad \text{Eq. 1}$$

Para muitos dos complexos formados, as constantes de estabilidade varia de 0 a 10^5 M^{-1} , demonstrando que mesmo com a formação de complexos estáveis, uma diluição de 1:100, diminui a porcentagem de complexação

de 100% para 30%, o que possibilita a liberação do fármaco complexado nas membranas biológicas. Contudo, os efeitos da diluição devem ser bem elucidados na utilização desses complexos em formas farmacêuticas, devido às possibilidades de precipitação do fármaco quando existe uma relação de não-linearidade da solubilidade entre o fármaco e a CD (Stella & Rajewski, 1997; Challa et al., 2005).

As principais constantes publicadas de 123, 490, e 525 M^{-1} para α -CD, β -CD e γ -CD, respectivamente, foram baseadas em estudos estatísticos. Valores inferiores à 100 para a constante, sugerem fraca afinidade do fármaco com as CDs enquanto valores elevados, indicam que o fármaco está fortemente ligado, o que pode reduzir consideravelmente a sua biodisponibilidade (Miller et al., 2007). Outros parâmetros tais como os termodinâmicos, isto é, mudanças na energia livre de Gibbs (ΔG), na entalpia (ΔH) e na entropia (ΔS), podem ser obtidos em função da temperatura e da constante de estabilidade dos CIs (Marcelo et al., 2008).

A ΔH pode ser determinada utilizando-se a equação de Van't Hoff (Grillo et al., 2008a):

$$\ln \left(\frac{K_2}{K_1} \right) = \Delta H \frac{T_2 - T_1}{RT_2 - T_1} \quad \text{Eq. 2}$$

Para as mudanças de ΔG e de ΔS utilizam-se as equações 2 e 3, respectivamente (Jun et al., 2007):

$$\Delta G = -RT \ln K \quad \text{Eq. 2}$$

$$\Delta S = \frac{(\Delta H - \Delta G)}{T} \quad \text{Eq. 3}$$

A partir da obtenção do valor de ΔG é possível demonstrar a espontaneidade da reação, sendo possível avaliar se esta é favorável para a solubilização aquosa do fármaco. Em geral, a formação dos CIs está associada a valores de $\Delta G < 0$, proporcionais ao aumento de temperatura (T) e a concentração do agente solubilizante, devendo também ser considerada a natureza química da molécula hóspede na previsão da complexação. Nesse caso, também pode ser analisado qual complexante causa o melhor incremento na solubilidade aquosa, pois quanto maior a contribuição para o valor negativo de ΔG , melhor o efeito solubilizante (Patel et al., 2008).

Uma série de moléculas apresenta correlações lineares entre ΔH e ΔS , com valores crescentes e menos negativos, respectivamente. A α -CD hidratada, por exemplo, possui ligação de hidrogênio associada a uma molécula de água, e quando esta é eliminada, promove a redução significativa da tensão estérica na cavidade da CD diminuindo a entalpia do sistema. No caso da β -CD, um complexo estável apresenta uma ΔH negativa e uma ΔS próxima de zero (Valle, 2004). Jun et al. (2007) realizaram o diagrama de solubilidade de fases da sinvastatina na presença de concentrações crescentes de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) e em diversas temperaturas, obtendo valores crescentes das constantes

de complexação, o que é justificado pela provável redução das interações de Van der Waals e das forças hidrofóbicas, com a elevação da temperatura. Essas mudanças nos parâmetros termodinâmicos demonstram a espontaneidade da complexação.

Apesar de favorecer a complexação, o aumento da temperatura também pode desestabilizar o complexo. A estabilidade térmica, em geral, varia de acordo com a molécula hospede e a ciclodextrina, mas variações de temperatura entre 50-60°C podem acarretar em decomposição de alguns complexos (Valle, 2004).

Espectroscopia de ultravioleta visível

A espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta/visível (UV/VIS) é um método analítico baseado na propriedade das espécies iônicas ou moleculares de absorverem determinados comprimentos de onda da radiação UV/VIS. No processo de absorção da radiação, a energia dos fótons é transferida para as moléculas do meio em análise para provocar transições eletrônicas associadas a transições vibracionais e rotacionais (Leal et al., 2008).

