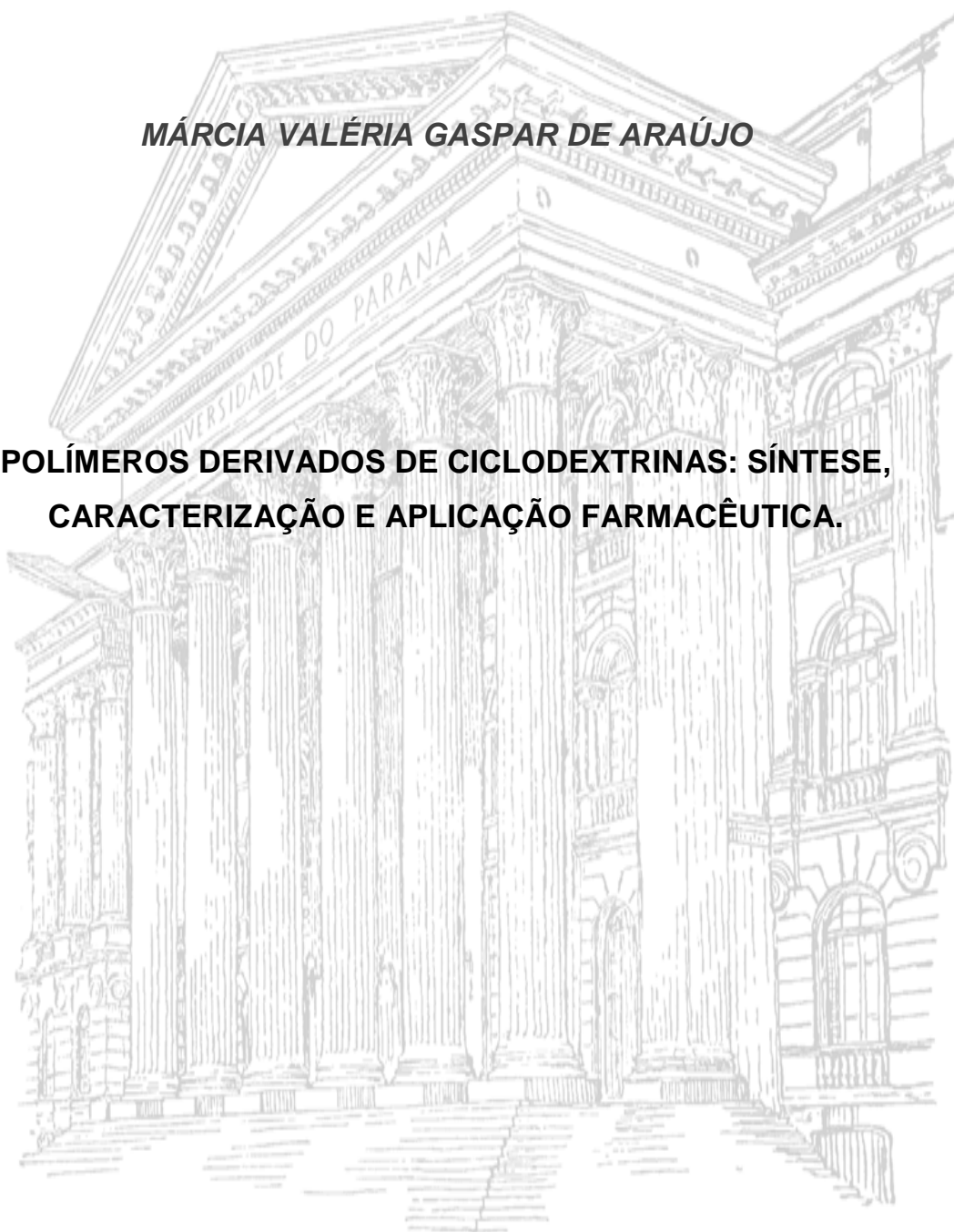


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MÁRCIA VALÉRIA GASPAR DE ARAÚJO

**POLÍMEROS DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS: SÍNTESE,
CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO FARMACÊUTICA.**



CURITIBA

2011

MÁRCIA VALÉRIA GASPAR DE ARAÚJO

**POLÍMEROS DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS: SÍNTESE,
CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO FARMACÊUTICA.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sônia Faria Zawadzki
Co-orientador: Prof. Dr. Ronilson Vasconcelos Barbosa**

CURITIBA

2011

AGRADECIMENTOS

Considerando que esta tese é resultado do apoio de muitas pessoas, agradecer não é uma tarefa fácil. Agradeço especialmente:

À DEUS pela fidelidade, por me dar a chance de realizar mais este objetivo e por todos os momentos em que, mesmo quando eu não percebia, Ele cuidava de mim.

Aos meus pais e ao meu irmão que sempre me apoiaram em tudo nessa jornada, com orações e palavras de incentivo, que foram importantes para que eu pudesse alcançar esta meta.

Ao meu tio querido Genaro Dantas da Silva (*in memoriam*), meu maior incentivador em minha carreira acadêmica, deixando um espaço em minha vida que ninguém poderá ocupar.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Sônia Faria Zawadzki pela paciência, pela orientação e pelo incentivo que tornaram possível a conclusão deste trabalho. Ao carinho e atenção que recebi todas as vezes que recorri a ela quando não sabia o que fazer, ela sempre foi a primeira pessoa a quem recorri e sempre pude contar com seu apoio.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Ronilson Vasconcelos Barbosa, que sempre esteve disposto a cooperar neste trabalho, oferecendo sempre amizade e conhecimento.

Aos professores que participaram das bancas de qualificação e defesa: Prof. Dr. Brás Heleno de Oliveira, Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Riegel, Prof. Dr. Andersson Barison, Prof^a. Dr^a. Bluma Gunther Soares, Prof^a. Dr^a. Hellen Karine Stulzer e Prof. Dr. Francisco de Assis Marques por aceitarem participar deste trabalho com sugestões que, com certeza, enriqueceram e vão enriquecer muito este trabalho.

Ao João Victor (Johnny), pela ajuda imprescindível na parte experimental deste trabalho. Por fazer de tudo para que esse trabalho se tornasse o melhor possível. Acredito que o potencial deste grande amigo fará com que tenha uma carreira de grande realizações.

Ao Prof. Dr. Paulo Vitor e à sua aluna Fernanda. Primeiramente pelos estudos de dissolução. Entretanto, o mais importante foi conhecer o Paulo e poder chamá-lo de amigo.

Ao Prof. Dr. Anderson e à sua aluna Carol, a quem considero amiga, pelos estudos de ressonância, pela atenção e paciência que sempre me ofereceram.

Ao Prof. Dr. Nivan e seu aluno George Ricardo por contribuição na modelagem. Agradeço a atenção que sempre me deram, em todos os momentos.

Aos docentes e funcionários do departamento de Química da UFPR.

Aos Professores da Universidade Federal de Sergipe, Iara e Nivan, pois graças ao apoio desses amigos eu ingressei nessa jornada da pós-graduação.

À Tatiana Kubota pela paciência e amizade, agradeço também à sua família que me acolheu com carinho, sempre que tivemos a oportunidade de estar juntos.

Às minhas amigas de sempre da UFS: Luzimar, Ângela, Neila, Marta, Rose e Flora. Aos meus amigos e "chefes" Inácio, Abel, Prof^a Teresa, Lucielma e Maíse por me permitirem realizar esse objetivo.

Aos colegas do Laboratório pela amizade, ensinamentos, confiança e várias risadas ao longo desses quatro anos de convivência: Reinaldo, Carol, Tiago Pedroso, Heveline, Patrícia, Juliana, Josiane, Paulo, Victor Hugo, Grece, Simone, Thiago, Carlos, Cláudio, Ângelo, George, Aline, Agne, Marcel, Ana Paula, Michel e Elisa.

Enfim, agradeço a todos que estiveram comigo neste doutorado e também participaram para que este trabalho fosse concluído.

RESUMO

As ciclodextrinas (CD's) são oligossacarídeos cíclicos com uma cavidade hidrofóbica que permite a formação de complexos de inclusão. A síntese de novos derivados das CD's, especialmente polímeros, tem produzido sistemas que apresentam características únicas no sistema de transporte e liberação de fármaco. Neste estudo foram sintetizados polímeros com base em ciclodextrinas (beta-ciclodextrina - BCD ou hidroxipropil-beta-ciclodextrina - HPBCD) e complexos de inclusão com base nos polímeros preparados ou nas ciclodextrinas puras e nifedipina (NIF), um fármaco usado em doenças cardíacas e que possui baixa solubilidade aquosa. Foram feitos testes de encapsulação e de liberação da nifedipina. Para esta proposta, foram desenvolvidos 3 sistemas: sistema 1: poliuretanos baseados em ciclodextrinas; sistema 2: polímeros acrílicos baseados em ciclodextrinas e sistema 3: ciclodextrinas puras. Para o sistema 1, duas séries de poliuretanos foram preparadas: uma à base de BCD ou HPBCD e TDI; e outra à base de ciclodextrinas (BCD ou HPBCD), polietilenoglicol (PEG 400 ou 1500 ou 4000) e TDI. Todos os uretanos foram preparados por polimerização em solução usando dimetil formamida (DMF). As análises por IVTF mostraram atribuições relativas à ligação uretano. A análise por ATG mostrou eventos de perda de massa os quais foram atribuídos à clivagem da ligação uretânica e a avaliação por difração de raios-X mostrou que os padrões de difração mudaram e estes resultados são indicativos de que ocorreram reações de reticulação nos polímeros. Para o sistema 2, polímeros acrílicos à base de ciclodextrina: a reação foi conduzida entre a BCD e o anidrido metacrílico em piridina. O monômero obtido foi copolimerizado com metacrilato de metila, em tolueno e peróxido de benzoíla como iniciador. O monômero acrílico de BCD (MBCD) foi caracterizado por técnicas espectroscópicas de IVTF e RMN H^1 . O copolímero mostrou um comportamento diferente com relação à solubilidade e a análise termogravimétrica, descrita pela degradação do copolímero MBCD-co-MMA, mostrou uma boa estabilidade térmica para este copolímero (abaixo de 250°C) com um perfil diferente do monômero MBCD, o qual indicou o início da degradação numa temperatura mais elevada. A avaliação por difração de raios-X revelou que a cristalinidade da BCD foi afetada pela reação de esterificação e que este perfil foi mantido após a copolimerização. No sistema 3, ciclodextrinas puras foram usadas para investigar a encapsulação da nifedipina nas cavidades da BCD ou da HPBCD. O estudo de diagrama de fases mostrou que os complexos obtidos foram mais solúveis do que a nifedipina pura, cuja concentração foi determinada por UV-VIS (at 232 nm). A caracterização por DRX revelou que a inclusão da nifedipina nas matrizes (BCD ou HPBCD) não alterou o perfil de difração das matrizes hospedeiras. As análises dos dois complexos por DSC mostraram perfis térmicos diferenciados quando comparado às misturas físicas: não foi observada a fusão do fármaco, o que sugere encapsulação molecular. Os estudos de RMN H^1 e a modelagem molecular indicaram que a inclusão ocorreu com o anel não aromático da nifedipina inserido na cavidade das ciclodextrinas. Os polímeros do sistema 1, o acrílico do sistema 2 e as ciclodextrinas puras foram empregadas no estudo da capacidade de encapsulação usando uma solução hidroalcolólica de fenolftaleína (FF). Os resultados indicaram que todos os polímeros com ciclodextrinas promoveram a redução da absorvância da solução de FF, indicando que as CDs mantêm a capacidade de inclusão, mesmo inserida nos polímeros uretânico ou acrílico. Os polímeros que mostraram os melhores resultados (uretânicos PU/TDI/BCD e PU/TDI/BCD/P4000, e o acrílico MBCD-co-MMA) foram usados para a reação de complexação com o fármaco nifedipina e o estudo de dissolução foi realizado. Foi observado que os complexos de inclusão melhoraram a taxa de liberação da nifedipina. A inclusão provocou uma liberação sustentada, em contraste com a mistura física ou com o fármaco puro. Estes resultados mostram que há um uso potencial para os complexos desenvolvidos neste trabalho considerando o emprego de formulações sólidas associado a uma liberação sustentada da nifedipina.

ABSTRACT

The cyclodextrin (CD's) are cyclic oligosaccharides which contain a hydrophobic internal cavity allowing the formation of inclusion complexes. The synthesis of new derivatives of CD's, especially polymers has produced systems exhibit unique characteristics in terms of drug release characteristics. In this study, they were synthesized polymers based on cyclodextrins (beta-cyclodextrin - BCD or hydroxypropyl-beta-cyclodextrin - HPBCD) and inclusion complexes based on the prepared polymers or the pure cyclodextrins and nifedipine (NIF), a drug used in heart diseases and it is slightly water soluble. They were done tests of encapsulation and release of nifedipine. For this proposal three systems were studied: (a) system 1 - polyurethanes derived from cyclodextrins; (a) system 2 - acrylic polymers derived from cyclodextrins; and (c) system 3-pure cyclodextrins. For the system 1, two urethane polymer series were prepared: the first one was based on BCD or HPCD and TDI; and the other was obtained from cyclodextrins and polyethylene glycol (PEG 400 or 1500 or 4000) and TDI. All the urethane polymers were prepared through the solution polymerization using dimethylformamide. The analysis by FTIR showed attributions that confirmed the urethane links. TGA analysis showed weight loss events that were attributed to the cleavage of the urethane bonds. The evaluation by XRD showed that the diffraction profiles changed, and these results are indicative of crosslinking processes. For the system 2 an acrylic monomer based on cyclodextrin was done: the reaction was carried out between the BCD and the methacrylic anhydride in pyridine. The monomer obtained was copolymerized with methyl methacrylate in toluene and benzoyl peroxide as initiator. The BCD acrylic monomer (MBCD) was characterized by FTIR and ^1H NMR spectroscopic analysis and the copolymer showed a different solubility behavior. The thermogravimetric analysis, described by the degradation of the MBCD-co-MMA, showed a good thermal stability for this copolymer (below 250°C) with a different profile from MBCD that showed the beginning of degradation at a higher temperature than the copolymer. The evaluation of the XRD revealed that the crystallinity of the beta-cyclodextrin was affected by the esterification reaction and that this profile was maintained after copolymerization. In the system 3, pure cyclodextrins were used to investigate the encapsulation of the NIF in the BCD or HPCD cavities. The phase diagram study showed that the complexes obtained were more soluble than the pure drug (nifedipine) which was determined by UV-VIS (at 232nm). The characterization by XRD suggested that the inclusion of NIF in the matrices (BCD or HPCD) did not change the diffraction profile of the host molecules. The analysis of the two complexes by DSC showed a different thermal profile when compared with physical mixtures: it was not observed NIF melting peak, which suggests molecular encapsulation. The ^1H NMR studies and the molecular modeling indicated the inclusion of the non-aromatic ring of NIF in the BCD or the HPCD cavities, in the 1:1 stoichiometry. The urethanic polymers from system 1, the acrylic polymer from system 2 and the pure CD's were used to the encapsulation capacity study employing phenolphthalein (PhPh) hydroalcoholic. The results showed that all the polymers based on cyclodextrins displayed a reduction in the absorbance of the phenolphthalein solution which suggests that the CDs retain their encapsulation capacity even in the urethane or in the acrylic polymers. The polymers that showed the best results (PU/TDI/BCD and PU/TDI/BCD/P4000) and the MBCD-co-MMA copolymer were used for the complexation reaction with nifedipine and the dissolution study was done. It was observed that the cyclodextrin inclusion complexes increased the rate of NIF release. The inclusion complexes caused a sustained release of the drug, in contrast with the physical mixture or the pure drug. These results showed that there is a potential use of these complexes in solid systems for the sustained release of nifedipine.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. CICLODEXTRINAS	4
2.1.1. Estrutura e formação de complexos de inclusão	4
2.1.2. Modificações químicas das CD's	7
2.2 – POLÍMEROS DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS	8
2.2.1. Poliuretanos derivados de ciclodextrinas	10
2.2.2. Polímeros acrílicos derivados de ciclodextrinas	15
2.3. UTILIZAÇÃO DE CICLODEXTRINAS E SEUS DERIVADOS NO TRANSPORTE E LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS	18
2.3.1. Aplicação de ciclodextrinas no carreamento do fármaco nifedipina	24
3 . OBJETIVOS	26
3.1. OBJETIVO GERAL	26
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4. EXPERIMENTAL	28
4.1. MATERIAIS	29
4.2. SISTEMA 1 – POLIURETANO COM CICLODEXTRINA	29
4.2.1. Síntese dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD.	30
4.2.2. Síntese dos polímeros PU/TDI/BCD/PEG e PU/TDI/HPBCD/PEG.	30
4.2.3. Síntese dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD.	31
4.2.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)	31
4.2.3.2. Análise dos componentes principais (PCA) aplicada aos	32

espectros de IVTF do sistema 1

4.2.3.3. Análise termogravimétrica (ATG)	32
4.2.3.4. Difração de raio-X (DRX)	32
4.3. SISTEMA 2 – COPOLÍMERO ACRÍLICO DERIVADO DE CICLODEXTRINA	32
4.3.1. Síntese do monômero vinílico com ciclodextrina (MBCD)	33
4.3.2. Síntese do copolímero de MBCD com MMA (MBCD-co-MMA)	33
4.3.3. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)	33
4.3.4. Análise termogravimétrica (ATG)	34
4.3.5. Difração de raio-X (DRX)	34
4.3.6. Calorimetria exploratória diferencial (CED)	34
4.3.7. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹ H)	34
4.4. SISTEMA 3 – COMPLEXOS DE INCLUSÃO	36
4.4.1. Preparação do complexo de inclusão BCD/NIF e HPBCD/NIF	36
4.4.2. Preparação da mistura física	36
4.4.3. Diagrama de solubilidade de fases	36
4.4.4. Espectroscopia de absorção no UV-visível (UV-vis)	37
4.4.5. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)	38
4.4.6. Difração de raios-X (DRX)	38
4.4.7. Calorimetria exploratória diferencial (CED)	38
4.4.8. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹ H)	38
4.4.9. Modelagem molecular	39
4.5. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE ENCAPSULAÇÃO DAS CICLODEXTRINAS RETICULADAS NOS POLÍMEROS E NA BCD	41
4.6. APLICAÇÃO DOS COMPLEXOS E DOS POLÍMEROS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO NIFEDIPINA	42
4.6.1. Preparação dos complexos	42
4.6.2. Preparação das misturas físicas	42
4.6.3. Estudos de dissolução da nifedipina <i>in vitro</i>	42

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. SISTEMA 1 – POLIURETANO DERIVADO DE CICLODEXTRINA	44
5.1.1 Síntese dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD	44
5.1.2. Síntese dos polímeros PU/TDI/BCD/PEG e PU/TDI/HPBCD/PEG	47
5.1.3. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)	55
5.1.4. Análise das componentes principais aplicada aos espectros de IVTF	60
5.1.2. Análise das componentes principais aplicada aos espectros de IVTF	47
5.1.5. Análise termogravimétrica (ATG)	62
5.1.6. Difratometria de raio-X (DRX)	64
5.2. SISTEMA 2 – POLÍMERO ACRÍLICO DERIVADO DE CICLODEXTRINA	67
5.2.1. Síntese do monômero vinílico com ciclodextrina (MBCD) – Incluindo as reações iniciais.	67
5.2.2. Síntese do copolímero de MBCD com MMA (MBCD-co-MMA).	70
5.2.3. Infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)	71
5.2.4. Análise termogravimétrica (ATG)	73
5.2.5. Difratometria de raios-x (DRX)	74
5.2.6. Calorimetria exploratória diferencial (CED)	75
5.2.7. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹ H)	75
5.3. SISTEMA 3 – COMPLEXO DE INCLUSÃO CICLODEXTRINA/NIFEDIPINA	78
5.3.1. Diagrama de solubilidade de fases	78
5.3.2. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)	80
5.3.3 Difratometria de raios-X (DRX)	81
5.3.4. Calorimetria exploratória diferencial (CED)	83
5.3.5. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹ H)	84
5.3.6. Modelagem molecular	87
5.4. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE ENCAPSULAÇÃO DOS POLÍMEROS DOS SISTEMAS 1 e 2	94

5.5. APLICAÇÃO DOS POLÍMEROS E DOS COMPLEXOS COMO CARREADOR DO FÁRMACO NIFEDIPINA	98
5.5.1. Estudos de dissolução da nifedipina <i>in vitro</i> nos complexos HPBCD/NIF e BCD/NIF	98
5.5.2. Estudos de dissolução da nifedipina <i>in vitro</i> dos complexos polímero/NIF e das misturas físicas dos polímeros e da NIF.	99
6. CONCLUSÕES	103
6.1. SISTEMA 1 – Poliuretanos derivados de ciclodextrina	103
6.2. SISTEMA 2 – Polímeros acrílicos derivados de ciclodextrinas	103
6.3. SISTEMA 3 – Complexos de inclusão BCD/NIF e HPBCD/NIF	104
6.4. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE ENCAPSULAÇÃO	104
6.5. APLICAÇÃO DOS POLÍMEROS E DOS COMPLEXOS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO NIFEDIPINA	105
7– REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representações estruturais da: molécula de α -D-glucopiranosose (a), ligações glicosídicas (b) e molécula da ciclodextrina na forma de cone truncado (c)	4
Figura 2 – Dimensões da ciclodextrinas mais importantes: gama-ciclodextrina, beta-ciclodextrina e alfa-ciclodextrina	5
Figura 3 - Representação da complexação de p-xileno em CD; os círculos representam as moléculas de água	6
Figura 4 – Localização das hidroxilas na ciclodextrina	7
Figura 5 – Classes de polímeros contendo ciclodextrinas: ciclodextrina reticulada com epícloridrina (a), Poli(alilamina) com ciclodextrina como grupo lateral.(b)	9
Figura 6 - Representação esquemática de um polímero reticulado contendo ciclodextrinas	10
Figura 7 – Reação de formação do poliuretano	11
Figura 8 - Preparação de polímeros de ciclodextrinas reticulados com diisocianato de 1,6 - hexametileno (HDI)	14
Figura 9 - Mecanismo geral da polimerização em cadeia via radical livre	16
Figura 10 – Diagrama de solubilidade de fases	20
Figura 11 - Representação do equilíbrio da formação do complexo de inclusão	21
Figura 12 - Representação esquemática da absorção sistêmica do fármaco a partir do complexo na presença dos agentes competidores.	23
Figura 13 – Estrutura da nifedipina	24
Figura 14- Espectro no infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 1.	45
Figura 15 - Espectro no infravermelho (IVTF) amostra obtida na reação 2.	45
Figura 16 - Espectro no infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 3.	45

Figura 17 - Espectro no infravermelho (IVTF) dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD: na região de 4000 - 400 cm^{-1} (a) na região de 1800 - 400 cm^{-1} (b).	47
Figura 18 - Representação da reação para a preparação do PU derivado de CD's	48
Figura 19 - Espectro no infravermelho (IVTF) do pré-polímero.	48
Figura 20 - Espectro no infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 4.	49
Figura 21 - Espectro no infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 5.	50
Figura 22 - Espectros na região do infravermelho (IVTF) da BCD(a) e da HPBCD(b).	56
Figura 23 - Espectros na região do infravermelho dos PEG's de massa molar 400, 1500 e 4000.	58
Figura 24 - Espectros na região do infravermelho (IVTF) dos polímeros uretânicos do sistema	59
Figura 25 - Coordenadas fatoriais PC3 vs. PC1 da região no infravermelho entre 2000 e 1000 cm^{-1}	61
Figura 26 - Curvas de TG dos polímeros uretânicos derivados da beta-ciclodextrina.	63
Figura 27 - Curvas de TG dos polímeros uretânicos derivados da hidroxipropil-beta-ciclodextrina.	63
Figura 28 - Difractogramas da BCD (a), PU/TDI/BCD (b), PU/TDI/BCD/PEG400 (c), PU/TDI/BCD/PEG1500 (d) e PU/TDI/BCD/PEG4000 (e).	65
Figura 29 - Difractogramas da HPBCD (a), PU/TDI/HPBCD (b), PU/TDI/HPBCD/PEG400 (c), PU/TDI/HPBCD/PEG1500 (d) e PU/TDI/HPBCD/PEG4000 (e).	66
Figura 30 - Mecanismo geral da reação de esterificação partindo de um ácido carboxílico (adaptado de Solomons et al., 2001).	68
Figura 31 - Mecanismo geral da reação de esterificação partindo de um anidrido em meio de piridina	69
Figura 32 - Representação da reação de obtenção do monômero MBCD.	70
Figura 33 - Representação da reação de obtenção do copolímero MMA-co-MBCD.	71
Figura 34 - Espectros na região do infravermelho (IVTF) da BCD (a) e do MBCD (b) e do polímero MBCD-co-MMA (c).	72

Figura 35 – Curvas de TG da BCD, do MBCD, do polímero MBCD-co-MMA e do polímero de controle PMMA.	73
Figura 36 – Difratoogramas de raio-x BCD (a), MBCD (b) e do copolímero MBCD-co-MMA (c).	74
Figura 37 – Espectro de ¹ H-RMN (400 MHz) da BCD em DMSO-d ₆ obtido neste trabalho.	76
Figura 38 - Espectro de ¹ H-RMN (400 MHz) da BCD em DMSO-d ₆ relatado na literatura (Schneider, 1998).	76
Figura 39 – Espectro de ¹ H-RMN da beta-ciclodextrina (BCD) e do monômero MBCD.	77
Figura 40 – Diagramas de solubilidade de fases da NIF em solução aquosa em função do aumento na concentração da HPBCD (a) e da BCD (b) (T = 25 °C). Medidas efetuadas por UV-VIS (226 nm, T= 25°).	79
Figura 41 – Espectros na região do infravermelho: NIF (a), HPBCD (b), mistura física HPBCD e NIF (c), complexo de inclusão HPBCD-NIF(d), BCD (e), mistura física BCD e NIF (f) e complexo de inclusão BCD-NIF(g).	81
Figura 42 – Difratoogramas de raios-X: NIF (a), HPBCD (b) mistura física HPBCD e NIF (c), complexo de inclusão HPBCD-NIF(d), BCD (e) mistura física BCD e NIF (f), complexo de inclusão BCD-NIF(g).	82
Figura 43 – Curvas de calorimetria exploratória diferencial NIF (a), HPBCD (b), mistura física HPBCD e NIF (c), complexo de inclusão HPBCD/NIF(d) BCD (e), mistura física BCD e NIF (f) e complexo de inclusão BCD/NIF(g).	83
Figura 44 – Comparação entre os espectros de RMN de ¹ H: da NIF e da mistura física (MF) HPBCD e NIF (a), da NIF e do complexo (CI) HPBCD/NIF (b), da NIF e da mistura física (MF) BCD e NIF (c), da NIF e do complexo (CI) BCD/NIF (d) mostrando as variações nos deslocamentos químicos e alargamento dos sinais.	85
Figura 45 – Experimento de STD dos complexos de inclusão em HPBCD/NIF (a) e BCD/NIF (b) mostrando transferência de saturação para a metilas em 2,27 ppm.	86
Figura 46 – Espectro de ressonância de H ¹ da nifedipina	87
Figura 47 – Proposta para a formação do complexo ciclodextrina/nifedipina a partir dos dados de ressonância magnética nuclear de hidrogênio.	87
Figura 48 - Complexos HPBCD(-C2 and -C6)/NIF (NH-in and NH-out) pelo método AM1 calculado em vácuo: vista lateral (A, C, E, G, I e K) e vista frontal (B, D, F, H, J and L).	91
Figura 49 - Estrutura de menor energia (PM6, vácuo) para o complexo HPBCD/NIF (NH-in), vistas lateral e frontal.	93
Figura 50 - Estrutura de menor energia (PM6, vácuo) para o complexo BCD/NIF (NH-in), vistas lateral e frontal.	93
Figura 51 - Absorbâncias das soluções de fenolftaleína em 552 nm, após contato com amostras de massas crescentes dos polímeros uretânicos derivados de BCD e do polímero PUPEG (controle).	96

Figura 52 - Absorbâncias das soluções de fenolftaleína em 552 nm, após contato com amostras de massas crescentes dos polímeros uretânicos derivados de HPBCD e do polímero PUPEG (controle).	96
Figura 53 - Absorbâncias das soluções de fenolftaleína em 552 nm, após contato com amostras de massas crescentes copolímero MBCD-co-MMA e do polímero PMMA (controle).	96
Figura 54 - Absorbâncias das soluções de fenolftaleína em 552 nm, após contato com amostras de massas crescentes da BCD e da HPBCD.	97
Figura 55 - Perfis de liberação da NIF e dos complexos de inclusão HPBCD/NIF e BCD/NIF em tampão fosfato pH 6,8	99
Figura 56 - Perfis de liberação da NIF, mistura física do polímero PU/TDI/BCD e da NIF e do complexo PU/BCD/TDI/NIF em tampão fosfato pH 6,8	100
Figura 57 - Perfis de liberação da NIF, mistura física do polímero PU/TDI/BCD/P4000 e da NIF e do complexo PU/BCD/TDI/P4000/NIF em tampão fosfato pH 6,8.	101
Figura 58 - Perfis de liberação da NIF, mistura física do polímero PU/TDI/BCD/P4000 e da NIF e do complexo PU/BCD/TDI/P4000/NIF em tampão fosfato pH 6,8.	101

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Resumo das reações de sínteses dos polímeros derivados de ciclodextrinas.	31
Tabela II: Rendimento dos polímeros do sistema com a BCD	51
Tabela III: Rendimento dos polímeros do sistema com a HPBCD	51
Tabela IV: Quadro resumo das reações de síntese dos Pu's derivados de ciclodextrinas	52
Tabela V: Polímeros derivados de ciclodextrinas com ligações uretânicas obtidos com êxito.	54
Tabela VI: Bandas características de poliuretanos no espectro de IVTF	55
Tabela VII: Bandas características das ciclodextrinas no espectro de IVTF	57
Tabela VIII: Bandas características de ligações uretânicas nos polímeros obtidos	59
Tabela IX: Faixa de temperatura das etapas de decomposição visualizadas na análise termogravimétrica.	64
Tabela X - Atribuições (ppm) do espectro de ¹ H-RMN dos prótons da beta-ciclodextrina em DMSO-d ₆ .	77
Tabela XI: Entalpias de formação (ΔH_f) destes complexos obtidas a partir dos métodos semi-empíricos AM1, PM3, PM6 e RM1 no meio aquoso e no vácuo.	89
Table XII: Energia livre (ΔG) (kcal.mol ⁻¹) dos complexos de inclusão HPBCD/BCD com NIF – temperatura 25°C	90
Tabela XIII - Valores de absorbância de massas crescentes de polímeros em contato com soluções de fenoltaleína no comprimento de onda 552 nm.	95

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AM	Anidrido metacrílico
ATG	Análise Termogravimétrica
BCD	Beta-ciclodextrina
C-2	Carbono 2 da unidade de D-glucose
C-3	Carbono 3 da unidade de D-glucose
C-5	Carbono 5 da unidade de D-glucose
C-6	Carbono 6 da unidade de D-glucose
CD	Ciclodextrina
CD's	Ciclodextrinas
CED	Calorimetria exploratória diferencial
DMF	Dimetil formamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
DRX	Difratometria de Raio X
DTG	Derivada da curva de ATG
FF	Fenoltaleína
HPBCD	2-Hidroxiopropil beta-ciclodextrina
HPBCD-NIF	Complexo de inclusão formado pela 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrina e a nifedipina
IVTF	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
MBCD	Monômero sintetizado com BCD e anidrido metacrílico
MBCD-co-MMA	Copolímero sintetizado com os monômeros MBCD e MMA
MDI	Mistura de isômeros (Diisocianato de 4,4' difenilmetano, diisocianato de 2,4 difenilmetano ou diisocianato de 2,2' difenilmetano)
MMA	Metacrilato de metila
PEG	Poli etilenoglicol
PU	Poliuretano
PU/TDI/BCD	Polímero sintetizado com BCD e TDI

PU/TDI/BCD/NIF	Complexo de inclusão formado pelo polímero PU/TDI/BCD e a nifedipina
PU/TDI/BCD/PEG1500	Polímero sintetizado com PEG 1500, BCD e TDI
PU/TDI/BCD/PEG400	Polímero sintetizado com PEG 400, BCD e TDI
PU/TDI/BCD/PEG4000	Polímero sintetizado com PEG 4000, BCD e TDI
PU/TDI/HPBCD	Polímero sintetizado com HPBCD e TDI
PU/TDI/HPBCD/PEG1500	Polímero sintetizado com PEG 1500, HPBCD e TDI
PU/TDI/HPBCD/PEG400	Polímero sintetizado com PEG 400, HPBCD e TDI
PU/TDI/HPBCD/PEG4000	Polímero sintetizado com PEG 4000, HPBCD e TDI
PU's	Poliuretanos
TDI	Diisocianato de 2,4 tolileno, diisocianato de 2,6 tolileno
α CD)	Alfa ciclodextrina
(β CD)	Beta ciclodextrina
(γ Cd)	Gama ciclodextrina

1. INTRODUÇÃO

A química supramolecular foi definida com muita clareza por Jean-Marie Lehn, Prêmio Nobel em 1997 e um dos criadores desta área, ao estabelecer que: “é a química da ligação intermolecular, relacionando-se à estrutura e função das entidades formadas pela associação de duas ou mais espécies químicas”. A abordagem deste tema está centrada na associação entre espécies moleculares, visando à obtenção de uma determinada propriedade ou funcionalidade. Nesse sentido, estruturas supramoleculares têm sido projetadas com objetivos específicos, tais como automontagem, reconhecimento molecular e transporte de ativos (DU *et al.*, 2011; PING *et al.*, 2011; MA *et al.*, 2010; LEHN, 1995).

A característica fundamental da química supramolecular é sua extrema interdisciplinaridade, estando na fronteira entre a química, a física e a biologia. Portanto, a sua influência se estende à química orgânica (síntese e caracterização de novas moléculas), à bioquímica e à síntese de materiais poliméricos (plástico, gel, filme, etc) (LI *et al.*, 2012; CONN & REBEK, 1997; LEHN, 1995). O princípio que rege a esta ciência é o da complementaridade: para que haja a formação do complexo, o hospedeiro (host) deve possuir sítios de interação que possibilitem cooperativamente o contato e a atração com os sítios de interação presentes no convidado (guest) sem gerar fortes repulsões não-ligantes, dentre todas as estruturas capazes de formar complexos pode-se destacar as ciclodextrinas. (ARAKI & TOMA, 2002; MONTANARI *et al.*, 1998; CRAM & CRAM, 1978).

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos formados por unidades de D-glucopiranosose unidas por ligações glicosídicas $\alpha(1,4)$, sendo obtidas pela degradação enzimática do amido. As CDs formam complexos de inclusão supramoleculares do tipo hospedeiro/hóspede (“host/guest”). A vantagem da formação desses complexos é que várias propriedades físico-químicas da molécula hóspede podem ser alteradas com a inclusão (DEL VALLE, 2004; SJEZTLI, 1998).

O estudo dos derivados de ciclodextrinas está inserido na química supramolecular devido ao tipo de interação que predomina nas estruturas com ciclodextrinas, ou seja, ligações intermoleculares. As ciclodextrinas, em seu

estado nativo, são moléculas rígidas com características limitadas, em termos de tamanho, forma e disponibilidade de grupos funcionais. Entretanto, a presença de grupos hidroxila possibilita a modificação com certa facilidade, podendo ser transformadas em uma grande variedade de derivados, aumentando consideravelmente o número de aplicações. (DAVIS & BREWSTER, 2004; KHAN, 1998).

Dentre estes derivados podem se destacar os polímeros, sendo o estudo destes derivados poliméricos envolvendo ciclodextrinas tem avançado. Contudo, os processos ainda estão sendo desenvolvidos, porque as suas aplicações são oriundas de suas propriedades, que podem ser alteradas de acordo com a escolha de reagentes, o tipo de ciclodextrina e as condições reacionais empregadas. O interesse que esses derivados despertam deve-se ao fato de que, ao incorporar unidades de ciclodextrinas nas estruturas poliméricas, consegue-se combinar características do polímero com a capacidade da ciclodextrina em formar complexos de inclusão. Estes polímeros têm sido utilizados em inúmeras aplicações, dentre estas se destaca a liberação controlada de fármacos (ZHANG *et al.*, 2011; MANAKKER, 2009; MOCANU, 2001).

A concepção atual de uma forma farmacêutica segura e eficaz também inclui, em certas circunstâncias, a necessidade de que a liberação do fármaco seja feita em alvos definidos, aumentando o efeito esperado e reduzindo efeitos secundários. A obtenção destas formas de liberação de fármacos é possível graças ao desenvolvimento de novos materiais poliméricos (YUK & BAE, 1999). A capacidade das unidades de ciclodextrina para formar complexos de inclusão não é afetada por sua fixação em estruturas poliméricas, já que, com as ciclodextrinas imobilizadas no polímero, a velocidade de liberação do fármaco depende de sua afinidade pela cavidade e, também, do coeficiente de difusão do ativo livre através da matriz. Esses polímeros podem ser utilizados para aumentar a taxa de liberação, a biodisponibilidade, e a liberação controlada de fármacos, além de promover a maior estabilidade do fármaco na presença da luz e calor em condições de oxidação. Todas essas possibilidades são extremamente importantes para fármacos com pouca solubilidade aquosa e que degradam rapidamente, dentre esses pode-se destacar a nifedipina, o fármaco escolhido neste trabalho (CHEN *et al.*, 2011; ZHOU & RITTER, 2010; MANAKKER *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2004).

