# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 19/02/2021.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
**"JULIO DE MESQUITA FILHO"**
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

# Avaliação de complexos de inclusão e micropartículas poliméricas como alternativas de estabilização do composto antiprotozoário, antibacteriano e antifúngico 2-(2-nitrovinil) furano (G-0)

**Autor: Vivian Ruz Sanjuan**

**Orientador: Prof. Dr. Anselmo Gomes de Oliveira**

**Araraquara-SP**

**2019**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
**"JULIO DE MESQUITA FILHO"**
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

# Avaliação de complexos de inclusão e micropartículas poliméricas como alternativas de estabilização do composto antiprotozoário, antibacteriano e antifúngico 2-(2-nitrovinil) furano (G-0)

**Autor: Vivian Ruz Sanjuan**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármaco e Medicamentos, para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Anselmo Gomes de Oliveira

**Araraquara-SP**
**2019**

**Ficha Catalográfica**
Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

Ruz Sanjuan, Vivian.
**R987a** Avaliação de complexos de inclusão e micropartículas poliméricas como alternativas de estabilização do composto antiprotozoário, antibacteriano e antifúngico 2-(2-nitrovinil) furano (G-0) / Vivian Ruz Sanjuan. – Araraquara, 2019.
264 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Anselmo Gomes de Oliveira.

1. 2-(2-nitrovinil) furano. 2. Estabilização de fármacos. 3. Ciclodextrinas. 4. Complexos de inclusão. 5. Micropartículas. 6. Etilcelulose. I. Oliveira, Anselmo Gomes de, orient. II. Título.

**CAPES: 33004030078P6**

## Dedicatória

A mis queridas hijas, Adriana y Laurita, que fueron y son mi motor impulsor en este largo y difícil viaje, por enfrentar com valentia mi ausencia, por ser nobles e comprender, a pesar de su corta edad.

A mi madre, mi brazo derecho...

A mi esposo Enoel, por todo...

## Agradecimentos

Inicialmente gostaria de agradecer à Associação Universitária Ibero-americana de Pós-graduação (AUIP) em conjunto com o Programa de Apoio a Estudantes de Doutorado do Exterior (PAEDEX) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) por ter-me outorgado a bolsa de doutorado e, assim, contribuir com a superação de profissionais em países subdesenvolvidos como Cuba.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Apoio ao Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001 e do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) – Processo 304617/2017-2.

À meu orientador, o professor Dr. Anselmo Gomes de Oliveira, à professora Dra. Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro, coordenadora do Programa de Ciências Farmacêuticas e à minha Universidade Central "Marta Abreu" de Las Villas, em Cuba (UCLV), por ter confiado em mim para levar ao término este doutorado.

À Universidade Católica de Leuven, Bégica (KULEUVEN) porque foi lá a origem desta investigação, muito em especial ao professor Dr. Guy Van den Mooter, pelo incentivo no trabalho com ciclodextrinas e pelo aprendizado no seu laboratório.

Aos professores e técnicos do PPG em Ciências Farmacêuticas em geral, pela contribuição à minha formação, em especial aos professores Dr. André Gonzaga dos Santos, Dra. Taís María Bauab e Dra. Iracilda Zeppone Carlos, pela disponibilização de recursos, experiência e tempo em função dos experimentos.

Aos professores Dr. Antônio Gilberto Ferreira, da UFSCar, pelo grande apoio no desenvolvimento dos experimentos com Ressonância Magnética Nuclear, Dr. Clóvis Augusto Ribeiro do Instituto de Química, pelo apoio nos experimentos com

Análise térmica e aos professores do laboratório da Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica Dra. María Palmira Daflon Gremião, Dr. Marlus Chorilli e Dra. Beatriz Stringhetti Ferreira pelo apoio material e experiência transmitida nos ensaios de liberação/permeação, assim como também aos técnicos Caio Humberto Perego e Marissa Polessi pela ajuda nos procedimentos de *Clean-up* e ensaios de citotoxicidade, respectivamente.

Aos meus queridos colegas e amigos do laboratório de Farmacotécnica, muito em especial à Camila Fernanda Rodero, Natália Noronha, Roberta Rigón, Jéssica Bernegossi, Andressa Pironi e Fernanda Isadora Boni, assim como o doutorando Matheus Aparecido Ramos do laboratório de Microbiologia e os mestrandos Jovan Duran do Instituto de Química e Angel Gustavo Tolaba de Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos, os quais de alguma forma ajudaram no desenvolvimento dos experimentos.

Também meu agradecimento ao CEMPEQC do Instituto de Química, pelo desenvolvimento da análise por CG-HeadSpace, especificamente ao seu gerente técnico Dr. Marcos Roberto Monteiro e ao doutorando Antonio Tercini.

Finalmente aos cubanos que me acompanharam nesta etapa, muito em especial ao Dr. Jorge Enrique Rodriguez Chanfrau, Celia Magaly Casado, Michael Pérez Rodriguez, Daylin Gamiotea e Alexander Valerino.

*"Um cientista deve acima de tudo, ser como uma criança. Se ele vê algo, deve dizer o que está vendo, independente daquilo ser o que ele imaginava ver. Ver primeiro, testar depois. Mas sempre ver primeiro. Senão você só vai ver o que espera ver"*