As mudanças que ocorrem no espectro de UV, devido a formação do complexo, são geralmente identificadas pelos deslocamentos batocrômicos e/ou alargamento de bandas. O deslocamento no máximo de absorção de UV, pelo efeito da formação do complexo, pode ser explicado através da proteção parcial dos elétrons excitáveis e cromóforos presentes na cavidade das CDs (Budal, 2003).

Tendo em vista que os níveis energéticos das moléculas são quantizados, a absorção de energia pode ser considerada como um processo específico relacionado com a estrutura da espécie absorvente, a qual determina a energia envolvida na transição, e com a probabilidade de que esta ocorra. A intensidade da radiação que incide na amostra pode ser medida e relacionada com a concentração da espécie absorvente (Rocha & Teixeira, 2004).

O ponto de intersecção de um grupo de espectros sobrepostos expressos em função da concentração evidencia a presença de uma mistura de dois estados e é denominado ponto isobéstico. Em relação à espectroscopia de UV-Vis, a presença de um ponto isobéstico pode ser considerada uma forte evidência para a formação de um complexo de inclusão. Por outro lado, a inexistência de ponto isobéstico não significa a ausência de CIs, uma vez que estes constituem somente uma parte da evidência em estudos de sistemas envolvendo complexos, a qual é tão importante quanto outras provas consistentes (Venturine et al., 2008).

Zhang et al. (2009) verificaram a formação do CI do ácido caféico com a HP- β -CD em solução através dessa técnica, onde foi observado um incremento na absorção nos comprimentos de onda entre 283 e 309 nm com o aumento da concentração da HP- β -CD que variou de 0-6,0 x 10⁻³ M.

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

A espectroscopia de RMN é uma das técnicas mais utilizadas na investigação da estabilidade, estequiometria, energia do processo de complexação e geometria dos CI em solução e no estado sólido (Bouquet et al, 2007), principalmente quando existem resultados contraditórios

obtidos por outras técnicas. Esta técnica permite visualizar de forma direta as interações que ocorrem entre as moléculas hóspedes e as CDs, sendo capaz de diferenciar qual parte da estrutura química do fármaco está sendo complexada (Veiga et al., 2006).

Estas informações podem ser obtidas usando-se a espectroscopia monodimensional (¹H RMN) e são baseadas nas alterações de deslocamento químico, quando ocorre a formação dos CIs. É considerada a metodologia mais importante e rigorosa para a comprovação da formação de complexos em solução, devido a sensibilidade para detectar os fenômenos de complexação (Figueiras et al., 2007a).

A modificação nos sinais das CDs observada nesta técnica é consequência direta das alterações causadas pela associação com o fármaco, que pode alterar o microambiente ao redor dos átomos de hidrogênio no interior da cavidade. Da mesma forma, o fármaco incluído mostra alterações na leitura dos sinais correspondentes aos átomos que penetraram nas cavidades das CDs, que constituem um microambiente diferente daquele em que estava originalmente solvatado (Venturine et al., 2008).

O RMN-¹H detecta durante a complexação o deslocamento químico para valores de campo mais altos para os H-3 e H-5 localizados no interior da cavidade, e enquanto que os hidrogênios da superfície externa das CDs (H-1, H-2, H-4 e H-6) não são afetados ou mostram desvios mínimos (Veiga et al., 2006).

As técnicas bidimensionais avançadas, tais como ROESY, revelam imagens detalhadas da geometria dos CIs em solução, permitindo o detalhamento estrutural de estruturas complexas contendo CDs modificadas com variável grau de substituição (Veiga et al., 2006).

Spamer et al. (2002) confirmaram a capacidade de complexação dos compostos furosemida/ β -CD pela técnica bidimensional ROESY, a qual demonstrou que o anel furano da molécula de furosemida acomoda-se por completo na cavidade da β -CD.