A nifedipina é um antagonista do cálcio amplamente utilizado como um dilatador coronário na hipertensão. Estudos clínicos têm demonstrado que o efeito deste fármaco pode estar correlacionado com o plasma. É importante, portanto, prolongar a concentração plasmática de modo a controlar e regular os efeitos terapêuticos da nifedipina durante um período mais longo. A nifedipina é um fármaco praticamente insolúvel em meio aquoso, e sua absorção no trato gastrointestinal é limitada. Quando administrado por via oral, através de formas farmacêuticas de liberação imediata, apresenta uma absorção mínima. Com isso, estudo de novos materiais que possam fazer uma liberação mais lenta deste fármaco é imprescindível para um melhor efeito terapêutico (MANAKKER *et al*, 2009; MEHTA *et al*, 2002.; BURGER & KOLLER, 1996; BUTLER & KALLWARF, 1987; KOHRI, 1986).

A aplicação de ciclodextrinas na complexação da nifedipina tem mostrado bons resultados. Entretanto, não se verifica a utilização de polímeros com ciclodextrinas para a formulação de sistemas e transporte deste fármaco (FILIPOVIC-GRCIC *et al.*, 1996; BROWN *et al.*, 2002; CARNEIRO *et al.*, 2009). Considerando a restrita pesquisa existente neste assunto, justifica-se o estudo desses sistemas e o desenvolvimento desses materiais poliméricos no carregamento da nifedipina. Neste trabalho foram sintetizados polímeros derivados de ciclodextrinas que foram utilizados como sistema de encapsulação e posterior liberação da nifedipina.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CICLODEXTRINAS

2.1.1. Estrutura e formação de complexos de inclusão

As ciclodextrinas (CD's) são oligossacarídeos cíclicos naturais formados por unidades de D-glucopiranosose (Figura 1a) unidas por ligações glicosídicas $\alpha(1,4)$ (Figura 1b). A molécula de CD apresenta hidroxilas secundárias em C-2 e em C-3 na face mais larga ou face secundária, e, hidroxilas primárias, em C-6, na face mais estreita ou primária. Estruturalmente possuem a forma de “cones truncados” (Figura 1c) e, esta é devido à ausência de livre rotação das ligações glicosídicas e da conformação em cadeia da unidade de glucose (LOFTSSON E BREWSTER, 1996). O interior da cavidade do cone exibe um caráter hidrofóbico, devido ao alinhamento dos hidrogênios em C-3 e C-5 e à presença dos grupos éter dirigidos para o interior. As CD's mais importantes são formadas por seis (α CD), sete (β CD) ou oito (γ CD) unidades de D-glucose (Figura 2) (DAVIS & BREWSTER, 2004; RIBEIRO, 2000; SZEJTLI, 1998).

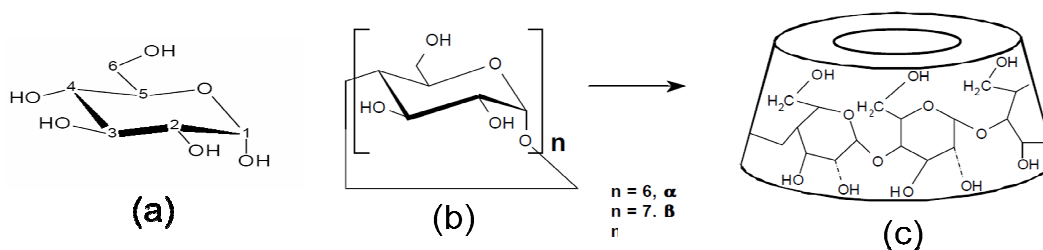


Figura 1 - Representações estruturais da: molécula de α -D-glucopiranosose (a), ligações glicosídicas (b) e molécula da ciclodextrina na forma de cone truncado (c) (ZHOU & RITTER, 2010).

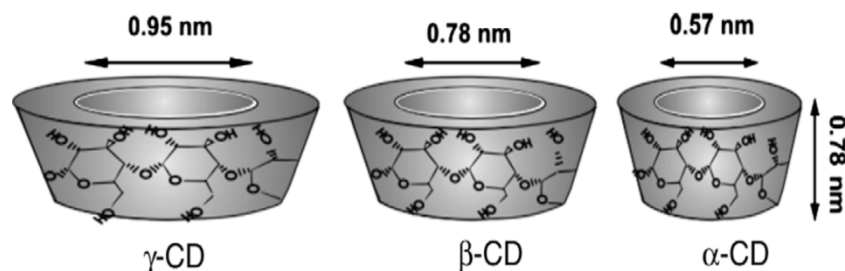


Figura 2 – Dimensões (diâmetro interno e altura) da ciclodextrinas mais importantes: gama, beta e alfa-ciclodextrina (UYAR & BESENBACHER, 2009).

As CD's formam complexos de inclusão do tipo hospedeiro/convidado ("host/guest"). Nesses sistemas, a molécula de CD é o hospedeiro e a molécula a ser encapsulada na cavidade hidrofóbica da CD é o convidado. O processo de inclusão pode ocorrer com uma variedade de compostos sólidos, líquidos e gasosos (DEL VALLE, 2004), pois a cavidade hidrofóbica proporciona um microambiente favorável à acomodação, completa ou parcial, de substâncias de mesma natureza (Figura 3). A discriminação dimensional, durante a formação do complexo, tem origem no potencial que o convidado apresenta para se adaptar à cavidade da CD e o ajuste espacial é considerado o fator mais importante para reger o processo de complexação. Em meio aquoso (Figura 3) existem, ainda, quatro fenômenos seqüenciais propostos que favorecem a inclusão: i) o deslocamento das moléculas de água da cavidade da CD; ii) o aumento do número de ligações de hidrogênio à medida que a água sai da cavidade e volta para o meio aquoso circundante; iii) a redução de repulsões entre o convidado e a água; iv) o aumento no número de interações entre o convidado hidrofóbico e a cavidade apolar da CD (DEL VALLE, 2004; FROMMING *et al.*, 1996).

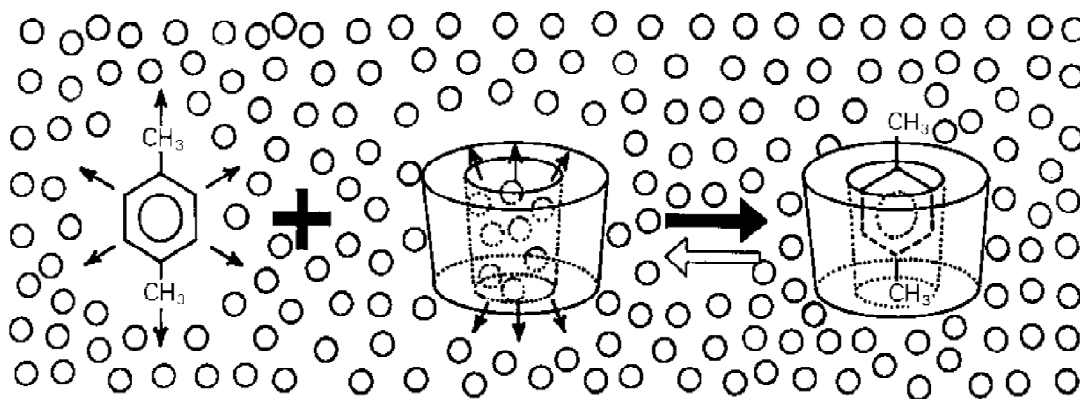


Figura 3 - Representação da complexação de p-xileno em CD; os círculos representam as moléculas de água (SZEJTLI, 1998).

A vantagem que a formação de complexos de inclusão representa é que várias propriedades das moléculas convidadas podem ser alteradas com a inclusão, tais como: solubilidade; estabilidade; volatilidade; aroma (ou sabor) de componentes de alimentos; propriedades específicas de fármacos, dentre outras (DEL VALLE, 2004; DAVIS & BREWSTER, 2004). Entre todas as moléculas que podem formar complexos de inclusão, a ciclodextrina tem demonstrado ser extremamente importante pelas seguintes razões (QUIÑONES, 2001; LEHN, 1995):

1. são produzidas a partir de um material natural renovável, o amido, por uma conversão enzimática relativamente simples;
2. não são tóxicas para humanos, principalmente se administradas por via oral;
3. são produzidas em quantidades de milhares de toneladas por ano;
4. por consequência, os preços caíram de valores inicialmente elevados para valores aceitáveis para a maioria dos propósitos industriais.

A importância das CD's também pode ser vislumbrada nos inúmeros trabalhos da literatura atual (LOFTSSON & BREWSTER, 2011; VENTURINI et al., 2008; DAVIS & BREWSTER, 2004; DEL VALLE, 2004). Em seu estado nativo, as ciclodextrinas são moléculas rígidas e com solubilidade relativamente baixa. Considerando-se a significativa ampliação das possibilidades de aplicação, a

conversão de grupos hidroxila em outros de funcionalidades desejadas tem motivado um elevado volume de pesquisas nesta área de trabalho (DODZIUK, 2006; CRINI, 2005; MOCANU *et al.*, 2005; KHAN *et al.*, 1998).

2.1.2. Modificações químicas das CD's

As CD's têm apenas grupos hidroxila, o que pode ser um fator limitante, em certas condições de reação. No entanto, isto pode ser contornado através de modificações químicas que permitam a incorporação de outros grupos funcionais ampliando, consideravelmente, o número de aplicações (QUIÑONES, 2001; KHAN *et al.*, 1998).

Existem três estratégias gerais para a síntese de derivados de ciclodextrinas. A primeira delas se baseia na diferença de reatividade das hidroxilas, como demonstrado na Figura 4, existem três tipos de grupos hidroxila nas CD's: as em C-6 são primárias e mais acessíveis, as secundárias do C-2 e as do C-3 são menos reativas devido às ligações de hidrogênio existentes entre os grupos hidroxila das duas unidades de glucose adjacentes, além disso, as hidroxilas do C-3 são menos acessíveis (DODZIUK, 2006; KHAN *et al.*, 1998).

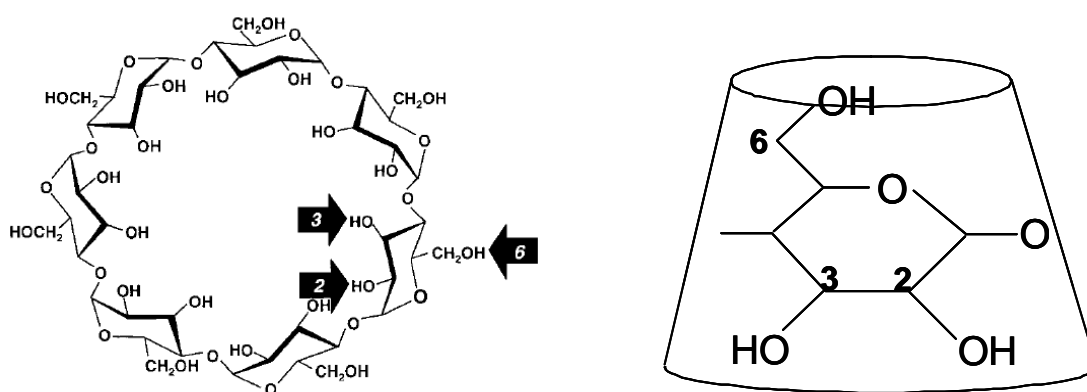


Figura 4 – Localização das hidroxilas na CD (UEKAMA *et al.*, 1998; KHAN *et al.*, 1998).

A segunda estratégia é indireta e consiste em proteger todas as hidroxilas de uma das faces da ciclodextrina. Neste caso, é necessário escolher

adequadamente as condições de reação de cada uma das etapas, para que o rendimento seja elevado e, a etapa de purificação, simples. O principal inconveniente que essa estratégia apresenta é que o rendimento global da reação é sempre baixo. A terceira estratégia consiste em permitir que a reação se desenvolva nas hidroxilas de maneira indiscriminada para, posteriormente, isolar o produto desejado, por exemplo, mediante técnicas cromatográficas (DODZIUK, 2006; KHAN *et al.*, 1998).

A derivatização dos grupos hidroxila ligados aos átomos de carbono C-2, C-3 e C-6 das unidades de glucose, impossibilita o estabelecimento de ligações de hidrogênio intramoleculares, alterando significativamente as propriedades físico-químicas das CDs naturais. Além do mais, a inserção destes substituintes feita de uma forma aleatória dá origem a misturas de moléculas com diferentes graus de substituição que transformam as CDs naturais cristalinas em compostos amorfos de solubilidade superior (UEKAMA , 2004).

Mediante a modificação, as características das ciclodextrinas são alteradas. Pode-se, por exemplo, alterar a solubilidade, afetar a força de interação com o convidado ou alterar o reconhecimento molecular. Diversos derivados das CD's naturais têm sido sintetizados e caracterizados ao longo da última década, a partir de várias metodologias de síntese (GARCIA, 2005; DAVIS & BREWSTER, 2004; KHAN *et al.*, 1998).

Considerando que, neste trabalho, o foco é a síntese de polímeros de ciclodextrinas, na sequência será feita uma breve explanação sobre esses derivados.

2.2 – POLÍMEROS DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS

A síntese de polímeros derivados de CD's pode ser realizada através de reações com os grupos hidroxila presentes na estrutura do cone. Estes polímeros têm sido utilizados em aplicações específicas como processos de separação, catálise e liberação de fármacos. Os principais tipos de polímeros são os preparados por:

1. Reticulação com reagentes bi- ou multifuncionais (Figura 5a).
2. Polimerização de monômeros que contém unidades ligadas à ciclodextrina (Figura 5b).
3. Unindo a estrutura básica do polímero com a ciclodextrina por ligações covalentes ou intermoleculares (MOCANU *et al*, 2001; DAVIS *et al*, 2004).

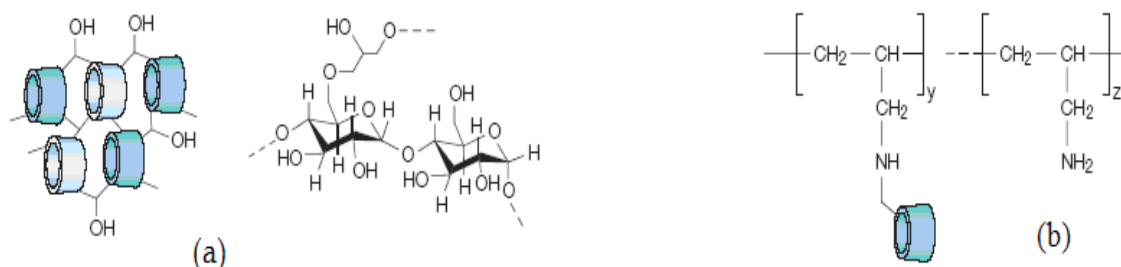


Figura 5 – Classes de polímeros contendo ciclodextrinas: ciclodextrina reticulada com epicloridrina (a), Poli(alilamina) com ciclodextrina como grupo lateral.(b) (DAVIS *et al.*, 2004).

Dentre os polímeros derivados de CD's, os reticulados demonstram um grande potencial como carreadores de fármacos, que é o objetivo do presente trabalho. A estratégia utilizada para sintetizar polímeros reticulados consiste em reagir unidades de ciclodextrinas com reagentes bi ou multifuncionalizados como a epicloridrina, diácidos e dissociados, dentre outros. Como resultado, obtém-se uma matriz polimérica (Figura 6) com diferentes graus de substituição pela face primária, secundária ou em ambas ((DAVIS *et al.*, 2004; MOCANU *et al.*, 2001).

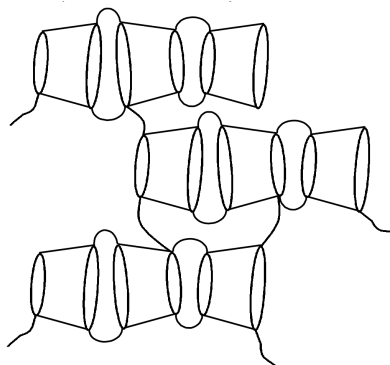


Figura 6 - Representação esquemática de um polímero reticulado contendo ciclodextrinas (PARRILLA, 2000).

A síntese de polímeros contendo CD's tem evoluído muito, entretanto há muito o que ser feito, pois existe a necessidade de aperfeiçoar as reações para que esses materiais possam ter novas aplicações, como por exemplo, na área farmacêutica, na indústria de alimentos e no desenvolvimento de filtros empregados em problemas ambientais. Neste projeto foi realizado o desenvolvimento de polímeros reticulados, mais especificamente poliuretanos e polímeros acrílicos derivados de ciclodextrinas, com potencial em aplicações biomédicas.

2.2.1. Poliuretanos derivados de ciclodextrinas

Os poliuretanos (PU's) são formados através da reação de poliadição entre poliisocianatos e poliálcoois, geralmente diisocianatos e dióis (Figura 7), sendo que as grandes variedades existentes destes polímeros decorrentes são das diferentes classes de polióis que, juntamente com o diisocianato, formam o grupo uretano. Os polióis empregados são compostos com massa molar relativamente baixa que possuem hidroxilas terminais. Quando o objetivo é a obtenção de um poliuretano com uma elevada massa molar são utilizados compostos di ou tri-funcionais denominados extensores de cadeia ou agentes de ligação cruzada. Existem duas técnicas para a síntese de poliuretanos: em uma etapa ou em duas etapas. (SZYCHER, 1999; VILLAR, 1999).

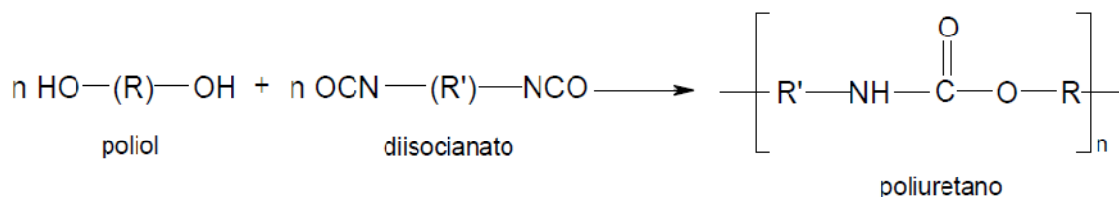


Figura 7 – Reação de formação do poliuretano (OLIVEIRA, 2008).

No primeiro método todos os reagentes são misturados simultaneamente. Nesse, o isocianato está livre para reagir com qualquer outro composto hidroxilado ou aminado do sistema. As moléculas presentes na formulação, como polióis e extensores de cadeia têm reatividades diferentes e algumas podem reagir preferencialmente com o isocianato. (DODGE, 2003; SZYCHER, 1999). O método em duas etapas ou método do pré-polímero consiste na pré-reação de um isocianato com um diol de massa molar entre 1000-4000 g.mol⁻¹, para formar um produto intermediário (pré-polímero) com terminação NCO. Neste método, os grupos NCO restantes reagem criando segmentos rígidos uniformes contendo uma unidade de extensor e duas unidades de isocianato. (DODGE, 2003; SZYCHER, 1999).

Numa segunda etapa, o pré-polímero reage com um extensor de cadeia com hidroxilas terminais, normalmente polióis de massa molar baixa e funcionalidade igual a 2 obtendo polímeros lineares. Se for utilizado um agente reticulante, um poliol com funcionalidade maior que 2, serão obtidos polímeros reticulados. (DODGE, 2003; SZYCHER, 1999).

A reatividade dos pré-polímeros depende do isocianato utilizado, e a reatividade dos isocianatos é aumentada por substituintes que elevam a carga positiva no carbono do grupo NCO. Por isso os isocianatos alifáticos são menos reativos que os aromáticos. Estes são mais reativos dos substituintes do anel aromático. Em adição ao efeito eletrônico, fatores estéreos são também importantes: substituintes volumosos próximos ao sítio reativo diminuem a velocidade de reação e influenciam a especificidade dos catalisadores, visto que estes necessitam se aproximar do sítio da reação para exercer seu efeito catalítico (DODGE, 2003; VILAR, 1999).

Na grande maioria das formulações de poliuretanos usam-se catalisadores, sendo a seletividade destes sistemas fundamental para a obtenção

de materiais com as propriedades físicas e características de processamento desejadas. A formação de uretanos pode ser catalisada por amins terciárias ou catalisadores organometálicos à base de estanho (SZYCHER, 1999).

Os poliuretanos têm muitas aplicações derivadas dos componentes e das condições para sua formação. Trabalhos científicos têm demonstrado a potencialidade dos PU's em aplicações farmacêuticas e biomédicas (VERMETTE *et al.*, 2001)

DARREN *et al* (2001) descreve um novo método para a avaliação da gravidade do estresse ambiental de rachaduras em poliuretanos de aplicação biomédica. O efeito de tensão aplicada e o pré-tratamento com acetona nos poliuretanos P80A e P55D foi estudado *in vitro* e *in vivo*. A ampliação das imagens de microscopia eletrônica de varredura destes polímeros, permitiu a classificação semi-quantitativa da degradação com base na distribuição e gravidade dos danos superficiais. Primeiramente foi observado que o poliuretano P80A sofreu um estresse maior em comparação de P55D. Entretanto, enquanto o polímero P80A produziu classificações de estresse similares de rachadura em experimentos *in vivo* e *in vitro*, o poliuretano P55D teve um pior desempenho sob condições *in vitro*. Este resultado indicou que, para avaliar a possibilidade de aplicação destes polímeros, deve-se levar em consideração os dados do experimento *in vitro* e *in vivo*.

A literatura relata a síntese de micropartículas de poli (éster de uretano uréia) que foram preparadas e caracterizadas visando uma aplicação biomédica. Duas formulações diferentes desenvolvidas, utilizando poli (propileno glicol), TDI e poli (óxido de propileno) pelo método do pré-polímero. Um segundo segmento flexível foi incluído utilizando a poli(-caprolactona) (PCL). As micropartículas apresentaram uma taxa lenta de degradação hidrolítica, com baixo efeito tóxico contra macrófagos. Esses novos materiais são bons candidatos para aplicações como sistemas biomédicos não-biodegradáveis (CAMPOSA *et al.*, 2011)

A inclusão de ciclodextrinas pode aumentar ainda mais a utilização, tendo em vista as propriedades características das ciclodextrinas, como a formação de complexos de inclusão e a possibilidade de formar um ambiente micro-heterogêneo em solução aquosa.

Apesar do limitado número de publicações, pode-se perceber o grande potencial dos polímeros de CD's reticulados com ligações uretânicas. Os autores

Garcia-Zubiri *et al.* realizaram a síntese de polímeros com unidades de ciclodextrina, sendo que, dentre estes, destacam-se os que apresentam ligação uretânica. Neste estudo, foi sintetizado um polímero com BCD e diisocianato de 4,4' – dicitclohexilmetano (HMDI) e outro com BCD e o diisocianato de 2,4 e 2,6 – olileno (TDI). O objetivo do trabalho foi averiguar a importância da cavidade da ciclodextrina na sorção do fenol e do 1-naftol. Ainda neste trabalho foram sintetizados polímeros análogos com sacarose com os mesmos diisocianatos. A conclusão foi que os polímeros com BCD apresentaram energias de interação mais altas, resultando em maior capacidade de sorção, enquanto que os polímeros de sacarose correspondentes tiveram valores menores de interação. Este resultado torna evidente que a diferente estrutura contendo as cavidades da BCD é responsável pelo aumento da sorção em comparação com os polímeros de sacarose com uma composição química análoga. Os resultados da tese apontam, também, para aplicações dos polímeros como carreadores de fármacos (GARCIA-ZUBIRI *et al.*, 2007).

Uma área em que os polímeros derivados de CD's têm um interesse crescente é a química ambiental, devido à existência de resoluções menos permissivas em relação à contaminação de efluentes por indústrias químicas e farmacêuticas. Ozmen & Yilmaz sintetizaram polímeros de BCD reticulados com MDI e HMDI. Os polímeros foram utilizados na remoção do corante vermelho do congo em soluções aquosas. Os materiais foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, análise termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial. Os resultados mostraram que os polímeros foram eficientes na remoção deste corante (OZMEN & YILMAZ, 2007).

Polímeros obtidos da reação de ciclodextrinas com diisocianato de 1,6 - hexametileno (HDI) foram utilizados como fase estacionária em cromatografia em fase gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência, principalmente para separar isômeros estruturais e complexos quirais. Com o objetivo de separar *o*-, *m*- e *p*-nitrofenol foram obtidos polímeros de α CD e β CD com HDI (Figura 8), os quais foram caracterizados, assim como os complexos de inclusão formados. Neste trabalho concluiu-se que a resolução do nitrofenol por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) utilizando, como coluna, os polímeros obtidos foi significativamente melhorada (LEE *et al.*, 2002).

2.2.2. Polímeros acrílicos derivados de ciclodextrinas

A família de polímeros acrílicos inclui polímeros e copolímeros de éster ou ácidos acrílicos ou metacrílicos, acrilonitrila ou acrilamida, sendo que esses polímeros são derivados de monômeros vinílicos. Tais polímeros formam uma subclasse muito importante dentro de materiais poliméricos com uma ampla área de utilização. O tipo de grupamento vinílico determina as características específicas de cada polímero, e a maneira como estes grupos estão dispostos nas cadeias também é muito importante. Assim, a polimerização de um mesmo monômero pode dar origem a polímeros que possuem configurações diferentes, nos quais grupamentos periféricos às cadeias principais estão distribuídos de forma diferente (GOOCH, 2007; ODIAN, 2004).

Os polímeros acrílicos são obtidos pelo processo de polimerização por adição ou polimerização em cadeia, que consiste na adição de uma molécula à outra através da abertura de ligações insaturadas ou abertura de ciclos. No mecanismo deste processo por via radicalar (Figura 9), ocorre, primeiramente, a cisão homolítica (via luz e/ou calor, por exemplo) do iniciador (I), que gera duas unidades radiculares ($R\bullet$). Estas, por sua vez, reagem com a unidade do monômero. A etapa de propagação ocorre logo após a iniciação, e pode ser considerada como o núcleo do processo de polimerização. Entretanto, é o número de unidades de monômero que são adicionados à cada molécula de iniciador e a quantidade deste último que determina a massa molar do polímero final. Finalmente ocorre a etapa de terminação, que consiste na interrupção do crescimento da cadeia, que pode ocorrer por meio de (GOOCH, 2007; ODIAN, 2004):

- (a) combinação bimolecular ou acoplamento de cadeias em crescimento;
- (b) desproporcionamento, através de transferência de átomos de hidrogênio de uma cadeia em crescimento para outra;

(c) transferência de cadeia, através da transferência de hidrogênio ou outro elemento, proveniente do solvente, monômero, iniciador, polímero acabado ou de outra molécula estranha à cadeia em crescimento;

(d) combinação de dois ou mais dos processos acima citados.

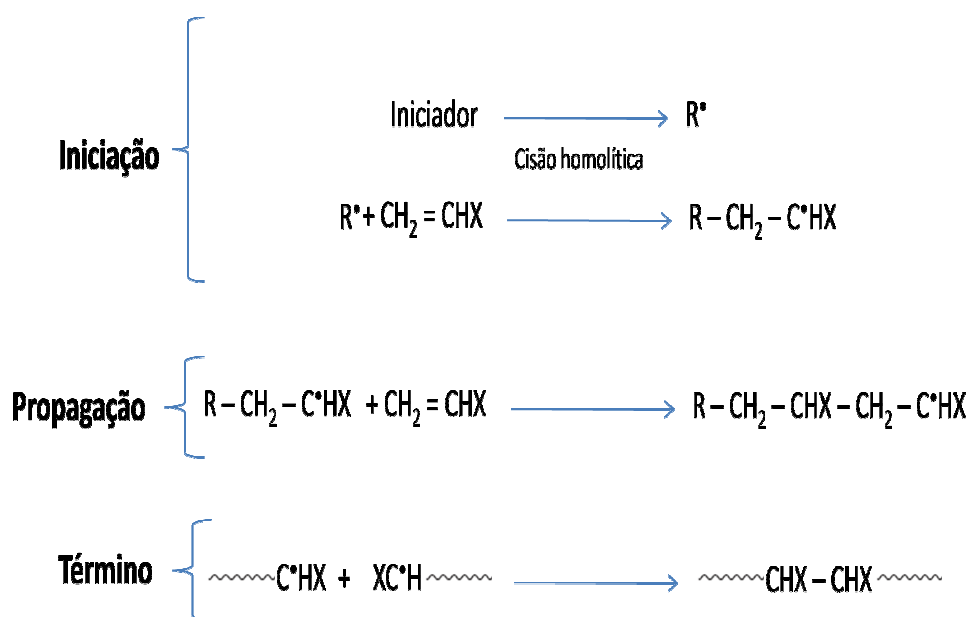


Figura 9 - Mecanismo geral da polimerização em cadeia via radical livre (ODIAN, 2004).

Se duas espécies diferentes de monômeros são utilizadas como materiais de partida, pode ocorrer uma copolimerização, com possibilidade de formação de uma grande variedade de produtos, dependendo das proporções de monômeros empregados, além da razão de reatividade destes. (ODIAN, 2004, GOOCH, 2007).

São relatados na literatura trabalhos que utilizam polímeros acrílicos e ciclodextrinas. Por exemplo, Bibby et al. trabalharam com polímeros de poli(ácido acrílico) (PAA), conhecido por apresentar características mucoadesivas, possibilitando maior tempo de retenção da forma farmacêutica no local da administração. Neste estudo, foram produzidas microesferas de poli(ácido acrílico) com beta-ciclodextrina, com base no método de emulsificação água/óleo, com evaporação do solvente. As microesferas foram caracterizadas por tamanho

das partículas, massa de BCD e quantidade de óleo residual. A eficiência de encapsulação da BCD no polímero foi acima de 90%, e, os resultados indicaram que a síntese de microesferas contendo o polímero hidrofílico PAA, com e sem BCD, foi possível pelo método empregado (BIBBY *et al.*, 1999).

Santos *et al.* desenvolveram hidrogéis acrílicos com elevadas proporções de ciclodextrinas, mantendo as propriedades mecânicas e de biocompatibilidade dos hidrogéis de partida, visando melhorar a sua capacidade de transporte e liberação controlada de fármacos. Neste caso, a beta-ciclodextrina foi enxertada à rede do hidrogel de metacrilato de glicidila (GMA) e o material obtido foi capaz de sustentar a liberação do fármaco em fluido lacrimal por duas semanas, evidenciando a aplicabilidade deste hidrogel em implantes e dispositivos biomédicos (SANTOS *et al.*, 2009).

Em outro trabalho, monômeros de beta-ciclodextrina com ligações acrílicas foram usadas na polimerização de resinas para aplicações em materiais odontológicos. O principal objetivo foi avaliar as propriedades mecânicas de resistência à flexão e contração volumétrica, além do grau de conversão dos polímeros. O processo ainda não foi totalmente otimizado, entretanto, foi observado que a utilização de monômeros de ciclodextrina em formulações à base de compostos contendo dimetacrilato de trietilenoglicol, dimetacrilato de 1,10 decametilenodiol, ou metacrilato de benzila resultou em um material resistente com valores de contração volumétrica comparáveis aos do material de controle metacrilato de glicidil bisfenol (2,2-bis-(4-(2-hidroxi-3-metilacriloxiprop-1-oxi)fenil)propano (Bis-GMA). Estes resultados dão suporte para o desenvolvimento e avaliação de derivados de ciclodextrina polimerizáveis para uso em materiais dentários (HUSSAIN, 2005).

Tian *et al* utilizou a acrilamida e alil-beta-ciclodextrina para reagir com ácido acrílico e cloreto de amônio dimetil dialil, respectivamente, para sintetizar novos polímeros de acrilamida aniônicos e catiônicos por copolimerização. As estruturas dos copolímeros foram caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier e microscopia eletrônica de varredura. Posteriormente, os copolímeros foram avaliados em diversos aspectos, viscosidade intrínseca, tensão interfacial e experimentos de estabilidade. Foi verificado que os polímeros de acrilamida aniônicos e catiônicos contendo ciclodextrina mostraram um melhor desempenho na tensão interfacial, na

viscosidade, na resistência ao cisalhamento e melhor estabilidade térmica do que a poliácridamida de controle. De acordo com os resultados foi observado que a introdução da BCD serviu para compensar a fragilidade da poliácridamida (TIAN et al, 2012).

Em solução aquosa um copolímero foi sintetizado via copolimerização por radical livre do ácido acrílico (AA) esterificado com BCD (BCD-AA), e um monômero catiônico cloreto de [2-(acriloiloxi)etil] trimetilamônio (DMC). A estrutura do copolímero, a morfologia e a estabilidade térmica foi demonstrada por IVTF, RMN H¹, MEV e análise de ATG. As propriedades de floculação do copolímero sintetizado foram avaliadas pelo descoloramento de soluções de dois corantes. Foi observado que a eficiência do descoloramento é influenciada pela natureza dos corantes aniônico e pelo pH da solução inicial do corante. Os resultados permitiram propor o mecanismo de descoloramento e confirmam a aplicação deste copolímero como floculante de corantes (TIAN, in press) .

2.3. UTILIZAÇÃO DE CICLODEXTRINAS E SEUS DERIVADOS NO TRANSPORTE E LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

Devido às propriedades das CDs, tais como suas características multifuncionais e biodegradabilidade, as mesmas têm sido amplamente utilizadas como sistemas de transportes de fármacos. (CHEN et al., 2011; WU et al., 2010; UEKAMA *et al.*, 1998). As CDs são capazes de formar complexos de inclusão com muitos fármacos, com tamanho e forma apropriados, encapsulando total ou parcialmente as moléculas hóspedes (SZEJTLI, 1991).

A possibilidade de formação de complexos de inclusão com CD's abre novas perspectivas à utilização dos fármacos. Os principais objetivos a atingir com estes sistemas, incluem (CUNHA-FILHO *et al.*, 2007; LOFTSSON & DUCHÊNE, 2007; UEKAMA *et al.*, 1998):

- aumento da solubilidade aquosa e melhoria da biodisponibilidade, através do aumento da dissolução e extensão da dissolução;
- melhoria das características físicas, para melhor homogeneização e compressão do fármaco sob a forma de comprimidos;

- aumento da estabilidade ou do tempo de liberação, durante o trânsito gastrointestinal, pela modificação do local e/ou do perfil da taxa de liberação do fármaco;
- diminuição da irritação dos tecidos e de outros efeitos colaterais;
- mascaramento de odor e sabor desagradáveis;
- redução de incompatibilidades entre fármacos quando são utilizados em conjunto;

As cavidades das CD's são capazes de complexar e solubilizar, principalmente, compostos não polares. A complexação pode ser condicionada, entre outros fatores, pela composição da estrutura do fármaco, pela baixa solubilidade aquosa (inferior a 10 mg.mL^{-1}), pelo estado de ionização e pela temperatura e solventes utilizados. Observa-se, na literatura, a complexação de inclusão da beta-ciclodextrina com fármacos de massa molecular compreendida entre 100 e 400 g/mol, desta maneira para os complexos de inclusão da beta-ciclodextrina e os fármacos utilizados pode-se assumir a formação de complexos de estequiometria 1:1 (RAMA et al., 2005).

Frequentemente, a estequiometria de complexos de inclusão é determinada pela simples montagem do diagrama de solubilidade de fases, ou seja, pelo efeito da concentração da ciclodextrina sobre a solubilidade total do fármaco. A técnica de solubilidade de fases foi desenvolvida por Higuchi e Connors (1965) e originou-se dos resultados de pesquisas que estudavam de que maneira os complexos de diferentes agentes complexantes, tais como a cafeína ou alguns ácidos aromáticos, afetavam a solubilidade aquosa de determinados fármacos. Os princípios utilizados nestas pesquisas têm sido aplicados à complexação de inclusão (VEIGA, 2006; LOFTSSON *et al.*, 2004; UEKAMA *et al.*, 1998; HIGUCHI & CONNORS, 1965).

No diagrama de fases (Figura 11) podem ser observados os diversos comportamentos possíveis para a solubilidade de fases. Um diagrama do tipo A evidencia a formação de um complexo solúvel, no qual a solubilidade do hóspede ou aumenta linearmente em função da concentração da CD (tipo A_L) ou apresenta desvios negativos (A_N) ou positivos (A_P) de linearidade. Um diagrama do tipo B indica um complexo de solubilidade limitada, podendo ser do tipo B_S (solúvel

apenas em baixas concentrações de CD) ou do tipo B_i, indicativo de um complexo insolúvel. (VEIGA, 2006; LOFTSSON *et al.*, 2004; HIGUCHI & CONNORS, 1965).

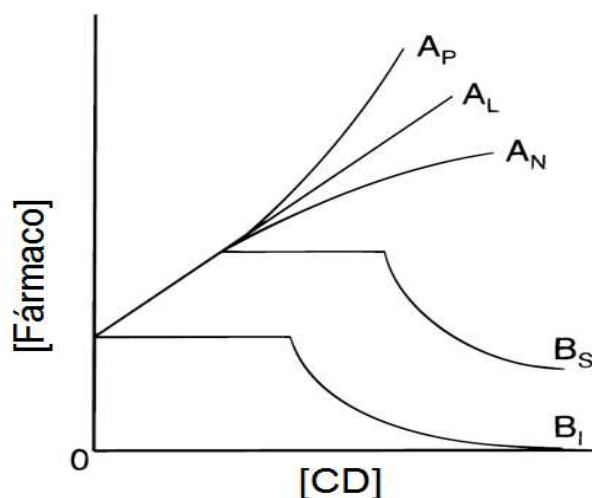


Figura 10 - Diagrama de solubilidade de fases (b), com os perfis: A_L - aumento linear da solubilidade do fármaco em função do aumento da concentração de ciclodextrina, A_P - solubilidade com um desvio positivo da linearidade, A_N - solubilidade com desvio negativo da linearidade, B_S - complexo com limitada solubilidade aquosa, B_I - complexo insolúvel (VEIGA, 2006; LOFTSSON *et al.*, 2004; HIGUCHI & CONNORS, 1965).