*-Do livro de Douglas Adams: - Até mais, e obrigado pelos peixes! -*

## Resumo

2-(2-nitrovinil)furano (G-0) apresenta atividade antiprotozoária, antibacteriana e antifúngica frente a elevado número de patógenos porém, a capacidade de sublimação, baixa velocidade de dissolução em meio aquoso, problemas de compatibilidade com excipientes e fotodegradação, tem limitado sua incorporação em formas farmacêuticas para uso humano e/ou veterinário. O propósito do presente trabalho foi avaliar duas alternativas para a estabilização do candidato a fármaco, através da formação de complexos de inclusão liofilizados (FD) com hidroxipropil-β-ciclodextrina e sulfobutiléter-β-ciclodextrina sódica e utilizando a microencapsulação com etilcelulose pelo método de emulsificação/evaporação do solvente. Uma vez formados e previamente caracterizados, os complexos foram submetidos ao ensaio de estabilidade acelerada a 40°C/75 %HR e ensaios de fotoestabilidade acelerada. A câmara de fotoestabilidade também foi utilizada para confirmar o perfil de degradação dos complexos. Os fotoprodutos foram isolados em coluna analítica e o maioritário foi caracterizado por espectroscopia de RMN. Foi avaliada também a volatilidade do G-0 na forma de complexos comparado com misturas físicas equivalentes através de TGA e CG-HS-FID, complementando assim um estudo desenvolvido anteriormente no modo isotérmico. As propriedades biofarmacêuticas da substância livre e na forma complexada foram estudadas em relação ao comportamento de dissolução em Fluido Vaginal Simulado e a permeação/retenção em mucosa vaginal bovina. Finalmente foi avaliada a influência dos complexos na atividade antifúngica *in vitro* frente a *Candida spp.* assim como na citotoxicidade frente às linhagens celulares de fibroblastos e queratinócitos pelo método do MTT. Por outro lado, as micropartículas poliméricas foram obtidas com a ajuda de um planejamento fatorial $2^4$. A caracterização dos sistemas selecionados foi desenvolvida usando DSC, DRX, MEV, FTIR-ATR e RMN $^1$H. Posteriormente as amostras foram submetidas aos ensaios de estabilidade acelerada a 40°C/75 %HR, ensaio de fotoestabilidade acelerada, analise da volatilidade do G-0 usando TGA/DTA e ensaio de liberação em solução tampão acetato, pH 4,2. Como resultados principais da avaliação, determinou-se que os complexos de inclusão com HP-β-CD e SBE-β-CD apresentaram-se como a melhor alternativa de estabilização porque garantiram ótima estabilidade química de G-0 em condições aceleradas de temperatura e umidade durante os seis meses de estudo porém, ambos os complexos são fotossensíveis. Também diminuíram as perdas por volatilização da substância em comparação com misturas físicas e aumentaram a velocidade de dissolução em fluido vaginal. Não foi quantificado G-0 no compartimento receptor durante o ensaio de permeação em nenhuma das amostras estudadas porém, verificou-se retenção do fármaco na mucosa vaginal bovina, sem influência significativa da formação de complexos. O teste "*in vitro*" de atividade antifúngica mostrou que o complexo FD G-0/HP-β-CD manteve a atividade da substância encapsulada frente a *C. albicans* (padrão e isolado clínico) e melhorou a atividade frente à cepa isolado clínico azol resistente de *C.krusei* (CIM=12,5 $\mu g.mL^{-1}$) comparado com o G-0 (CIM=25 $\mu g.mL^{-1}$) e anfotericina B (CIM=20 $\mu g.mL^{-1}$). O complexo FD G-0/SBE-β-CD melhorou a atividade em todos os casos, atingindo CIM=8 $\mu g.mL^{-1}$ frente a *C.albicans* e CIM=10 $\mu g.mL^{-1}$ frente a *C.krusei.* A viabilidade celular de fibroblastos e queratinócitos seguiu a ordem FD G-0/SBE-β-CD > FD G-0/HP-β-CD > G-0, mostrando maior susceptibilidade para os queratinócitos. As micropartículas poliméricas selecionadas apresentaram forma esférica, com diminuição da cristalinidade do G-0, principalmente no sistema com

maior proporção do polímero, e ausência de interações químicas do G-0 e a etilcelulose. Ainda quando as micropartículas melhoraram a fotoestabilidade do G-0 em condições aceleradas comparado com o fármaco livre, só o sistema G-0/EC 1:1,5 m/m conseguiu diminuir as perdas atribuídas à volatilização porém, também foi o sistema que liberou menor quantidade de G-0 (72,7 % em 12 h). Contrariamente, o sistema que apresentou maior estabilidade química em condições aceleradas foi o G-0/EC 1:1 m/m (102,7 ± 2,4 %), não sendo assim para o sistema com maior proporção polimérica (74,1 ± 4,2 %) durante os três meses de estudo.

**Palavras-chave**: 2-(2-nitrovinil) furano, estabilização de fármacos; ciclodextrinas; complexos de inclusão; micropartículas; etilcelulose.

## Abstract

2-(2-nitrovinyl)furan (G-0) has antiprotozoal, antibacterial and antifungal activity against a large number of pathogens, although the sublimation, low dissolution rate in aqueous medium, low compatibility with excipients and photodegradation, have hindered the incorporation in pharmaceutical dosage forms, to use in human and/or veterinary medicine. The aim of this work was to evaluate two alternatives for the stabilization of the drug candidate through freeze-drying inclusion complex formation (FD) with hydroxypropyl-β-cyclodextrin and sulfobutylether-β-cyclodextrin sodium salt and through microencapsulation with ethylcellulose by mean of emulsion/solvent evaporation method. Once the complexes were prepared and fully characterized previously, they were subjected to an accelerated stability study at 40°C/75 %RH, and a photostability assay under forced irradiation conditions. A photostability chamber was also used in order to confirm the degradation profile for the complexes. Photoproducts were isolated in analytical column and the main degradation product was characterized aided by NMR. Drug volatility was also evaluated when G-0 was complexed, and compared with equivalent physical mixtures through TGA and GC-HS-FID. Biopharmaceutical properties of free drug and in the complexes were studied in terms of dissolution rate in Simulated Vaginal Fluid and permeation/retention in bovine vaginal mucosa. Finally, the influence of both complexes on the "*in vitro"* antifungal activity against *Candida spp*. and the cytotoxicity on fibroblast and keratinocyte cell lines were evaluated using the MTT method. Polymeric microparticles were obtained with the aid of a $2^4$ factorial experimental design. Characterization for the selected systems was performed using DSC, XRD, SEM, FTIR-ATR and $^1$H NMR. Further, they were subjected to an accelerated stability study at 40°C/75 %RH, a forced photostability assay, TGA/DTA experiments to assess the drug volatility and drug release assay in acetate buffer medium, pH 4,2. As a main result, inclusion complexes with HP-β-CD and SBE-β-CD were the best stabilization alternative as they ensure optimum chemical stability of G-0 even under accelerated conditions of humidity and temperature for six months, however both were photosensitive. The formation of inclusion complexes reduced the volatilization of the drug compared with physical mixtures and increased the dissolution rate in vaginal fluid. During the permeability assay G-0 was not quantified in the receptor compartment for any of the samples applied, nevertheless retention in bovine vaginal mucosa was verified for all of them, without significant influence of the complexes formation. "*In vitro"* antifungal activity assay showed that FD G-0/HP-β-CD complex maintained the activity for the encapsulated drug against *C. albicans* (standard and clinical isolated strains) and improved the activity against a clinical isolated azole resistant strain of *C.krusei* (MIC=12,5 $\mu g.mL^{-1}$), compared with free drug (MIC=25 $\mu g.mL^{-1}$) and amphotericin B (MIC=20 $\mu g.mL^{-1}$). FD G-0/SBE-β-CD complex improved the activity in all cases, with MIC= 8 $\mu g.mL^{-1}$ against *C.albicans* and MIC=10 $\mu g.mL^{-1}$ against *C.krusei*. Cellular viability of fibroblasts and keratinocytes followed the ranking order FD G-0/SBE-β-CD > FD G-0/HP-β-CD > G-0, showing higher susceptibility for keratinocytes. Polymeric microparticles selected resulted spherical in shape, with decreased crystallinity for the encapsulated substance (mainly for the system with higher polymer content) and lack of G-0-ethylcellulose chemical interactions. Even when microparticles improved the drug photostability under forced conditions compared with free drug, only G-0/EC 1:1,5 w/w system was able to decrease the weight loss attributed to drug volatilization, however it showed the lower amount of G-0 released (72,7 % in 12 h).

In contrast, the system with better chemical stability was G-0/EC 1:1, w/w (102,7 ± 2,4 %), not having the same behavior the system with higher polymer content (74,1 ± 4,2 %), during three months under accelerated conditions.

**Keywords**: 2-(2-nitrovinyl) furan; drug stabilization, cyclodextrins, inclusion complexes, microparticles, ethylcellulose.