Técnica de Job

A técnica de variação contínua *Job plot* baseia-se na variação de um parâmetro físico-químico observado na presença de CDs e que pode ser medido por técnicas espectroscópicas, como RMN ou fluorescência (Shafi & Shihry, 2009; Grillo et al., 2008b). Este método é válido para qualquer técnica experimental que mede uma magnitude diretamente proporcional à concentração do complexo formado. Baseia-se no fato de que qualquer função que dependa diretamente da concentração do complexo, apresenta um máximo referente à fração molar de um dos componentes que formam o complexo. Em função deste máximo pode-se obter o coeficiente estequiométrico da reação de complexação (Budal, 2003).

Devido a habilidade das CDs de formarem complexos com uma grande variedade de compostos em solução, algumas alterações nas propriedades físicas, químicas ou biológicas das moléculas hóspedes podem ocorrer (Gornas et al., 2009).

Misiuk & Zalewska (2009) utilizaram esta técnica para determinar a estequiometria do complexo e trazodona com o HP- β CD. Esta técnica também foi utilizada na

determinação da estequiometria de CIs envolvendo a β -CD (Fraceto et al., 2007).

Modelagem Molecular

As estruturas moleculares formadas pelos fármacos e das CDs podem ser simuladas utilizando construída através de programas computacionais. No estudo de modelagem molecular analisa-se como se procede a formação dos CIs e a orientação dos fármacos nas cavidades das CDs (Araújo et al., 2009).

Estruturas moleculares com energia conformacional mínima podem ser dimensionadas com métodos funcionais da teoria da densidade (DFT) e métodos semi-empíricos, e os cálculos do estado de excitação eletrônica podem ser executados empregando programas específicos (Araújo et al., 2009; Aaltonen et al., 2008). Como exemplo de métodos semi-empíricos, o AM1, PM3 e PM6 têm sido bastante utilizados para simular geometrias de CDs e dos prováveis complexos em solução e a vácuo (Brito et al., 2004).

A predição computacional de espectros vibracionais, também pode ser usada para compreender melhor a estrutura intra e intermolecular, incluindo a conformação molecular, e a ligação intermolecular nos sólidos e soluções (Aaltonen et al., 2008). Nos estudos computacionais de Vueba et al. (2006), foram previstos os espectros do cetoprofeno nas duas conformações da menor energia, e na comparação dos espectros com aqueles experimentais, verificou-se apenas uma conformação de baixa energia, tanto no estado líquido como no sólido.

Rossi et al. (2006) estudaram a estrutura do CI indometacina-CDs utilizando o método de simulação vibracional molecular. Verificaram que em solução, uma parte da molécula (cloro-benzeno) da indometacina é inserida na CDs pela cavidade maior e a amida é afetada pelo processo de inclusão (Aaltonen et al., 2008).

Determinação por Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência

A caracterização dos CIs pode ser realizada através do estudo por CLAE. As CDs são adicionadas na fase móvel e a retenção do soluto estará condicionada pela partição do fármaco entre a fase móvel e a estacionária, e a complexação de fármacos com as CDs. O tempo de retenção diminui à medida que se aumenta a concentração de CDs na fase móvel, devido à provável formação do complexo fármaco-CD, o que melhora a solubilidade do soluto nesta condição, reduzindo o tempo de retenção na coluna (Melo et al., 2008).

As CDs nas fases móveis foram usadas com sucesso nas separações de enantiômeros de vários compostos quirais, incluindo barbitúricos, mefenitoína, ácido mandélico e seus derivados, fenilalanina, talidomida e pseudoefedrina (Bosch et al., 2008; Li & Purdy, 1992).

De acordo com o tempo de retenção do soluto e do volume de líquido presente nas linhas do sistema que transportam a fase móvel do injetor ao detector, os fatores de capacidade são calculados para cada fármaco na presença de concentrações crescentes das CDs. A presença destas leva a uma contribuição adicional no comportamento da retenção do fármaco devido ao processo do complexação (Grillo et al., 2008b).