A estequiometria, o valor de K_c dos complexos formados e a conseqüente eficiência de complexação podem ser determinados a partir do segmento ascendente linear dos diagramas de solubilidade de fases (Figura 11), (VEIGA, 2006; LOFTSSON *et al.*, 2004; UEKAMA *et al.*, 1998; HIGUCHI & CONNORS, 1965).

O equilíbrio que define a formação do complexo de inclusão com estequiometria 1:1 pode ser observado na equação (Figura 11):

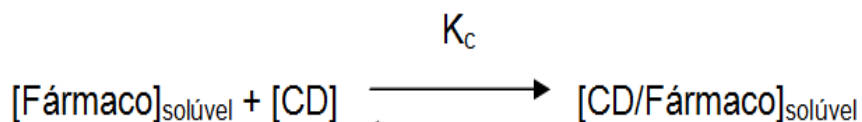


Figura 10 – Representação do equilíbrio da formação do complexo de inclusão

O valor de K_c é então determinado pela seguinte equação:

$$K_c = \frac{[\text{CD/FÁRMACO}]}{[\text{FÁRMACO}][\text{CD}]}$$

A solubilidade total do fármaco (S_t) poderá ser calculada a partir das seguintes equações (LOTSSON *et al.*, 2004):

$$S_t = S_o + [\text{CD/Fármaco}]$$

$$S_t = S_o + \frac{K_c \cdot S_o}{1 + K_c \cdot S_o}$$

Em que S_t (solubilidade total) é a solubilidade do fármaco livre e sob forma complexada, S_o é a solubilidade do fármaco na ausência da ciclodextrina (VEIGA, 2006; LOFTSSON *et al.*, 2004).

A constante de estabilidade pode ser calculada a partir da inclinação da reta e da solubilidade do fármaco (S_o) partindo da equação conhecida como de Higuchi e Connors (VEIGA, 2006; LOFTSSON *et al.*, 2004; HIGUCHI & CONNORS, 1965).

$$K_{c \ 1:1} = \frac{\textit{inclinação}}{S_o \cdot (1 - \textit{inclinação})}$$

Na fórmula descrita acima, $K_{c:1:1}$ é a constante de equilíbrio para diagramas de 1º ordem, e S_o é a solubilidade do fármaco (sem a presença da ciclodextrina). Valores baixos de K_c indicam que a forma dissociada tenderá a existir mais do que o complexo, enquanto que valores altos indicam que a forma

complexada será predominante em relação à forma dissociada (VEIGA, 2006; DUCHÊNE, et al., 1997; HIGUCHI & CONNORS, 1965).

Por várias razões, é importante saber a eficiência de solubilização na formação do complexo de inclusão, principalmente em preparações farmacêuticas e, assim, essa eficiência das ciclodextrinas é, na prática, um valor mais importante do que o valor absoluto de $K_{c:1:1}$.

A eficiência de solubilização é determinada pela inclinação da reta obtida no diagrama de solubilidade de fases que relaciona a concentração do fármaco com a concentração da ciclodextrina, este valor para estequiometria 1:1 é considerado a eficiência de complexação (CE) (LOFTSSON et al, 1999):

$$CE = S_o.K_{1:1} = \frac{[CD/Fármaco]}{[CD]} = \frac{\text{Inclinação}}{1-\text{inclinação}}$$

Os valores obtidos a partir dos resultados do diagrama de solubilidade de fases é um estudo amplamente usado para a caracterização parcial de complexos de inclusão e foi adotado no desenvolvimento do presente trabalho (CAGNOA et al, 2011; ARAÚJO et al, 2008).

Dentre as aplicações mencionadas das ciclodextrinas, a mais utilizada tem como objetivo aumentar a solubilidade aquosa de fármacos hidrofóbicos (ASBAHR *et al.*, 2009; ARAÚJO *et al.*, 2009; ARAÚJO *et al.*, 2007; CAPPELLO *et al.*, 2006). A baixa solubilidade aquosa diminui a biodisponibilidade que representa a quantidade do fármaco que chega até a circulação sistêmica, enquanto que a absorção representa apenas a etapa de permeação do fármaco na mucosa do trato gastrintestinal, quando este ainda não está disponível na circulação sistêmica. Para um fármaco ter uma ótima absorção no organismo, é necessário ter uma boa solubilidade em água (LOBENBERG e AMIDON, 2000).

Geralmente, as formulações farmacêuticas possuem uma grande variedade de excipientes que podem competir com o fármaco para a cavidade da CD. Esta competição pode também ocorrer com substâncias endógenas presentes no local de absorção, tal como acontece com os sais biliares na região intestinal. O deslocamento competitivo do fármaco da cavidade da CD por substâncias de natureza exógena ou endógena ao local de absorção de fármacos

é responsável pela aceleração e potenciação do seu processo de absorção. Na Figura 12, encontra-se, esquematicamente representado, o processo de liberação de um fármaco a partir de um complexo sólido CD/fármaco na presença de agentes competidores. Nesta representação K_c corresponde à constante de estabilidade do complexo formado CD/fármaco, K_i é a constante de estabilidade do complexo formado com o agente competidor. A dissolução do complexo depende do equilíbrio - complexo de inclusão e espécies dissociadas. Esse equilíbrio depende da estrutura da CD, da quantidade de CD livre, do fármaco e das condições do meio (pH e agentes competidores) (VEIGA, 2006; UEKAMA *et al*, 1998).

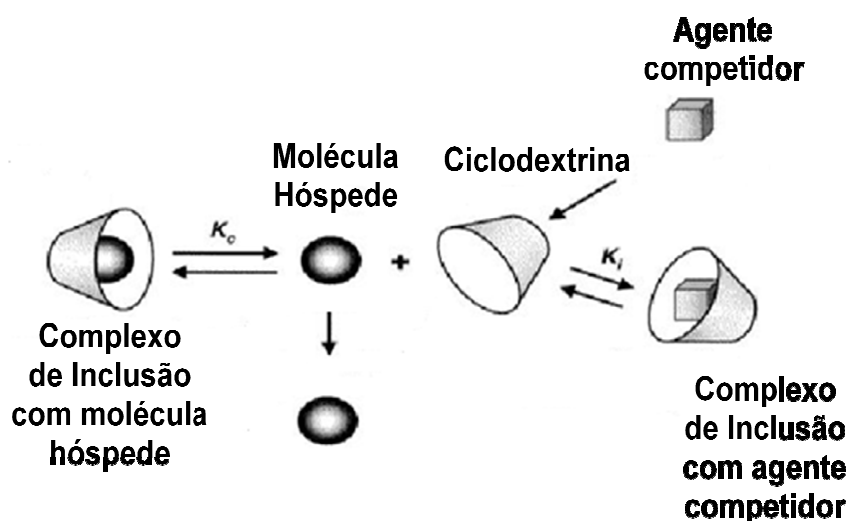


Figura 12 - Representação esquemática da absorção sistêmica do fármaco a partir do complexo na presença dos agentes competidores.

Neste trabalho foram sintetizados polímeros (poliuretanos e poliacrílicos) e preparados complexos de inclusão da beta-CD e da hidroxipropil beta-CD que foram testados como carreadores do fármaco nifedipina (NIF).

2.3.1. Aplicação de ciclodextrinas no carregamento do fármaco nifedipina

A nifedipina (NIF) (Figura 13) é dos fármacos mais utilizados no tratamento de patologias cardíacas, principalmente hipertensão e angina de peito, fazendo parte da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais, com distribuição gratuita nacional (BRASIL, 2002). Este fármaco atua inibindo a entrada de íons cálcio pela membrana das células da musculatura lisa dos vasos do coração, promovendo uma vasodilatação prolongada das artérias coronárias, aumentando o suprimento de oxigênio e inibindo o processo de contração muscular (SENTÜRK *et al.*, 1998; BUTLER & KALLWARF, 1987; BURGER & KOLLER, 1996).

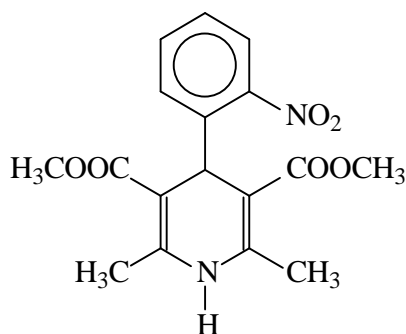


Figura 13 – Estrutura da nifedipina

Apesar da aplicação mencionada, este fármaco é praticamente insolúvel em água e, como consequência, exibe uma baixa biodisponibilidade depois da administração oral, fato que afeta sensivelmente sua eficiência terapêutica. A concentração plasmática máxima da nifedipina é alcançada entre 30 e 60 minutos utilizando formulações convencionais. Contudo, apesar da nifedipina de ação rápida estar disponível comercialmente, as formulações de ação lenta são indicadas em diversas patologias, sendo, portanto, um fármaco que pode ter ação mais eficaz quando em formulações de liberação prolongada (BUTLER & KALLWARF, 1987; SENTÜRK *et al.*, 1998; BURGER & KOLLER, 1996). Destas, pode-se destacar a preparação de microesferas de quitosana contendo complexos de inclusão entre ciclodextrina/nifedipina, que mostrou, como resultado, um aumento da solubilidade da nifedipina e uma liberação mais controlada do fármaco. Ainda foi observado que, através da variação do modo de

preparação, podem ser obtidas formulações com perfis cinéticos satisfatórios e diferenciados de liberação (FILIPOVIC GRCIC et al., 1996).

A utilização da nifedipina na forma de complexos de inclusão com ciclodextrinas tem demonstrado eficácia também na proteção do fármaco, evitando a fotodegradação durante o armazenamento e a manipulação. Conforme relatado na literatura, complexos de inclusão de nifedipina com BCD, HPBCD e dimetil-beta-ciclodextrina foram preparados usando o método da co-precipitação. A formação dos complexos foi confirmada por calorimetria diferencial exploratória (CED), difração de raios-x (DRX) e espectroscopia na região do infravermelho (IVTF). Os resultados obtidos sugerem que a preparação de complexos de inclusão com ciclodextrinas apresentaram maior estabilidade, retardando a fotodegradação da nifedipina (BAYOMI *et al.*, 2002).

Uma vantagem na síntese destes polímeros é a possibilidade de agregar as propriedades das ciclodextrinas com as das estruturas poliméricas. Podendo, inclusive, ter um custo menor em comparação à utilização da ciclodextrina em sua forma pura. A síntese de novos polímeros e a investigação do emprego destes polímeros derivados de ciclodextrinas na encapsulação do fármaco nifedipina representa o segmento inovador do presente projeto de pesquisa.

3 – OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar polímeros derivados de ciclodextrinas e estudar a utilização destes polímeros em sistemas de transporte e liberação do fármaco nifedipina.

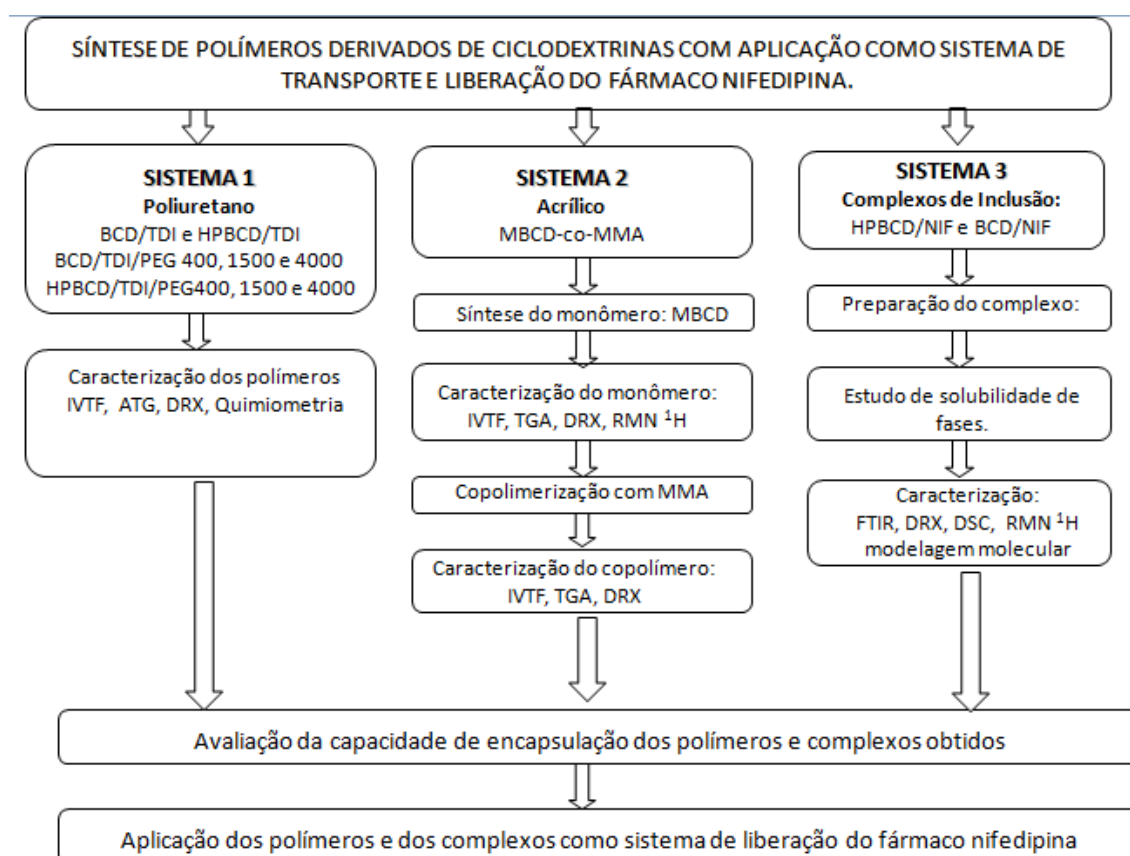
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar poliuretanos derivados de ciclodextrinas, poli (etilenoglicol) – PEG e diisocianato de tolieno (TDI).
2. Separar pelo método quimiométrico de PCA (análise dos componentes principais) os polímeros com PEG.
3. Sintetizar um macromonômero vinílico a partir de ciclodextrin; através de reação da ciclodextrina com anidrido metacrílico.
4. Copolimerizar o macromonômero vinílico com ciclodextrina com metacrilato de metila.
5. Caracterizar os polímeros, o monômero e os complexos obtidos nos três sistemas utilizando as técnicas: infravermelho com transformada de Fourier (IVTF), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H), difratometria de raio-X (DRX), calorimetria exploratória diferencial (CED) e análise termogravimétrica (ATG).
6. Preparar e caracterizar complexos de inclusão beta-ciclodextrina/NIF e hidroxipropil beta-ciclodextrina/NIF.

7. Estudar a variação da solubilidade da molécula convidada na presença de beta-ciclodextrina e hidroxipropil-beta-ciclodextrina, pela construção do diagrama de solubilidade de fases.
8. Propor as estruturas dos complexos resultantes por modelagem molecular e técnicas de ressonância.
9. Avaliar a capacidade de encapsulação das ciclodextrinas nos polímeros.
10. Estudar a dissolução da nifedipina nos complexos de inclusão e dos polímeros mais eficientes na capacidade de encapsulação.

4. EXPERIMENTAL

O presente projeto de pesquisa foi dividido em três partes: sistema 1, que consiste na síntese de polímeros uretânicos derivados de ciclodextrinas, polietilenoglicol e diisocianato de tolieno; sistema 2, que corresponde à síntese de um monômero com ciclodextrina e a copolimerização deste com o metacrilato de metila; e sistema 3 que diz respeito à preparação dos complexos de ciclodextrina com a nifedipina. Na sequência serão descritos os materiais e métodos para os sistemas, de acordo com esquema abaixo, elaborado para uma visualização geral do trabalho:



4.1. MATERIAIS

Acetona P.A. (Synth), álcool metílico P.A. (MeOH) (Synth), anidrido metacrílico (AME) (Sigma-Aldrich), beta-ciclodextrina (BCD) (Sigma-Aldrich), diisocianato de tolieno (TDI) (Hilax), dimetil formamida (VETEC), hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HPBCD) (Sigma-Aldrich), metacrilato de metila (MMA), metanol (VETEC), nifedipina (NIF) (Galena), octanoato de estanho (Air Products Brasil Ltda), poli (etilenoglicol) de massa molar 400 (PEG400) (Synth), poli (etilenoglicol) de massa molar 1500 (PEG1500) (Synth), poli (etilenoglicol) de massa molar 4000 (PEG4000) (Synth), peróxido de benzoíla, piridina anidra, tolueno (VETEC).

O TDI foi destilado sob vácuo na temperatura de 180°C e o PEG 400 foi seco em evaporador rotatório por 4 horas. O metacrilato de metila foi lavado com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 molar, seco na presença de sulfato de sódio anidro P.A. e destilado à pressão ambiente; O peróxido de benzoíla dissolvido em metanol seco e em seguida, por filtração os produtos insolúveis foram removidos. O filtrado foi concentrado até o início da cristalização do iniciador. Por fim, a solução foi esfriada em banho de gelo e os cristais foram filtrados em funil de Büchner e seco em dessecador durante duas horas. A BCD foi seca em estufa à vácuo por 24 horas a 80°C. Os solventes foram secos e destilados. Os demais reagentes utilizados de grau analítico foram utilizados sem qualquer tratamento prévio.

4.2. SISTEMA 1 – POLIURETANO COM CICLODEXTRINA

Foram feitas 24 reações que tiveram como referência básica trabalhos relatados na literatura (OZMEN *et al.*, 2007; CESTEROS *et al.*, 2006; BHASKAR *et al.*, 2004), com algumas alterações. Os reagentes e condições destas reações estão descritas, de maneira sucinta, na Tabela I. Depois das reações iniciais foram escolhidas as reações que estão descritas na metodologia a seguir.

4.2.1. Síntese dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD.

Este procedimento é referente às reações 11 e 19. Em um balão de 100 mL foi adicionado 2 g de BCD (1,76 mmol) em 10 mL de DMF. Após solubilização, foi adicionado lentamente e sob agitação, 1,14g (6,54 mmol) de TDI e 0,03 g do catalisador octanoato de estanho. A mistura de reação foi mantida sob agitação na temperatura de 70°C por 4 horas. Após esse período, o polímero foi precipitado em metanol, filtrado sob vácuo e lavado com acetona e água destilada. O material obtido foi seco em estufa a vácuo a 80°C por 24 horas.

O polímero PU/TDI/HPBCD foi obtido utilizando o mesmo procedimento para o polímero PU/TDI/BCD. Os dois polímeros foram caracterizados segundo as técnicas descritas na metodologia.

4.2.2. Síntese dos polímeros PU/TDI/BCD/PEG e PU/TDI/HPBCD/PEG.

Esta metodologia abrange as reações de 18, 20, 21, 22, 23 e 24. A síntese do polímero foi feita em duas etapas, envolvendo a formação de um pré-polímero produzido pela reação de um diisocianato, com o polioliol, PEG, gerando uma mistura homogênea em um balão de 100 mL, foi adicionado 2 g de PEG 400 (5,0 mmol) em 5 mL de DMF, 1,74 g (1,0 mmol) de TDI e 1 gota de catalisador octanoato de estanho, o sistema foi mantido sob agitação à uma temperatura de 50°C por 90 minutos.

Na segunda etapa, foi adicionado, lentamente, uma solução de BCD previamente preparada com 1,42 g (1,2 mmol) de BCD em 10 mL de DMF e, em seguida, adicionou-se 1 gota de catalisador octanoato de estanho. A mistura foi mantida em agitação à uma temperatura de 70°C por 8 horas. Após esse período, o polímero foi precipitado em metanol, filtrado a vácuo e lavado com acetona e água destilada. O material obtido foi seco em estufa a vácuo a 80°C por 24 horas.

Foram sintetizados, com essa mesma metodologia, outros polímeros com PEG de massa molar 1500 ou 4000 com a HPBCD. Entretanto, para os polímeros em que foram utilizados foi necessária a utilização de um maior volume de solvente totalizando 60 mL de DMF. Estes polímeros foram caracterizados de acordo com a metodologia descrita.

Tabela I: Resumo das reações de obtenção dos PU's derivados de ciclodextrinas.

Nº DA REAÇÃO	REAGENTES						1ª ETAPA			2ª ETAPA		
	PEG/DMF	PPG/DMF	MDI	TDI/DMF	BCDDMF	HPBCDDMF	Tempo	Temp.	Cat.	Tempo	Temp.	Cat.
01	—	—	—	2,3 mL	5g/15 mL	—	20 min	70°C	não	—	—	—
02	—	—	—	1,0 mL/5 mL	5 g	—	4 horas	65°C	não	—	—	—
03	—	—	1,0 mL/5 mL	—	5 g	—	5 min	65°C	não	—	—	—
04	PEG 400 1g/30 mL	—	—	1,0 mL/5 mL	1,5g/30 mL	—	30 min	60°	não	4 horas	60°C	não
05	PEG 400 5 g	—	—	1,72 g	3,95g/10 mL	—	2 horas	60°	não	15 min	80°C	não
06	PEG 400 5 g	—	1,72 g	—	3,95g/10 mL	—	4 horas	60°	não	2 horas	80°C	não
07	Esta amostra foi feita com o mesmo procedimento da amostra 06, utilizando o butanodiol no lugar da BCD											
08	PEG 400 5 g	—	6,25 g	—	3,54 g/16,5% em massa	—	100 min	55°	2 gotas	—	—	—
09	PEG 400 5 g	—	6,25 g	—	3,54 g/16,5% em massa	—	100 min	Amb	2 gotas	—	—	—
10	—	5 g	6,25 g	—	3,54 g/16,5% em massa	—	100 min	Amb	2 gotas	—	—	—
11	—	—	—	1,14 g	2 g/10 mL	—	4 horas	70°C	1 gota	—	—	—
12	PEG 400 2 g/10 mL	—	—	1,74 g/10 mL	1,42 g/16,5% em massa	—	100 min	55°C	2 goras	1 hora	70°C	não
13	Metodologia análoga da amostra 12, entretanto na segunda etapa a reação foi deixada por 4 horas											

14	As quantidade de reagentes foi a mesma da reação para obtenção da amostra 12, contudo a 1ª etapa foi feita em massa e a adição do catalisador foi feita na segunda etapa no momento da adição da solução de BCD											
15	PEG400 2g/5 mL	—	—	1,74g/5 mL	1,42g/10 mL	—	90 min	50°C	1 gota	4 horas	70°C	não
16	Metodologia análoga da amostra 15, entretanto a segunda etapa a reação foi conduzida por 8 horas											
17	Duplicata da amostra 16											
18	PEG400 2g/5 mL	—	—	1,74g/5 mL	—	1,42g/10 mL	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
19	—	—	—	1,14g	—	2g/10 mL	4 horas	70°C	1 gota	—	—	—
20	Esta amostra foi feita com o mesmo procedimento da amostra 19 e houve formação de gel no início da reação											
21	PEG 1500 2g/20 mL	—	—	1,74g/10 mL	1,42g/30 mL	—	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
22	PEG 1500 2g/20 mL	—	—	1,74g/10 mL	—	1,42g/30 mL	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
23	PEG 4000 2g/20 mL	—	—	1,74g/10 mL	1,42g/30 mL	—	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
24	PEG 4000 2g/20 mL	—	—	1,74g/10 mL	—	1,42g/30 mL	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota

4.2.3. Caracterização dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD.

4.2.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

Os polímeros foram caracterizados por IVTF utilizando o equipamento BOMEM (Departamento de Química – UFPR), na faixa espectral de $4000-400\text{cm}^{-1}$ com $32\text{ scans}\cdot\text{min}^{-1}$ e resolução de 4 cm^{-1} . A técnica empregada para a análise foi a preparação de pastilhas por mistura das amostras com KBr.

4.2.3.2. Análise dos componentes principais (PCA) aplicada aos espectros de IVTF do sistema 1

A análise multivariada foi realizada em ambiente Matlab v.6.5[®], utilizando programa PLS-toolbox 1.5. Os sinais foram pré-processados por alisamento e *Mean Centering*. Foi construída uma matriz de dados de dimensão 14 x 519, que corresponde aos espectros de IVTF das ciclodextrinas, do TDI, dos pré-polímeros, dos PEG's e dos polímeros obtidos. Os espectros de IVTF foram adquiridos na região 4000-400 cm⁻¹ a uma resolução de 4 cm⁻¹.

4.2.3.3. Análise termogravimétrica (ATG)

A análise termogravimétrica (ATG) foi realizada em um equipamento ATG – Balança termogravimétrica, fabricante NETZSCH, modelo TG – 209, (LACTEC), em atmosfera oxidante, desde a temperatura ambiente até 500°C com variação de 20°C por minuto, usando porta amostra de alumina.

4.2.3.4. Difração de raio-X (DRX)

Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro de raios-X Shimadzu DRX-6000 (Departamento de Química – UFPR), scan de 2^o.min⁻¹ e 2 θ de 5^o a 55^o, radiação K α do cobre ($\lambda=1,5418\text{\AA}$), corrente de 40 mA e voltagem de 30 kV.

4.3. SISTEMA 2 – COPOLÍMERO ACRÍLICO DERIVADO DE CICLODEXTRINA

Neste tópico serão relatadas as metodologias de síntese e de caracterização do monômero vínilico (MBCD), obtido a partir da BCD e do anidrido metacrílico e do copolímero (MBCD-co-MMA) formado pelo monômero (MBCD) e o metacrilato de metila (MMA). As reações tiveram por base trabalhos relatados na literatura com as modificações necessárias para o sistema desejado (HAMCERENCU *et al*, 2008; HUSSAIN *et al.*, 2005, 2004)

4.3.1. Síntese do monômero vinílico com ciclodextrina (MBCD)

Uma mistura de 23,2 mL (150 mmol) de anidrido metacrílico e 21,2 mL (260 mmol) de piridina foi transferida para um balão de 100 mL. À mistura, foram adicionados 4,53 g (3,99 mmol) de beta-ciclodextrina, e esta mistura foi mantida sob agitação magnética por 72 horas em temperatura ambiente. A solução foi então, vertida em água gelada para precipitação do monômero. O sólido foi filtrado e dissolvido em metanol anidro re-precipitado em água destilada e seco em estufa à vácuo por 24 horas a 80°C.

4.3.2. Síntese do copolímero de MBCD com MMA (MBCD-co-MMA)

Os copolímeros foram obtidos pela polimerização via radical livre do monômero vinílico com ciclodextrina (MBCD) e o metacrilato de metila (MMA) utilizando, como iniciador, peróxido de benzoíla (BPO). Em um balão de 50 mL foi adicionado 1 g do MBCD, 0,36 g (3,56 mmol) de MMA e 0,05 g de BPO em 10 mL de tolueno. A reação foi mantida a 80°C por 2 horas. A solução foi vertida em metanol gelado para a precipitação do copolímero. O sólido foi filtrado e seco em estufa à vácuo por 24 horas a 80°C. A síntese dos homopolímeros dos monômeros MBCD e MMA seguiram a mesma metodologia deste item.

4.3.3. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

O monômero MBCD e o copolímero MBCD-co-MMA foram caracterizados por IVTF, sendo que a metodologia adotada foi à mesma já descrita no item 4.2.3

4.3.4. Análise termogravimétrica (ATG)

A metodologia para a análise termogravimétrica das amostras foi relatada no item 4.2.4

4.3.5. Difração de raio-X (DRX)

Os difratogramas do monômero MBCD e do copolímero MBCD-co-MMA foram obtidos segundo a metodologia referida no item 4.2.5

4.3.6. Calorimetria exploratória diferencial (CED)

A calorimetria exploratória diferencial foi realizada no equipamento CED 200 F3 Maia da NETZCH (Departamento de Química – UFPR). Aproximadamente 10 mg de amostra foram pesadas, colocadas em cápsulas de alumínio e estas foram seladas. Foi realizado aquecimento da amostra da temperatura ambiente até 150°C, resfriando até 20°C, seguindo novo aquecimento até 150°C. Foi adotada a rampa de temperatura de 10°C.min⁻¹. De aquecimento e resfriamento. Foram submetidos à análise térmica o homopolímero poli(metacrilato de metila) (PMMA) e o copolímero MBCD-co-MMA. A determinação dos valores de T_g para todas as amostras foi efetuada no ponto de inflexão da curva.

4.3.7. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H)

As análises por RMN de ¹H foram obtidas em DMSO-d₆ à temperatura ambiente em um espectrômetro Bruker AVANCE 400 (Departamento de Química – UFPR), operando a 9,4 Tesla, observando o núcleo de hidrogênio a 400,13 MHz, equipado com uma sonda multinuclear de observação direta de 5 mm. Para isso, 30 mg de cada amostra foram dissolvidas em 0,6 mL de DMSO-d₆ e transferidas para tubos de 5 mm de diâmetro. Os espectros de RMN de ¹H foram

adquiridos com 64K pontos, 128 aquisições, janela espectral de ~12 ppm. Os espectros foram processados aplicando uma multiplicação exponencial dos FIDs por um fator de 0,3 Hz. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm, em relação ao sinal do TMS em 0,0 ppm, como referência interna.

4.4. SISTEMA 3 – COMPLEXOS DE INCLUSÃO

4.4.1. Preparação do complexo de inclusão BCD/NIF e HPBCD/NIF

Os complexos BCD/NIF e HPBCD/NIF foram obtidos pelo método de suspensão, sendo que a metodologia foi baseada, com algumas alterações, no procedimento descrito por Loftsson e colaboradores (LOFTSSON et al.,2005). Em um becker de 50 mL foi adicionado 20 mL de uma solução aquosa 15 mM da ciclodextrina e 0,2 g de nifedipina pura. Em seguida, as suspensões foram inicialmente sonicadas em banho de ultrassom por 30 minutos e deixadas sob agitação magnética por 48 horas, à temperatura ambiente ao abrigo da luz. Após o tempo de agitação, as suspensões foram filtradas em membrana de 0,45 µm. Os filtrados foram posteriormente liofilizados ou evaporados e os sólidos foram caracterizados por técnicas convencionais.

4.4.2. Preparação da mistura física

As misturas físicas da nifedipina e da BCD ou HPBCD foram preparadas na proporção molar de 1:1, sendo os dois materiais misturados no estado sólido, sem trituração.

4.4.3. Diagrama de solubilidade de fases

O método para avaliação da solubilidade de fases foi descrito por Higuchi e Connors (HIGUCHI & CONNORS, 1965). Foram preparadas 50 mL de soluções aquosas de HPBCD em concentrações crescentes (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mM) e, a estas, foi adicionada uma massa fixa de nifedipina (em excesso de 5 vezes em relação ao mol de HPBCD ou BCD presente na solução mais concentrada). Em todos os casos, as suspensões foram submetidas à agitação em temperatura de 37°C por 48 h, ao abrigo da luz. Em seguida, a suspensão foi filtrada em membrana de 0,45 µm. A concentração da nifedipina no filtrado foi determinada por espectroscopia de absorção no UV-vis no comprimento de onda

de 226 nm utilizando curva analítica previamente elaborada. Com os dados obtidos foi construído o diagrama de fases concentração de NIF x concentração de ciclodextrina e com a inclinação da reta foram calculados a constante de estabilidade, eficiência de complexação, essas relações foram resumidamente discutidas na introdução deste trabalho (VEIGA, 2006; LOFTSSON *et al.*,1999; HIGUCHI & CONNORS, 1965), :

Constante de Estabilidade

$$K_{c1:1} = \frac{\textit{Inclinação}}{S_o (1 - \textit{inclinação})}$$

Eficiência de complexação

$$CE = \frac{\textit{Inclinação}}{(1 - \textit{inclinação})}$$

Razão molar de complexação

$$RM = 1 \div \left(1 + \frac{1}{CE}\right)$$

Em que K1:1 é a constante de estabilidade para o complexo com estequiometria 1:1, So é a solubilidade do fármaco (na ausência da ciclodextrina) e a inclinação é obtida no diagrama de solubilidade de fases.

4.4.4. Espectroscopia de absorção no UV-visível (UV-vis)

As medidas espectrofotométricas foram realizadas na faixa de 200 a 400 nm em espectrofotômetro UV-vis Carey, modelo 100 Scan (Departamento de

Química – UFPR). Para a obtenção da curva analítica, as leituras das absorvâncias foram realizadas em comprimento de onda 226 nm (máximo de absorção da solução padrão de nifedipina).

4.4.5. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

Os complexos, a HPBCD, a NIF e as misturas físicas foram caracterizados por IVTF empregando a metodologia já descrita no item 4.2.3.

4.4.6. Difração de raios-X (DRX)

A metodologia para a obtenção dos difratogramas de raio-X das amostras foi análoga à relatada no item 4.2.5.

4.4.7. Calorimetria exploratória diferencial (CED)

A calorimetria exploratória diferencial foi realizada no equipamento CED 200 F3 Maia da NETZCH (Departamento de Química – UFPR). Aproximadamente 10 mg de amostra foram pesadas, colocadas nas cápsulas de alumínio as quais foram seladas. As amostras foram submetidas a uma taxa de aquecimento constante de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, desde a temperatura ambiente até 250°C , sob constante fluxo de nitrogênio de $60\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Para a confecção das curvas de CED foi utilizado o intervalo de 120°C até 200°C , região na qual pode se observar o pico de fusão da NIF.

4.4.8. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H)

As análises por RMN de ^1H das CD'S, misturas físicas e complexos foram obtidas, inicialmente, por meio da mesma metodologia do item 4.3.2.5.

Os experimentos de RMN de STD (*saturation transfer difference*) foram obtidos com sequência de pulso *stdiff* irradiando em 1,0 ppm “on-resonance” e 30,0 ppm “off-resonance”. Todos os programas de pulso foram fornecidos pela Bruker BioSpin.

4.4.9. Modelagem molecular

A modelagem molecular foi realizada para a BCD e para duas estruturas da HPBCD: HPBCD-C2/NIF e HPBCD-C6/NIF, nas quais todas as hidroxilas ligadas ao carbono C2 e C6, respectivamente, foram substituídas por grupos hidroxipropil. Para a construção destas estruturas, dados cristalográficos da BCD disponíveis no banco de dados do *Cambridge Structural Database* foram utilizados (ALLEN, 2002). Todas as estruturas das espécies isoladas e em complexo foram construídas utilizando o programa *Cache Worksystem 6.1* (CACHE 6.0, 2000)

A NIF foi inicialmente alocada dentro da cavidade da HPBCD pela extremidade de maior diâmetro para a formação de complexos de inclusão 1:1. Duas diferentes orientações do fármaco na cavidade da HPBCD foram consideradas: NH-in, com o grupo nitrofenil orientado para dentro da cavidade da HPBCD, e NH-out, com este grupo orientado para fora da cavidade.

Primeiramente, os complexos foram completamente otimizados utilizando cálculos de mecânica molecular com campo de força MM3 (ALLINGER, 1989) e estas estruturas de mínimo de energia foram consideradas como estruturas de partida para os cálculos semi-empíricos AM1, PM3, PM6 e RM1 (STEWART, 2007; ROCHA et al, 2006; STEWART, 1989; DEWAR et al, 1985) implementados no programa MOPAC2007. Durante os cálculos, foi permitida a nifedipina uma livre movimentação dentro da CD, assim como não foi restringido o posicionamento de átomos e ângulos da CD na busca da geometria de ligação preferencial.

Para avaliar as mudanças energéticas decorrentes da alteração do meio dielétrico do sistema, os complexos foram calculados no vácuo ($\epsilon = 1.0$) e em meio aquoso, no qual, foi utilizada a metodologia COSMO (*Conduct-like*

Screening Model) com valor da permissividade relativa do meio de 78.4 F.m^{-1} (KLAMT et al, 1993).

Os estados eletrônicos excitados destes complexos foram calculados utilizando a metodologia INDO/S-CIS (POPPLÉ et al, 2026) (*Intermediate Neglect Of Differential Overlap/Spectroscopic Parametrization–Configuration Interaction Singly Replacements*) disponível no programa ZINDO [ZERNER et al, 1990].

4.5. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE ENCAPSULAÇÃO DAS CICLODEXTRINAS RETICULADAS NOS POLÍMEROS E NA BCD

O procedimento deste estudo foi baseado nos trabalhos de Makela et al (1988) e Li et al (1996). Primeiramente foram preparadas 100 mL de uma solução de fenolftaleína $3,75 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, numa proporção de 94% de etanol e 6% água (v/v) (solução estoque). Em seguida, foi preparada uma solução tampão de carbonato de sódio (1 mol.L^{-1}). As soluções foram mantidas em frascos vedados e na ausência de luz. Para a preparação da solução de trabalho de fenolftaleína, foi adicionado 9 mL de água destilada em 1 mL da solução de fenolftaleína (estoque). Após homogeneização desta solução, foi adicionada uma solução de carbonato de sódio anidro atingindo o pH 10. Essa solução de fenolftaleína foi colocada em três frascos junto com amostras de massa crescente dos polímeros. Os frascos foram revestidos com papel alumínio e deixados a 25°C em banho de ultrassom Elma, Transonic Digital, Singen, Germany, por 4 horas, para que ocorra a encapsulação (MANTEGNA et al, 2012). As amostras foram centrifugadas por 2 minutos em uma centrífuga Hettich, modelo Universal II. Os sobrenadantes das amostras foram retirados e analisados num espectrofotômetro UV-vis Shimadzu, modelo UV – 2401 PC. A leitura das amostras foi realizada em 552 nm que corresponde ao máximo da absorbância da fenolftaleína.