# Lista de Abreviaturas e Siglas

**ANOVA** – Análise de variância

**ATR** – Refletância Total Atenuada

**Avicel PH102** – Celulose microcristalina

**CAS** – Chemical Abstract Service

**$CC_{50}$** – Concentração citotóxica 50

**CCD** – Cromatografia em camada delgada

**CD** – Ciclodextrina

**CECMED** – Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos, Cuba.

**CG** – Cromatografia a gás

**CG-HS-FID** – Cromatografia a gás com amostrador de HeadSpace e detector de ionização por chama.

**CGTase** – Enzima cicloglicosiltransferase

**CIM** – Concentração inibitória mínima

**Circ** – Circularidade

**CLAE** – Cromatografía Líquida de Alta Eficiência

**DAD** – Detector de arranjo de diodos.

**DE** – Eficiência da dissolução

**DI-CAFOS** – Fosfato dicálcico de compressão direta

**$DL_0$** – Dose máxima não mortal

**$DL_{50}$** – Dose letal 50

**DMEM** – Meio de cultura Dulbecco´s Modified Eagle´s

**DMT** – Dose máxima tolerada

**DM-β-CD** – Dimetil-β-ciclodextrina

**DP** – Porcentagem de fármaco liberado

**DSC** – Calorimetría diferencial exploratória

**DTG** – Termogravimetría derivada

**EC** – Etilcelulose

**EE** – Eficiência de encapsulação

**ESI** – Ionização por electrospray

***$f_2$*** – Fator de similaridade

**FD** – Freeze-dried

**FDA** – Food and Drug Administration (USA)

**FTIR** – Espectroscopía no infravermelho com transformada de Fourier

**G-0** – 2-(2-nitrovinil) furano ou 2-(2-nitroetenil) furano

**G-1** – 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitrovinil) furano

**GC-MS** – Cromatografia a gás com detector de massas

**HaCaT** – Linhagem celular de queratinócitos humanos imortalizados

**HPMC** – Hidroxipropil metil celulose

**HP-β-CD** – 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina

**HP-γ-CD** – Hidroxipropil-γ-ciclodextrina

**ICH** – International Conference Harmonization

**iv** – Intravenoso

**L929** – Linhagem celular de fibroblastos de camundongo

**LC-MS** – Cromatografia de líquidos com detector de massas

**Log P** – Coeficiente de partição n-octanol/água

**MEV** – Microscopia eletrônica de varredura

**MNPCE** – Eritrócitos micronucleados policromáticos

**MOPs** – ácido (3-[N-morfolino] propanosulfônico

**MTT** – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio

**mUA** – Miliunidades de absorbáncia

**MWCO** – Molecular weight cut off

**NOE** – Nuclear Overhauser Effect

**ODS** – Octadecilsilano

**PBS** – Tampão fosfato salino

**PDI** – Polidispersidade

**PD1** – Produto de fotodegradação do pico 1.

**PEG** – Polietilenoglicol

**PTFE** – Politetrafluoretileno

**PVA** – Álcool polivinílico

**PVP** – Polivinil pirrolidona

**PVP-VA** – Polivinil pirrolidona vinil acetato

**QSAR** – Estudos quantitativos de relação estrutura-atividade

**RC**– Celulose regenerada

**RMN** – Ressonância Magnética Nuclear

**RM-β-CD** – β-ciclodextrina randomicamente metilada

**ROESY** – Rotational Frame Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

**rpm** – rotações por minuto

**RPMI** – Caldo Roswell Park Memorial Institute.

**SBA-15** – Silica mesoporosa ordenada (Santa Bárbara)

**SBE-β-CD** – Sulfobutil éter-β-ciclodextrina sódica

**SBE-γ-CD** – Sulfobutil éter-γ-ciclodextrina

**SDB** – Caldo Sabouraud-Dextrose

**SVF** – Fluido vaginal simulado

***Tg*** – Temperatura de transição vítrea

**TGA** – Análise termogravimétrica

**TM-β-CD** – 2,3,6-tri-O-metil-β-ciclodextrina

**tp** – Tamanho de partícula

$t_{1/2}$ – Tempo de meia-vida

$t_{90\%}$ – Tempo em que o fármaco degrada até 90 % da concentração inicial

**UV-Vis** – Ultravioleta-Visível

**VolFI** – Volume de fase interna

# Sumário


**1. Introdução..... 1**

**2. Revisão da literatura..... 6**

2.1. 2-(2-nitrovinil) furano (G-0)..... 6

*2.1.1. Obtenção*..... 6

*2.1.2. Aspectos estruturais e propriedades físico-químicas*..... 7

*2.1.3. Atividade Biológica*..... 10

*2.1.4. Toxicidade*..... 12

2.2. Ciclodextrinas..... 15

*2.2.1. Estrutura e propriedades*..... 15

*2.2.2. Historia*..... 17

*2.2.3. Derivados das CDs*..... 20

*2.2.4. Formação de complexos de inclusão*..... 24

*2.2.5. Métodos de preparação de complexos*..... 27

*2.2.6. Aplicações farmacêuticas*..... 30

2.3. Micropartículas..... 44

*2.3.1. Definição e características gerais*..... 44

*2.3.2. Principais aplicações*..... 46

*2.3.3. Métodos de obtenção*..... 47

*2.3.4. Etilcelulose*..... 53

**3. Objetivos..... 56**

**4. Conclusões..... 58**

**5. Referências bibliográficas..... 60**

**6. Anexos..... 97**

# 1. Introdução

O 2-(2-nitrovinil) furano (G-0) pertence à família química dos derivados 2-furiletilénicos. Estas substâncias exibem amplo espectro antibacteriano, antiparasitário e antifúngico, aplicáveis nas clínicas médicas humana e veterinária. Especificamente G-0, apresenta uma potente atividade antiprotozoária frente à *Eimeria tenella,* causadora da coccidiose aviária*,* e pode ser utilizado no tratamento e profilaxia da doença (OLAZÁBAL-MANSO et al., 2002).

Adicionalmente, os derivados 2-furiletilênicos, incluindo G-0, mostraram importante atividade farmacológica frente à *Leishmania spp. (L. mexicana amazonensis, L. donovani infantum* e *L. braziliensis braziliensis*) e *Tripanosoma cruzi* (SIFONTES-RODRÍGUEZ et al., 2015; SIFONTES-RODRÍGUEZ, 2017). Leishmaniose é uma doença causada por inoculação de promastigotes do protozoário do gênero *Leishmania,* durante a picada de um flebótomo fêmea infectado. Cerca de 12 milhões de pessoas padecem de alguma forma de leishmaniose. A forma visceral causa entre 20 e 40 mil mortes anuais, assim como perdas devido à incapacidade. No caso das formas cutâneas e mucocutâneas, por não serem potencialmente letais, tem sido esquecida, localizando-se no final de qualquer lista de prioridade na saúde pública de muitos países porém, o efeito incapacitante e o estigma social que impõe, principalmente nas mulheres, é brutal (ALVAR et al., 2012; SILVA-JARDIM; THIEMANN; ANIBAL, 2014). Entre 70-75 % dos casos relatados estão concentrados em Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Irã, Paquistão, Perú, Arábia Saudita, Republica Árabe Síria e Tunisia (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015). Os derivados pentavalentes de antimônio tem sido as melhores opções para o tratamento desta doença. Embora não sejam efetivos contra todas as espécies, o desenvolvimento de resistência microbiana tem