Caracterização da formação de complexos em estado sólido

Métodos Térmicos

Os métodos térmicos são amplamente utilizados na caracterização das CDs e dos seus complexos, principalmente pela rapidez das análises. Dentre os mais utilizados, tem-se a calorimetria exploratória diferencial (DSC), que permite a detecção quantitativa de todos os processos que requerem energia (Figueiras et al., 2007b). Trata-se de uma técnica bastante utilizada na prática farmacêutica, devido a sua possibilidade de fornecimento de informações detalhadas sobre as propriedades físicas e energéticas de uma substância; é considerada como um instrumento analítico importante na caracterização de interações de fármacos e CDs no estado sólido (Araújo et al., 2009).

A formação do CI pode ser identificada nos perfis de DSC, pelo desaparecimento de picos endotérmicos ou exotérmicos e variações relevantes na entalpia do fármaco puro ou complexado (Figueiras et al., 2007a; Ribeiro et al., 2008). Esta técnica é normalmente suplementada pela espectroscopia, um método secundário que mostra, por exemplo, que a perda de um pico de fusão é devido a formação de um CI em lugar da degradação térmica ou de uma perda de cristalinidade (Miller et al., 2007).

Bouquet et al. (2007) utilizaram a técnica de DSC para identificar complexos de paclitaxel e metil- β -ciclodextrina randomizada (RM- β -CD), onde se verificou nos termogramas do complexo, o desaparecimento do pico de fusão endotérmico do fármaco, típico da possível formação de complexos. O mesmo fato foi verificado também em outros trabalhos que utilizaram esta técnica para caracterizar a formação de CI (Bettinetti et al., 2002).

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

As técnicas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) são bastante utilizadas na caracterização de sistemas sólidos com CDs, por serem determinações rápidas e precisas, ainda que a informação conseguida por este ensaio apresente limitações. A débil natureza dos fenômenos envolvidos na complexação torna os desvios e mudanças de intensidade das bandas correspondentes aos grupos químicos do fármaco ou da ciclodextrina bastante sutis, requerendo uma cuidadosa interpretação dos dados (Cunha Filho & Sá-Barreto, 2007).

A formação dos CIs na fase sólida pode ser avaliada pela comparação de espectros de infravermelho do fármaco puro e dos complexos sólidos obtidos por diferentes métodos de preparação (Spricigo et al., 2008). Para isso, são verificadas interações em nível molecular, detectando as mudanças significativas na forma e na posição das faixas de absorvância, através do espectro vibracional dos diferentes grupos funcionais das moléculas de fármacos complexados ou livres.

Dentre as técnicas utilizadas para caracterizar CI, os métodos espectroscópicos oferecem vantagens importantes nas análises, como por exemplo, não serem destrutivas, permitirem informações químicas, serem rápidos e utilizarem pequenas quantidades de material (Cannavà et

al., 2008; Aaltonen et al., 2008). Recentemente, Cupri et al. (2007) aplicaram esta técnica de FTIR para caracterizar complexos de Genisteína com β -CDs em estado sólido.

Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura é utilizada em várias áreas do conhecimento, sendo amplamente utilizada para estudar os aspectos de superfície dos materiais. O uso desta técnica vem se tornando mais frequente por fornecer informações detalhadas do estado de cristalização de produtos obtidos por diferentes técnicas de complexação ou dispersão com polímeros (Duarte et al., 2003; Ribeiro et al., 2008).

O conhecimento detalhado da microestrutura dos materiais permite o entendimento e, em muitos casos, até a previsão das suas propriedades e respostas químicas. Com a MEV, avalia-se a diminuição da cristalinidade das partículas obtidas com diversos métodos para a formação dos CIs no estado sólido, à medida que permite a visualização e diferenciação das partículas de ciclodextrina e dos cristais dos fármacos (Pralhad & Rajendrakuma, 2004).

Em geral, as partículas de CDs são globulares, medindo de 1 a 180 μm , enquanto que os fármacos apresentam-se na formas cristalinas menores, de formatos irregulares, porém com uma distribuição de tamanho de partícula mais homogênea (Ribeiro et al., 2003). Nas misturas físicas é possível distinguir as partículas dos fármacos das partículas de CDs. Porém, quando um complexo é formado, o estado cristalino resultante é diferente do obtido pela simples mistura da molécula hospede com as CDs.