4.6. APLICAÇÃO DOS COMPLEXOS E DOS POLÍMEROS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO NIFEDIPINA

Os procedimentos abaixo foram conduzidos juntamente com o grupo de pesquisa do Departamento de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

4.6.1. Preparação dos complexos

Para o estudo de dissolução os complexos das ciclodextrinas (BCD e HPBCD) e dos polímeros com o fármaco nifedipina foram preparados pelo método da malaxagem que é aplicado para fármacos com pouca solubilidade

aquosa. É um processo muito utilizado, por ser simples, relativamente rápido, realizado a baixas temperaturas ou mesmo a temperatura ambiente. Além disso pode ser usado em grande escala, e por esta razão um dos métodos mais utilizados na indústria farmacêutica (VEIGA, 2006). Os complexos foram preparados com 0,75 g de nifedipina e 2,25g das ciclodextrinas e dos polímeros, sendo os dois materiais misturados no estado sólido em almofariz com trituração por 5 minutos com adição de alíquotas de metanol formando uma pasta. Depois, o material foi seco a temperatura ambiente e mantido sob ausência da luz.

4.6.2. Preparação das misturas físicas

A mistura física da nifedipina e das ciclodextrinas e complexos foram preparados com 0,75 g de nifedipina e 2,25g das ciclodextrinas ou dos polímeros, sendo os dois materiais misturados em estado sólido em almofariz sem trituração.

4.6.3. Estudos de dissolução da nifedipina *in vitro*

Os ensaios de dissolução foram realizados de acordo com o teste de dissolução para comprimidos de nifedipina preconizado pela Farmacopéia Americana (USP). As taxas de dissolução da nifedipina (NIF), na forma de fármaco puro, como complexos de inclusão em beta-ciclodextrinas (HPBCD/NIF e BCD/NIF) e na forma de complexos de inclusão com os polímeros sintetizados e misturas físicas dos polímeros e da nifedipina foram obtidas em um dissolutor Nova Ética 299-6 ATTS, equipado com o aparato II (pá) em 900 mL de tampão fosfato (pH 6,8), previamente degaseificado e acrescido de lauril sulfato de sódio a 1%. Os sistemas foram mantidos a uma temperatura controlada de $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, em agitação de 50 rpm. Todos os experimentos foram realizados ao abrigo da luz. A adição de um tensoativo foi necessária pela baixa solubilidade aquosa da NIF, o que resulta em um perfil de dissolução indesejado. Em intervalos de tempo previamente determinados, volumes de 5 mL do meio foram coletados, filtrados ($0,45 \mu\text{m}$) e analisados espectrofotometricamente em 338 nm. O valor da porcentagem de dissolução foi obtido a partir da determinação quantitativa do

fármaco liberado. Para cada retirada de alíquota, um fator de correção foi aplicado, considerando as diluições cumulativas resultantes da reposição de 5 mL de meio recentemente preparado.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. SISTEMA 1 – POLIURETANO DERIVADO DE CICLODEXTRINA

Os resultados serão apresentados em 5 partes, começando pelos Sistemas de 1 a 3, depois será apresentada a avaliação da capacidade de encapsulação com fenolftaleína e por último o estudo de dissolução dos complexos de inclusão com a nifedipina.

5.1.1 Síntese dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD

Os polímeros foram preparados em uma etapa. Na reação 1 foi observado que após a adição do TDI à solução de BCD ocorreu a liberação de gás e formação de um sólido branco quebradiço, fato que dificultou a continuidade da reação. O produto foi analisado por IVTF (Figura 14) e o espectro apresentou uma pequena banda em 1532 cm^{-1} proveniente do estiramento da ligação NHCO. Contudo, não foi possível observar a banda característica de estiramento da carbonila da ligação uretânica em 1730 cm^{-1} , sugerindo que a reação não ocorreu, isto pode ser resultado da adição rápida do TDI. Vale comentar que a presença destas duas bandas (ligação NHCO e carbonila da ligação uretânica) no espectro no IVTF é considerada como sendo uma confirmação da formação da ligação uretânica (PINTO *et al*, 2007).

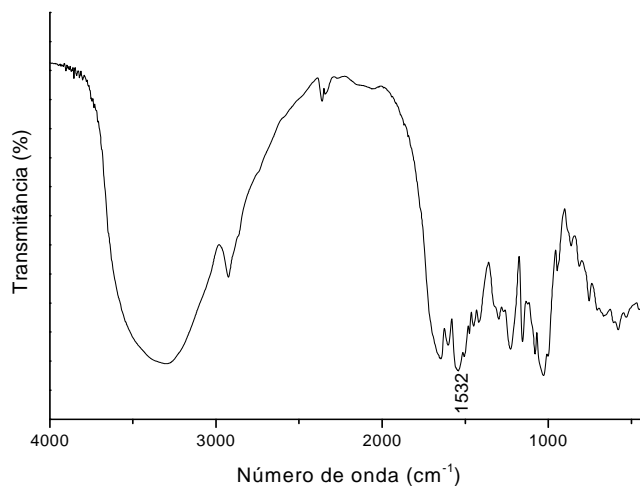


Figura 14- Espectro na região do infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 1.

A amostra da reação 2 foi sintetizada com o mesmo procedimento da reação 1. Entretanto, foi utilizada uma solução de TDI em DMF, que foi adicionada lentamente. Entretanto, o espectro no IVTF (Figura 15) do produto obtido não mostrou sinais da ligação uretânica, como na amostra resultante da reação 1.

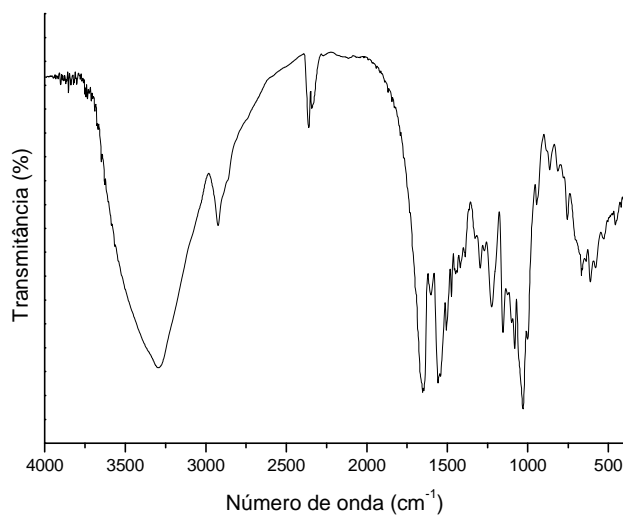


Figura 15 - Espectro na região do infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 2.

Para a reação 3 foi utilizado o mesmo procedimento da reação para obtenção do produto 2, entretanto o TDI foi substituído por um diisocianato mais reativo, o MDI, Após a adição de metade da solução de MDI formou-se uma espuma e não foi possível continuar a reação. O espectro no IVTF (Figura 16) demonstrou uma banda pequena em 1532 cm^{-1} , possivelmente referente ao estiramento da ligação NHCO, mas não foi possível observar a banda característica da carbonila uretânica.

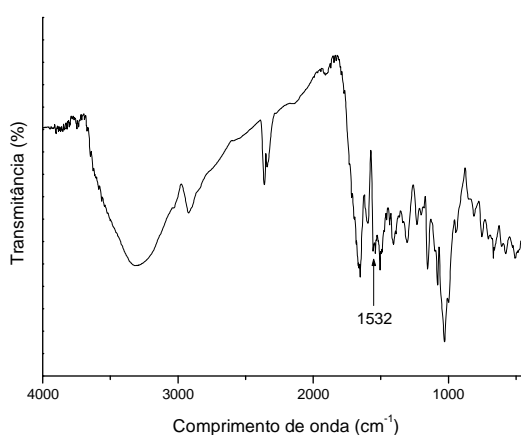


Figura 16 - Espectro no infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 3.

As sínteses dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD foram realizadas de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1.1. Os espectros na região do IVTF do polímero PU/TDI/BCD confirmaram a presença da banda característica da carbonila uretânica em 1716 cm^{-1} e estiramento CNH em 1537 cm^{-1} e o polímero PU/TDI/HPBCD também apresentou em 1712 cm^{-1} e 1537 cm^{-1} as bandas que comprovam a formação de ligações uretânicas. Na Figura 17a estão os espectros de IVTF dos polímeros e na Figura 17b são apresentados os mesmos espectros com mais detalhes.

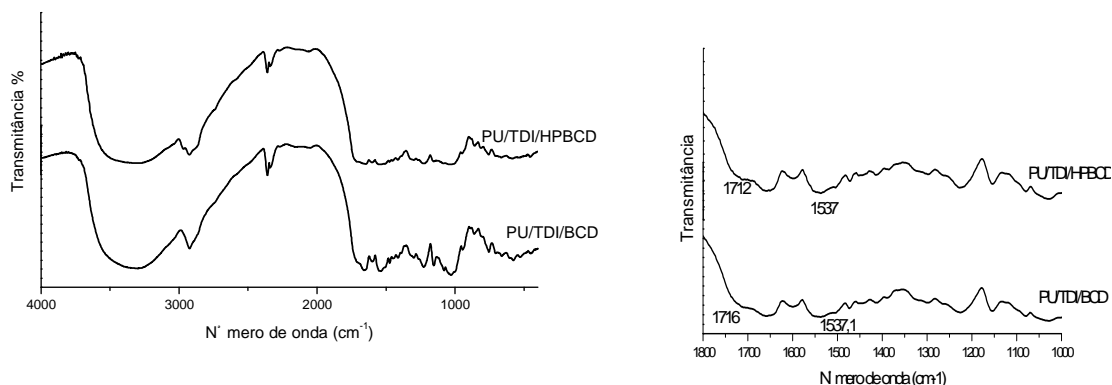


Figura 17 - Espectro no infravermelho (IVTF) dos polímeros PU/TDI/BCD e PU/TDI/HPBCD: na região de 4000 - 400 cm^{-1} (a) na região de 1800 - 400 cm^{-1} (b).

5.1.2 - Síntese dos Polímeros PU/BCD/PEG e PU/HPBCD/PEG.

A presença do polietilenoglicol (PEG) no polímero com unidades de ciclodextrina e ligações uretânicas pode aumentar a hidrofiliabilidade e conferir uma característica de biocompatibilidade no polímero final, já que esta é uma característica do PEG. Vale destacar que, de acordo com o que foi observado na literatura consultada, existem muitas vantagens de se introduzir o PEG em um polímero carreador de fármaco, por ser um polímero solúvel em água e solventes orgânicos; possuir capacidade lubrificante; baixa toxicidade; pequena volatilidade; possibilidade de complexar com metais; pode ser facilmente modificado quimicamente, e apresentar compatibilidade biológica (SAITO *et al*, 2007; HAYAMA *et al*, 2008). A mais interessante entre todas as propriedades do PEG é, certamente, a sua elevada solubilidade em água e muitas das suas aplicações estão associadas com esta propriedade (ODIAN, 2004). Portanto, para a continuidade das reações foi utilizado o PEG como poliol.

Essa síntese foi realizada em duas etapas, usando o método do pré-polímero, com o objetivo de garantir que todas as hidroxilas do PEG reajam, para que, na segunda etapa, fosse acrescentada a ciclodextrina. Na Figura 18 está representada esquematicamente a reação.

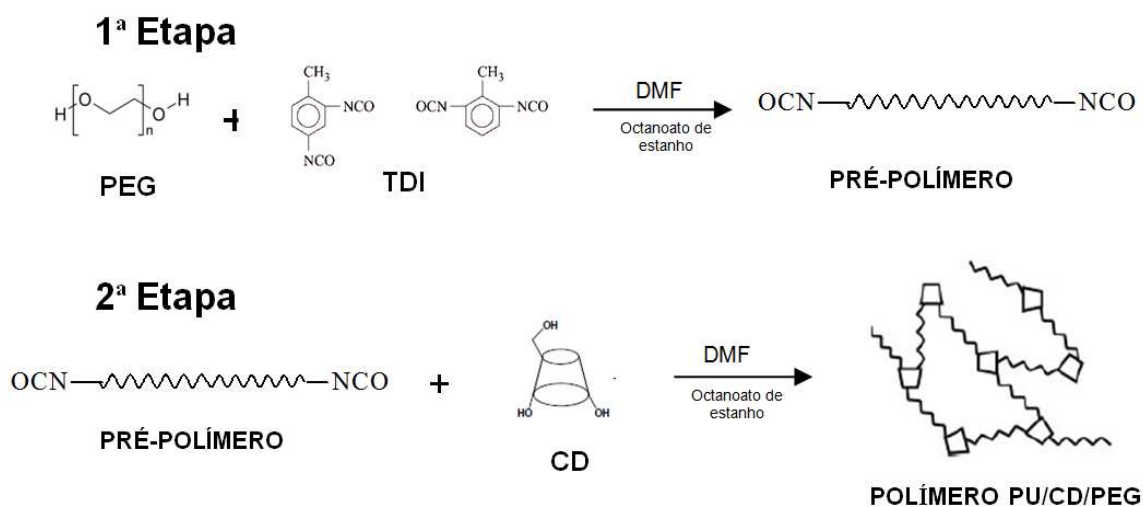


Figura 18 - Representação da reação para a preparação do PU derivado de CD's

Para avaliar a eficiência da reação na primeira etapa do processo, que ocorre entre o polioliol PEG 400 e o TDI, foi feito também o espectro no IVTF do pré-polímero (Figura 19) que mostrou a presença do diisocianato, confirmada pela banda característica em 2270 cm^{-1} e diminuição da banda de hidroxila, confirmando a formação do pré-polímero.

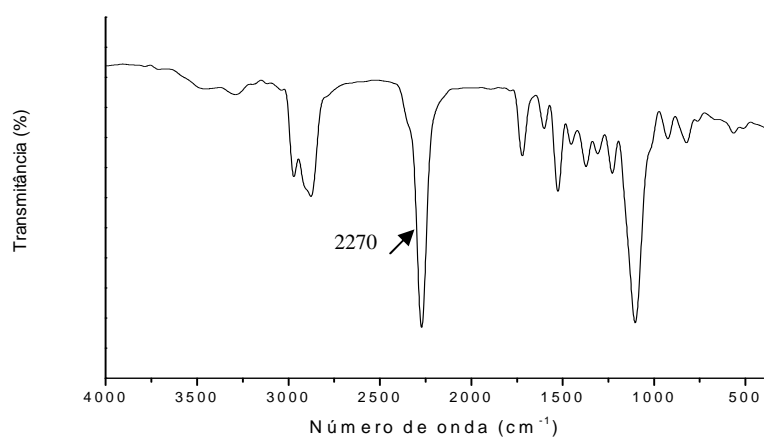


Figura 19 - Espectro no infravermelho (IVTF) do pré-polímero.

Na reação 4 foi mantida a relação molar, daquela utilizada na preparação dos outros polímeros preparados sem o PEG, com o intuito de manter a mesma proporção entre o número de hidroxilas por molécula e o diisocianato. O espectro obtido no IVTF desta reação demonstrou uma banda em 1709 cm^{-1} possivelmente da carbonila do uretano. Também foi observada uma banda em 1539 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação NHCO (Figura 20).

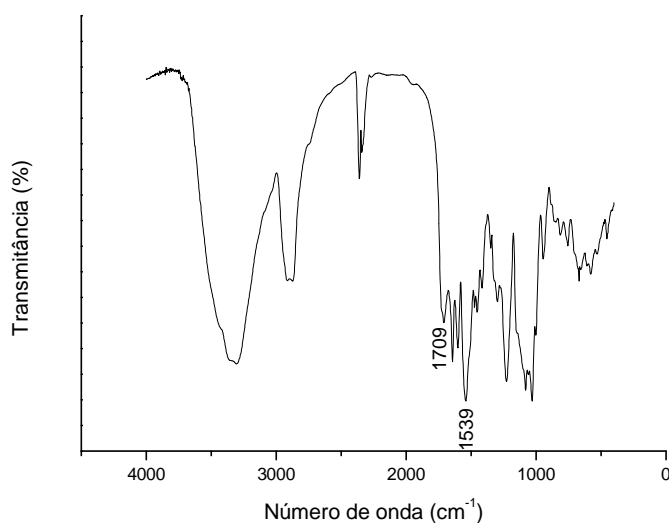


Figura 20 - Espectro no infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 4.

A reação 5 foi realizada pelo mesmo método da reação 4, contudo as quantidades de reagentes foram definidas pelo índice de hidroxila do PEG 400 e do número de hidroxilas da BCD. A análise no infravermelho (Figura 21) revelou a ausência da banda em 2270 cm^{-1} (correspondente ao grupo isocianato) que sugere que a reação foi completa. Também foi observada a banda em 1709 cm^{-1} correspondente ao grupo C=O (uretano) e o estiramento referente ao NHCO observado em 1537 cm^{-1} . A banda em 3300 cm^{-1} do N-H não foi observada, devido sobreposição promovida pela banda da hidroxila remanescente da ciclodextrina. De maneira geral, o espectro no IVTF pareceu indicar a obtenção do polímero com ligações uretânicas.

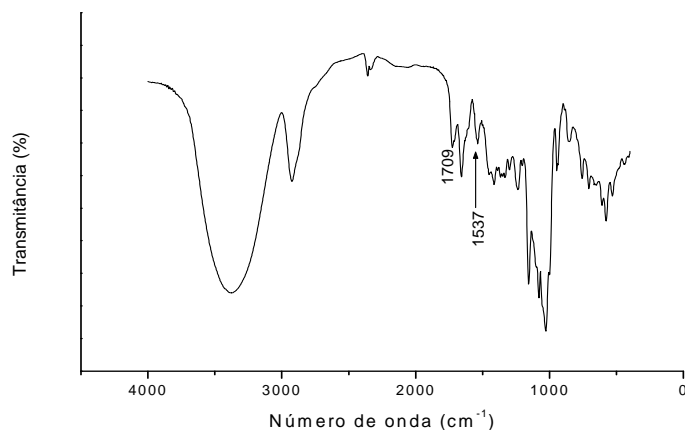


Figura 21 - Espectro no infravermelho (IVTF) da amostra obtida na reação 5.

O procedimento para a obtenção da **amostra 6** foi similar ao adotado para a amostra 5. As metodologias foram diferentes no referente ao tempo de reação e a alteração da natureza do diisocianato, já que foi usado o MDI. Contudo o pó obtido apresentou-se muito fino e difícil de separar.

A polimerização em solução tem uma desvantagem, que consiste na dificuldade em retirar todo o solvente, principalmente em se tratando de DMF, um solvente com alto ponto de ebulição. Por isso, para as amostras 8 e 9, a primeira etapa foi conduzida por polimerização em massa com o MDI. Contudo ocorreu a formação de um gel que tornou a continuação da reação inviável.

Para a amostra 10 foi utilizado o PPG - poli (propilenoglicol) no lugar do PEG e temperatura ambiente na primeira etapa. O gel formado nesta etapa foi menos viscoso do que com o PEG 400, mas na segunda etapa foi obtida uma espuma, e esta amostra 10 foi descartada.

Como não foi obtido sucesso com a utilização do MDI, provavelmente por ser muito reativo, optou-se por sintetizar os polímeros apenas com o TDI. Tendo em vista que as etapas que foram feitas em massa (sem solvente) resultaram na formação de um gel que impedia a continuação da reação, decidiu-se por fazer todas as etapas da reação em solução. Contudo as reações em solução são mais lentas, por isso foi adicionado, em cada etapa, o catalisador octanoato de estanho. Em alguns testes, temperaturas superiores foram testadas, o que favoreceu a formação do gel, tornando necessário o uso de temperaturas em torno de 55°C na primeira etapa e 70°C na segunda etapa.

As reações 12, 13, 14 e 15 foram feitas alterando apenas o tempo da 2ª etapa. A comprovação da formação da ligação uretânica e a formação de um precipitado facilmente filtrável definiram a escolha do tempo de 8 horas para a 2ª etapa da reação. A reação 18 foi sintetizada de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1.2, contudo ao invés da BCD foi utilizada a HPBCD. As reações 21 e 22 seguiram a mesma metodologia, entretanto utilizou-se o PEG 1500 e as amostras das reações 23 e 24 foram sintetizadas com PEG 4000. Nas reações 21 e 23 foi utilizada a BCD e nas reações 22 e 24 foi usada a HPBCD.

Os polímeros sem PEG foram obtidos na forma de um pó branco amarelado e aqueles com PEG apresentaram uma coloração amarela mais intensa. Todos os polímeros foram insolúveis em solventes orgânicos ou inorgânicos. Na Tabela II estão os rendimentos mais elevados.

Tabela II: Rendimento dos polímeros do sistema com a BCD

Polímeros	Massa (g)	Rendimento (%)
PU/TDI/BCD	2,18	69,4
PU/TDI/BCD/PEG400	4,12	79,8
PU/TDI/BCD/PEG1500	4,05	78,5
PU/TDI/BCD/PEG4000	3,89	75,4

Tabela III: Rendimento dos polímeros do sistema com a HPBCD

Polímeros	Massa (g)	Rendimento (%)
PU/TDI/HPBCD	1,87	59,6
PU/TDI/HPBCD/PEG400	4,07	78,9
PU/TDI/HPBCD/PEG1500	3,93	76,1
PU/TDI/HPBCD/PEG4000	3,81	73,8

O resumo das reações realizadas para chegar à metodologia e os detalhes de cada reação está mostrado na Tabela IV. Foram selecionados oito polímeros, constantes na Tabela V, para serem caracterizados. Estes polímeros foram escolhidos considerando a confirmação da reação através da análise dos espectros obtidos por IVTF que apresentaram as bandas características das ligações uretânicas e a presença da ciclodextrina.

Tabela IV: Quadro resumo das reações de síntese dos Pu's derivados de ciclodextrinas

Reações	REAGENTES						1ª ETAPA			2ª ETAPA			IVTF	OBSERVAÇÕES
	PEG/DMF	PPG/DMF	MDI	TDI/DMF	BCD/DMF	HPBCD/DMF	Tempo	Temp.	Cat.	Tempo	Temp.	Cat.		
01	—	—	—	2,3 mL	5 g/15 mL	—	20 min	70°C	não	—	—	não	Sem bandas características de PU	Sólido branco quebradiço (aparência de gelo picado)
02	—	—	—	1,0 mL/5 mL	5 g	—	4 horas	65°C	não	—	—	não	Sem bandas características de PU	Precipitado em metanol Pó fino branco
03	—	—	1,0 mL/5 mL	—	5 g	—	5 min	65°C	não	—	—	não	1532 - v (C-N-H)	Após a adição de metade da solução de MDI formou-se uma espuma e não foi possível continuar a reação
04	1 g/30 mL	—	—	1 mL	1,5 g/30 mL	—	30 min	60°	não	4 horas	60°C	não	1709 - v (C = O) uretano. 1539 - v (C-N-H)	O polímero foi recolhido por centrifugação (pó muito fino)
05	5 g	—	—	1,72 g	3,95 g/10 mL	—	2 horas	60°	não	15 min	80°C	não	1709 - v (C = O) uretano. 1537 - v (C-N-H)	Precipitado em metanol
06	5 g	—	1,72 g	—	3,95 g/10 mL	—	4 horas	60°	não	2 horas	80°C	não	1725 - v (C = O) uretano 1535 - v (C-N-H)	
07	Esta amostra foi feita com o mesmo procedimento da amostra 6, utilizando butanodiol no lugar da BCD – o IVTF não apresentou banda características de PU													
08	5 g	—	6,25 g	—	3,54 g/16,5% em massa	—	100 min	55°	2 gotas	—	—	—	Não foi feito Amostra descartada	Tentativas 8a, 8b, 8c – descartadas por formação de gel –

Reações	REAGENTES						1ª ETAPA			2ª ETAPA			IVTF	OBSERVAÇÕES
	PEG/dmf	PPG/dmf	MDI	TDI/dmf	BCd/dmf	HPBCd/dmf	Tempo	Temp.	Cat.	Tempo	Temp.	Cat.		
09	5g	—	625g	—	3,54g 16,5% em massa	—	100min	ambiente	2gotas	—	—	—	Não foi feito Amostra descartada	Formação de gel rígido que não permitiu a adição total da BCD
10	—	5g	625g	—	3,54g 16,5% em massa	—	100min	Ambiente	2gotas	—	—	—	Não foi feito Amostra descartada	
11	—	—	—	1,14g	2g/10mL	—	4horas	70°C	1gota	—	—	—	1716 - v (C = O) 1537 - v (C-N-H)	
12	2g/10mL	—	—	1,74g/10mL	1,42g 16,5% em massa	—	100min	55°C	2gotas	1hora	70°C	não	Não foi feito Amostra descartada	Pó muito fino
13	Metodologia análoga da amostra 12, entretanto na segunda etapa a reação foi deixada por 4 horas											Não foi feito	Pó muito fino	
14	As quantidades de reagentes foi a mesma da reação para obtenção da amostra 12, contudo a 1ª etapa foi feita em massa e a adição do catalisador foi feita na segunda etapa no momento da adição da solução de BCD											Não foi feito Amostra descartada	Formação de gel na segunda etapa	
15	2g/5mL	—	—	1,74g/5mL	1,42g/10mL	—	90min	50°C	1gota	4horas	70°C	não	Não foi feito	Não foi possível separar o sólido
16	Metodologia análoga da amostra 15, entretanto a segunda etapa a reação foi conduzida por 8 horas											1730 - v (C = O) uretano 1535 - v (C-N-H)		
17	Duplicata da amostra 16											Não foi feito		
18	2g/5mL	—	—	1,74g/5mL	—	1,42g/10mL	90min	50°C	1gota	8horas	70°C	não	1736 - v (C = O) uretano 1539 - v (C-N-H)	
19	—	—	—	1,14g	—	2g/10mL	4horas	70°C	1gota	—	—	—	1712 - v (C = O) uretano 1537 - v (C-N-H)	

Tabela V: Polímeros derivados de ciclodextrinas com ligações uretânicas obtidos com êxito.

POLÍMEROS	Nº da reação	PEG/DMF	TDI/DMF	BCD/DMF	HPBCD/DMF	1ª ETAPA			2ª ETAPA		
						TEMPO	TEMPER.	CATAL.	TEMPO	TEMPER.	CATAL.
PU/TDI/BCD/TDI	11	—	1,14 g	2 g/10 mL	—	4 horas	70°C	1 gota	—	—	—
PU/TDI/BCD/TDI/PEG400	16	2g/5 mL	1,74 g/5 mL	1,42g/10 mL	—	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
PU/TDI/HPBCD/TDI/PEG400	18	2g/5 mL	1,74 g/5 mL	—	1,42g/10 mL	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
PU/TDI/HPBCD/TDI	19	—	1,14g	—	2g/10 mL	4 horas	70°C	1 gota	—	—	—
PU/TDI/BCD/TDI/PEG 1500	21	2g/20 mL	1,74 g/10 mL	1,42g/30 mL	—	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
PU/TDI/HPBCD/TDI/PEG1500	22	2g/20 mL	1,74 g/10 mL	—	1,42g/30 mL	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
PU/TDI/BCD/TDI/PEG4000	23	2g/20 mL	1,74 g/10 mL	1,42g/30 mL	—	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota
PU/TDI/HPBCD/TDI/PEG4000	24	2g/20 mL	1,74 g/10 mL	—	1,42g/30 mL	90 min	50°C	1 gota	8 horas	70°C	1 gota

5.1.3. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

Os polímeros deste sistema são derivados de ciclodextrinas (BCD ou HPBCD) com diisocianato de tolileno (TDI). A interpretação espectral para polímeros é feita empiricamente, comparando-se as frequências vibracionais observadas com as fundamentais dos grupos funcionais característicos, como base na frequência do monômero ou do oligômero (CANEVAROLO JR., 2003). A presença da estrutura uretânica pode ser detectada com base nas bandas em 1530 cm^{-1} e 3300 cm^{-1} características do estiramento das ligações C - N - H, e em 1730 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da carbonila uretânica e em 1100 cm^{-1} que é relativa ao estiramento da ligação C - O - C do éter. Na Tabela VI são mostradas as bandas de absorção das ligações uretânicas na região do infravermelho, conforme descrito na literatura (PINTO *et al.*, 2007).

Tabela VI: Bandas características de poliuretanos no espectro de IVTF (PINTO *et al.*, 2007).

Comprimento de onda (cm^{-1})	Atribuições ν = estiramento
3300	ν (N - H) de amida (H ligado)
1730	ν (C = O) uretano (carbonila ligada)
1530	ν (C - N - H)
1100	ν (C - O - C)

A ciclodextrina apresenta espectro de absorção na região do infravermelho peculiar devido ao grande número de grupos -OH. Na Figura 22 são apresentados os espectros da BCD e da HPBCD utilizadas neste trabalho e, na Tabela VII, são mostradas as bandas características das ciclodextrinas. A região do estiramento OH (3341 cm^{-1}) para a CD é de difícil interpretação, porque os grupos hidroxila primários e secundários podem realizar ligações de hidrogênio intra ou intermoleculares. Interações desta natureza também podem ser formadas entre moléculas de água complexadas na cavidade ou entre moléculas de água na

superfície da ciclodextrina. A banda em 2927 cm^{-1} é atribuída à deformação axial C-H, enquanto que as bandas em 1419 cm^{-1} e 1333 cm^{-1} são de deformação angular no plano de álcoois primários e secundários, respectivamente. Outra banda característica importante é a de deformação axial assimétrica C-O-C em 1157 cm^{-1} , que é observada para a maioria dos sacarídeos e é atribuída à vibração do anel da piranose e ao estiramento assimétrico das ligações glicosídicas. Na região entre 1334 cm^{-1} e 850 cm^{-1} verifica-se a presença de várias bandas atribuídas aos acoplamentos característicos da BCD (EGYED, 1990).

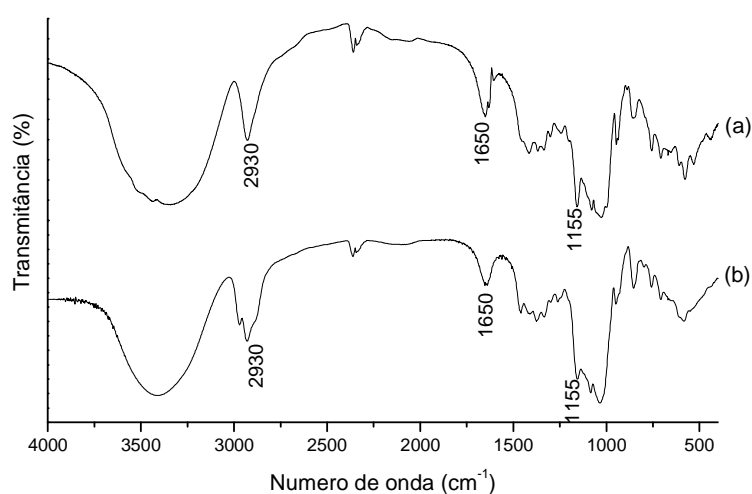


Figura 22 - Espectros na região do infravermelho (IVTF) da BCD(a) e da HPBCD(b).

Tabela VII: Bandas características das ciclodextrinas no espectro de IVTF

Comprimento de onda	Atribuições * v = estiramento; δ = deformação
3341 cm ⁻¹	v (O-H)
2970 e 2930 cm ⁻¹	v (C-H)
1650 cm ⁻¹	δ angular de (O-H)
1458 cm ⁻¹	δ (C-H) de CH ₂ e CH ₃
1377 cm ⁻¹	δ (C-H) de CH ₃
1334 cm ⁻¹	acoplamento δ(C-C-H), δ(C-O-H), δ(H-C-H)
1261 cm ⁻¹	acoplamento δ(O-C-H), δ(C-O-H), δ(C-C-H)
1155 e 1080 cm ⁻¹	acoplamento v(C-O), v(C-C), δ(C-O-H)
1031 cm ⁻¹	acoplamento v(C-C), δ(O-C-H), δ(C-C-H), δ (C-C-O)
948 cm ⁻¹	vibrações do esqueleto envolvendo as ligações α-1,4
850 cm ⁻¹	acoplamento δ(C-C-H), v(C-O)

*atribuições feitas com base em estudo relatado na literatura (EGYED,1990).

Os espectros na região do infravermelho do PEG de massa molar 400, 1500 e 4000 são apresentados na Figura 23. Para o PEG, as absorções características são uma banda larga e intensa em 3400 cm⁻¹, devido aos grupos hidroxila terminais do PEG associados por ligações de hidrogênio; uma banda intensa em 1110 cm⁻¹ devido ao estiramento assimétrico C-O-C e; em 1245, uma banda relativa à deformação axial assimétrica de C-O-C (DRUMOND *et al.*, 2004). Como era de se esperar, os espectros na região do IVTF para os PEG's usados neste trabalho mostraram-se muitos semelhantes, independente da massa molar do poli-ol. Apenas são observadas diferenças nas bandas principais: na intensidade das bandas de hidroxila OH e de COC.

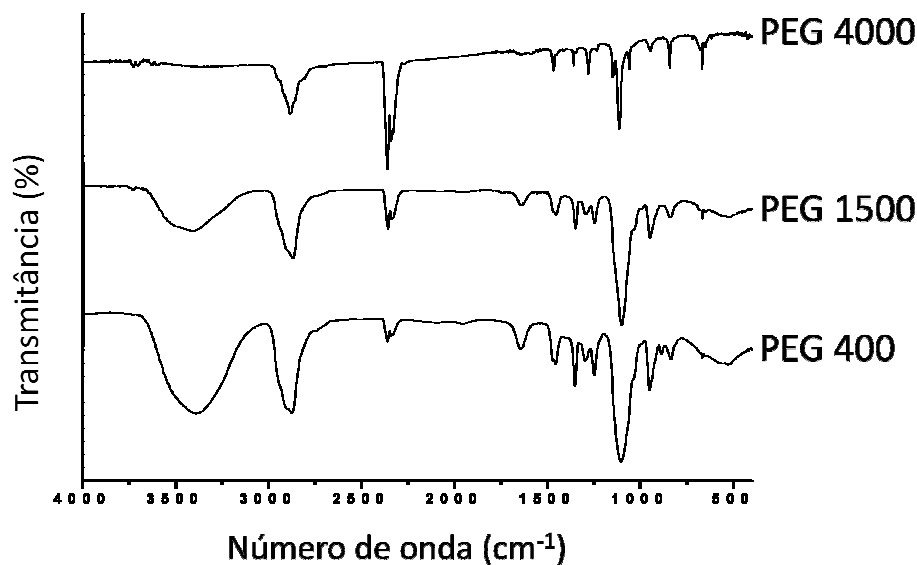


Figura 23 - Espectros na região do infravermelho dos PEG's de massa molar 400, 1500 e 4000.

Os polímeros uretânicos foram avaliados por IVTF (Figura 24). De maneira geral os produtos apresentaram espectros semelhantes às ciclodextrinas com ênfase na banda da região de OH (~3500). Também pode ser observado que os espectros relativos aos polímeros apresentaram bandas características das ligações uretânicas, conforme Tabela VIII, sugerindo a formação do poliuretano, conforme esperado.

Nos espectros na Figura 24 pode-se notar, ainda, a ausência da banda característica do isocianato livre (2250-2275 cm⁻¹), sugerindo que a reação de polimerização foi completa sem a presença de isocianato livre. Em 3410 cm⁻¹ pode-se observar uma banda larga atribuída a grupos hidroxila que não reagiram. Estas observações estão de acordo com a literatura (BHASKAR *et al.*, 2004; CESTEROS *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2002), fato que pode conferir propriedades que ampliam a aplicação do polímero. A presença da ciclodextrina no polímero pode ser observada pelo aparecimento da banda bem alargada que é mais similar à banda de hidroxila da ciclodextrina do que a do PEG. Esses fatos permitem sugerir que a metodologia adotada para a síntese foi eficaz para a obtenção dos polímeros de CD's com ligações uretânicas. Entretanto não foi possível, visualmente, observar diferenças entre espectros dos polímeros sintetizados, principalmente em relação à

presença do PEG. Por este motivo foi utilizado um processo quimiométrico para indentificar algumas diferenças entre os polímeros.