aumentado a cada ano (NEVES et al., 2011), pois os efeitos colaterais produzidos são causa frequente de interrupção do tratamento. A Anfotericina B e a pentaminidina, tem sido reservadas para os casos de resistência microbiana aos derivados de antimônio, devido à sua elevada toxicidade. Estudos recentes mostraram efeito inibidor do G-0 no crescimento de promastigotes da *Leishmania* e um efeito letal em baixas concentrações. O estudo revelou que G-0 foi menos ativo que a Anfotericina B e foi mais ativo que o Glucantime ® (Antimoniato de meglumina). Por sua parte, o protozoário flagelado *Tripanosoma cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas e é considerado um problema de saúde na América Latina. A doença é transmitida através da picada de insetos hematófagos e produz aproximadamente 12-20 mil mortes por ano (MAYA et al., 2010; SILVA-JARDIM; THIEMANN; ANIBAL, 2014; URIBARREN, 2015). A doença ocorre nas áreas endêmicas de 21 países latino-americanos incluindo Argentina, Belize, Bolívia, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Honduras, Equador, El Salvador, Guiana, Guiana Francesa, Guatemala, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Perú, Suriname, Uruguai e Venezuela (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Atualmente esta é a principal causa de cardiomiopatia não-isquêmica na América Latina (BENZIGER; RIBEIRO; NARULA, 2015). Existe somente um fármaco disponível para seu tratamento no mercado desde 1975: Benznidazol (SILVA-JARDIM; THIEMANN; ANIBAL, 2014). Estudos "*in vitro*" utilizando *T. cruzi* cultivado em cultura celular de mioblastos de ratos mostraram que G-0 apresentou efeito parasiticida superior ao benznidazol (CASTAÑEDO-CANCIO et al., 2009; SIFONTES-RODRÍGUEZ, 2017).

Estes compostos também apresentam atividade antibacteriana e antifúngica. Especificamente G-0, mostrou atividade inibitória no crescimento de

várias espécies de bactérias, fungos filamentosos e leveduras, entre elas *Candida albicans* (ALABI; HASSAN, 2014), considerada o mais importante patógeno fúngico oportunista, causadora de micoses superficiais (pele e mucosas) e invasivas. A resistência fúngica frente aos principais grupos de compostos usados na clínica como por exemplo, os derivados azólicos, é um fato e os mecanismos de resistência são conhecidos. Este fenômeno, associado à menor susceptibilidade de espécies não-albicans e à toxicidade de alguns dos fármacos disponíveis, mostram necessidade do desenvolvimento de estratégias, que incluem agregação de tecnologias a fármacos já existentes e a obtenção de novos fármacos naturais e sintéticos (SPAMPINATO; LEONARDI, 2013).

O derivado 2-(2-nitrovinil) furano tem sido obtido através de um método de síntese química relativamente simples, a partir do furfural, derivado da cana de açúcar, e é utilizado como matéria prima na obtenção de outros derivados quimicamente mais estáveis (CECMED, 2015): G-0 possui baixa estabilidade em água, devido a uma reação de adição à dupla ligação da cadeia lateral alifática do composto; pode formar dímeros à temperatura ambiente, por exposição à luz (DE ROJAS PÉREZ, 2006) e a compatibilidade com excipientes sólidos (RUZ et al., 2012; ORFE-SARDIÑAS, 2014), alguns polímeros (GONZÁLEZ-BEDIA et al., 2008) e componentes da ração animal é considerada de moderada à baixa (DE ROJAS PÉREZ, 2006; RUZ, 2006). Adicionalmente G-0 sublima a temperaturas relativamente baixas o que pode comprometer a dose quando é incorporado em formas farmacêuticas sólidas (RUZ et al., 2015).

Porém, existem alternativas tecnológicas na área farmacêutica que podem ser avaliadas visando melhorar as propriedades físico-químicas da substância e que podem permitir o desenvolvimento de formas farmacêuticas estáveis e efetivas.

Ciclodextrinas (CDs) constituem um grupo de oligossacarídeos cíclicos que contêm como mínimo 6 D-(+) unidades de glicopiranose e que devido à sua organização molecular têm sido utilizado como agentes complexantes de substâncias lipofílicas para melhorar a estabilidade, biodisponibilidade, reduzir a irritação, eliminar aromas ou sabores desagradáveis e para diminuir interações fármaco/excipiente (POLYAKOV et al., 2004). G-0 é capaz de formar complexos de inclusão com derivados de ciclodextrinas, em especial com a HP-β-CD e SBE-β-CD (RUZ et al., 2012). Porém, ainda é necessário avaliar o efeito da formação de complexos de inclusão sólidos na estabilidade química e física do G-0, assim como da possível influência nas propriedades biológicas e biofarmacêuticas desta substância.

Nesse contexto, outra alternativa para minimizar os problemas de estabilidade da substância seria avaliar a incorporação do G-0 em micropartículas poliméricas, como estruturas intermediárias para posterior inclusão em formas farmacêuticas sólidas para garantir a estabilidade da substância ativa. Esta alternativa serviu de base para melhorar a estabilidade de outros fármacos, como por exemplo pantoprazol (DHURKE; KUSHWAHA; DESAI, 2013), avobenzona (CABRERA et al., 2014), azida de amônia (HOSSEINI; ESLAMI, 2016) e curcumina (PECORA et al., 2016), entre outros.

A existência de micropartículas, baseia-se fundamentalmente nos sistemas reservatórios, nos quais o fármaco encontra-se separado do meio dispersante por uma camada de polímero, gerando microcápsulas, e nos sistemas matriciais, nos quais o fármaco encontra-se distribuído na matriz polimérica, gerando as microesferas poliméricas. A literatura relata vários métodos que permitem obter este tipo de sistema, os quais geralmente são selecionados considerando-se as

características físico-químicas da substância ativa, do polímero e das condições experimentais. Aqui resulta de vital importância avaliar a compatibilidade do polímero com a substância ativa e com a via de administração recomendada para o fármaco. Evidentemente a obtenção do medicamento final deve ser precedida pelos estudos de pré-formulação, com objetivo de otimizar todos os parâmetros tecnológicos de modo que a formulação final tenha características de estabilidade física e química e perfil biofarmacêutico compatível com a via de administração do fármaco.

# 2. Revisão de Literatura

## 2.1. 2-(2-nitrovinil) furano (G-0)

Os derivados 2-furiletilênicos são substâncias biologicamente ativas que exibem amplo espectro antibacteriano, antiparasitário e antifúngico, aplicáveis na clínica médica humana e veterinária. O derivado 2-(2-nitroetenil) furano, CAS 699-18-3, ou 2-(2-nitrovinil) furano (Figura 1), possui o grupo nitro como substituinte na posição β- da dupla ligação exocíclica, o qual é característico de compostos ativos com potente atividade antiprotozoária e antifúngica (JULLIAN et al., 2008).

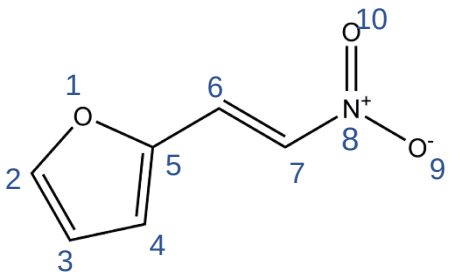


**Figura 1.** Estrutura química do 2-(2-nitrovinil) furano (Autora).

### *2.1.1. Obtenção*

Os primeiros relatos sobre a síntese química descrevem sua obtenção a partir de ácido furilacrílico e $N_2O_4$ com cerca de 20 % de rendimento (SITKIN; KLIMENKO, 1979). A partir de 1984 a substância começa ser sintetizada utilizando como reagentes o furfural e o nitrometano, com rendimento superior de 61 % e em 1996 atinge o valor de 90 % (BANDGAR; ZIRANGE; WADGAONKAR, 1996). Uma metodologia de síntese baseada nos reagentes anteriores, mas utilizando a isobutilamina como catalizador (OLAZÁBAL-MANSO et al., 2002) (Figura 2) e

posterior purificação com carvão ativado e etanol, com pureza superior ao 99%, foi desenvolvida no Centro de Bioactivos Químicos da Universidade Central de Las Villas, em Cuba (RODRÍGUEZ-NEGRÍN, 2003). O furfural utilizado na reação pode ser obtido por hidrólise ácida a partir dos resíduos da cana de açúcar (MOYA; GÓMEZ, 2000).