Apesar dos estudos de MEV serem inadequados para confirmarem a formação de CI, as alterações drásticas na forma das partículas, bem como no seu aspecto e tamanho apontam para a existência de novas fases sólidas.

Recentemente, Soares-Sobrinho et al. (2008) verificaram que nos complexos de benznidazol com a metil- β -ciclodextrina randomizada (RM β CD) e sulfabutiril-éter- β -ciclodextrina (SBE β CD) obtidos por misturas físicas (MF), malaxagem (MLX), liofilização (LIO) e co- evaporação (ECO) apresentaram mudanças cristalinas no aspecto morfológico das partículas, tanto das CDs como do fármaco.

Propriedades de Dissolução

A solubilidade de um fármaco constitui requisito prévio à absorção e obtenção de resposta clínica, para a maioria dos medicamentos administrados por via oral. Neste contexto, a complexação de fármacos com CDs vem se mostrando uma técnica eficaz para avaliação da melhoria das propriedades de solubilidade (Rama et al., 2006).

Os efeitos da complexação sobre as propriedades de dissolução podem ser atribuídos a fatores como mudança no estado cristalino do fármaco, aumento da molhabilidade dos sólidos e da solubilidade aparente dos fármacos (Spricigo et al., 2008), justificando-se assim, a importância e necessidade dos estudos de dissolução.

Os dados de dissolução podem ser apresentados e tratados utilizando-se vários métodos de análise: perfis de dissolução, tempos de dissolução, fração de fármaco dissolvido num intervalo de tempo e eficiência

de dissolução (Rama et al., 2006), permitindo avaliar a contribuição no incremento da solubilidade do fármaco, e consequentemente sua biodisponibilidade e eficácia clínica in vivo.

Outros métodos aplicados à caracterização de complexos de inclusão

Calorimetria de Titulação isotérmica (CTI)

A titulação calorimétrica isotérmica é uma das mais importantes ferramentas utilizadas no estudo de processos de complexometria. Esta técnica utiliza como fundamento a medida direta do fluxo de calor envolvido em uma reação, geralmente resultante da quebra e formação de interações intermoleculares. Ela pode estimar parâmetros termodinâmicos do processo de complexação, como mudanças ΔG , ΔH e ΔS , determinando a estequiometria de ligação da interação entre duas ou mais moléculas em solução e a constante de formação de CI (Sousa et al., 2008).

Espectroscopia de Raman

A espectroscopia de Raman, durante as duas últimas décadas, tem sido uma ferramenta de pesquisa bastante usada na área farmacêutica. Embora haja uma abundância das publicações recentes que tratam das aplicações deste tipo de espectroscopia, o número de estudos quantitativos é ainda limitado. Diversos trabalhos demonstram o número de vantagens da técnica de Raman sobre a de infravermelho, principalmente por não haver interferência da água nos espectros. Mas também apresenta algumas desvantagens, como o alto custo de equipamento e a complexidade dos lasers e dos sistemas de detectores (Aaltonen et al., 2008).

A técnica de Raman é uma espectroscopia molecular vibracional que deriva de um processo de espalhamento de luz. É principalmente aplicada para vibrações simétricas, grupos não polares e bandas homoatômicas, tais como S=S, S-S, N=N, C=C e O=O, enquanto que a espectroscopia de infravermelho é aplicada para vibrações assimétricas, grupos polares e bandas heteroatômicas, como C=O, O-H e H-Cl. Portanto, estes dois tipos de espectroscopia são complementares para caracterizar a formação de CIs (Lu et al., 2009).

Diante do exposto, foi possível observar a vasta utilização de CDs na obtenção de CIs com diferentes fármacos de baixa solubilidade, assim como vários métodos de caracterização estão sendo estudados, possibilitando uma melhor compreensão e controle desses. Portanto, através desta revisão mostrou-se as diversas ferramentas analíticas existentes na atualidade para a identificação de variações nas propriedades físico-químicas das moléculas hospedes nos CI, que vão desde técnicas simples de estudo de solubilidade até técnicas espectroscópicas mais complexas, fornecendo informações sobre o comportamento químico dos complexos, nos estados líquido e sólido, como também associados a sistemas multicomponentes.