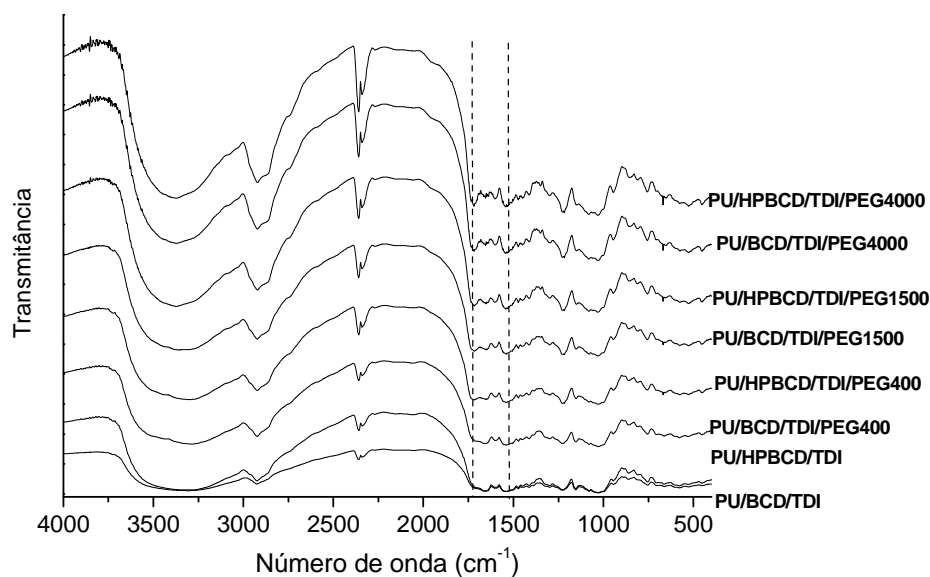


Figura 24 - Espectros na região do infravermelho (IVTF) dos polímeros uretânicos do (sistema 1)

Tabela VIII: Bandas características de ligações uretânicas nos polímeros obtidos (baseado em PINTO *et al.*, 2007).

	Bandas Características de ligações uretânicas
PU/TDI/BCD	1716- v (C = O) uretano, 1537 - v (C – N - H)
PU/TDI/BCD//PEG400	1730- v (C = O) uretano, 1535 - v (C – N - H)
PU/TDI/BCD/PEG1500	1716- v (C = O) uretano, 1543 - v (C – N - H)
PU/TDI/BCD/PEG4000	1722- v (C = O) uretano, 1544 - v (C – N - H)
PU/TDI/HPBCD	1712- v (C = O) uretano, 1537 - v (C – N - H)
PU/TDI/HPBCD//PEG400	1735- v (C = O) uretano, 1539 - v (C – N - H)
PU/TDI/HPBCD/PEG1500	1720- v (C = O) uretano, 1544 - v (C – N - H)
PU/TDI/HPBCD/PEG4000	1722- v (C = O) uretano, 1546 - v (C – N - H)

5.1.4. Análise das componentes principais aplicada aos espectros de IVTF

Visando avaliar o sistema de forma mais eficiente, foi feita a análise das componentes principais aplicadas aos espectros de IVTF das ciclodextrinas, dos PEG's e dos polímeros obtidos.

A PCA, “*Principal Component Analysis*”, ou análise de componentes principais é um método matemático qualitativo empregado para reorganizar as informações de um conjunto de dados de amostragem. Torna-se muito útil quando o conjunto de amostras possui informações com um grande número de variáveis, como nos dados espectroscópicos. O que um PCA permite é descobrir novas variáveis, isto é, os “*Principal Components*” PC ou os componentes principais, que consigam reunir a maioria da variabilidade dos dados. Cada componente principal é calculado de forma a reter a maior quantidade de variância presente nas variáveis originais. Isto permite descrever a informação com menos variáveis do que as originalmente presentes (DAVIES & FEARN, 2004).

No quadro abaixo, é mostrada a numeração do conjunto de dados utilizada no PCA:

1	HPBCD	6	PEG 4000	11	PU/TDI/HPBCD
2	BCD	7	Pré-polímero (PEG + TDI)	12	PU/BCD/PEG1500
3	TDI	8	PU/TDI/BCD	13	PU/HPBCD/PEG1500
4	PEG 400	9	PU/BCD/PEG400	14	PU/BCD/PEG4000
5	PEG 1500	10	PU/HPBCD/PEG400	15	PU/HPBCD/PEG4000

Os sinais foram pré-processados por alisamento e “*mean centering*” (ou centrar na média) que envolve a subtração da resposta de cada variável sobre a resposta média dessa variável nos dados em todas as amostras. O objetivo da remoção da média é eliminar, dos dados, o valor da intensidade de cada variável revelando apenas flutuações em torno do valor médio (NAES *et al.*, 2002). Para a PCA foi construído um modelo com 3 CP's que explica 97,50 % dos dados, sendo 90,46 % da variância total descrita pela primeira componente principal. O gráfico de scores para a CP3 e CP1 está representado na Figura 25, que contém 93,06 % da

variabilidade total presente da região entre 2000 e 1000 cm^{-1} nos espectros de IVTF .

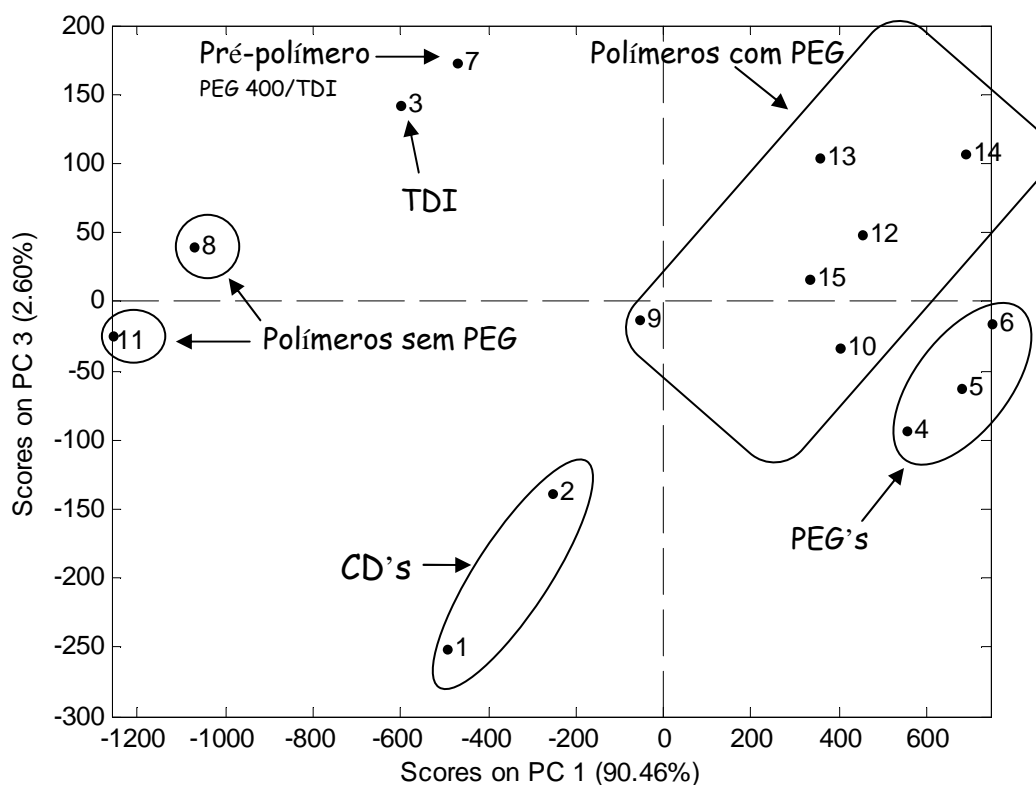


Figura 25 - Coordenadas fatoriais PC3 vs. PC1 da região no infravermelho entre 2000 e 1000 cm^{-1}

A avaliação das componentes principais permite observar grupos semelhantes dentro da região 2000-1000 cm^{-1} dos espectros obtidos por espectroscopia na região do infravermelho. As ciclodextrinas ficaram próximas (1 e 2), enquanto que o TDI (3) e o pré-polímero (7) também apresentaram semelhanças entre si. Todavia, o mais importante desta análise foi observar que os polímeros obtidos foram separados considerando a presença ou a ausência do polioliol PEG, independente da massa molar do polioliol, indicando que a reação inicial do PEG com o TDI para a formação de pré-polímero foi eficaz, considerando que, pelos resultados mostrados nos gráficos, os polímeros representados por 8 e 11 estão distantes do PEG, enquanto que os outros polímeros estão agrupados e próximos ao PEG. Outro ponto importante a ser visto é que os polímeros não estão próximos às ciclodextrinas. Este resultado pode ser explicado pela região escolhida entre 2000 e 1000 cm^{-1} , a qual não é característica da ciclodextrina e sim do

restante da molécula do PU. Por outro lado, não há dúvida da presença da ciclodextrina, pois os espectros analisados integralmente são semelhantes ao perfil da ciclodextrina (Figura 25), conforme já comentado.

Através da PCA aplicada aos espectros no IVTF, não foi possível distinguir entre polímeros com ciclodextrinas diferentes ou com PEG's de massas molares diferentes. Isso pode ser atribuído à semelhança entre os espectros no IVTF da BCD e da HPBCD ou entre os espectros dos PEG's utilizados.

Após a aplicação dos métodos analíticos e das devidas comparações entre os resultados, foi observado que as reações foram bem sucedidas, pois foi possível confirmar a formação de ligações uretânicas, a presença da ciclodextrina bem como a do PEG nos polímeros obtidos.

5.1.5. Análise termogravimétrica (ATG)

Considerando as curvas de TG (Figuras 26 e 27), pode-se observar que as ciclodextrinas são relativamente estáveis em temperaturas altas. Nas curvas de TG podemos observar dois estágios de decomposição térmica para as CD's, um a 100°C e outro a 300°C. A perda de massa a 100 °C é devido à perda da água e a 300°C ocorrem simultaneamente dois eventos: a fusão dos cristais da beta-ciclodextrina e a decomposição térmica (ÉHEN *et al*, 2005; QUIÑONES, 2001). As curvas de TG da decomposição térmica dos polímeros foram observadas em diferentes regiões revelando um processo em três etapas. A primeira pode ser interpretada como perda de água. A segunda e a terceira etapas indicam perdas de massa e estão associadas com a clivagem das ligações uretânicas e volatilização dos produtos resultantes da decomposição, que em todos os polímeros termina em torno de 500°C. Os resultados obtidos estão de acordo com sistemas semelhantes relatados na literatura (BHASKAR, 2004; LEE *et al.*, 2002). As faixas de temperatura das etapas são descritas na Tabela IX. Independente da composição do polímero as perdas de massa ocorreram nas mesmas faixas de temperatura.

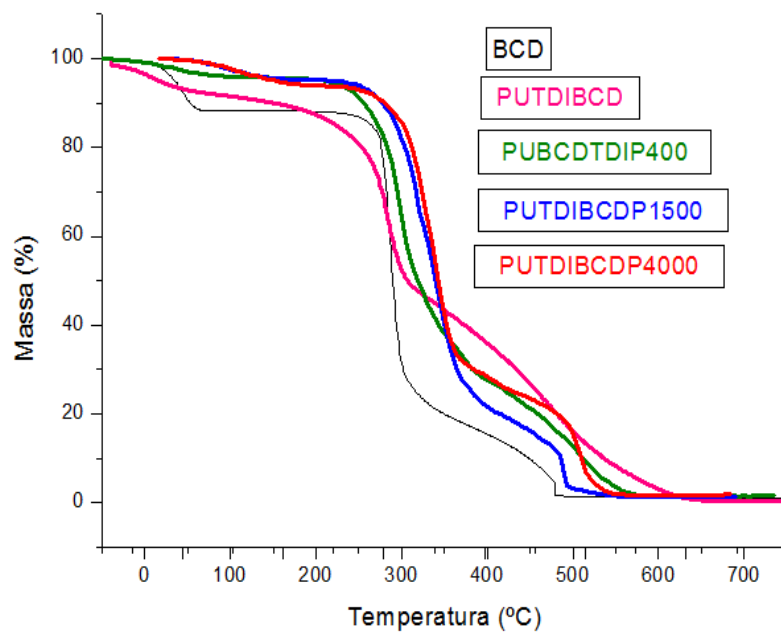


Figura 26 – Curvas de TG dos polímeros uretânicos derivados da beta-ciclodextrina.

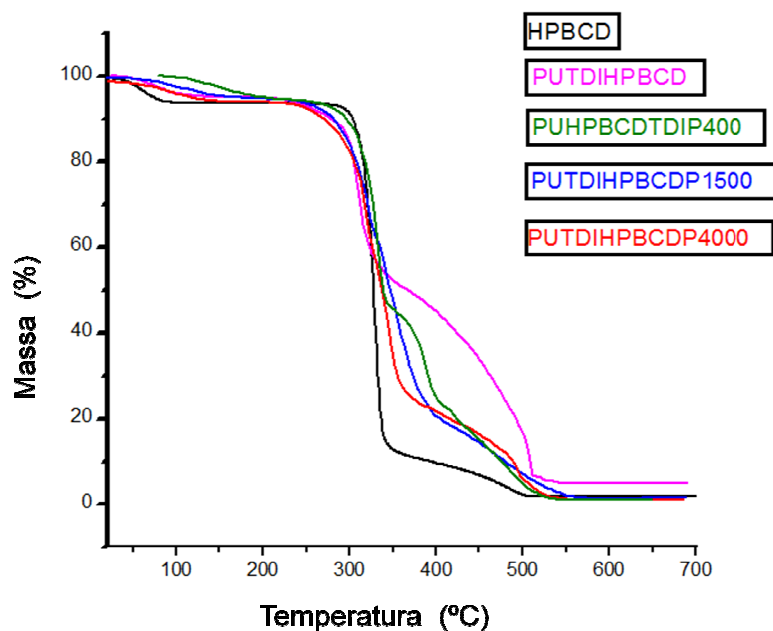


Figura 27 – Curvas de TG dos polímeros uretânicos derivados da hidroxipropil-beta-ciclodextrina.

Tabela IX: Faixa de temperatura das etapas de decomposição visualizadas na análise termogravimétrica.

Polímeros	1ª etapa	2ª etapa	3ª etapa
PU/TDI/BCD	40°C-150°C	280°C-360°C	360°C-500°C
PU/TDI/HPBCD	40°C-190°C	250°C-340°C/340°C-400°C	400°C-550°C
PU/TDI/BCD/PEG400	40°C-150°C	240°C-380°C	380°C-510°C
PU/TDI/HPBCD/PEG400	40°C-180°C	250°C-410°C	410°C-540°C
PU/TDI/BCD/PEG 1500	50°C-190°C	260°C-410°C	410°C-500°C
PU/TDI/HPBCD/PEG1500	40°C-180°C	250°C-410°C	410°C-500°C
PU/TDI/BCD/PEG4000	40°C-210°C	260°C-400°C	410°C-520°C
PU/TDI/HPBCD/PEG4000	60°C-180°C	250°C-400°C	400°C-510°C

5.1.6. Difractometria de raio-X (DRX)

Raios-X são ondas eletromagnéticas da ordem de poucos ângstrons de comprimento de onda. Se incidirmos um feixe de tais ondas sobre um cristal ocorre difração e um número de raios difratados aparece em adição ao feixe primário. Os átomos e moléculas de um cristal estão arranjados em estruturas ordenadas de tal maneira que as celas unitárias têm a mesma ordem de comprimento de onda dos raios-X. Desde que o ângulo de incidência do raio-X sobre o plano seja igual ao ângulo de sua reflexão a partir do plano, o ângulo entre o raio incidente e o raio difratado é igual a 2θ . Dessa maneira, pode ser considerado que cada raio difratado é gerado por um conjunto de planos paralelos e aparece somente se o sistema de planos estiver em uma posição de reflexão. Quando a amostra tem uma estrutura não periódica ou se o retículo for suficientemente perturbado, os diagramas de difração de raios-X não serão limitados a pontos, manchas ou linhas, mas conterão regiões mais ou menos extensas de espalhamento, chamados de halos ou halo-amorfos caracterizando um sistema não cristalino (JENKINS & SNYDER, 1996).

Nas Figuras 28 e 29 são apresentados os difratogramas dos polímeros derivados da BCD e da HPBCD, respectivamente. Os difratogramas dos materiais

poliméricos uretânicos à base de BCD (Figura 28b, 28c, 28d, 28e) revelaram uma estrutura com característica não cristalina, diferente da BCD (Figura 28a) que tem um padrão cristalino, com picos de maior intensidade em $2\theta = 12,4$ e $22,6$. Este resultado sugere que a reação com o diisocianato produziu uma reticulação que fez com que a BCD perdesse o padrão inicial. Ao contrário da BCD, a HPBCD não apresentou um padrão cristalino (Figura 29a) revelando dois halos amorfos centrados em 2θ igual a 11 e 17. Os difratogramas dos polímeros derivados de HPBCD (Figura 29b, 29c, 29d, 29e) apresentaram, também, uma característica não cristalina, mas este padrão foi diferente daquele observado para a HPBCD já que apenas um halo alargado foi observado em todos os difratogramas dos polímeros uretânicos de HPBCD.

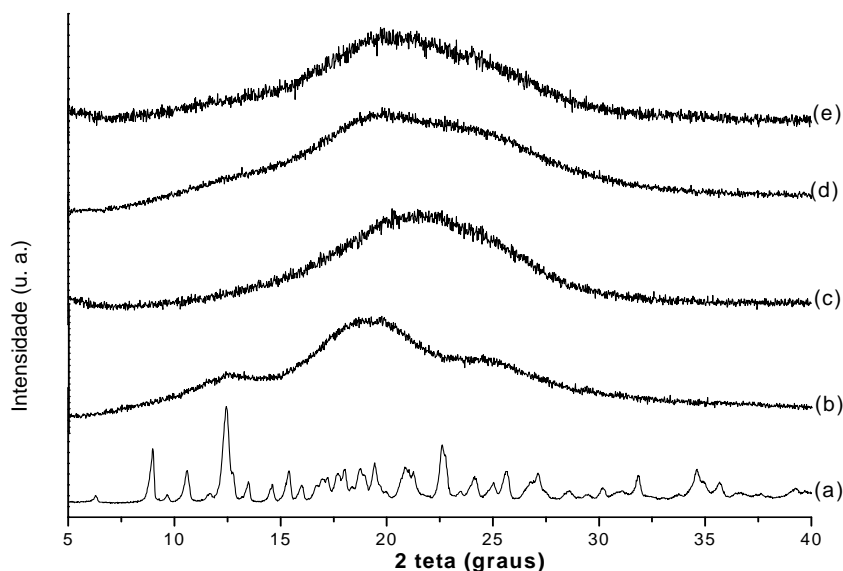


Figura 28 – Difratogramas da BCD (a), PU/TDI/BCD (b), PU/TDI/BCD/PEG400 (c), PU/TDI/BCD/PEG1500 (d) e PU/TDI/BCD/PEG4000 (e).

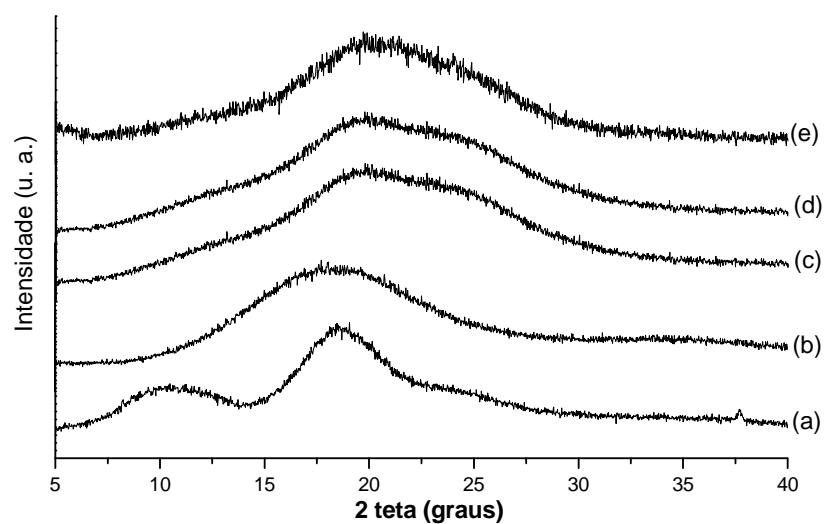


Figura 29 – Difratoogramas da HPBCD (a), PU/TDI/HPBCD (b), PU/TDI/HPBCD/PEG400 (c), PU/TDI/HPBCD/PEG1500 (d) e PU/TDI/HPBCD/PEG4000 (e).

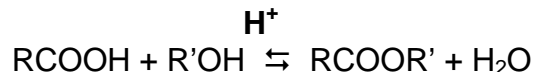
Considerando os resultados das técnicas de caracterização utilizadas para este sistema pode-se sugerir que ocorreu a formação de polímeros reticulados derivados de ciclodextrina com ligações uretânicas com ou sem a presença do poli(etilenoglicol).

5.2. SISTEMA 2 – POLÍMERO ACRÍLICO DERIVADO DE CICLODEXTRINA

Neste tópico serão relatadas as sínteses e a caracterização do monômero vínico (MBCD) obtido a partir da BCD e do anidrido metacrílico e do copolímero (MBCD-co-MMA) formado por este monômero (MBCD) e o metacrilato de metila (MMA).

5.2.1. Síntese do monômero vínico com ciclodextrina (MBCD) – Incluindo as reações iniciais.

Para a obtenção do monômero vínico com ciclodextrina foi proposta a realização de uma reação de esterificação de Fischer, que envolve a formação de um éster a partir de um álcool com um ácido ou seu derivado por meio de uma reação reversível, catalisada por ácido mineral (BRUICE, 2006; SOLOMONS, 2005).



Como o ponto de equilíbrio controla a quantidade de éster formada, o uso de um excesso de ácido carboxílico ou de álcool aumenta o rendimento com base no reagente limitante. O mecanismo geral de uma reação de esterificação está descrito abaixo (Figura 30) (BRUICE, 2006; SOLOMONS, 2005).

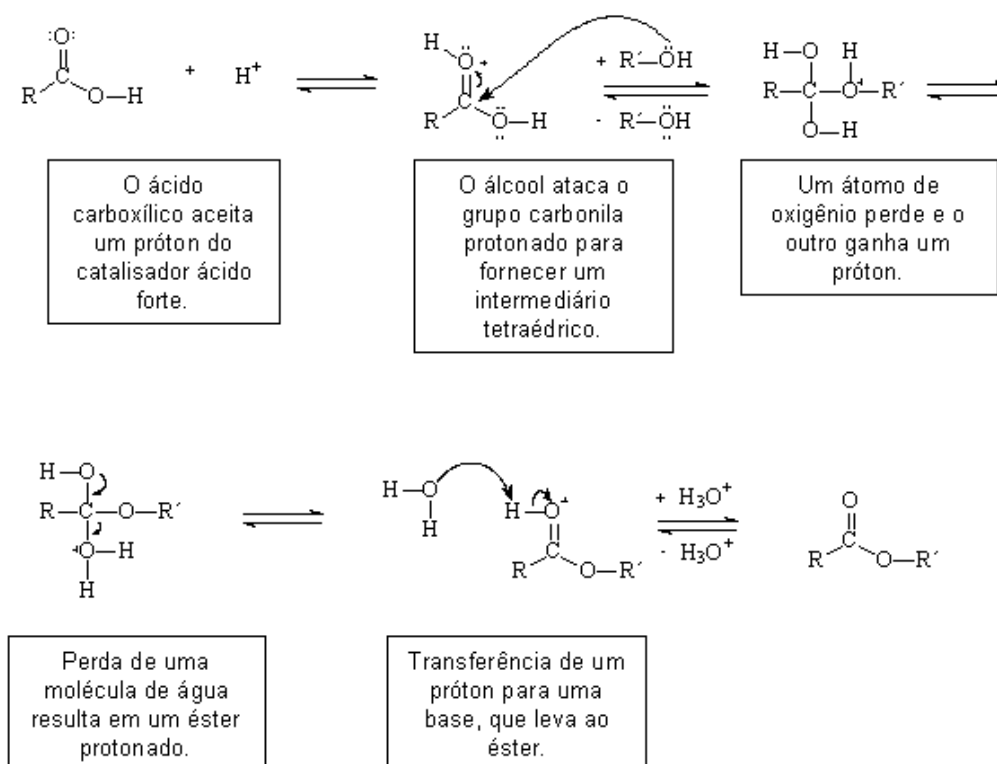


Figura 30 - Mecanismo geral da reação de esterificação partindo de um ácido carboxílico (adaptado de Solomons et al., 2001).

A primeira tentativa da reação de esterificação do sistema 2 (S2I) foi realizada com ácido acrílico (AA) e beta-ciclodextrina (BCD). A reação foi conduzida utilizando catálise heterogênea, usando a resina Amberlyst 15, porém, como não houve uma boa dissolução da BCD no ácido acrílico, não foi observada a formação do produto. Na segunda reação (S2II) foi utilizada a hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HPBCD), a qual foi bem mais solúvel no sistema empregado. Após 1 hora, a mistura reacional adquiriu uma coloração castanho-escuro sugerindo que houve decomposição da HPBCD. Para evitar este efeito de decomposição, a terceira tentativa de reação (S2III) foi feita com as mesmas condições, mas em atmosfera de nitrogênio. Contudo, o resultado observado foi idêntico ao da reação anterior, sugerindo que a presença do catalisador ácido poderia estar promovendo a decomposição da ciclodextrina. Para confirmar essa observação, foi feita uma reação nas mesmas condições, mas sem a resina Amberlyst e foi observado que não ocorreu degradação. Após essa constatação a resina Amberlyst foi substituída pelo catalisador tipo zeólita, na quarta reação deste sistema (S2IV), o qual possui

um caráter ácido menos acentuado. Neste caso não foi observado alteração de cor, o que indicou que não houve decomposição. A mistura reacional foi analisada por IVTF, entretanto não foram observadas bandas características de éster que confirmassem a obtenção do produto desejado.

Fatores estéricos afetam intensamente a reação de esterificação, grupos volumosos próximos ao sítio de reação, tanto no componente álcool quanto no componente ácido, reduzem a velocidade da reação (SYKES, 1986). Como a ciclodextrina apresenta uma estrutura volumosa esse pode ser o motivo de não ter sido obtido o produto desejado partindo do ácido acrílico. Portanto, uma alternativa foi a utilização de derivados de ácidos mais reativos, como cloretos de acila ou anidridos.

A reação de anidrido com álcool na presença de piridina mostra que, inicialmente, ocorre um ataque nucleofílico da piridina ao carbono da carbonila do anidrido. Forma-se um ânion acetato e um derivado da piridina, que logo em seguida, reage com o álcool presente, formando o éster e regenerando a piridina, como mostrado na Figura 31 (SOARES, 1988).

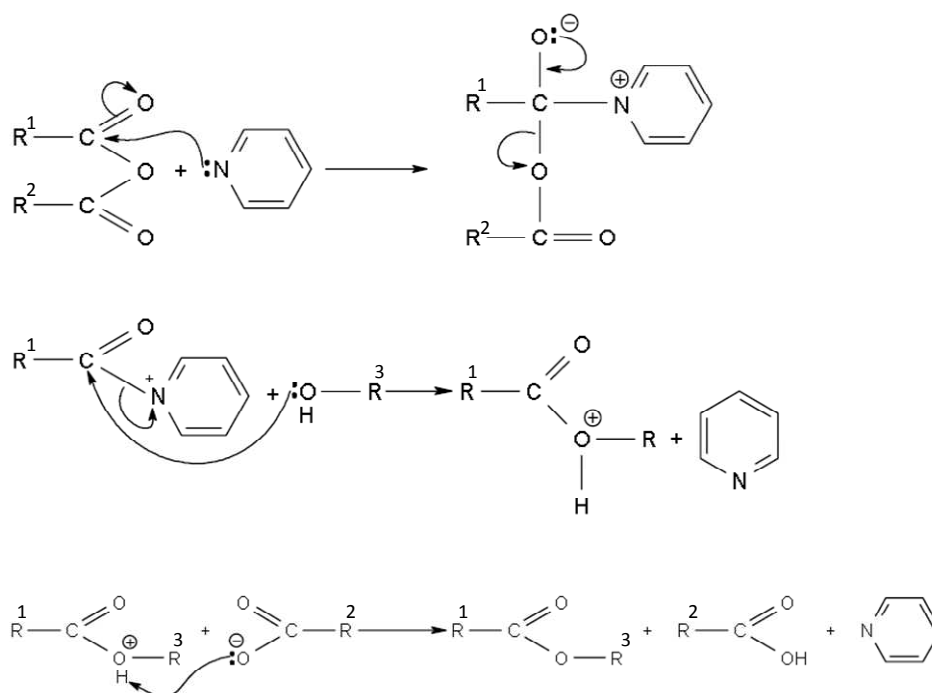


Figura 31 - Mecanismo geral da reação de esterificação partindo de um anidrido em meio de piridina (SOARES, 1988).

Assim a quinta reação (S2V) (Figura 32) foi realizada com o anidrido metacrílico e BCD em presença de piridina. O material foi obtido por precipitação em metanol e, após lavagem, apresentou o aspecto de um pó fino e branco. O espectro de IVTF mostra a presença de bandas que confirmam a formação da ligação éster e a presença de insaturações, conforme esperado (Figura 34). Esse espectro será discutido na caracterização do monômero e do copolímero, o procedimento de obtenção do MBCD está detalhado na metodologia.

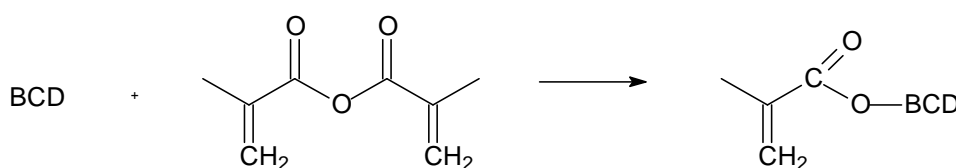


Figura 32 – Representação da reação de obtenção do monômero MBCD.

5.2.2. Síntese do copolímero de MBCD com MMA (MBCD-co-MMA).

A reação de copolimerização entre o metacrilato de metila (MMA) e o monômero vinílico com ciclodextrina (MBCD) (Figura 33) produziu um material que foi analisado por IVTF, sendo que este último mostrou bandas características de éster: deformação axial de carbonila em 1728 cm^{-1} e a banda de deformação axial assimétrica de O-C-C em 1161 cm^{-1} . Esse espectro será discutido com mais detalhes no tópico de caracterização por IVTF (item 5.2.2.1) Além disto, foi observado que o monômero MBCD utilizado apresentou-se extremamente solúvel em metanol e que o material obtido foi precipitado em metanol, infere-se, portanto, que o material obtido não é o monômero de partida. Foi realizada uma nova reação com condições mais enérgicas, aumentando-se a temperatura para 90°C por 6 horas. Todavia, o material apresentou, no fim da reação, uma coloração castanha escura sugerindo decomposição. Além disso, foram feitas reações de homopolimerização com os monômeros MBCD e MMA, com o intuito de comparar com o resultado da copolimerização descrita acima, entretanto foi observado que a homopolimerização do monômero MBCD não ocorreu, provavelmente devido ao volume da ciclodextrina o que provoca impedimento.

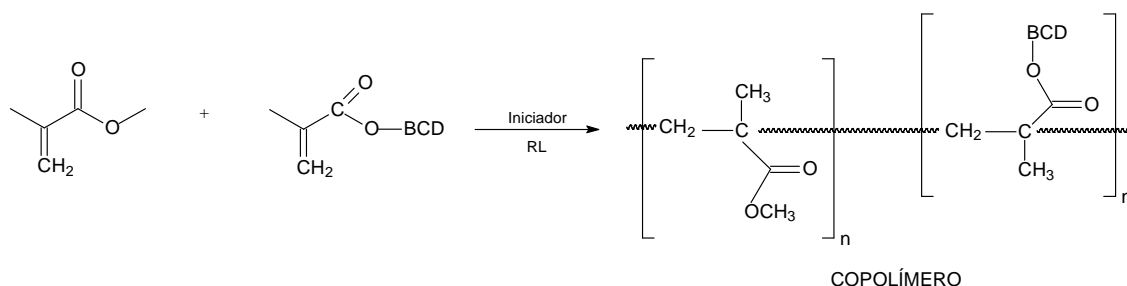


Figura 33 - Representação da reação de obtenção do copolímero MMA-co-MBCD.

5.2.3. Infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

A avaliação por IVTF foi realizada para a BCD pura, para o monômero MBCD e para o copolímero. O espectro da BCD (Figura 34a) foi discutido no item 4.1.1. Na Figura 34b é apresentado o espectro do monômero vinílico com ciclodextrina (MBCD), no qual é possível verificar o surgimento de novas bandas: em 1720 cm^{-1} referente ao estiramento C=O da carbonila de éster; em 1299 cm^{-1} e em 1165 cm^{-1} aparecem outras bandas características, devido à deformação axial simétrica e assimétrica, respectivamente, da ligação C-O-C de éster, respectivamente. Além do aparecimento da banda em 1635 cm^{-1} referente à banda de estiramento de C=C, evidenciando a presença de insaturações. Vale ainda destacar a diminuição acentuada da banda larga centrada em 3341 cm^{-1} , presente no espectro da BCD, sugerindo que a reação diminuiu o número de hidroxilas originais. Não foram observadas bandas características de anidridos, um dos materiais de partida, que são bandas de estiramento simétrico e assimétrico, próximas a 1820 cm^{-1} e 1750 cm^{-1} . Este fato sugere que a reação foi realizada como esperado e que a purificação do produto foi satisfatória. Esses resultados estão de acordo com os relatados na literatura para sistemas semelhantes (SANTOS et al. 2008; HUSSAIN et al., 2005; PAVIA et al., 2001).

O espectro na região do infravermelho do copolímero MBCD-co-MMA (Figura 34c) apresenta bandas em 1728 cm^{-1} atribuída ao estiramento da carbonila de éster e, ainda, em 1161 cm^{-1} de deformação axial assimétrica de C-O-C de

éster. Observam-se, também, em 1637 cm^{-1} , a banda de estiramento da ligação C=C que não deveria aparecer, pois a copolimerização das ligações insaturadas na ciclodextrina, entretanto observa-se que outros trabalho, como realizado por Tian et al (2011), é realizada uma copolimerização com BCD que continha ligações duplas com outro monômero e a análise de IVTF também demonstrou que a banda representativa de ligações insaturadas em 1628 cm^{-1} ainda aparecia, confirmando que nem todas as ligações duplas foram utilizadas na copolimerização (TIAN et al, in press), essa banda de ligação dupla também aparece no espectro de IVTF na Figura 34c).

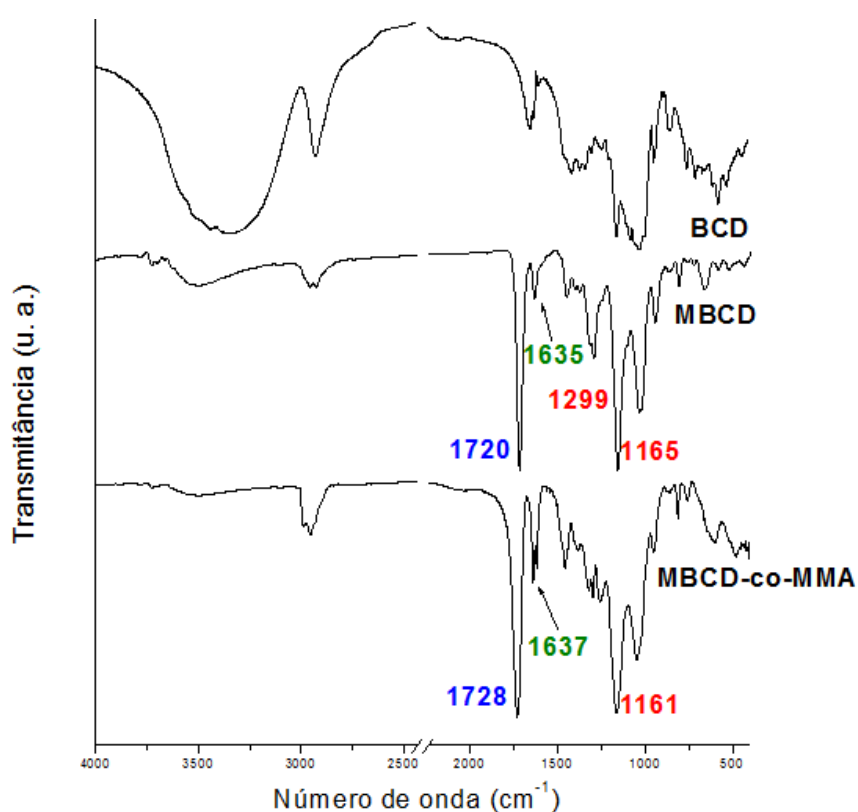


Figura 34 - Espectros na região do infravermelho (IVTF) da BCD (a) e do MBCD (b) e do polímero MBCD-co-MMA (c).

5.2.4. Análise termogravimétrica (ATG)

Os materiais BCD, MBCD, MBCD-co-MMA e PMMA foram avaliados por ATG, em atmosfera oxidante, para observar a estabilidade térmica dos mesmos. A BCD (Figura 35) mostra três estágios de perda de massa: uma pequena perda inicial, até 100°C, corresponde à volatilização da água de hidratação. A degradação propriamente dita ocorre em um processo rápido, centralizado em aproximadamente 300°C e acima de 400°C, ocorre a degradação final do resíduo (ÉHEN *et al.*, 2005). Podem ser observadas diferenças entre o comportamento térmico do monômero MBCD em relação ao copolímero MBCD-co-MMA (Figura 35), sendo que esse resultado é mais um indício de que ocorreu a reação. A análise da curva de ATG descrita pela degradação do copolímero MBCD-co-MMA mostrou boa estabilidade deste copolímero abaixo de 250°C, este resultado pode ser observado na literatura (SANTOS *et al.*, 2008), entretanto o monômero MBCD apresentou uma melhor estabilidade térmica, pois a perda de massa, atribuída à degradação, ocorre acima de 350°C. O decréscimo da temperatura de início da perda de massa do copolímero também pode ser observado no polímero de controle PMMA.