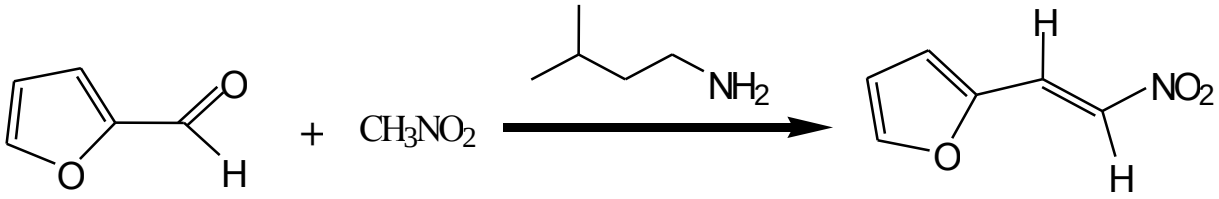


**Figura 2.** Reação de obtenção de 2-(2-nitrovinil) furano (Autora).

*2.1.2. Aspectos estruturais e propriedades físico-químicas.*

Foi determinado que o confôrmero mais estável em solução é o *s-trans*, baseado na combinação de cálculos semi-empíricos e de RMN (GIULIANI et al., 2003).

No estado puro é um sólido cristalino de cor amarela, que funde entre 73 e 75 °C e apresenta massa molar de 139,05 g/mol. Muito solúvel em dimetilformamida e dimetilsulfóxido, clorofórmio e benzeno, solúvel em tetracloreto de carbono e PEG 400, pouco solúvel em etanol absoluto e metanol e muito pouco solúvel em água (MORALES et al., 1993). Metodologias analíticas validadas por espectrofotometria UV-Vis (RODRÍGUEZ, 1996), cromatografia a gás (CG) (BRAVO, 1998) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (RUZ, 2006) estão

disponíveis para controle de qualidade e estabilidade da matéria prima, assim como metodologia para controle microbiológico (MACHADO; SILVEIRA, 1994).

O coeficiente de partição n-octanol/água (log P) foi determinado experimentalmente utilizando CLAE como técnica de quantificação e o resultado foi comparado com o teórico gerado a partir de um modelo matemático baseado no software TOSS MODE o qual permite predizer as propriedades físico-químicas, utilizando o cálculo dos momentos espectrais de uma matriz. O coeficiente obtido pelo método clássico, de 1,56 ± 0,02 e o modelo *in silico* obtido mostrou uma correlação de 0,984 para a classificação das predições do log P (CABRERA et al., 2001).

É conhecido que nitro compostos apresentam tendência de sublimação (VEREVKIN, 1997). Durante os estudos de pré-formulação G-0 mostrou sinais de ocorrência do processo, evidenciado pelas perdas de massa detectadas quando era armazenado em recipientes sem tampa, em temperatura ambiente ou quando eram usadas tampas plásticas brancas para cobrir a substância. O processo foi acelerado a 55 °C e os cristais do fármaco coletados em tampas de vidro e posteriormente caracterizados (RUZ, 2006).

G-0 pode degradar em diferentes condições experimentais. Entre os fatores identificados como altamente indutores da degradação estão a luz, o meio oxidante e meios básico e fortemente ácido. O impacto da luz foi estudado em solução aquosa e no estado sólido, sendo que em ambos os casos conduz à formação de dímeros. Os produtos de degradação foram isolados e caracterizados (DE ROJAS PÉREZ, 2006). O efeito da temperatura na degradação só foi evidenciado acima de 60 °C e utilizando vácuo para evitar a possível influência do oxigênio. O experimento evidenciou mudanças na cor do G-0, de amarelo a marrom, tendo sido

detectada pequena diminuição do pico cromatográfico (CLAE-DAD), mas não foram detectados produtos adicionais. O resíduo foi analisado também por análise elementar e microscopia eletrônica, evidenciando possível carbonização (DE ROJAS PÉREZ, 2006).

O perfil pH-estabilidade, desenvolvido a 41 ± 1 °C, no intervalo de pH entre 3,2-8,2, utilizando CLAE como metodologia quantitativa, mostrou aumento da velocidade de degradação da substância com aumento do pH (RUZ, 2006). Este estudo também foi corroborado utilizando a faixa de pH entre 1-12, tendo sido determinado o pH de máxima estabilidade o pH=3. O produto principal de degradação no meio aquoso foi o furfural e a reação ocorre através de um mecanismo de adição à dupla ligação da cadeia lateral alifática (DE ROJAS PÉREZ, 2006).

Trabalhos avaliaram a compatibilidade do G-0 com excipientes. Um deles avaliou a compatibilidade com vários componentes da ração animal em condições suaves de armazenamento, utilizando espectrofotometria UV-Vis para quantificação (RUZ, 2006). Outro trabalho avaliou a compatibilidade do candidato a fármaco nas misturas físicas, rotoevaporadas e amassadas com vários polímeros e ciclodextrinas, através de análise qualitativa por CCD, DSC e análise organoléptica das amostras armazenadas à temperatura ambiente por três meses, demonstrando boa compatibilidade com duas das ciclodextrinas avaliadas (HP-β-CD e SBE-β-CD). Nas amostras referentes aos outros excipientes foi detectado algum tipo de degradação (GONZÁLEZ-BEDIA et al., 2008). O último relato foi um ensaio quantitativo e qualitativo utilizando CLAE, DSC e FTIR realizado em condições de estresse durante um mês, de misturas físicas com excipientes comuns de formas farmacêuticas sólidas e ciclodextrinas, no qual foi detectada

forte incompatibilidade com SBA-15 e, em menor grau, com DI-CAFOS e Avicel ® PH102. Corrobora-se, novamente, a boa compatibilidade do G-0 com os derivados da β-CD anteriormente avaliados (ORFE-SARDIÑAS, 2014).

### *2.1.3. Atividade Biológica*

*- Antiprotozoária*

G-0 exibe potente atividade antiprotozoária "*in vitro"* e *"in vivo"* frente à *Eimeria tenella,* agente causador da coccidiose*,* podendo ser utilizado no tratamento e na profilaxia desta doença. O protozoário pode infectar aves domésticas, principalmente galinhas, também coelhos, ovelhas e alguns animais domésticos, causando diarréia, perda de peso e mortalidade variável, gerando perdas econômicas substânciais, avaliadas em várias centenas de milhões de dólares anualmente para a indústria agrícola (QUIROZ-CASTAÑEDA; DANTÁN-GONZÁLEZ, 2015). Uma solução de G-0 preparada em concentração de 4 $\mu g.mL^{-1}$ resultou superior ao amprolium (125 $\mu g.mL^{-1}$) e à sulfametazina (0,15 %), considerando ganho de peso, número de lesões anatomopatológicas, mortalidade e excreção de oocistos em galinhas *Leghorn* (LÓPEZ, 2004). Resultados similares foram obtidos em coelhos infectados com quatro espécies de *Eimeria*, com redução média de 97% do número de oocistos fecais (OLAZÁBAL-MANSO et al., 2002). As pré-misturas anticoccidianas utilizadas em Cuba para o tratamento e profilaxia da coccidiose aviaria são importadas, não existindo nenhuma produzida pela indústria nacional.