ABSTRACT

Analytical tools applied to the characterization of drug - cyclodextrin inclusion complexes

Cyclodextrins (CDs) are widely used in pharmaceutical product development, on account of their complex-forming properties, mainly to increase the solubility of poorly soluble molecules. The lipophilic environment in the cavity of CDs provides favorable conditions for the formation of inclusion complexes (ICs) with hydrophobic compounds. Variations in the physicochemical properties of the guest molecules are identified by analytical methods that allow the formation of the complexes to be detected. This article is a discussion of the main methods used in the characterization of ICs, based on a review of the literature. There are many techniques available to characterize the CD-containing ICs, in the liquid and solid states, such as visible and ultraviolet absorption, fluorescence and nuclear magnetic resonance spectroscopy, high performance liquid chromatography, X-ray crystallography, thermal analysis, Fourier-transform infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, Raman spectroscopy, isothermal titration calorimetry and dissolution tests.

Keywords: Spectroscopy. Inclusion complex. Cyclodextrins. Analytical methods.

REFERÊNCIAS

- Aaltonen J, Gordon KC, Strachan CJ, Rades T. Perspectives in the use of spectroscopy to characterize pharmaceutical solids. *Int J Pharm.* 2008;34:159-69.
- Araújo MVG, Macedo FLO, Nascimento CC, Conegero LS, Barreto LS, Almeida LE, Costa NB JR, Gimenez LF. Characterization, phase solubility and molecular modeling of β -cyclodextrin/pyrimethamine inclusion complex. *Spectrochim Acta* 2009;72:165-70.
- Bettinetti GP, Sorrenti M, Rossi S, Ferrari F, Mura P, Faucci MT. Assessment of solid-state interactions of naproxen with amorphous cyclodextrin derivatives by DSC. *J Pharm Biomed Anal.* 2002;30:1173-9.
- Bosch ME, Sanchez AJR, Rojas FS, Ojeda CB Recent advances in analytical determination of thalidomide and its metabolites. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;46(1):9-17.
- Bouquet WI, Ceelen W, Fritzing B, Pattyn P, Peeters M, Remon JP, Vervaet C. Paclitaxel/ β -cyclodextrin complexes for hyperthermic peritoneal perfusion – Formulation and stability. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007;66:391-7.
- Britto MAFO, Nascimento-JR CS, Santos HF. Análise Estrutural de Ciclodextrinas: Um Estudo Comparativo entre Métodos Teóricos Clássicos e Quânticos. *Quim Nova* 2004; 27(6):882-8.
- Budal RM. Estudos de formação de complexos de inclusão em ciclodextrinas. [Dissertação] Florianópolis: Faculdade de química, UFSC; 2003.
- Cannavà C, Crupi V, Ficarra P, Guardo M, Majolino D, Stancanelli R, Venuti V. Physicochemical characterization of coumestrol/ β -cyclodextrins inclusion complexes by UV-vis and FTIR-ATR spectroscopies. *Vib Spectrosc.* 2008;48:172-8.
- Challa R, Ahuja A, Ali J, Kharl, RK. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review, *AAPS Pharm Sci Tech.* 2005;6:329-57.
- Crupi V, Ficarra R, Guardo M, Majolino D, Stancanelli R, Venuti V. UV-vis and FTIR-ATR spectroscopic techniques to study the inclusion complexes of genistein with β -cyclodextrins. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;44:110-7.
- Cunha Filho MSS, Sá Barreto LCL. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2007;28 (1):1-9.
- Duarte LC, Juchem PL, Pulz G M, Brum TMM, Chodur N, Liccardo A, Fischer AC, Acauan RB. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no Estudo de Gemas: exemplos brasileiros. *Pesqui Geociênc.* 2003;30(2):3-15.
- Figueiras A, Carvalho RA, Ribeiro L, Torres-Labandeira JJ, Veiga FJB. Solid-state characterization and dissolution profiles of the inclusion complexes of omeprazole with native and chemically modified β -cyclodextrin. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007a;67:531-9.
- Figueiras A, Sarraguça JMG, Carvalho RA, Pais AACC, Veiga FJB. Interaction of omeprazole with a methylated derivative of β -cyclodextrin: phase solubility, NMR spectroscopy and molecular simulation, *Pharm Res.* 2007b;24(2):377-89.
- Fraceto LF, Gonçalves MM, Moraes CM, Araújo DR, Zanella L, Paula E, Pertinhez TA. Caracterização do complexo de inclusão ropivacaína: β -ciclodextrina. *Quim Nova* 2007;30(5):1203-7.
- Franco C, Schwingel L, Lula I, Sinisterra RD, Koester LS, Bassani VL. Studies on coumestrol/ β -cyclodextrin association: Inclusion complex Characterization. *Int J Pharm.* 2009;369:5-11.
- Górnas P, Neunert GZ, Ski KB, Polewski K. Beta-cyclodextrin complexes with chlorogenic and caffeic acids from coffee brew: Spectroscopic, thermodynamic and molecular modelling study. *Food Chem.* 2009;114:190-6.
- Grillo R, Melo NFS, Moraes CM, Lima R, Menezes CMS, Ferreira EI, Rosa AH, Fraceto LF. Study of the interaction between hydroxymethylnitrofurazone and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *J Pharm Biomed Anal.* 2008a;47:295-302.
- Grillo R, Melo NFS, Fraceto LF, Brito CL, Trossini GHG, Menezes CMS, Ferreira EI, Moraes CM. Caracterização físico-química de complexo de inclusão entre hidroximetilnitrofurazona e hidroxipropil- β -ciclodextrina. *Quim Nova* 2008b;31(2): 290-5.