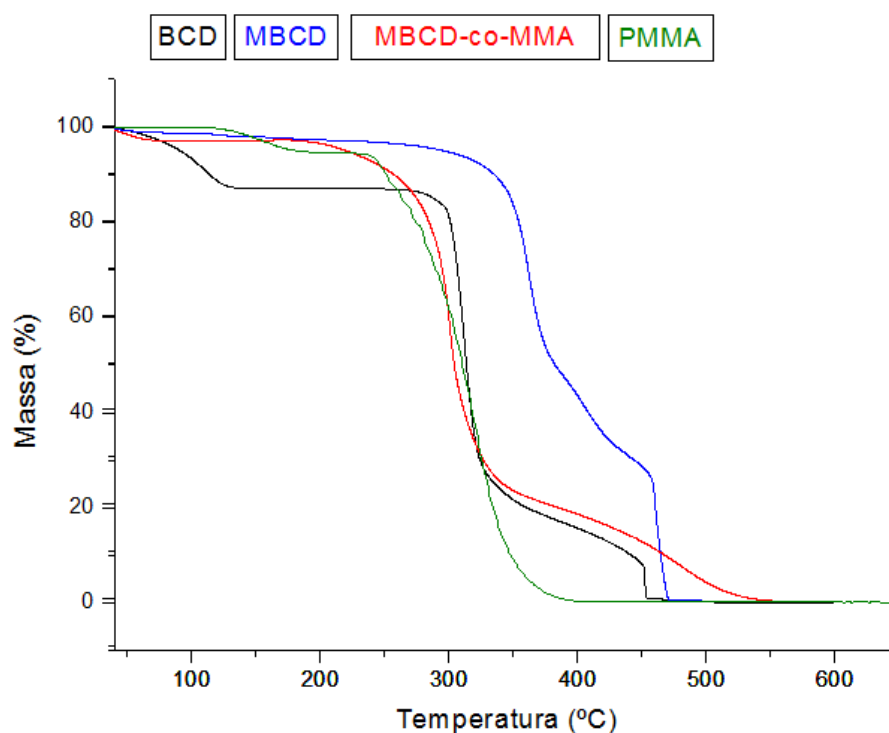


Figura 35 – Curvas de TG da BCD, do MBCD, do polímero MBCD-co-MMA e do polímero de controle PMMA.

5.2.5. Difratometria de raios-x (DRX)

A utilização da técnica de DRX, neste caso, teve por objetivo estudar as alterações na estrutura da BCD após a reação. Deste modo, pode-se observar que o difratograma da BCD (Figura 36a) apresentou um perfil cristalino característico. Comparando os difratogramas da Figura 36a e 36b, observa-se que a cristalinidade da beta-ciclodextrina foi afetada pela reação de esterificação com o anidrido metacrílico, já que o difratograma revelou apenas um halo amorfo centrado em 18,8. Aparentemente esta estrutura foi mantida após a copolimerização, pois a avaliação por DRX (Figura 36c) do copolímero revelou um perfil de material amorfo com um halo centrado em 18,4, com um difratograma semelhante ao do MBCD.

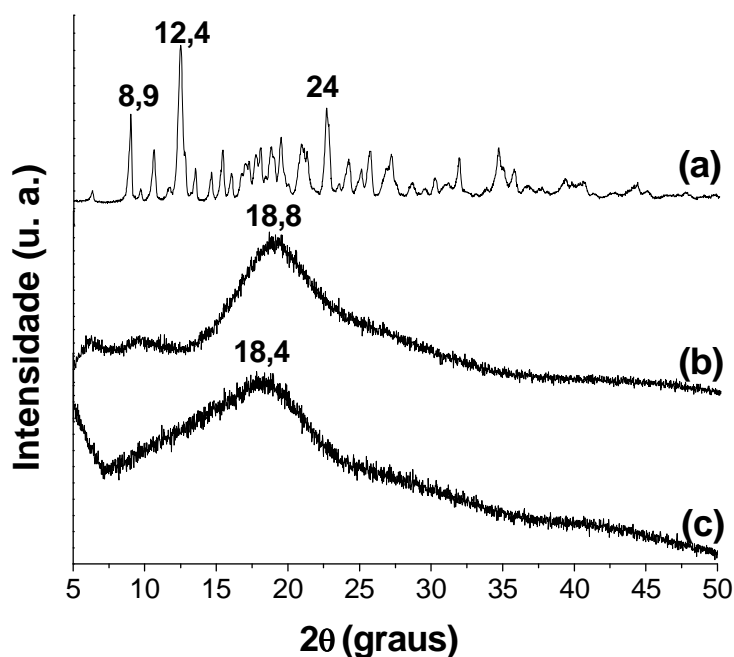


Figura 36 – Difratogramas de raio-x BCD (a), MBCD (b) e do copolímero MBCD-co-MMA (c).

5.2.6.. Calorimetria exploratória diferencial (CED)

A análise por CED foi realizada para a obtenção das temperaturas de transição vítrea (T_g) do copolímero MBCD-co-MMA e do homopolímero metacrilato de metila (PMMA), sintetizado nas mesmas condições empregadas. A T_g é a temperatura na qual um polímero passa do estado vítreo para o estado borrachoso. O valor absoluto da T_g dos polímeros depende de vários fatores como massa molar, taticidade, ramificações, interações intermoleculares e grau de reticulação. A técnica mais usada para determinação da T_g é a calorimetria exploratória diferencial, na qual a transição vítrea aparece como uma variação no coeficiente angular da curva (AKCELRUD, 2007).

A temperatura de transição vítrea obtida para o PMMA de controle foi de 126,7°C e está de acordo com a literatura (MARK, 2007). A T_g do copolímero foi de 161,9°C e o aumento na temperatura da transição vítrea pode ser explicado pela formação de ligações cruzadas, considerando que o aumento da densidade destas ligações reduz a mobilidade de segmentos da cadeia, aumentando a temperatura de transição vítrea (CANEVAROLO, 2003).

5.2.7. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) tem sido amplamente utilizada na caracterização de ciclodextrinas e seus derivados. Portanto, o espectro da ciclodextrina pura é importante para determinar se os substituintes foram incorporados na estrutura.

O espectro da BCD (Figura 37) possui 6 prótons identificáveis por RMN, H-1, H-2, H-4 e H-6 localizados externamente e H-3 e H-5 na cavidade da ciclodextrina. O espectro obtido neste trabalho está de acordo com o relatado na literatura (Figura 38). Na Tabela X estão indicados os sinais dos prótons da beta-ciclodextrina das Figuras 37 e 38. Em relação às hidroxilas, observa-se um duplo dubleto em δ 5,60 - 5,75 ppm referente às hidroxilas secundárias dos carbonos 2 e 3 da ciclodextrina, e, em δ 4,40 ppm, um tripleto relativo à hidroxila primária no carbono 6. Os sinais entre δ 3,25 - 3,70 são atribuídos à estrutura do anel da beta-ciclodextrina (SCHNEIDER et al., 1998).

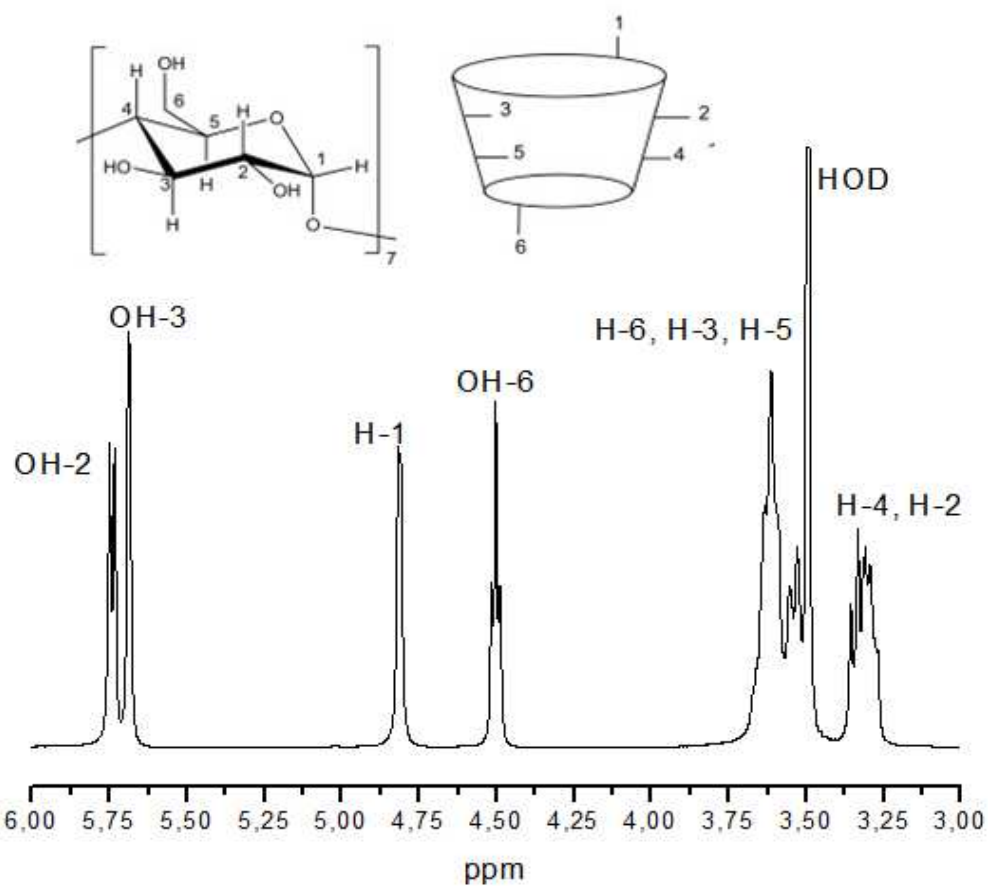


Figura 37 – Espectro de ^1H -RMN (400 MHz) da BCD em DMSO- d_6 obtido neste trabalho.

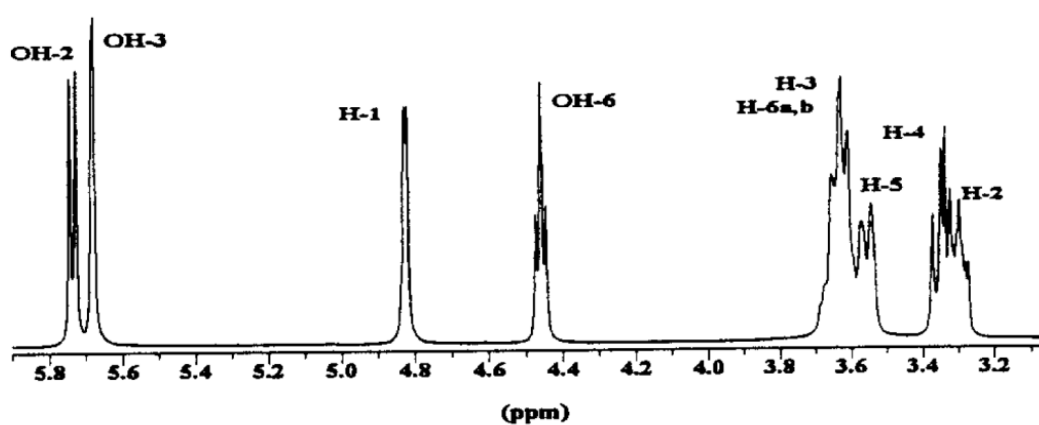


Figura 38 - Espectro de ^1H -RMN (400 MHz) da BCD em DMSO- d_6 relatado na literatura (Schneider, 1998).

Tabela X - Atribuições (ppm) do espectro de ^1H -RMN dos prótons da beta-ciclodextrina em DMSO-d6.

Espectros de ^1H RMN da BCD	Prótons da BCD (ppm)					
	H1	H2	H3	H4	H5	H6
Obtido neste trabalho	4,81	3,29	3,61	3,33	3,55	3,61
Relatado na literatura (SCHNEIDER et al., 1998)	4,82	3,29	3,64	3,34	3,59	3,64

Após a reação de modificação da ciclodextrina, o produto foi analisado por RMN e o espectro do monômero MBCD (Figura 39) revelou picos correspondentes aos prótons vinílicos em 6,06 e 5,69 ppm e os prótons metílicos dos grupos metacrilato apareceram em 1,88 ppm, em regiões em que a beta-ciclodextrina não substituída não apresenta sinais (Figura 39).

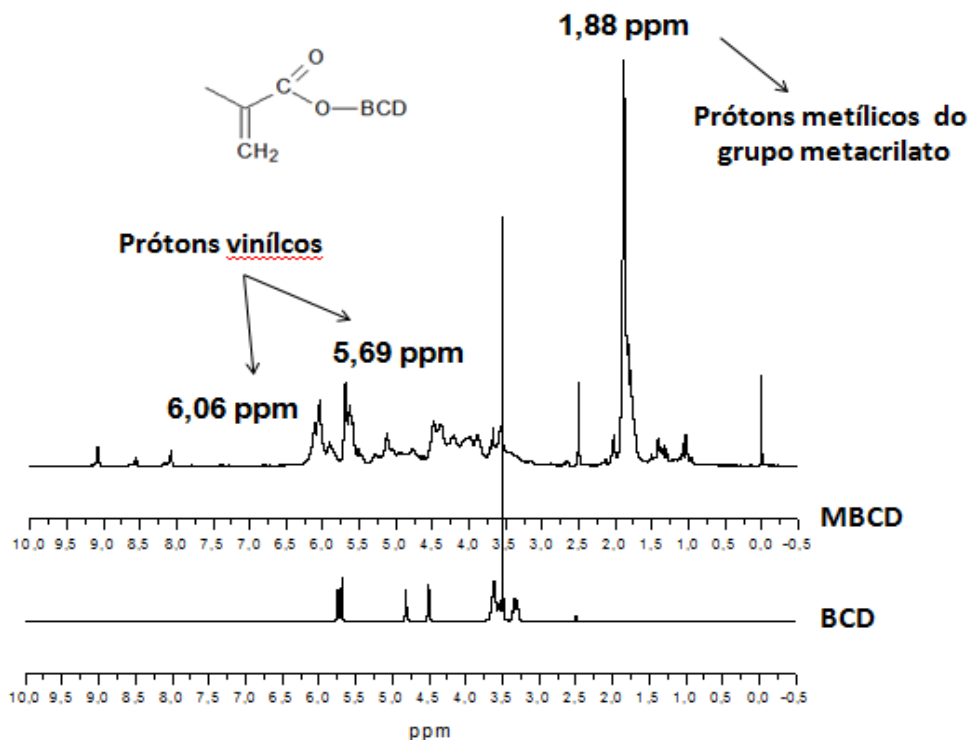


Figura 39 – Espectro de ^1H -RMN da beta-ciclodextrina (BCD) e do monômero MBCD.

Estes resultados confirmam a reação com a incorporação dos grupos metacrílicos na estrutura da BCD. Considerando a formação desta ciclodextrina modificada com ligações duplas, é possível a polimerização deste monômero, por adição, com outras unidades vinílicas, possibilitando a obtenção de polímeros e copolímeros acrílicos que possam ter um grande potencial de aplicação na área de sistemas de transporte de fármacos.

5.3. SISTEMA 3 – COMPLEXO DE INCLUSÃO CICLODEXTRINA/NIFEDIPINA

Nesta parte será descrito o estudo completo da preparação e caracterização dos complexos de inclusão HPBCD/NIF (hidroxipropil beta-ciclodextrina e nifedipina) e BCD/NIF (beta-ciclodextrina e nifedipina). Esses complexos foram preparados para estudar a interação entre as ciclodextrinas usadas na síntese dos polímeros e o fármaco nifedipina, considerando que a insolubilidade dos polímeros dificulta a utilização de alguns métodos, como por exemplo, a construção do diagrama de fases além da ressonância magnética nuclear, avaliações imprescindíveis para a confirmação da formação do complexo de inclusão.

5.3.1. Diagrama de solubilidade de fases

Foi realizado o estudo da variação da solubilidade aquosa da NIF na presença de diferentes concentrações da HPBCD ou da BCD. Com os dados obtidos, foram construídos diagramas de solubilidade de fases, mostrados na Figura 40. Os diagramas sugerem o aumento da solubilidade da NIF em água na presença da HPBCD ou da BCD. Além disso, nos dois diagramas, o perfil observado pode ser classificado como do tipo A_L (aumento linear de solubilidade), segundo definição de Higuchi e Connors (VEIGA et al., 2006; HIGUCHI & CONNORS, 1965).

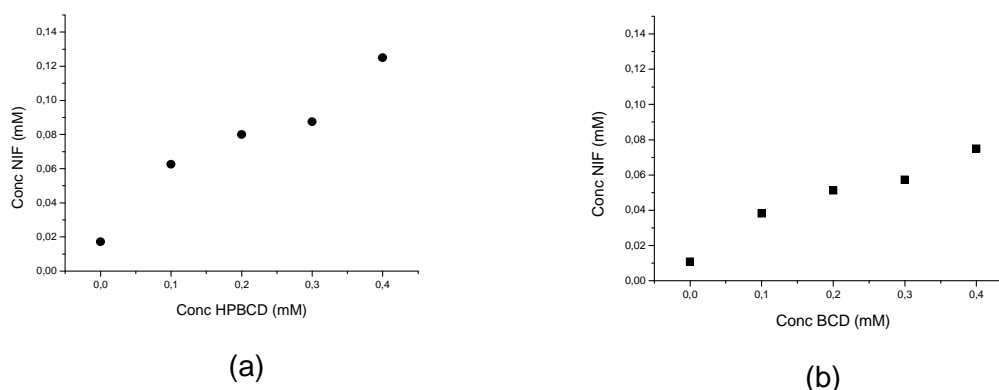


Figura 40 – Diagramas de solubilidade de fases da NIF em solução aquosa em função do aumento na concentração da HPBCD (a) e da BCD (b) ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Medidas efetuadas por UV-VIS (226 nm, $T = 25^{\circ}$).

Empregando as fórmulas mostradas na parte experimental deste trabalho no item 4.4.3, considerando a inclinação da reta para a HPBCD (0,2406), para a BCD (0,1474) e a solubilidade da nifedipina na ausência de ciclodextrina ($0,0195\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), foi determinada a constante de associação ($K_{1:1}$) para o complexo HPBCD/NIF: $K_c = 5661,17\text{ M}^{-1}$, eficiência de complexação: $CE = 0,316$ que indica que para cada 4 moléculas de CD, uma delas está complexada. Para a BCD: $K_c = 3091,61\text{ M}^{-1}$, $CE = 0,173$, que define que, para cada 7 moléculas de CD, uma delas está complexada.

Comparando os dois resultados pode ser observado que a complexação da nifedipina com a HPBCD foi mais eficiente do que com a BCD já que foi observado um aumento maior na solubilidade (Figuras 40a e 40b). Este resultado pode ser explicado tendo em vista a maior solubilidade aquosa da HPBCD ($50\text{ g}/100\text{ mL}$, $t = 25^{\circ}\text{C}$) do que a da BCD ($1,85\text{ g}/100\text{ mL}$, $t = 25^{\circ}\text{C}$) (VEIGA et al., 2006).

5.3.2. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

A caracterização do complexo de inclusão com ciclodextrina por IVTF possui sua limitação inerente. Entretanto, dependendo do sistema, uma comparação entre os espectros pode fornecer evidências de complexação, já que a estrutura molecular é preservada após o processo de inclusão.

A Figura 41 mostra os espectros obtidos por IVTF. Na Figura 41a é possível observar as principais bandas de absorção características da nifedipina: 3332 cm^{-1} de estiramento N-H; em 1689 cm^{-1} da carbonila de éster conjugado; em 1651 cm^{-1} de estiramento C=C do anel não aromático; em 1624 cm^{-1} de C=C de anel aromático, em 1529 cm^{-1} e 1345 cm^{-1} de estiramento assimétrico e simétrico do grupamento nitro (NO_2), respectivamente, e, em 1122 cm^{-1} , de C-O-C de éster (BROWN et al., 2002). Os espectros obtidos na região do infravermelho das misturas físicas (Figura 41c e 41f) demonstram ser uma aparente superposição dos espectros individuais dos componentes (BROWN et al., 2002). O espectro dos complexos de inclusão HPBCD-NIF (Figura 23d) e BCD/NIF (Figura 41g) são dominados por bandas características da ciclodextrina, na maioria das regiões. As bandas das CD's mascaram as da NIF, sendo este um resultado comum para complexos de inclusão com ciclodextrinas (ARAUJO et al., 2008). Todavia, a presença da NIF no complexo de inclusão (Figuras 41d e 41g) pode ser confirmada, tendo em vista o aparecimento das bandas em 1687 cm^{-1} atribuída à carbonila de éster conjugado com C=C e em 1529 cm^{-1} ao estiramento assimétrico do grupo nitro, sugerindo a formação do complexo, tanto com a BCD quanto com a HPBCD.

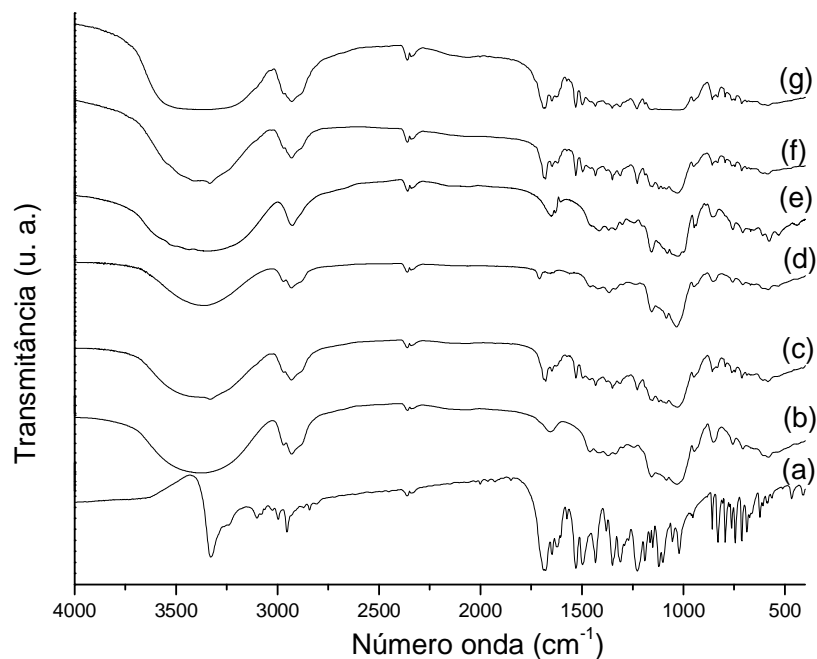


Figura 41 – Espectros na região do infravermelho: NIF (a), HPBCD (b), mistura física HPBCD e NIF (c), complexo de inclusão HPBCD-NIF(d), BCD (e), mistura física BCD e NIF (f) e complexo de inclusão BCD-NIF(g).

5.3.3 Difractometria de raios-X (DRX)

Informações complementares sobre a estrutura do complexo de inclusão foram obtidas por difratometria de raios-X das amostras na forma de pó. Uma comparação entre os difratogramas dos complexos, dos seus componentes em separado e as misturas físicas foi realizada. Diferenças nas amostras tratadas, como o surgimento ou o desaparecimento de picos ou mudanças nas intensidades relativas, constituem indícios de formação de complexos (CUNHA-FILHO & SÁ-BARRETO, 2007; CAO et al., 2005).

No difratograma da NIF (Figura 42a) foram observados picos de difração, indicativos do ordenamento estrutural típico de um sólido cristalino, com assinalamentos característicos da nifedipina em $2\theta=8,06$; $11,70$; $16,20$; $19,54$ e $24,60$ atribuídos aos índices de Miller de planos cristalográficos 100, 002, 200, 211 e 300 ou 221, respectivamente (BROWN et al., 2002; MARQUES, 1994).

No difratograma da HPBCD pura (Figura 42b) pode ser verificada a presença de um halo centrado em $2\theta = 18$ e ausência de picos, evidenciando seu caráter não-cristalino. Na Figura 42e pode-se observar que o difratograma da BCD apresenta um perfil cristalino característico, com picos de maior intensidade em $2\theta = 8,9; 12,4$ e $22,6$.

Nas misturas físicas (Figura 42c e 42f) pode-se observar uma sobreposição de difratogramas correspondentes aos das substâncias isoladas.

No difratograma do complexo de inclusão HPBCD/NIF (Figura 42d) pôde ser verificado, apenas, a presença de um halo sugerindo a ausência de padrão cristalino, próprio da estrutura da HPBCD original, destacando-se a ausência de picos referentes aos cristais da NIF isolada. Tal observação sugere que a inclusão da NIF não altera o caráter amorfo da HPBCD. Esses resultados estão de acordo com outros relatados na literatura, nos quais se utiliza a HPBCD como hospedeira no complexo de inclusão com outros fármacos, já que o mesmo padrão da matriz pura é observado no complexo (ARAÚJO et al., 2007; LIU et al., 2006).

O complexo BCD/NIF (Figura 42g) mostrou um difratograma com picos representativos de cristalinidade, porém percebe-se uma redução da cristalinidade em relação à BCD e à mistura física. Resultados análogos para sistemas com a BCD confirmam esses resultados (ZINGONE & RUBESSA, 2005; BRITO et al., 1999)

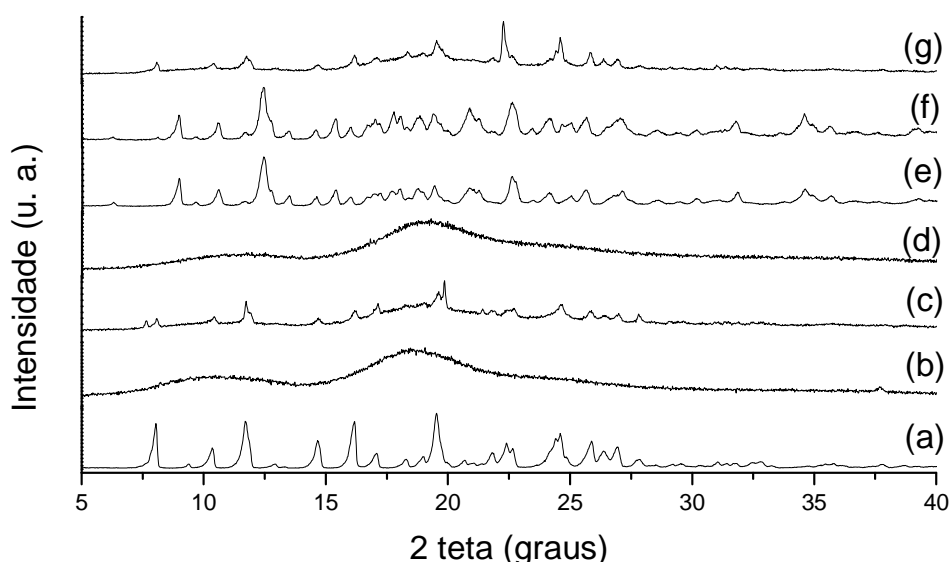


Figura 42 – Difratogramas de raios-X: NIF (a), HPBCD (b) mistura física HPBCD e NIF (c), complexo de inclusão HPBCD-NIF(d), BCD (e) mistura física BCD e NIF (f), complexo de inclusão BCD-NIF(g).

5.3.4. Calorimetria exploratória diferencial (CED)

As curvas de CED das amostras de HPBCD, da NIF, da mistura física entre HPBCD e NIF e do complexo de inclusão HPBCD/NIF são apresentadas na Figura 43. Para a NIF (Figura 43a) observa-se um pico endotérmico estreito em torno de 175 °C, associado à fusão do fármaco, o qual também foi observado na curva de CED das misturas físicas (Figuras 43c e 43f). Nas curvas da análise da HPBCD (Figura 43b) e da BCD (Figura 43e) foi observado, apenas, um evento térmico atribuído à perda de água. A análise térmica dos complexos de inclusão HPBCD/NIF (Figura 43d) e da BCD/NIF (Figura 43g) não revelou alterações térmicas referentes à fusão do fármaco, sugerindo que não há cristais isolados de NIF. Na encapsulação, apenas uma molécula de NIF interage diretamente com a cavidade da ciclodextrina. Sendo assim, o comportamento térmico do complexo de inclusão deve ser distinto daquele verificado para os componentes isolados. Este fato é típico de sistemas em que ocorre inclusão supramolecular na ciclodextrina e, portanto, os resultados obtidos nesse trabalho sugerem a formação de uma nova espécie (UNGARO et al., 2011; ASBAHR et al., 2009; YANG et al., 2009; ANG et al., 2008)

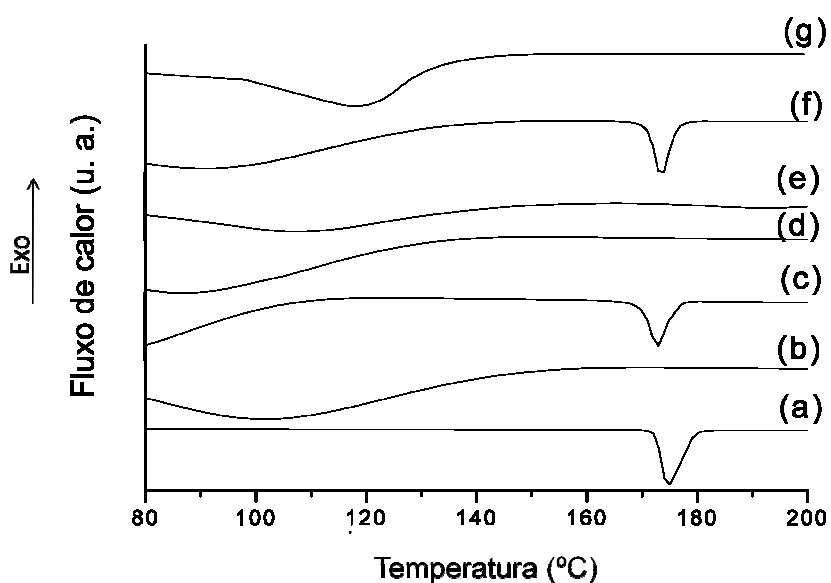


Figura 43 – Curvas de calorimetria exploratória diferencial NIF (a), HPBCD (b), mistura física HPBCD e NIF (c), complexo de inclusão HPBCD/NIF(d) BCD (e), mistura física BCD e NIF (f) e complexo de inclusão BCD/NIF(g).

5.3.5. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H)

No campo da química supramolecular, a ressonância magnética nuclear tem sido utilizada como uma técnica experimental poderosa para a investigação de interações intermoleculares, promovendo evidências sobre a topologia e a formação de complexos através do núcleo do hidrogênio (CABEÇA, 2011; KAPUR *et al.*, 2000; CABEÇA, 2009)

A formação dos complexos de inclusão foi avaliada através da comparação entre os espectros das misturas físicas e os espectros dos complexos BCD/NIF e HPBCD/NIF (Figura 44). Foram observadas variações nos deslocamentos químicos, além do alargamento dos sinais dos hidrogênios referentes à nifedipina somente nos complexos (Figuras 44b e 44d) evidenciando uma interação entre a NIF e as ciclodextrinas que não aparece nas misturas físicas (Figura 44a e 44c). Com o objetivo de definir esta interação, foram realizados experimentos de STD (saturation transfer difference), pois esta técnica permite avaliar interações com menores energias, como as interações intermoleculares, que são as responsáveis pela formação e estabilização de complexos com ciclodextrinas.

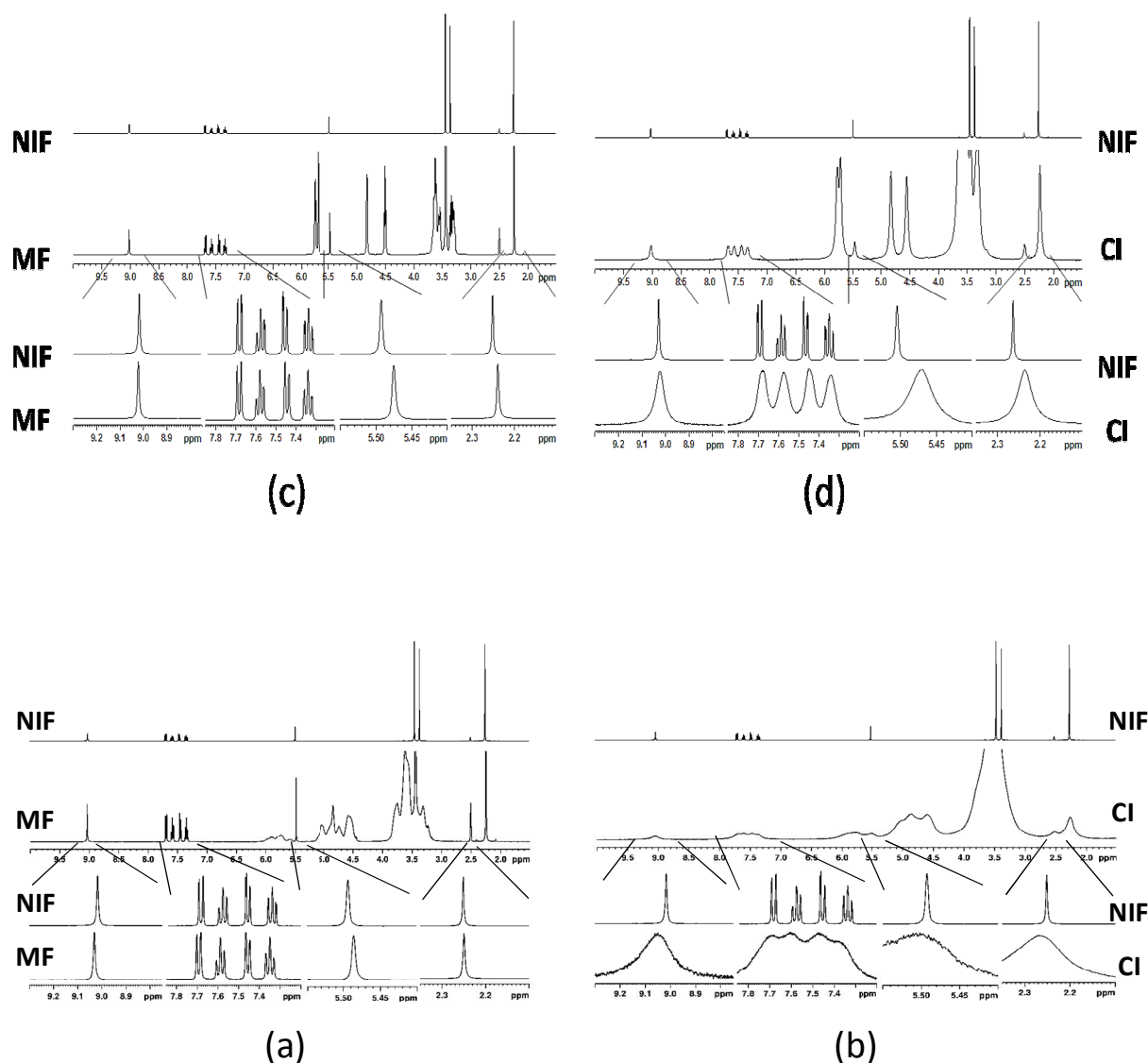


Figura 44 – Comparação entre os espectros de RMN de ^1H : da NIF e da mistura física (MF) HPBCD e NIF (a), da NIF e do complexo (CI) HPBCD/NIF (b), da NIF e da mistura física (MF) BCD e NIF (c), da NIF e do complexo (CI) BCD/NIF (d) mostrando as variações nos deslocamentos químicos e alargamento dos sinais.

A técnica de ressonância magnética nuclear STD consiste na diferença entre dois experimentos aplicados aos complexos. No primeiro, “em ressonância” satura-se a ciclodextrina via um trem de pulsos seletivos de radiofrequência. Esses pulsos são aplicados na frequência de ressonância da ciclodextrina e não do fármaco. A saturação propaga-se através dos hidrogênios da ciclodextrina via rede de interações dipolares intramoleculares ^1H - ^1H . A saturação é transferida aos compostos ligados via relaxação cruzada intermolecular para a interface

ciclodextrina-fármaco. Neste experimento “em ressonância” a irradiação foi feita em 1,00 ppm, região na qual não há sinais do fármaco, apenas da ciclodextrina. Posteriormente, um segundo experimento “fora de ressonância” foi realizado no qual um trem de pulsos de radiofrequência idêntico ao primeiro é aplicado fora da faixa de ressonância dos núcleos da ciclodextrina e do fármaco.

A diferença entre os espectros em ressonância e fora de ressonância (Figura 45) revelou uma intensificação somente do sinal em 2,27 ppm referente às metilas ligadas ao anel não aromático da nifedipina (Figura 46) para os dois complexos, enquanto que nenhum outro sinal do fármaco foi observado. Estes resultados indicam que apenas o anel não aromático está inserido na cavidade da ciclodextrina (BCD ou HPBCD) (Figura 47), visto que os sinais aromáticos não recebem transferência de saturação. A intensificação do sinal em 2,27 ppm foi maior para o complexo HPBCD/NIF do que para o complexo BCD/NIF, sugerindo uma maior interação da NIF com a HPBCD (ASBAHR et al., 2009).