Adicionalmente, a família dos 2-nitrovinilfuranos, a qual inclui o G-0, mostrou importante atividade farmacológica contra *Leishmania spp. (L. mexicana amazonensis, L. donovani infantum* e *L. braziliensis braziliensis*) e *Tripanosoma*

*cruzi* (CASTAÑEDO-CANCIO et al., 2009; SIFONTES-RODRÍGUEZ et al., 2015). *Leishmania* inclui cerca de 20 espécies, das quais 17 são patogênicas ao homem e aos animais. Encontram-se distribuídos em 88 países. Anualmente, 1,5-2 milhões de novos casos e 350 milhões de pessoas apresentam risco de contrair a infecção cada ano. 90 % dos casos com leishmaniose cutânea se reportam no Afeganistão, Arábia Saudita, Argélia, Irã, Iraque, Síria, Sudão e Brasil, enquanto que 90% dos casos de leishmaniose visceral se apresentam em Sudão, Índia, Bangladesh, Nepal e Brasil (SIFONTES-RODRÍGUEZ, 2017). Os derivados de antimônio pentavalentes foram as melhores opções para tratamento da doença porém, não são efetivos contra todas as espécies, sendo que o desenvolvimento de resistência microbiana aumenta a cada ano. Os efeitos secundários produzidos são causa frequente de interrupção do tratamento. Anfotericina B e pentamidina, reservam-se para casos de resistência microbiana aos derivados de antimônio, devido à sua elevada toxicidade. Em estudos desenvolvidos recentemente, G-0 mostrou efeito inibidor no crescimento de promastigotes da *Leishmania* e efeito letal em baixas concentrações. O estudo revelou que G-0 foi menos ativo que anfotericina B e mais que o Glucantime ® (antimoniato de meglumina).

*Tripanosoma cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas e é considerado um problema de saúde na América Latina. Transmite-se mediante a picada de insetos hematófagos e produz perto de 50.000 mortes por ano. Somente existe um fármaco disponível para seu tratamento no mercado desde 1975: o benznidazol. Estudos "*in vitro*" empregando *T. cruzi* cultivado em cultura celular de mioblastos de ratos mostraram que o G-0 apresentou efeito parasiticida superior ao do benznidazol (CASTAÑEDO-CANCIO et al., 2009; SIFONTES-RODRÍGUEZ, 2017).

*- Antifúngica e antibacteriana*

A maioria dos nitrocompostos com ação antineoplásica, antiparasitária e antibacteriana apresentam biorredução enzimática do grupo nitro como provável mecanismo de ação o que coloca este requisito como sendo imprescindível para desempenho da atividade biológica destes compostos (PAULAI; SERRANO; TAVARES, 2009). O grupo nitro ligado ao carbono insaturado é mais facilmente redutível e os produtos de reação mais estáveis (DANN; MÖLLER, 1949). Uma série de trabalhos não publicados mostraram atividade antifúngica "*in vitro"* frente a fungos como *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger, Penicillium chrysogenum* e *Helminthosporium stenospilum*, detectando-se interferência na formação dos conídios e atividade antibacteriana frente à *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. A atividade antifúngica de 2-(2-nitrovinil) furano frente à *Candida albicans*, *Geotrichum albidum*, *Pyricularia oryzae, Drechslera oryzae e Fusarium solani* foi reportada utilizando o método de difusão em ágar. No próprio trabalho também foi avaliada a atividade antibacteriana frente à *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Xanthomonas manihotis e Pseudomonas syringae* (ALABI; HASSAN, 2014).

### *2.1.4. Toxicidade*

Estudos de toxicidade aguda em ratos Sprague Dowley mostraram $DL_{50}$ de 171,91 mg/Kg. Em estudos desenvolvidos a fim de avaliar a atividade anticoccidiana, o qual também foi determinado a $DL_{50}$ em aves Leghorn, reportam valor de 1,02 g/Kg (OLAZÁBAL-MANSO et al., 2002), classificando-se como moderadamente tóxico por ingestão. No trabalho encaminhado à determinação da atividade leishmanicida da família química dos furiletilenos, foi avaliada a toxicidade

das soluções das substâncias preparadas em óleo de girassol, em modelo animal de camundongo albino fêmea Balb/c, pela via intraperitoneal, determinadas $DL_{50}$, $DL_0$ e DMT por administração durante 14 dias, com intervalos de 12 ou 24 h. Os resultados ($DL_{50}$= 68 mg/Kg e $DL_0$ = 50 mg/Kg) foram superiores aos obtidos para o controle Anfotericina B ($DL_{50}$= 22 mg/Kg e $DL_0$= 15 mg/Kg) (CASTAÑEDO-CANCIO et al., 2009).

É bem conhecido que nitrofuranos como nitrofurazona, nitrofurantoina e nitrofurazolidona que tem sido utilizados na clínica durante anos como antibacterianos, foram removidos do mercado em vários países devido a seu potencial mutagênico (SNYDER; GREEN, 2001). Contrariamente, estudos toxicológicos conduzidos com os nitrovinilfuranos não conseguiram mostrar este potencial genotóxico. Um deles, avaliou a genotoxicidade utilizando o ensaio "*in vitro"* de micronúcleos com bloqueio da citogênese, com e sem ativação metabólica. A substância não induz aumento na frequência de micronúcleos nem em presença nem em ausência da ativação em culturas de linfócitos humanos. Também foi desenvolvido o ensaio de intercâmbio entre cromátides irmãs em culturas de linfócitos, em ausência da fração S9, diminuindo o intercâmbio até valores não significativos quando o ensaio é realizado em presença de ativação metabólica. Outros ensaios realizados sob indução do SOS em *Escherichia coli* e o teste de Ames em *Salmonella tiphymurium* resultaram negativos para o derivado furânico, pelo qual a substância é classificada como não genotóxica (GONZÁLEZ BORROTO; CREUS; MARCOS, 2001; GONZÁLEZ BORROTO et al., 2005). Também foi desenvolvido um ensaio para determinar a habilidade para induzir efeitos clastogênicos ou aneugênicos *in vivo*, através da indução de MNPCE em medula óssea de camundongos, o qual a substância foi administrada pela via

intraperitoneal (5-20 mg/Kg) dissolvida previamente em óleo de milho. Não foram observadas diferenças significativas no incremento de MNPCE com relação ao controle negativo, mas foram observadas em todos os animais tratados com ciclofosfamida (controle positivo), demonstrando a sensibilidade do método. Como resultado final reporta-se que G-0 não é clastogênico nem aneugênico nos eritrócitos da medula óssea dos camundongos tratados, porém foram observados alguns sintomas clínicos de toxicidade na concentração máxima avaliada (GONZALEZ BORROTO et al., 2003).