- Guedes FL, Alves GMC, Santos FLA, Lima LF, Rolim LA, Rolim Neto PJ. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. *Rev Bras Farm.* 2008;89(3):220-5.
- Higuchi T, Connors KA. Phase-solubility techniques. In: Reilly CN. editor. *Advances in analytical chemistry and instrumentation.* New York, NY: Wiley-Interscience; 1965. p.117-212.
- Jun SW, Min S, Kim MS, Kim JS, Park HJ, Lee S, Woo JS, Hwang JS. Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007;66:413–21.
- Leal AAX, Henriques CA, Luna AS. Validação e estimativa da incerteza do método de determinação de fósforo por Espectrofotometria Uv-Vis. *Rev Anal.* 2008;32:28-34.
- Li S, Purdy WC. Cyclohextrins and Their Applications in Analytical Chemistry. *Chem Rev.* 1992;92:1457-70.
- Lima AN, Sobrinho JLS, Corrêa JR RAC, Rolim Neto PJ. Alternative Technologies to Improve Solubility of Poorly Water Soluble Drugs. *Lat Am J Pharm.* 2008;27(5):789-97.
- Lu Y, Zhang X, Lai J, Yin Z, Wu W. Physical characterization of meloxicam- β -cyclodextrin inclusion complex pellets prepared by a fluid-bed coating method. *Particuology* 2009;7:1–8.
- Marcelo G, Francisco R, Gonzalés-Álvarez MJ, Mendicuti F. Fluorescence properties of (R)- and (S)-[1,1-binaphthalene]-2,2-diols solutions and their complexes with cyclodextrins in aqueous medium. *J Photochem Photobiol A Chem.* 2008;200:114–25.
- Melo FSN, Grillo R, Rosa AH. Interaction between nitroheterocyclic compounds with β - cyclodextrins: Phase solubility and HPLC studies. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;47: 865-9.
- Miller LA, Carrier RL, Ahmed I. Practical Considerations in Development of Solid Dosage Forms that Contain Cyclodextrin. *J Pharm Sci.* 2007;96:1691-707.
- Misiuk W, Zalewska M. Investigation of inclusion complex of trazodone hydrochloride with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *Carbohydr Polym.* 2009;77(3):482-8.
- Patel RP, Patel DJ, Bhimani DB, Patel JK. Physicochemical Characterization and Dissolution Study of Solid Dispersions of Furosemide with Polyethylene Glycol 6000 and Polyvinylpyrrolidone K30. *Dissolut Technol.* 2008;17-25.
- Pralhad T, Rajendrakuma K. Study of freeze-dried quercetin-cycloextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffractions and SEM analysis. *J Pharm Biomed Anal.* 2004;34: 333-9.
- Rama ACR, Veiga F, Figueiredo IV, Sousa A, Caramona M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. *Rev Bras Cienc Farm.* 2006;42(1):59-68.
- Ribeiro A, Figueiras A, Santos D, Veiga F. Preparation and Solid-State Characterization of Inclusion Complexes Formed Between Miconazole and Methyl- β -Cyclodextrin. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2008;9(4):1102-9.