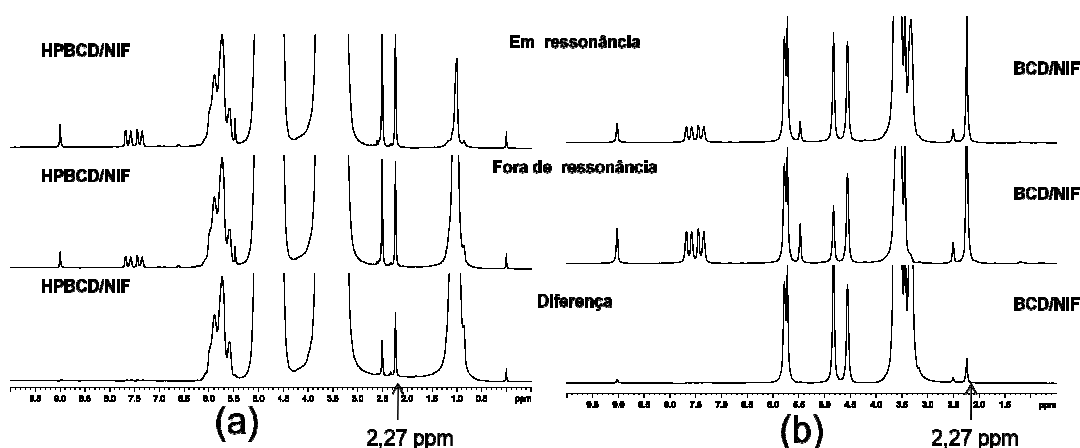


Figura 45 – Experimento de STD dos complexos de inclusão em HPBCD/NIF (a) e BCD/NIF (b) mostrando transferência de saturação para a metilas em 2,27 ppm.

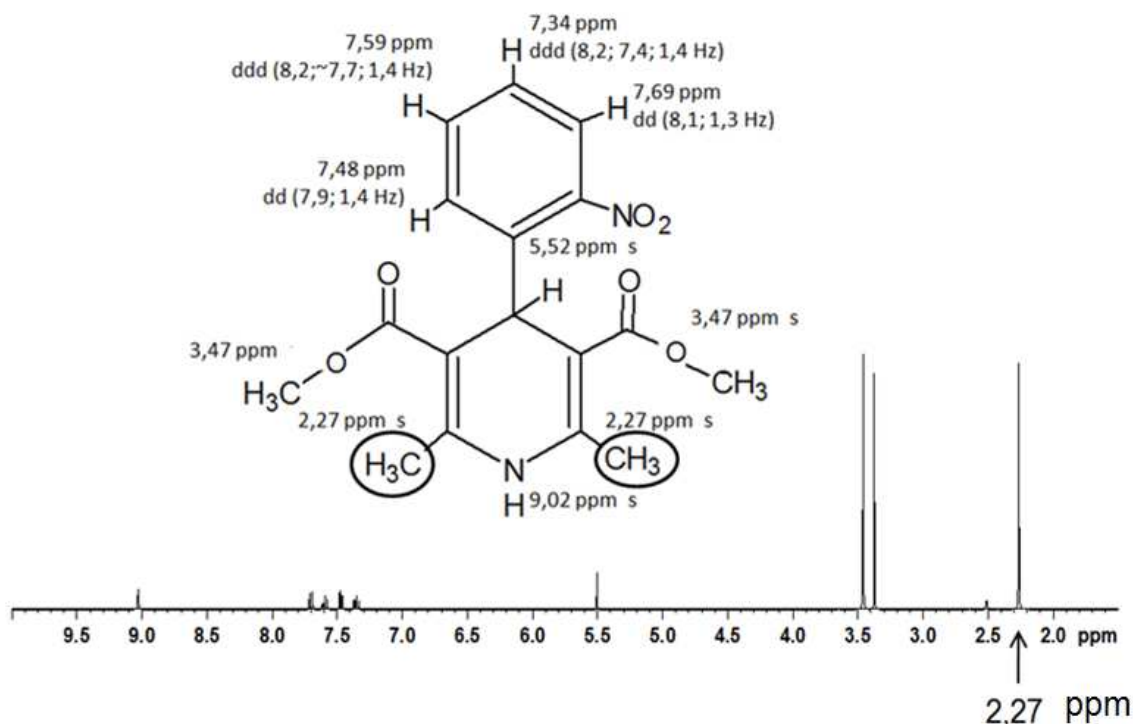


Figura 46 – Espectro de ressonância de H^1 da nifedipina

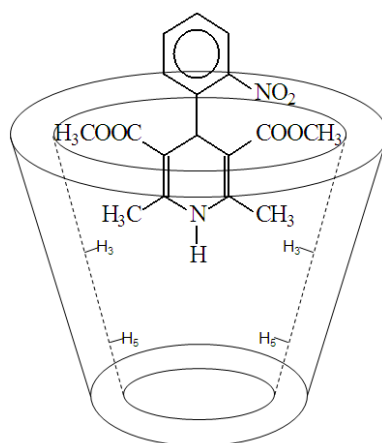


Figura 47 – Proposta para a formação do complexo ciclodextrina/nifedipina a partir dos dados de ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

5.3.6. Modelagem molecular

Algumas possibilidades de complexos de estequiometria 1:1 entre a HPBCD ou BCD e NIF foram estudadas neste trabalho. Foram utilizados dois modelos para a hidroxipropil betaCD, com o radical hidroxipropil substituindo as hidroxilas do carbono 6 (HPBCD-C6) ou substituindo as hidroxilas do carbono 2 (HPBCD-C2). Para estes dois modelos e para a BCD foram testadas as

possibilidades na formação dos complexos, considerando o NH para dentro (NH-in) e para fora da cavidade (NH-out). O detalhamento deste estudo está descrito no item 4.4.9. O esquema da inclusão pode ser representado por:



A presença do solvente ($\epsilon=78,4$ - água) estabiliza todos os complexos pela diminuição das entalpias (Tabela XI), sendo que a diferença pode chegar a 77 kcal.mol^{-1} (HPBCD-C6/NIF-NH-out – PM6). Sobre a orientação do fármaco na cavidade da HPBCD, todos os métodos semi-empíricos para o sistema HPBCD-C2/NIF atribuíram valores mais baixos de ΔH_f para a orientação NH-in em ambos os meios (vácuo, solvente - água). Este fato não foi observado para o sistema HPBCD-C6/NIF, em que os métodos AM1 e PM3 adotaram a orientação NH-in e PM6 e RM1 adotaram a orientação NH-out. Entre os diferentes sistemas formados por HPBCD-C2 e HPBCD-C6, o segundo apresentou valores mais baixos de ΔH_f , com exceção apenas para o método RM1 no vácuo, em que o sistema HPBCD-C2/NIF-NH-in foi mais estável do que HPBCD-C2/NIF-NH-out por cerca de $2,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

Tabela XI: Entalpias de formação (ΔH_f) destes complexos obtidas a partir dos métodos semi-empíricos AM1, PM3, PM6 e RM1 no meio aquoso e no vácuo.

Método	(ΔH_f) kcal.mol ⁻¹ HPBCD-C6/NIF		(ΔH_f) kcal.mol ⁻¹ HPBCD-C2/NIF		(ΔH_f) kcal.mol ⁻¹ BCD/NIF	
	NH-in	NH-out	NH-in	NH-out	NH-in	NH-out
AM1/Vac	-2141,35	-2136,64	-2125,66	-2122,98	-1764,40	-1765,57
PM3/Vac	-1920,56	-1915,21	-1906,73	-1903,40	-1591,47	-1596,61
PM6/Vac	-2115,60	-2115,93	-2102,32	-2101,60	-1734,78	-1742,21
RM1/Vac	-2020,65	-2028,76	-2023,07	-2017,00	-1686,87	-1692,77
AM1/Cos	-2194,24	-2194,09	-2181,02	-2175,70	-1820,00	-1824,00
PM3/Cos	-1978,44	-1973,49	-1962,20	-1954,57	-1648,48	-1645,28
PM6/Cos	-2183,13	-2192,63	-2175,36	-2173,97	-1814,50	-1808,77
RM1/Cos	-2081,97	-2082,66	-2073,93	-2065,10	-1745,24	-1741,45

Adicionalmente, o cálculo da Energia Livre (ΔG) para essas reações foi realizado em 25°C (298K). Como demonstrado na Tabela XII, para todos os sistemas estudados, a energia livre é positiva, indicando que uma contribuição de energia é necessária para a formação destes complexos. No entanto, pode-se notar que os sistemas mais favoráveis entre todos os complexos 1:1, que corresponde ao valor mais baixo de energia livre, foram os sistemas com orientação NH-in (exceto apenas para HPBCD-C6/NIF PM6/COSMO), indicando uma maior facilidade para a formação de complexos que apresentam esta orientação.

Table XII: Energia livre (ΔG) (kcal.mol^{-1}) dos complexos de inclusão HPBCD/BCD com NIF – temperatura 25°C

Método	(ΔG) (kcal.mol^{-1}) HPBCD-C6/NIF		(ΔG) (kcal.mol^{-1}) HPBCD-C2/NIF		(ΔG) (kcal.mol^{-1}) BCD/NIF	
	NH-in	NH-out	NH-in	NH-out	NH-in	NH-out
AM1/Vac	3,7731	6,7890	4,5643	8,7394	8,5518614	8,2141894
PM3/Vac	10,8437	14,4467	6,7312	11,8410	10,3702162	9,643394
PM6/Vac	6,8750	10,4941	7,8407	9,6716	0,4158314	-2,6225626
RM1/Vac	13,5436	14,9779	12,1633	19,6852	13,8564224	7,9462152
AM1/Cos	24,1130	25,8138	22,5829	31,9592	27,3567776	23,2859908
PM3/Cos	24,6008	33,5672	29,5552	36,8851	20,4741414	29,8587956
PM6/Cos	30,3179	24,5012	28,4130	30,9957	19,749219	25,4567144
RM1/Cos	28,8238	28,9922	34,5268	43,7947	21,429509	24,1566746

Sabe-se que ligações de hidrogênio entre hospedeiro e convidado apresentam uma importante contribuição na consolidação dos complexos de inclusão. As geometrias otimizadas dos complexos obtidas a partir de cálculo AM1 no vácuo são representados na Figura 48 e ligações de hidrogênio (distâncias menores que 4Å) entre HPBCD e NIF podem ser observadas. É evidente que a HPBCD-C6 pode formar mais ligações de hidrogênio com o convidado que a HPBCD-C2. Isso pode ser possível porque grupos da NIF, como carboxilatos e $\text{O}=\text{N}^{+1}-\text{O}^{-1}$ do anel nitrofenil, estão muito próximos das hidroxilas ligadas aos carbonos C2 e C3 da HPBCD-C6.

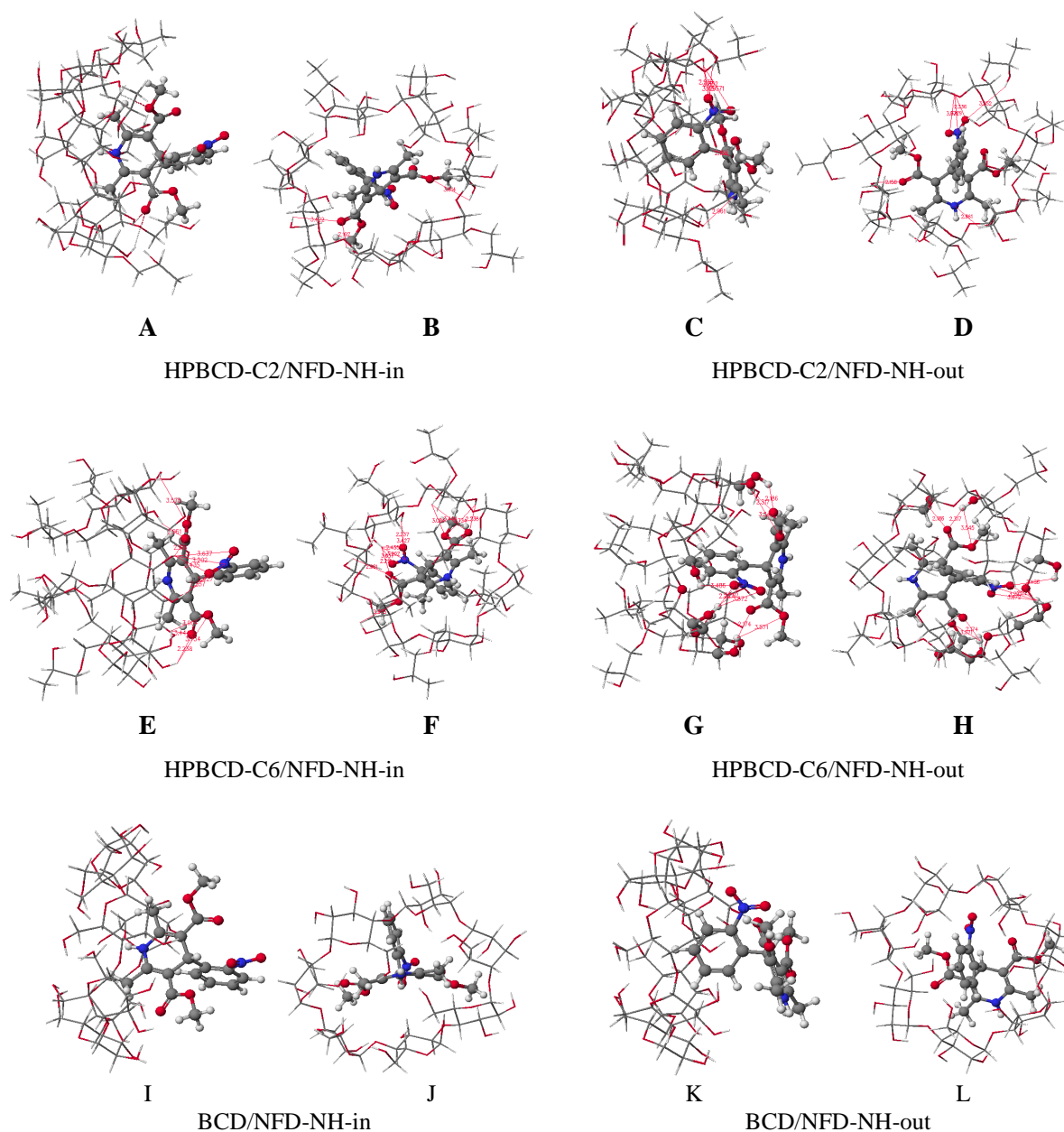


Figura 48 - Complexos HPBCD(-C2 and -C6)/NIF (NH-in and NH-out) pelo método AM1 calculado em vácuo: vista lateral (A, C, E, G, I e K) e vista frontal (B, D, F, H, J and L).

Assim, como os sistemas HPBCD/NIF, as entalpias de formação dos complexos BCD/NIF foram menores quando a permissividade relativa de água foi utilizada no cálculo (ver Tabela XI). Como podem ser observadas nas Tabelas XI e XII, diferentes orientações são estabelecidas em ambos os meios. No vácuo, NH-out é a orientação energeticamente favorecida. Por outro lado, os métodos semi-

empíricos PM3, PM6 e RM1 adotam a orientação NH-in no COSMO (LECLERCQ *et al*, 2010; ANDRADE *et al*, 2010; ARAÚJO *et al*, 2008; ARAÚJO *et al*, 2007).

É importante ressaltar que o método COSMO simula uma importante força motriz para a formação de complexos de inclusão entre ciclodextrinas e moléculas hidrofóbicas: o meio aquoso. Por esta razão, tem sido muito útil para determinar a estabilidade dessas espécies em um ambiente que simula a presença de um solvente.

Os resultados teóricos sugerem que os complexos têm estequiometria 1:1 e, considerando os valores enérgicos calculados pelos métodos semi-empíricos, a provável encapsulação da NIF acontece na orientação do anel não aromático inserido na cavidade para a HPBCD (Figura 49) e para a BCD (Figura 50). Estes resultados estão em concordância com aqueles obtidos por ressonância magnética nuclear, confirmando a estrutura proposta (Figura 47).

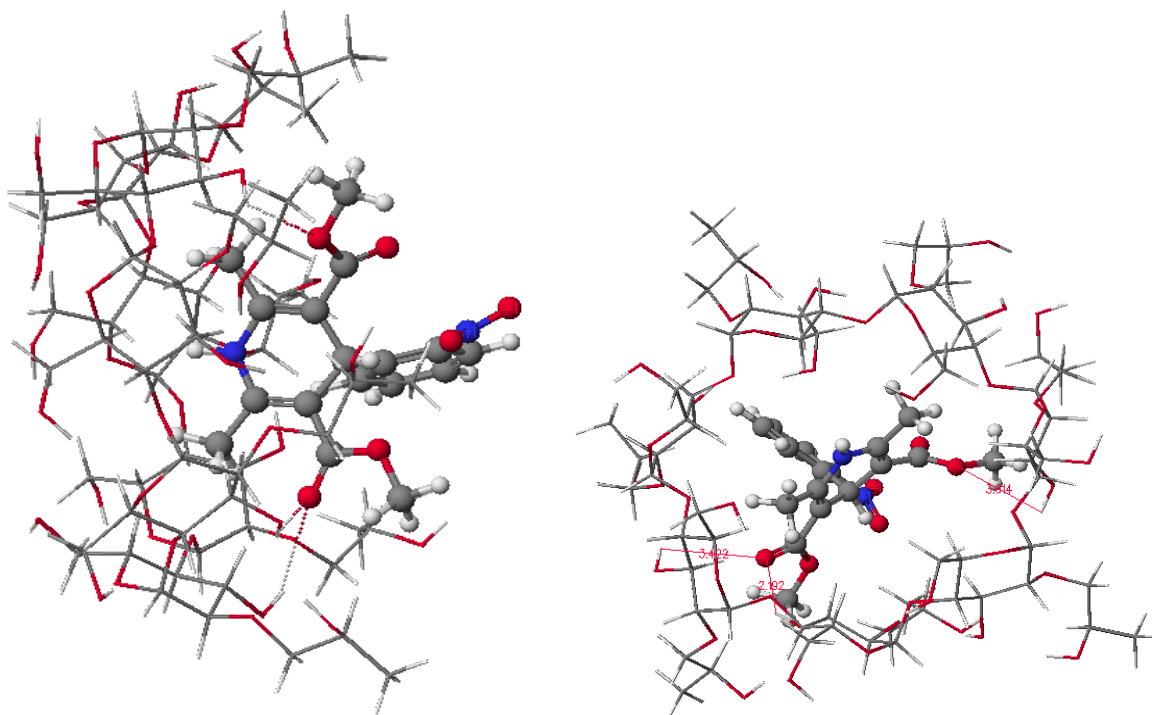


Figura 49 - Estrutura de menor energia (PM6, vácuo) para o complexo HPBCD/NIF (NH-in), vistas lateral e frontal.

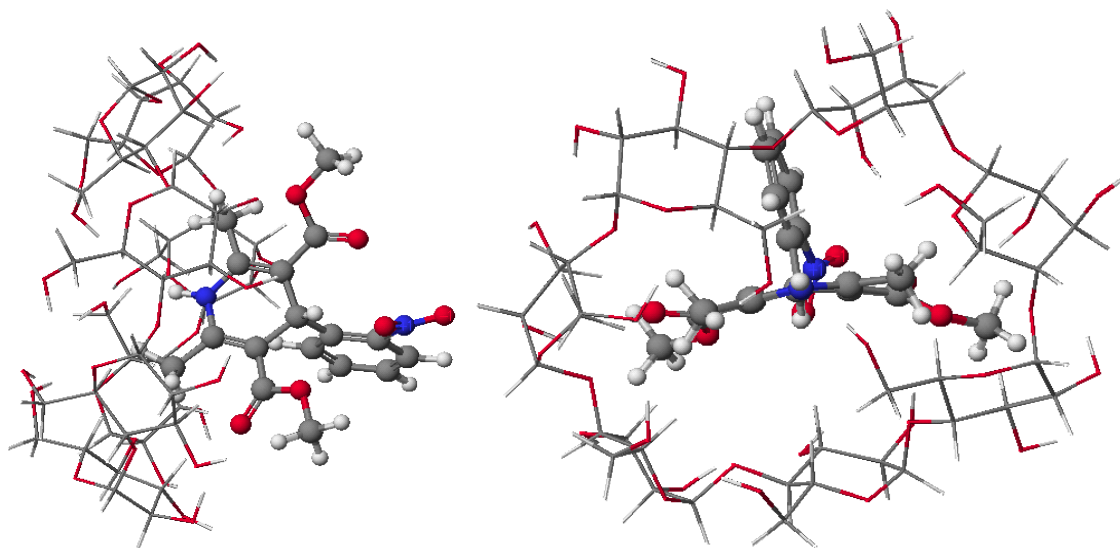


Figura 50 - Estrutura de menor energia (PM6, vácuo) para o complexo BCD/NIF (NH-in), vistas lateral e frontal.

Considerando todas as simulações matemáticas, observou-se, pelos métodos semi-empíricos empregados, que o processo de inclusão pode ocorrer nas formas tanto NH-in ou NH-out. No entanto, como foi usado meio aquoso na metodologia experimental, é possível sugerir que os complexos obtidos BCD/NIF e HPBCD/NIF estão na forma NH-in.

5.4. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE ENCAPSULAÇÃO DOS POLÍMEROS DOS SISTEMAS 1 e 2

Após a caracterização das espécies desenvolvidas neste trabalho, foram desenvolvidos testes preliminares da capacidade de encapsulação das CD's mediante o uso de uma solução padrão de fenolftaleína. As medidas da intensidade da absorção da solução alcalina de fenolftaleína na presença de quantidades crescentes dos polímeros foram realizadas com o objetivo de avaliar a possibilidade de encapsulação das unidades de ciclodextrinas imobilizadas nos polímeros uretânico e acrílico (MORIWAKI et al., 2009).

O método de dosagem espectrofotométrico da beta-ciclodextrina com fenolftaleína (FF) baseia-se na formação de um complexo entre o corante e a molécula de BCD, que causa redução na absorção colorimétrica da solução no comprimento de onda de 550 nm. O descoloramento da solução, é muito mais eficiente para a BCD por isso, este método é preferencialmente utilizado para a determinação da quantidade de beta-ciclodextrina produzida na reação desta CD (MORIWAKI et al., 2009; TAGUCHI, 1986).

A formação deste complexo foi estudada por Glazyrin et al., onde foi obtida a constante de associação (K_c) obtida para este composto de inclusão, que foi de $3,9 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}$. Foi observado, também, que o complexo possui uma estequiometria 1:1, o que significa que o número de mol de fenolftaleína encapsulada é proporcional ao número de mol da BCD presente no meio (TAUCSH et al., 2007; GLAZYRIN et al., 2004).

Durante a formação deste complexo, a fenolftaleína em pH 10,5, é complexada pela formação de três ligações de hidrogênio com a molécula de ciclodextrina. O ajuste da molécula de fenolftaleína feita por essas interações intermoleculares causam uma torção na molécula da fenolftaleína em torno do

átomo de carbono central ocorrendo a deslocalização do conjugado π -elétron, o que causa o descoloramento da solução (TAUCSH *et al.*, 2007).

A estimativa da capacidade de acessibilidade das ciclodextrinas nos polímeros é diretamente vinculada à capacidade dessas CD's em formar complexos de inclusão (MOHAMED *et al.*, 2010; ZARZYCKI *et al.*, 1998). Esta avaliação aplicada aos polímeros contendo CD foi realizada mediante a constatação da diminuição da absorvância de soluções alcalinas de fenolftaleína em contato com os polímeros derivados de ciclodextrinas (. Na Tabela VII estão os valores de absorvância em 552 nm da solução de fenolftaleína após contato por 4 horas com massas crescentes (A1, A2, A3) dos polímeros avaliados.

Tabela XIII - Valores de absorvância de massas crescentes de polímeros em contato com soluções de fenolftaleína no comprimento de onda 552 nm.

POLÍMEROS	Massa A1 (g)	Absorvância	Massa A2 (g)	Absorvância	Massa A3 (g)	Absorvância
PU/TDI/BCD	0,0100	1,2123	0,0118	1,0906	0,0340	0,8570
PU/TDI/BCD/P400	0,0100	1,0958	0,0183	1,0708	0,0375	0,9085
PU/TDI/BCD/P1500	0,0100	1,0993	0,0175	1,0307	0,0350	0,9767
PU/TDI/BCD/P4000	0,0100	1,0900	0,0175	1,0473	0,0340	0,9166
PU/TDI/HPBCD	0,0100	1,2015	0,0185	1,1440	0,0360	1,1046
PU/TDI/HPBCD/P400	0,0100	1,2632	0,0185	1,1542	0,0360	1,1059
PU/TDI/HPBCD/P1500	0,0115	1,1166	0,0210	1,0782	0,0350	1,0523
PU/TDI/HPBCD/P4000	0,0100	1,4141	0,0175	1,2490	0,0355	1,1607
PUPEG	0,0100	1,2197	0,0185	1,1904	0,0350	1,1750
MBCD-co-MMA	0,0045	1,0886	0,0100	0,9350	0,0165	0,7679
PMMA	0,0100	1,2001	0,0200	1,1997	0,0300	1,1610

A adição dos polímeros às soluções alcalinas de FF promoveu o descoloramento das soluções com a diminuição da absorvância (Figuras 52, 53 e 54), isso sugere a inclusão da fenolftaleína nas cavidades das ciclodextrinas no polímero, mantendo a capacidade das CD's em formar complexos de inclusão e além de conservar o mesmo comportamento da ciclodextrina livre. Uma avaliação

similar à descrita acima, de provável descoloramento de solução de FF, foi efetuada com os polímeros puros de poliuretano (PUPEG) e de poli(metacrilato de metila) (PMMA), que corresponde aos polímeros do sistema 1 e 2 sem ciclodextrina. Nesse experimento não foi observada uma diminuição considerável da solução de FF, indicando que não houve a encapsulação da FF nos polímeros de controle, nem outra qualquer interação que levasse ao descoloramento da solução de FF, sugerindo que as estruturas dos polímeros não apresentam capacidade de encapsular nem tampouco influenciam nesta propriedade.

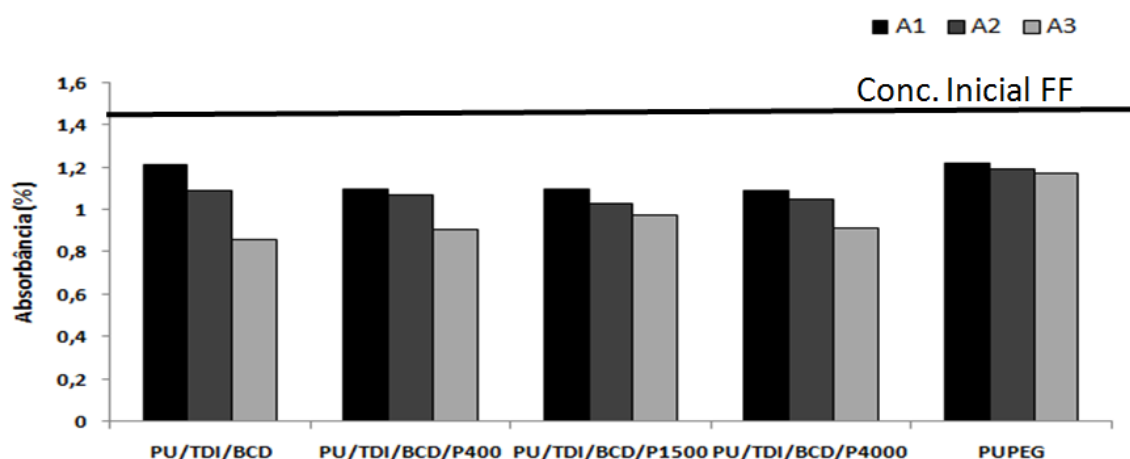


Figura 52 - Absorbâncias das soluções de fenolftaleína em 552 nm, após contato com amostras de massas crescentes dos polímeros uretânicos derivados de BCD e do polímero PUPEG (controle).

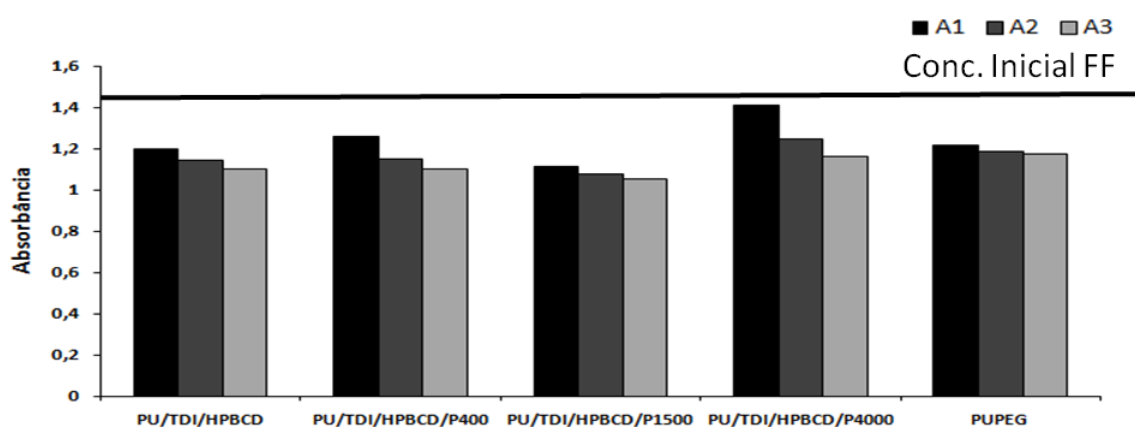


Figura 53 - Absorbâncias das soluções de fenolftaleína em 552 nm, após contato com amostras de massas crescentes dos polímeros uretânicos derivados de HPBCD e do polímero PUPEG (controle).

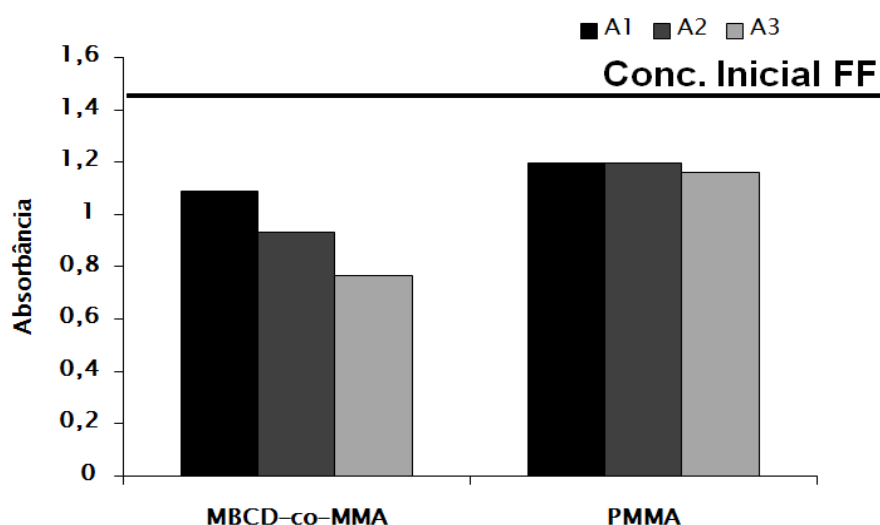


Figura 54 - Absorbâncias das soluções de fenolftaleína em 552 nm, após contato com amostras de massas crescentes copolímero MBCD-co-MMA e do polímero PMMA (controle).

Tendo em vista os resultados obtidos, foram separados os polímeros PU/TDI/BCD, PU/TDI/BCD/P4000 e o copolímero MBCD-co-MMA para o estudo de dissolução do fármaco nifedipina, por apresentarem resultados mais significativos em relação aos outros polímeros. A ausência de polímeros com a HPBCD pode ter como causa, a menor afinidade desta CD com a fenolftaleína (Figura 55), mas este fato não impede sua utilização em outros sistemas, entretanto para este trabalho o critério utilizado foi o estudo de acessibilidade de complexação com a fenolftaleína.

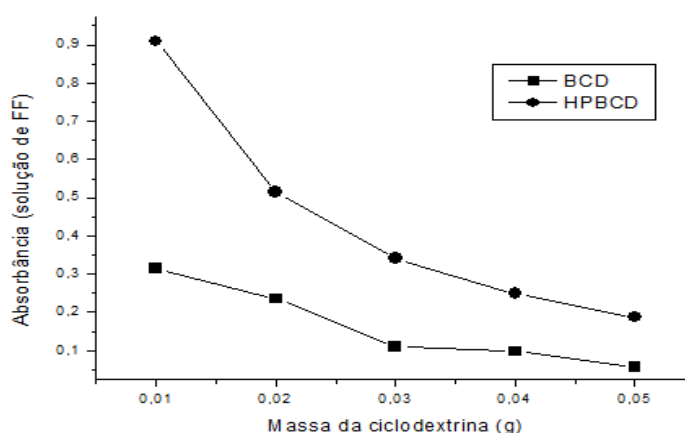


Figura 55 - Absorbâncias das soluções de fenolftaléina em 552 nm, após contato com amostras de massas crescentes da BCD e da HPBCD.

5.5. APLICAÇÃO DOS POLÍMEROS E DOS COMPLEXOS COMO CARREADOR DO FÁRMACO NIFEDIPINA

A absorção de fármacos, a partir de formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral, depende de sua liberação e dissolução nas condições fisiológicas. O estudo do procedimento de dissolução *in vitro* pela avaliação do perfil de dissolução tem sido utilizado como um critério importante para avaliar o desempenho do fármaco inserido em carreadores, como as ciclodextrinas ou polímeros. O perfil de dissolução relaciona a porcentagem de fármaco dissolvido em função do tempo (ABDOU, 1989) e tem demonstrado ser uma metodologia rápida para avaliar formas farmacêuticas antes do teste *in vivo*. Permite, também, a obtenção de parâmetros cinéticos, que são relevantes para determinar a velocidade e eficácia do processo de dissolução, além do tempo necessário para que determinadas quantidades do fármaco se dissolvam, possibilitando, desta forma, prever resultados da avaliação *in vitro* de determinada formulação (RODRIGUES *et al*, 2008; AGUIAR *et al*, 2005; STORPIRTIS *et al*, 1999).

5.5.1. Estudos de dissolução da nifedipina *in vitro* nos complexos HPBCD/NIF e BCD/NIF

Os perfis de dissolução da NIF e dos complexos de inclusão em beta-ciclodextrinas contendo NIF estão apresentados na Figura 55. Esses perfis de liberação demonstram que o tempo médio para liberar 80% do fármaco foi de cerca de 300, 45 e 20 minutos para NIF, BCD/NIF e HPBCD/NIF, respectivamente. Esses resultados evidenciam que ambos os sistemas de inclusão mostraram uma taxa de dissolução maior do que a do fármaco puro. Esse comportamento pode ser justificado pela inclusão nas ciclodextrinas, oligômeros cíclicos da glucose que desempenham um papel muito importante na otimização da dissolução de fármacos pouco solúveis em água como a NIF.

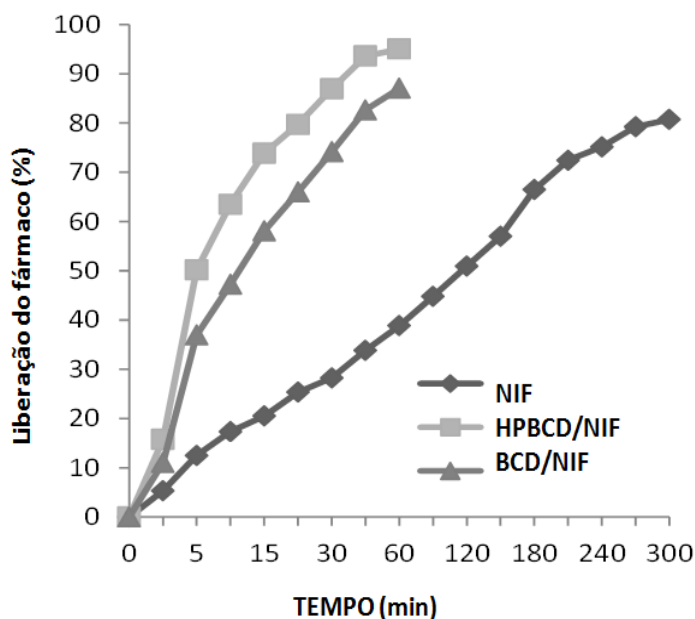


Figura 55 - Perfis de liberação da NIF e dos complexos de inclusão HPBCD/NIF e BCD/NIF em tampão fosfato pH 6,8

Todos os resultados demonstraram que complexos de inclusão contendo NIF otimizaram a liberação do fármaco, e que as formulações trazem como vantagem uma adequação da solubilidade da NIF, sem provavelmente interferir em seu mecanismo de liberação no trato gastrointestinal.

5.5.2. Estudos de dissolução da nifedipina *in vitro* dos complexos polímero/NIF e das misturas físicas dos polímeros e da NIF.

Os perfis de dissolução do fármaco puro, mistura física e complexos de inclusão preparados com os polímeros PU/BCD/TDI, PU/BCD/TDI/P4000 e MBCD-co-MMA com o fármaco nifedipina, no estado sólido, são apresentados nas Figura 56, 57 e 58, respectivamente. Pode-se observar, em primeiro lugar, que o método de encapsulação por malaxagem foi eficaz, considerando a diferença entre o perfil de todos os complexos preparados com polímeros em relação às misturas físicas. Além disso, as misturas físicas apresentaram perfis semelhantes ao da nifedipina, com uma taxa de dissolução mais rápida do que a da NIF como fármaco puro, enquanto que os complexos com polímeros demonstraram um perfil de liberação sustentada.