Existem várias alternativas tecnológicas disponíveis para estabilização de substâncias lábeis, que incluem desde a modificação química da molécula, utilização de proteções físicas para favorecer a proteção frente aos indutores da degradação, a escolha de formulações sólidas, até alternativas tecnológicas de proteção interna, como por exemplo inclusão em sistemas micelares para reduzir reações hidrolíticas, complexos de inclusão em ciclodextrinas e procedimentos de encapsulação (micro e nanoencapsulação) tem sido usados com sucesso neste sentido (FARH, 2018).

G-0 é atualmente utilizado como matéria prima na síntese do derivado bromado 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitrovinil) furano (G-1), produto mais estável, que é produzido na indústria farmacêutica cubana na forma de pomada para aplicação como antifúngico (Dermofural®) (URQUIJO, 2017) e também na indústria biotecnológica na forma de dispersão sólida (Vitrofural®), devido a seu amplo espectro antifúngico e antibacteriano (CECMED, 2015) porém, em vista do simples método de síntese e propriedades farmacológicas do primeiro, parece interessante explorar algumas destas alternativas de estabilização.

## 2.2. Ciclodextrinas

### *2.2.1. Estrutura e propriedades*

A degradação do amido pela enzima amilase, conhecida como cicloglicosiltransferase (CGTase), provoca divisão das cadeias poliméricas e reordenamento intramolecular, gerando um grupo de compostos oligoméricos cíclicos que são conhecidos como CDs (CHALLA et al., 2005). Muitos micro-organismos produzem glicosil transferases, mas poucos produzem CGTase (SAENGER, 1980), entre eles o *Bacillus macerans* e linhagens do gênero *Micrococcus* e *Klebsiella*. Na época atual, o desenvolvimento da engenharia genética permitiu a obtenção de diferentes tipos de CGTases, ainda mais ativas e específicas para produção de CDs naturais com elevada pureza (SICARD; SANIEZ, 1987).

Estes oligosacarídeos cíclicos estão constituídos estruturalmente por unidades de D-glicopiranose unidas através de ligações α-1,4 (FREUDENBERG; CRAMER; PLIENINGER, 1951). As unidades de glicose estão na conformação de cadeira clássica e as ligações glicosídicas não tem livre rotação, pelo qual as moléculas das CDs apresentam uma estrutura rígida de cone truncado (SZEJTLI, 1998). A CDs naturais mais comuns contém de 6-8 unidades de glicopiranose e podem ser topologicamente representadas como toroides, com uma abertura maior e outra menor, expondo os grupos hidroxila primários e secundários ao solvente. Os grupos hidroxila secundários dos átomos de carbonos C-2 e C-3 das unidades de glicose estão localizados na abertura maior, enquanto os grupos hidroxila primários do C-6 estão na abertura menor. Devido a este arranjo, a cavidade interna é substancialmente menos polar que o entorno aquoso, resultando um

hospedeiro aceitável para moléculas hidrofóbicas. A natureza essencialmente hidrofílica do exterior das CDs contribui para sua solubilidade aquosa.

As CDs de origem natural são classificadas como α-, β- e γ-CDs com seis, sete e oito unidades de glicopiranose, respectivamente (Figura 3). Também tem sido reportadas as de nove, dez, onze, doze e treze unidades (designadas como δ-, ε-, ζ-, η- e θ-CDs) mas suas habilidades de complexação são insignificantes (FREUDENBERG; CRAMER; PLIENINGER, 1951; LOFTSSON; BREWSTER, 1996). β-CD apresenta menor solubilidade em água (1,85 % m/v) comparada com α-CD (14,5 % m/v) e γ- CD (23,2 % m/v), devido à formação de ligações de hidrogênio intramoleculares entre os grupos hidroxila secundários das unidades de glicose adjacentes no toroide da primeira. Estas ligações incrementam a rigidez molecular, resultando mais susceptível à cristalização (SZEJTLI, 1994), a qual previne a hidratação da molécula de CD, resultando em baixa solubilidade em água. Na α-CD, a maior curvatura do toroide incrementa a distância entre as ligações de hidrogênio e consequentemente as debilita. Como resultado, esta CD é flexível em solução e mais facilmente hidratada (CABRAL-MARQUES, 1994a). A γ-CD apresenta uma estrutura não coplanar, flexível e é a mais solúvel das três (BEKERS et al., 1991).

A cavidade da CD está alinhada por dois anéis de grupos C-H (H-3 e H-5) e o anel de átomos de oxigênio tipo éter glicosídicos. O par de elétrons não ligados das pontes de oxigênio glicosídicas estão dirigidas para o interior da cavidade, gerando alta densidade eletrônica e um caráter de base de Lewis. Os grupos C-H que compreendem H-1, H-2 e H-4 e os grupos hidroxila polares do açúcar estão localizados na parte externa da molécula (JONES et al., 1984; BEKERS et al., 1991; MYLES et al., 1994).

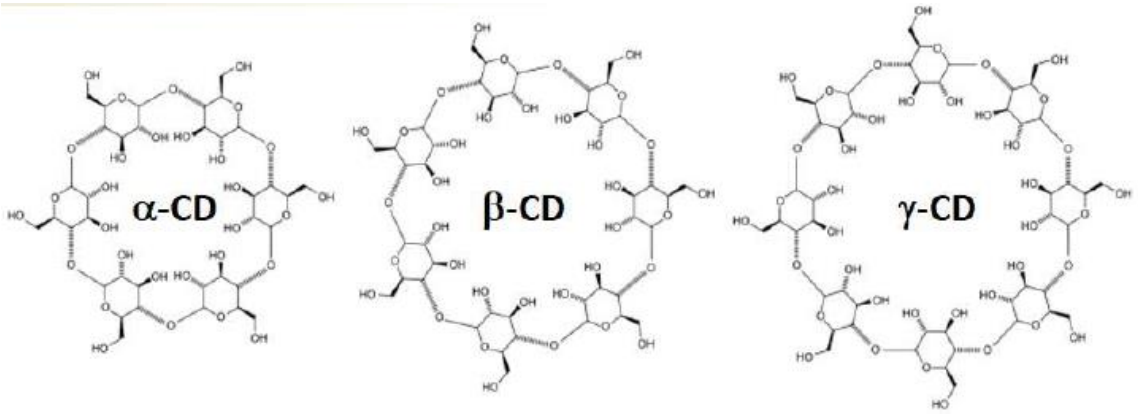


**Figura 3.** Estrutura química das ciclodextrinas naturais α-, β- e γ-CD com 6, 7 e 8 unidades de α-D-glicose respectivamente (PUSKÁS; MALANGA, 2017).

Devido a este caráter anfifílico, CDs podem formar complexos de inclusão solúveis e reversíveis com compostos pouco solúveis em água. O tamanho da cavidade é um dos fatores que determina qual CD deverá ser usada para complexação de uma molécula em particular. Assim, α-CD pode incorporar geralmente moléculas de baixa massa molar ou cadeias alifáticas secundárias e γ-CD, devido a sua maior cavidade, incorpora moléculas maiores, como moléculas macrocíclicas ou esteróides. Já o diâmetro da cavidade da β-CD permite incorporar boa parte dos fármacos, incluindo substâncias aromáticas e heterocíclicas. Por isso esta é a CD mais comumente usada como agente de complexação em formulações farmacêuticas (TIWARI; TIWARI; RAI, 2010).