- Ribeiro L, Loftsson T, Ferreira D, Veiga F. Investigation and physicochemical characterization of vinpocetine-sulfobutyl ether β - cyclodextrin binary and ternary complexes. *Chem Pharm Bull.* 2003;51:914-22.
- Rocha FRP, Teixeira LSG. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. *Quím Nova* 2004;27(5):807-12.
- Rossi B, Verrocchio P, Viliani G, Scarduelli G, Guella G, Mancini I. Vibrational properties of inclusion complex: the case of indomethacin-cyclodextrin. *J Chem Phys.* 2006;125(4):1-8.
- Sá-Barreto LCL, Cunha-Filho MSS. Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional. *Lat Am J Pharm.* 2008;27(4):629-36.
- Shafi AAA, Shihry SS. Fluorescence enhancement of 1-naphthol-5-sulfonate by forming inclusion complex with β -cyclodextrin in aqueous solution. *Spectrochim Acta* 2009;72: 533–7.
- Sousa FB, Denadai AML, Lula IS, Lopes JFH, Elio FSHF, Almeida WB, Sinisterra RB. Supramolecular complex of fluoxetine with β - cyclodextrin: An experimental and theoretical study. *Int J Pharm.* 2008;353:160–9.
- Soares-Sobrinho JL, Cunha-Filho MSS, Rolim-Neto PJ, Torres-Labandeira JJ, Dacunha-Marinho B. Benznidazole. *Acta Crystallogr.* 2008;64:634.
- Spamer E, Muller DG, Wessels PL, Venter JP. Characterization of the complexes of furosemide with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and sulfobutyl ether-7- β -cyclodextrin. *Eur J Pharm Biopharm.* 2002;16:247–53.
- Spricigo R, Botelho KCA, Consiglieri VO, Serra CHR. Obtenção e Avaliação de Complexos de Inclusão de Furosemida com β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina: Efeitos sobre as Propriedades de Dissolução do Fármaco. *Lat Am J Pharm.* 2008;27(5):645-53.
- Stella VJ, Rajewski RA. Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. *Pharm Res.* 1997;14:556-67.
- Uekama K, Hirayama F, Irie T. Cyclodextrin Drug Carrier Systems. *Chem Rev.* 1998; 98:2045-76.
- Valle EMM. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem.* 2004;39:1033–46.
- Veiga FJB, Pecorelli CCMF, Ribeiro SSL. As ciclodextrinas em tecnologia farmacêutica. Coimbra: Editora Minerva Coimbra; 2006. p.140-3.

Venturine CG, Nicoline J, Machado C, Machado VG. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. *Quim Nova* 2008;31(2):360-8.

Vueba ML, Pina ME, Veiga F, Sousa JJ, Batista CLAE. Conformational study of ketoprofen by combined DFT calculations and Raman spectroscopy. *Int J Pharm.* 2006; 307:56–65.

Zhang M, Li J, Zhang L, Chao J. Preparation and spectral investigation of inclusion complex of caffeic acid with hydroxypropyl-cyclodextrin. *Spectrochim Acta* 2009;71: 1891–5.