Entre os complexos formados com poliuretanos derivados de ciclodextrinas, o PU/BCD/TDI/NIF apresentou uma liberação mais lenta (Figura 56), liberando o fármaco totalmente em 30 horas. O outro polímero uretânico que foi sintetizado com o PEG 4000 (Figura 57) apresentou uma liberação mais rápida, com o tempo de 8 horas. A diferença entre os comportamentos dos polímeros uretânicos pode ser explicada considerando que o PEG tornou, polímero mais hidrofílico, ocasionando uma dissolução mais rápida da nifedipina. O complexo preparado com o copolímero acrílico (Figura 58) liberou o fármaco totalmente em 24 horas.

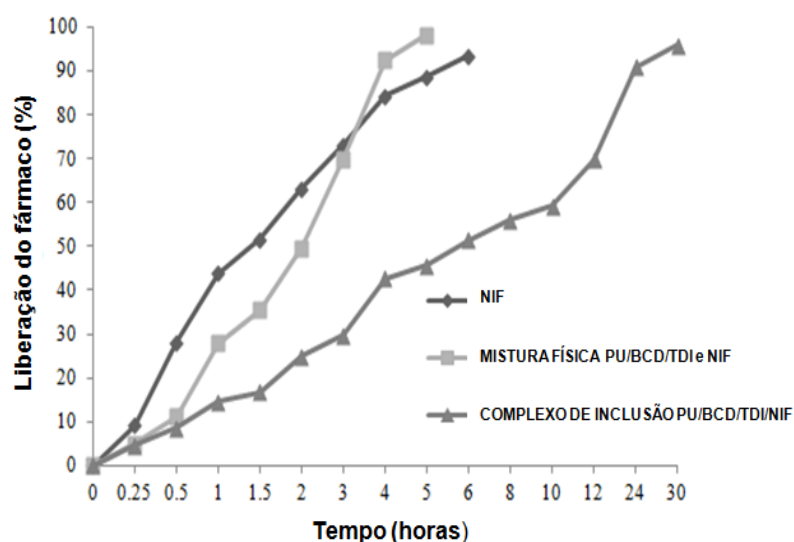


Figura 56 - Perfis de liberação da NIF, mistura física do polímero PU/TDI/BCD e do complexo PU/BCD/TDI/NIF em tampão fosfato pH 6,8.

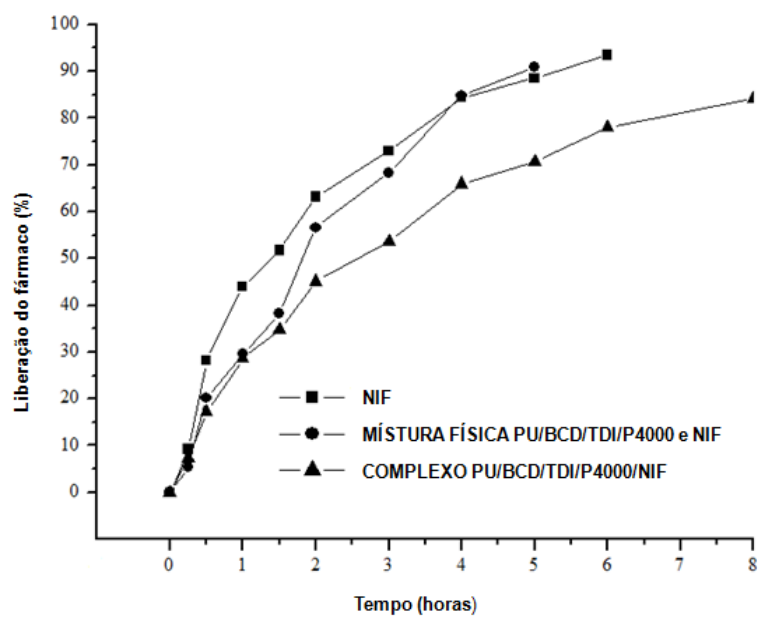


Figura 57 - Perfis de liberação da NIF, mistura física do polímero PU/TDI/BCD/P4000 e do complexo PU/BCD/TDI/P4000/NIF em tampão fosfato pH 6,8.

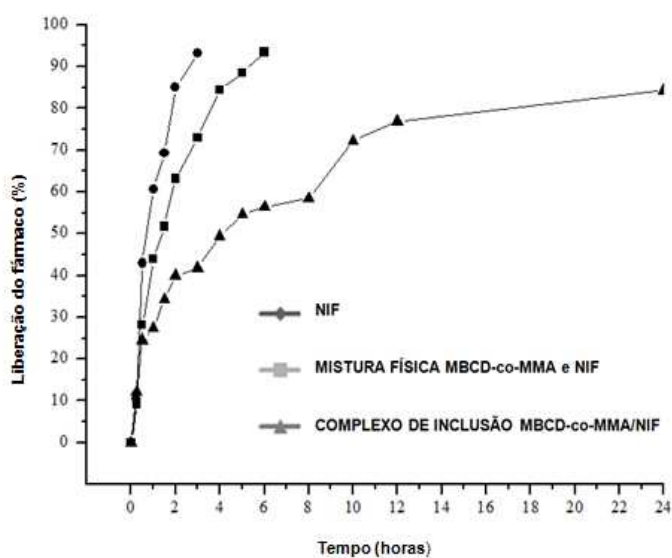


Figura 58 - Perfis de liberação da NIF, mistura física do polímero PU/TDI/BCD/P4000 e do complexo PU/BCD/TDI/P4000/NIF em tampão fosfato pH 6,8.

Os complexos de inclusão preparados a partir dos polímeros sintetizados demonstraram potencial como sistema de transporte e liberação do fármaco nifedipina, ou aumentando a solubilidade ou aumentando o tempo de liberação, alcançando assim o objetivo de aplicação do projeto inicial. Entretanto os resultados apresentados neste trabalho mostram que todos os polímeros obtidos podem servir como carreadores para outros fármacos ou ainda em aplicações em outras áreas da química.

6. CONCLUSÕES

6.1. SISTEMA 1 – Poliuretanos derivados de ciclodextrina

Os polímeros compostos apenas com ciclodextrinas e diisocianato foram sintetizados pelo método em uma etapa, enquanto que os polímeros uretânicos obtidos com PEG foram feitos em duas etapas. Os espectros obtidos por IVTF sugerem que houve formação de ligações uretânicas e a análise por PCA aplicadas aos espectros de IVTF demonstrou que o PEG faz parte da estrutura dos polímeros sintetizados pelo método pré-polímero.

A análise termogravimétrica dos polímeros revelou eventos que indicaram perda de massa associada com a clivagem de ligações uretânicas.

A difratometria de raio-X revelou a mudança da estrutura cristalina da BCD, não observada para a HPBCD, pois os polímeros apresentaram estrutura não-cristalina. Os polímeros sintetizados apresentaram um desordenamento com formação de halo de caráter não cristalino, característico de sistemas reticulados.

6.2. SISTEMA 2 – Polímeros acrílicos derivados de ciclodextrinas

A rota de síntese a partir do anidrido metacrílico em meio de piridina foi eficiente para a preparação do monômero vinílico com ciclodextrina pendente (MBCD). A formação do produto foi comprovada por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, pois foram observadas bandas atribuídas às insaturações e ligações características da função éster.

O espectro de RMN ^1H do monômero MBCD revelou sinais de prótons vinílicos e prótons metílicos dos grupos metacrilato que confirmaram a síntese do monômero esperado.

A metodologia para a preparação do copolímero a partir dos comonômeros MBCD e metacrilato de metila, produziu um material com solubilidade diferente dos comonômeros utilizados. A análise por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier revelou, ainda, bandas características de insaturações, possivelmente porque algumas insaturações não

reagiram para a formação do copolímero, possivelmente devido ao impedimento estérico.

A análise da curva termogravimétrica descrita pela degradação do MBCD-co-MMA mostrou boa estabilidade deste copolímero abaixo de 250°C. Entretanto, o monômero MBCD apresentou uma maior estabilidade térmica.

A observação da transição vítrea do copolímero MBCD-co-MMA e do polímero de controle PMMA evidenciou um aumento da transição vítrea do copolímero formado, provavelmente devido à presença de ligações cruzadas.

A avaliação por difratometria de raio-X do monômero revelou que a cristalinidade da beta-ciclodextrina foi afetada pela reação de esterificação com o anidrido metacrílico, que é mantida após a copolimerização do monômero com o metacrilato de metila.

6.3. SISTEMA 3 – Complexos de inclusão BCD/NIF e HPBCD/NIF

Através da análise dos dados obtidos no estudo de solubilidade de fases infere-se que a hidroxipropil-beta-ciclodextrina e a beta-ciclodextrina aumentaram a solubilidade aquosa da nifedipina.

A caracterização demonstrou evidências da formação dos complexos de inclusão HPBCD/NIF BCD/NIF. Os estudos de ressonância e de modelagem molecular sugerem que o complexo foi formado pela inclusão do anel não aromático do fármaco na cavidade da ciclodextrina.

Estes resultados potencializam a utilização da nifedipina na forma de complexo de inclusão com as ciclodextrinas estudadas, especialmente com a hidroxipropil-beta-ciclodextrina que proporcionou um aumento maior no caráter hidrofílico do complexo resultante.

6.4. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE ENCAPSULAÇÃO

O estudo da capacidade de encapsulação das ciclodextrinas reticuladas revelou um aumento na capacidade de encapsulação a partir do aumento da massa do polímero. As avaliações realizadas com todos os polímeros derivados de

ciclodextrina diminuíram a absorbância da fenolftaleína, ao contrário dos polímeros sem ciclodextrinas que praticamente não alteraram a absorbância.

6.5. APLICAÇÃO DOS POLÍMEROS E DOS COMPLEXOS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO NIFEDIPINA

Ambos os complexos de inclusão (BCD/NIF e HPBCD/NIF) aumentaram a solubilidade e a taxa de dissolução da nifedipina. Os complexos de inclusão preparados a partir dos polímeros sintetizados demonstraram potencial como sistema de transporte e liberação do fármaco nifedipina, apresentando um perfil de liberação sustentada, permitindo uma eficácia maior na utilização do fármaco nifedipina, com potencial para utilização para formulações farmacêuticas sólidas.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, G.; FARIA, L. G.; FERRAZ, H. G.; SERRA, C. H. R.; PORTA, V. Avaliação biofarmacotécnica in vitro de formas farmacêuticas sólidas contendo doxiciclina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 41, 4, P.451-458, 2005.

AKCELRUD, L. Fundamentos da Ciência dos Polímeros. Editora Manole. São Paulo, 2007.

ALLEN, F. H. The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. **Acta Crystallographica**, 58, p.380-388, 2002.

ALLINGER, N.; YUH, Y. H.; LII, J. H. Molecular mechanics - the MM3 force-field for hydrocarbons. **Jornal of the American Chemical Society**, 111, p.8551-8566, 1989.

ANDRADE, G. R. S.; REZENDE, T. S.; BARRETO, L. S.; ALMEIDA, L.; COSTA, N. B.; GIMENEZ, I. F. Computer simulation and spectroscopic study of inclusion complexes of cyclodextrins with luminescent porphyrins. **Journal of Physics. Conference Series** (Online), 249, p.12037, 2010.

ARAKI, K.; TOMA, H. E. Química de sistemas supramoleculares constituídos por porfirinas e complexos metálicos. **Química Nova**, 25, 6, p.962-975, 2002.

ARAÚJO, M. V. G.; VIEIRA, E. K. B.; LÁZARO, G. S.; CONEGERO, L. S.; ALMEIDA, L. E.; BARRETO, L. S.; COSTA, N. B.; GIMENEZ, I. F. Characterization, phase solubility and molecular modeling of α -cyclodextrin/pyrimethamine inclusion complex. **Spectrochimica Acta A**, 72, p.165-170, 2009.

ARAÚJO, M. V. G.; VIEIRA, E. K. B.; LÁZARO, G. S.; CONEGERO, L. S.; ALMEIDA, L. E.; BARRETO, L. S.; COSTA, N. B.; GIMENEZ, I. F. Sulfadiazine/hydroxypropyl- β -cyclodextrin host-guest system: Characterization,

phase-solubility and molecular modeling. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 16, p.5788-5794, 2008.

ARAÚJO, M. V. G.; VIEIRA, E. K. B.; LÁZARO, G. S.; CONEGERO, L. S.; ALMEIDA, L. E.; BARRETO, L. S.; COSTA, N. B.; GIMENEZ, I. F. Inclusion complexes of pyrimethamine in hydroxypropyl- β -cyclodextrin: characterization, phase solubility and molecular modelling. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 15, p.5752-5759, 2007.

ASBAHR, A. C. C.; FRANCO, L.; BARISON, A.; SILVA, C. W. P.; FERRAZ, H. G.; RODRIGUES, L. N. C. Binary and ternary inclusion complexes of finasteride in HPBCD and polymers: preparation and characterization. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 17, p.2718-2723, 2009.

BAYOMI, M. A.; ABANUMAY, K. A.; AL-ANGARY, A. A. Effect of inclusion complexation with cyclodextrins on photostability of nifedipine in solid state. **International Journal of Pharmaceutics**, 243, p.107-117, 2002.

BHASKAR, M.; ARUNA, P.; JEEVAN, R. J. G. β -Cyclodextrin-polyurethane polymer as solid phase extraction material for the analysis of carcinogenic aromatic amines, **Analytica Chimica Acta**, 509, p.39–45, 2004.

BIBBY, D., DAVIES, N., TUCKER, I. Investigations into the structure and composition of beta-cyclodextrin/poly(acrylic acid) microspheres **International Journal of Pharmaceutics**, 180, 2, p.161-168, 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n. 1.587, de 03 de setembro de 2002. Aprovar a revisão da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais -RENAME. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 05 set. 2002.

BRITO, H. F.; CARVALHO, C. A. A.; MALTA, O. L.; PASSOS, J. J.; MENEZES, J. F. S.; SINISTERRA, R. D. Spectroscopic study of the inclusion compound of β -cyclodextrin and tris(dibenzoylmethane)europium(III) dihydrate. **Spectrochimica Acta Part A**, 5, p.2403–2410, 1999.

BROWN, M. E.; GLASS B. D.; WORTHINGTON, M. S. Binary systems of nifedipine and various cyclodextrins in the solid state thermal, IVTF, DRX studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 68, p.631-646, 2002.

BURGER, A. E.; KOLLER, K. Polimorphism and pseudopolimorfism on nifedipine. **Scientific Pharmaceuticals**, 64, p.293-301, 1996.

BUTLER, R. T.; KALLWARF K. L. J. Drug-induced gingival hyperplasia: phenytoin, nyclosporine, and nifedipine. **The Journal of the American Dental Association**, 56, p. 56-60, 1987.

CABEÇA, L. F. Topologia de Complexos Formados entre Drogas/ β -Ciclodextrinas/Lipossomas/Células, Aplicando Técnicas de Ressonância Magnética Nuclear – RMN. Tese de Doutorado. Campinas, 2009.

CABEÇA, L. F.; FIGUEIREDO, I. M.; PAULA, E.; MARSAIOLI, A. J. Prilocaine–cyclodextrin–liposome: effect of pH variations on the encapsulation and topology of a ternary complex using ^1H NMR. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 49, 6, p. 295–300, 2011.

CAChe 6.0 - Fujitsu, Ltda., Chiba, Japan, 2000.

CAMPOSA, E.; CORDEIRO R.; SANTOS, A. C.; MATOS, C.; GIL, M. H. Design and characterization of bi-soft segmented polyurethane microparticles for biomedical application. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 88, p.477– 482, 2011.

CANEVAROLO JR. S. V. Técnicas de Caracterização de Polímeros. Artiber Editora, São Paulo, 2003.

CAO F, GUO J, PING Q. The physicochemical characteristics of freeze-dried scutellarin-cyclodextrin tetracomponent complexes. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 31, 8, p.747-756, 2005.

CAGNOA, M.; STEINA, P. C.; SKALKO-BASNET, N.; BRANDLA, M.; BAUER-BRANDLA, A. Solubilization of ibuprofen with β -cyclodextrin derivatives: Energetic and structural studies, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 55, p. 446–451, 2011.

CAPPELLO, B.; DI MAIO, C.; IERVOLINO, M.; MIRO, A. Improvement of Solubility and Stability of Valsartan by Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, 54, p.289-294, 2006.

CARNEIRO, E. F.; ARAÚJO, M. V. G.; BARBOSA, R. V.; SILVA, C. W. P.; BARISSON, A.; SANTANA, G. R.; COSTA JR., N. B.; ZAWADZKI, S. F. Uso da hidroxipropil-beta-ciclodextrina como matriz polimérica para formação de complexo de inclusão com o fármaco nifedipina. Livro de Resumos do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros, Associação Brasileira de Polímeros - ABPol. – São Carlos: Cubo Multimídia, 2009.

CESTEROS, L. RAMÍREZ, C. A. PECIÑA, A. KATIME, I. Poly(ethylene glycol- β -cyclodextrin) gels: synthesis and properties. **Journal of Applied Polymer Science**, 102, 1162-1166, 2006.

CHEN, W.; YANG, L.; MA, S.; YANG, X.; FAN, B.; LIN, J. Crassicauline A/ β -cyclodextrin host-guest system: preparation, characterization, inclusion mode, solubilization and stability. **Carbohydrate Polymers**, 84, p.1321–1328, 2011.

CONN, M. M.; REBEK, J. J. Self-Assembling Capsules. **Chemical Review**, 97, p.1647-1668, 1997.

CRAM, D. J.; CRAM, J. M. Design of complexes between synthetic hosts and organic guests. **Accounts of Chemical Research**, 11,1, p.8–14, 1978.

CRINI, G. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. **Progress in Polymer Science**, 30, p.38–70, 2005.

CUNHA-FILHO, M.S.S., SÁ-BARRETO, L.C.L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 28, 1, p.1-9, 2007

MARTIN, D. J.; WARREN, L. A. P.; GUNATILLAKE, P. A.; MCCARTHY, S. J.; MEIJS, G. F.; SCHINDHELM, K. New methods for the assessment of in vitro and in vivo stress cracking. in biomedical polyurethanes. **Biomaterials**, 22, p.973-978, 2001.

DAVIES, A. M. C.; FEARN, T. Back to basics: the principles of principal component analysis. **Spectroscopy Europe**, 16, 6, p.20-23, 2004.

DAVIS, M. E.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future, **Nature Reviews Drug Discovery**, 3, 12, p.1023-1035, 2004.

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

DEWAR, M. J. S.; ZOEBISCH, E.G.; HEALY, E. F.; STEWART, J. J. P. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. **Journal of the American Chemical Society**, 107, p. 3902-3909, 1985.

DODZIUK, H. (Ed.). Cyclodextrin and Their Complexes – Chemistry, Analytical Methods, Applications. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.Weinheim, 2006.

SANTOS, J. F.; COUCEIRO, R.; CONCHEIRO, A.; TORRES-LABANDEIRA, J. J.; ALVAREZ-LORENZO, C. Poly(hydroxyethyl methacrylate-co-methacrylated-B-cyclodextrin) hydrogels: Synthesis, cytocompatibility, mechanical properties and drug loading/release properties. **Acta Biomaterialia**, 4, 3, p.745-755, 2008.

DRUMOND, W. S.; WANG, S.; MOTHE, C. G. Síntese e caracterização do copolímero poli (ácido láctico-b-glicol etilênico). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 14, 2, p.74-79, 2004.

DU, L.; SONG, H.; LIAO, S. A biocompatible drug delivery nanovalve system on the surface of mesoporous nanoparticles. **Microporous and Mesoporous Materials**, 147, p. 200–204, 2012.

DUCHÊNE, D.; WOUESSIDJEW, D.; POELMAN, M. C. Les cyclodextrines dans les préparations pour usage dermique. In: (Ed.). Formes pharmaceutiques pour application locale. Paris: Tec & Doc. Les cyclodextrines dans les préparations pour usage dermique, p.481-499, 1997.

EGYED, O. Spectroscopic studies on β -cyclodextrin. **Vibrational Spectroscopy**, 1, p.225-227, 1990.

ÉHEN, Z.; GIORDANO, F.; SZTATISZI, J.; JICSINSZKY, L.; NOVÁK, CS. Thermal characterization of natural and modified cyclodextrins using TG-MS combined technique. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Vol. 80, p.419–424, 2005.

FILIPOVIC-GRICIC, J., VOINOVICH, D., MONEGHINI, M., BECIREVIC-LACÁN, M., MMAGAROTTO, L., JALSENJAK, I. Chitosan microspheres with hydrocortisone and hydrocortisone-hydroxipropil-beta-cyclodextrin inclusion complexes. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 9, p. 373-379, 2000.

FILIPOVIC-GRICIC, J.; BECIREVIC-LACAN, M.; SKALKO, N.; JALSENJAK, I. Chitosan microspheres of nifedipine and nifedipine-cyclodextrin inclusion complexes. **International Journal of Pharmaceutics**, 135, p.183-190, 1996.

FROMMING, K.H., SZEJTLI, J., 1996. Pharmacokinetics and toxicology of ciclodextrinas. In: Szejtli, J., Szenté, L. (Eds.), Proc. of the 8th Int. Symposium on Ciclodextrinas. p.33–45, 1996.

GARCIA, M. G. Síntesis de Ciclodextrinas Multivalente y Evaluación de sus propiedades como Sistemas Transportadores de fármaco. Tese de doutorado. Departamento de Química Orgánica, Universidad de Sevilla, 2005.

GARCIA-ZUBIRI, I. X; GONZÁLEZ-GAITANO, G; ISASI, J. R. Isosteric heats of sorption of 1-naphthol and phenol from aqueous solutions by β -cyclodextrin polymers, **Journal of Colloid and Interface Science**, 307, p.64-70, 2007.

GLAZYRIN, E.; GRACHEV, M. K.; KUROCHKINA, G. I.; NIFANT'EV, E. E. Inclusion compounds of some water-soluble β -Cyclodextrin derivatives with phenolphthalein. **Russian journal of general chemistry**, 74, 12, p.1922-1925, 2004.

GOOCH, J. W. (Ed.). Encyclopedic Dictionary of Polymers. Springer Science, New York, USA, 1 edition, 2007.

HAMCERENCU, M.; DESBRIERES, J.; KHOUKH, A.; POPA, M.; RIESS, G. Synthesis and characterization of new unsaturated esters of Gellan Gum. **Carbohydrate Polymers**, 71, 1, p.92-100, 2008.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase-solubility techniques, **Advances Analytical Chemistry Instrumental**, 4, p.117-212, 1965.

HUSSAIN L. A.; DICKENS, S. H.; BOWEN, R. L. Effects of polymerization initiator complexation in methacrylated β -cyclodextrin formulations. **Dental Materials**, 20, p.513–521, 2004.

HUSSAIN, L. A.; DICKENS, S. H.; BOWEN, R. L. Properties of eight methacrylated beta-cyclodextrin composite formulations. **Dental Materials**, 21, p. 210–216, 2005.

JENKINS, R.; SNYDER, R. L. Introduction to X-Ray Powder Diffractometry. John Wiley & Sons, Inc., New York, 138, 1996.

KAPUR, G. S.; CABRITA, E. J.; BERGER, S. The qualitative probing of hydrogen bond strength by diffusion-ordered NMR spectroscopy. **Tetrahedron Letters**, 41, 37, p.7181-7185, 2000.

KHAN, A. R.; FORGO, P.; STINE, K. J.; D'SOUZA, V. T. Methods for selective modifications of cyclodextrins, **Chemical Reviews**, 98, p.1977-1996, 1998.

KLAMT, A.; SCHÜÜMANN, G. COSMO: A New Approach to Dielectric Screening in Solvents with Explicit Expressions for the Screening Energy and its Gradient. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, p.799-805, 1993.

KOHRI, N.; MORI, K.I.; MIYAZAKI, K.; TAKAICHI A. Sustained release of nifedipine from granules. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 79, p.57-61, 1986.

LEE, K.; CHOI, S.; RIU, E.; RYOO, J. J.; PARK, J. H.; KIM, Y.; HYUN, M. H. Preparation and characterization of cyclodextrin polymer and its high-performance liquid-chromatography stationary phase. **Analytical Sciences**, 18, p.31-34, 2002.

LEHN, J. M. *Supramolecular Chemistry*, VCH, Weinheim, Germany, 1995.

LIU, J.; QIU, L.; GAO, J.; JIN, Y. Preparation, characterization and in vivo evaluation of formulation of baicalein with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, 312, p.137-143, 2006.

LIU Y. Y.; FAN, X. D.; HU, H; TANG, Z. H. Release of chlorambucil from poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels with β -Cyclodextrin moieties. **Macromolecular Bioscience**, 4, 8, p.729–736, 2004.

LOBENBERG, R. e AMIDON, G. L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.50, n.1, Jul, p.3-12. 2000.

LECLERCQ, L.; NARDELLO-RATAJ, V.; RAUWEL, G.; AUBRY, J. M. Structure-activity relationship of cyclodextrin/biocidal double-tailed ammonium surfactant host-guest complexes: towards a delivery molecular mechanism? **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 41,p.265–275, 2010.

LOFTSSON, T. BREWSTER, M. E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: effects on drug permeation through biological membranes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 63, 9, p. 1119-1135, 2011

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

LOFTSSON, T.; MÁSSON, M.; BREWSTER, M. Self-Association of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. **Journal of pharmaceutical sciences**, 93, 5, 2004.

LOFTSSON, T.; MÁSSON, M.; SIGURJÓNSDÓTTIR, J. F. Methods to enhance the complexation efficiency of cyclodextrins. **STP Pharma Sciences**, 9, 237–242, 1999.

LOFTSSON, T. BREWSTER, M. E. Cyclodextrins as pharmaceutical excipients. **Pharmaceutical Technology Europe**, 9, p.6-34, 1997.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. **Drug solubilization and stabilization**, 85, p.1017-25, 1996.

MA, D.; TU, K.; ZHANG, L. Bioactive supramolecular hydrogel with controlled dual drug release characteristics. **Biomacromolecules**, 11, 2010.

MÄKELÄ M. J.; KORPELA T. K.; PUISTO J.; LAAKSO S. V. Nonchromatographic Cyclodextrin Assays: Evaluation of Sensitivity, Specificity, and Conversion Mixture Applications. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 36, p.83-88, 1988.

MANAKKER, F. V.; VERMONDEN, T.; CORNELUS F. N.; HENNINK, W.E. Cyclodextrin-based polymeric materials: synthesis, properties, and

pharmaceutical/biomedical Applications. **Biomacromolecules**, 10, 12, p. 3158-3174, 2009.

MANTEGNA, S.; BINELLO, A.; BOFFA, L.; GIORGIS, M.; CENA, C.; CRAVOTTO, G. A one-pot ultrasound-assisted water extraction/cyclodextrin encapsulation of resveratrol from *Polygonum cuspidatum*. **Food Chemistry**, 130, p.746–750, 2012.

MARQUES, H. C. Structure and properties of cyclodextrins: inclusion complex formation. **Revista Portuguesa de Farmácia**, 44, 2, p.77-84, 1994.

MARK, J. E., Polymer Data Handbook. New York, NY: Oxford University Press 1999.

MEHTA, K.; KISLALIOGLU, M. S.; SHAH, N. H.; PHUAPRADIT, W.; MALICK, W. In vivo release performance of nifedipine in dogs from a novel EUDRAGIT®-based multi-unit erosion matrix. **Drug Delivery Technology**, 2, 1, p.7-12, 2002.

MOCANU, G; VIZITIU, D.; CARPOV, A. Cyclodextrin polymers. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, 16, 315-342, 2001.

MONTANARI, M. L. C; MONTANARI, C. A.; PILÓ-VELOSO, D. BEEZER, A. E. MITCHELL, J. C. Sistemas transportadores de drogas. **Química Nova**, 21, 4, p.470-476, 1998.

MOHAMED, M. H.; WILSON, L. D.; HEADLEY, J. V. Estimation of the surface accessible inclusion sites of β -cyclodextrin based copolymer materials. **Carbohydrate Polymers**, 80 p.186–196, 2010.

MOHAMED, M. H.; WILSON, L. D.; HEADLEY, J. V.; PERU, K. M. Investigation of the sorption properties of β -cyclodextrin-based polyurethanes with phenolic dyes and naphthenates. **Journal of Colloid and Interface Science**, 356, p.217–226, 2011.

MORIWAKI, C.; MAZZER, C.; PAZZETTO, R.; MATIOLI, G. Produção, purificação e aumento da performance de ciclodextrina glicosiltransferases para produção de ciclodextrinas. **Química Nova**, 32,9, p.2360-2366, 2009.

MOSHER , G. E.; THOMPSON , D. O. Complexation and cyclodextrins. *In*: Swarbrick, J. B. (Ed.). Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. New York, Marcel Dekker, p.531-558, 2002.

NAES, T; ISAKSSON, T; FEARN, T; DAVIES, T. A User Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification, NIR Publications, 2002.

ODIAN, G. Principles de Polimerization, fourth edition, Wiley Interscience, New York, 2004.

OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; COELHO, Pedro. Ciclodextrinas: formação de complexos e sua aplicação farmacêutica. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa**, 6, p.70-83, 2009.

OZMEN, E. F. YILMAZ, M. Use of β -cyclodextrin and starch based polymers for sorption of Congo red from aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, 148, p.303–310, 2007.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. Introduction to Spectroscopy. 3^a Edition, Brooks / Cole, Thomson Learning, Canada, p.61–79, 2001.

PING, Y.; LIU, C.; ZHANG, Z.; LIU, K. L.; CHEN, J.; LI, J. Chitosan-graft-(PEI-b-cyclodextrin) copolymers and their supramolecular PEGylation for DNA and siRNA delivery. **Biomaterials**, 32, p. 8328 -8341, 2011.

PINTO, E. R. P.; GAMEIRO JR, A. F.; SANTOS, A. F.; TRINDADE, W.; POLITO, W. L.; MESSADEQ, Y.; RIBEIR, S. J. L. Caracterização da resina poliuretana produzida a partir de óleos vegetais. *In*: 9^o Congresso Brasileiro de Polímeros, Campina Grande, 2007.

POPLE, J. A.; BEVERIDGE, D.; DOBOSH, P. Approximate self-consistent molecular orbital theory v. intermediate neglect of differential overlap. **Journal of chemical physics**, 47, p.2026-2033, 1967.

QUIÑONES, H. J. C. Ciclodextrinas: naturaleza, propiedades y aplicaciones. Departamento de Madera, Celulosa Y Papel, Universidad Guadalajara, México, 2001.

RAMA, A. C. R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I. V. Biopharmaceutical aspects of drug formulation for neonatology: rational for indomethacin's complexation with hydroxypropyl-beta-ciclodextrina to treat patent ductus arteriosus. **Revista Brasileira Ciência Farmacêutica**, 41, 3, p.281-299, 2005.

ROCHA, G. B.; FREIRE, R. O.; SIMAS, A. M.; STEWART, J. J. P. RM1: A reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br, and I. **Journal of Computational Chemistry**, 27, p. 1101-1111, 2006.

RODRIGUES, L. N. C.; WATANABE, S. P.; FERRAZ, H. G. Perfil de dissolução *in vitro* de comprimidos de primaquina disponíveis para tratamento de malária no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 41,1, p.41-45, 2008.

SANTOS, J. F. S.; COUCEIRO, R. B.; CONCHEIRO, A.; TORRES-LABANDEIRA, J.; ALVAREZ-LORENZO, C. Poly(hydroxyethyl methacrylate-co-methacrylated-b-cyclodextrin) hydrogels: Synthesis, cytocompatibility, mechanical properties and drug loading/release properties. **Acta Biomaterialia**, 4, p.745–755, 2008.

SALIPIRA, K. L.; KRAUSE, R. W.; MAMBA, B. B.; MALEFETSE, T. J.; CELE, L. M. DURBACH, S. H. Cyclodextrin polyurethanes polymerized with multi-walled carbon nanotubes: Synthesis and characterization. **Materials Chemistry and Physics**, 111, p.218–224, 2008.

SANTOS, R. J. F.; ALVAREZ-LORENZO, C.; SILVA, M; BALSÀ, L.; COUCEIRO, J.; TORRES-LABANDEIRA, J. J.; CONCHEIRO, A. Soft contact lenses functionalized with pendant cyclodextrins for controlled drug delivery. **Biomaterials**, 30, p.1348–1355, 2009.

SCHNEIDER, H.; HACKET, F.; RUDIGER, V. NMR Studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. **Chemical Review**, 98, p.1755-1785, 1998.

SENTÜRK, Z.; ÖZKAN, S.; ÖZKAN, Y. **Electroanalytical study of nifedipine using activated glassy carbon electrode. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 16, 5, p. 801-807, 1998.

STEWART, J. J. Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method. **Journal of Computational Chemistry**, 10, 2, p. 209-220, 1989.

STEWART J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. **Journal of Molecular Modeling**, 13, 12, p.1173-1213, 2007.

STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P.G.; RODRÍGUEZ, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 35, 1, p.1-16, 1999.

SZEJTLI, J. Introduction and general overview of ciclodextrina chemistry. **Chemical Reviews**, 98, p.1743-1753, 1998.

SZEJTLI, J. Cyclodextrins in drug formulations: part II. **Pharmaceutical Technology, Eugene Journal**, v.3, p.16-24, 1991.

SZYCHER, M. Handbook of Poliurethanes. Editora CRC Press, 1999.

SYKES, P. **A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry**. 6a edition. New York: Longman scientific & technical, 1986.

TAGUCHI, K. Transient binding of phenolphthalein- β -cyclodextrin complex: an example of induced geometrical distortion. **Journal of the American Chemical Society**, 108, p.2705-2709, 1986.

UEKAMA, K. Design and evaluation of cyclodextrin-based drug formulation. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 52, 8, p.900-915, 2004.

UEKAMA, I. T. K.; IRIE, T. HIRAYAMA, F. Cyclodextrin drug carrier systems. **Chemical Reviews**, 98, p.2045-2076, 1998.

UNGARO, F.; GIOVINOVA, C.; CATANZANOVA, O.; MIROVA, A.; MELEB, A.; QUAGLIAA, F.; LA ROTONDA, M. I. Use of cyclodextrins as solubilizing agents for simvastatin: Effect of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on lactone/hydroxyacid aqueous equilibrium. **International Journal of Pharmaceutics**, 404, P.49–56, 2011.

UYAR, T; BESENBACHER, F. Electrospinning of cyclodextrin functionalized polyethylene oxide (PEO) Nanofibers. **European Polymer Journal** 45 (2009) 1032–1037

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. As Ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica. Edições Minerva Coimbra. Coimbra. 1ª edição, 2006.

VERMETTE, P. GRIESSER, H. J.; LAROCHE, G.; GUIDOIN, R. Biomedical Applications of Polyurethanes. Tissue Engineering Intelligence unit 6. eureka.com, 810 south church street, georgetown, texas, u.s.a. 78626, 2001.

VENTURINI, C. G.; NICOLINI, J.; MACHADO, C.; MACHADO, V. G. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Química Nova**, 31, 2, p.360-368, 2008.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 20, 1, p.51-64, 2010.

WU, H.; LIANG, H.; YUAN, Q.; WANG, T.; YAN, X. Preparation and stability investigation of the inclusion complex of sulforaphane with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Carbohydrate Polymers**, 82, p.613–617, 2010.

YANG, B.; LIN, J.; CHEN, Y.; LIU, Y. Artemether/hydroxypropyl- β -cyclodextrin host-guest system: characterization, phase-solubility and inclusion mode. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 17, p.6311-6317, 2009.

YANG, J.; WILEY, C. J.; GODWIN, D. A.; FELTON, L. A. Influence of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on transdermal penetration and photostability of avobenzone. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 69, p.605-612, 2008.

ZARZYCKI, P. K.; LAMPARCZYK, H. The equilibrium constant of β -cyclodextrin-phenolphthalein complex; influence of temperature and tetrahydrofuran addition. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 18, p.165-170, 1998.

ZERNER, M.C. Zindo Package, Quantum Theory Project, Williamson Hall, University Florida 1990.

ZHENG, H.; ZHANG, X.; YIN, Y.; XIONG, F.; GONG, X.; ZHU, Z.; LU, B.; XU, P. In vitro characterization, and in vivo studies of crosslinked lactosaminated carboxymethyl chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, 84, p.1048–1053, 2011.

ZINGONE, G.; RUBESSA, F. Preformulation study of the inclusion complex warfarin- β -cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, 291, p.3-10, 2005.

ZHANG, X.; WU, Z.; GAO, X.; SHU, S.; WANG, Z.; LI, C. β -Cyclodextrin grafting hyperbranched polyglycerols as carriers for nasal insulin delivery. **Carbohydrate Polymers**, 84, p.1419–1425, 2011.

ZHOU, L. W.; ZHANG, J. L.; CORKE H, YANG, C. H. Factors affecting the determination of β -cyclodextrin by phenolphthalein spectrophotometry. **Analytical Letters**, 29, 7, p.1201-1213, 1996.

ZHOU, J; RITTER, H. Cyclodextrin functionalized polymers as drug delivery systems. **Polymer Chemistry**, 1, p.1552-1559, 2010.

TIAN, X.; REN, E.; WANG, J.; ZOU, J.; TAO, Y.; WANG, S.; JIANG, X. β -Cyclodextrin modified anionic and cationic acrylamide polymers for enhancing oil recovery. **Carbohydrate Polymers**, 87, 1, p.607-613, 2012.