### *2.2.2. História*

O primeiro relato das CDs descrevia o isolamento de aproximadamente 3 g da substância cristalina a partir da digestão de 1000 g de amido, o que o autor chamou de cellulosine (VILLIERS, 1891). Nos anos seguintes o microbiologista Franz Schardinger, que trabalhava em um instituto de investigações de alimentos,

estudou o processo de degradação do amido usando várias bactérias e isolou dois compostos que chamou de A e B ou "cellulosinas de Villiers" e considerou mais adequado nomeá-las como dextrinas cristalinas, que pouco depois chamou de α-dextrina e β-dextrina. No entanto muitas das propriedades físico químicas não se tornaram conhecidas até 1911, quando o cientista publicou seu último trabalho, pelo qual é considerado o fundador da química das ciclodextrinas e durante algum tempo estes compostos foram chamados de dextrinas de Schardinger (LOFTSSON; DUCHENE, 2007).

O quadro 1 mostra em ordem cronológica o desenvolvimento na química das ciclodextrinas, a partir dos descobrimentos anteriormente relatados.

É importante destacar que na etapa de utilização, especificamente na década dos 70 do século passado, β-CD só estava disponível como um produto raro e especial e seu preço alcançava os US$ 2000/Kg. Aproximadamente 40 anos depois, a produção anual de β-CD estava cerca das 10.000 toneladas e o preço baixou até aproximadamente US$ 5/Kg (LOFTSSON; DUCHENE, 2007).

**Quadro 1.** Principais eventos na área das ciclodextrinas

| Ano | Evento |
|---|---|
| 1920-1930 | O grupo inglês de investigações dos carboidratos dirigido por Norman Haworth, demostrou o tamanho dos anéis destes carboidratos, primariamente de seis unidades de piranose. |
| 1924 | Descrita pela primeira vez a metilação das ciclodextrinas, depois obtidas por Freudenberg and Meyer-Delius (1938) com diferentes graus de metilação. |
| 1928-1932 | Descoberta da habilidade das CDs de formar complexos com vários compostos orgânicos |
| 1935 | Freudenberg e Jacobi descobrem a γ-CD |
| 1938-1952 | Estrutura química da α-, β- e γ-CD elucidada por Freudenberg, Cramer, Borchert, French e Rundle. |
| 1948-1951 | Formação e estrutura de complexos de inclusão com CDs |
| 1953 | Primeira patente relativa a um método de preparação de complexos de inclusão com sustâncias orgânicas fisiologicamente ativas (Freudenberg, Cramer e Plieninger) na Alemanha. |
| 1954 | Primeiro livro publicado sobre complexos de inclusão com CDs (Cramer) |
| 1957-1965 | French descreve a existência de ciclodextrinas naturais maiores, de até 12 unidades de glicose. |
| 1965 | Higuchi e Connors publicam o primeiro artigo da classificação dos complexos baseada no perfil de solubilidade. |
| 1976 | - Aprovadas oficialmente em Japão α- e β-CD como aditivos em alimentos. |

| | |
|---|---|
| | - O primeiro produto farmacêutico baseado na tecnologia de formação de complexo de inclusão com CD, prostaglandina $E_2$/β-CD (Prostarmon E ™ comprimidos sublinguais) foi comercializado no Japão pela empresa Ono Pharmaceutical Co. |
| 1981 | Primeiro Simpósio Internacional em Ciclodextrinas foi organizado em Budapest, Hungria, por Szejtli. |
| 1983-1985 | Brauns e Muller (Europa) e Pitha (Estados Unidos de América) inscrevem patente de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina. |
| 1988 | Os comprimidos de Piroxicam/β-ciclodextrina (Brexin®) foram comercializados pela empresa Chiesi Farmaceutici (Italia). |
| 1990 | Stella e Rajewski inscrevem a patente para sulfobutil éter β-ciclodextrina. |

### *2.2.3. Derivados das CDs*

Estudos demonstraram que a substituição de qualquer dos grupos hidroxila, por grupos metila, resulta em incremento da solubilidade aquosa, devido à não formação de ligações de hidrogênio intramoleculares, com forte impacto na solubilidade aquosa da β-CD. Sua baixa solubilidade, tendência à cristalização em solução aquosa e efeitos tóxicos quando administrada pela via endovenosa, limitam o uso desta CD em formulações farmacêuticas (UEKAMA, 1985). Devido a isto, tem sido sintetizados um grupo de derivados que apresentam propriedades físico químicas melhoradas e redução da toxicidade parenteral. A permetilação da β-CD também incrementa a altura do toroide, reduz o diâmetro da cavidade da parte primária e amplia a cavidade central. Assim, quando dois terços dos grupos

hidroxilas estão metilados seletivamente, como no caso da DM-β-CD, a solubilidade à 25 °C incrementa até 57 % m/v. Já a completa alquilação que resulta em TM-β-CD apresenta menor solubilidade aquosa de 31 % m/v (SZEJTLI, 1983; UEKAMA, 1985). A solubilidade dos derivados metilados diminui com aumento da temperatura (LOFTSSON; BREWSTER, 1996).

Outra causa do aumento da solubilidade dos derivados alquílicos em geral, em comparação com as CDs naturais, é que a manipulação química de derivatização gera misturas de isómeros, que incrementa o caráter amorfo da CD (LOFTSSON; BREWSTER, 1996).

As CDs hidrossolúveis comercialmente disponíveis na indústria farmacêutica incluem:

- Derivados metilados da β-CD (RM-β-CD, DM-β-CD).
- Derivados 2-hidroxipropilados de β-CD e γ-CD (HP-β-CD, HP-γ-CD).
- Sulfoalquil derivados de β-CD e γ-CD (SBE-β-CD. SBE-γ-CD)
- Glicosil e maltosil β-CD.
- Acetil derivados de β-CD e γ-CD.
- Derivados sulfatados de CDs (DAVIS; BREWSTER, 2004).

Pela relação com este trabalho, serão comentadas apenas os derivados hidroxialquílicos e sulfoalquílicos da β-CD.

*- Hidroxi alquil derivados*

A condensação de β-CD com óxido de propileno em solução alcalina produz o derivado altamente solúvel HP-β-CD apresentado na figura 4, com solubilidade em água que excede 60 % m/v (PITHA; PITHA, 1985), mostrando também um perfil toxicológico favorável (UEKAMA; HIRAYAMA; IRIE, 1998; GOULD; SCOTT, 2005).

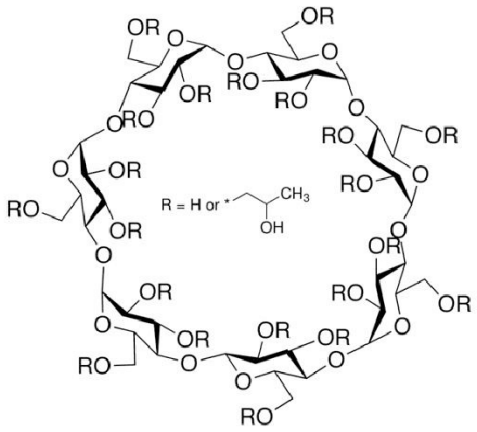


**Figura 4.** Representação esquemática da estrutura química da 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina (Yergey et al., 2017).

O número de derivados de HP-β-CD gerados, assumindo substituição aleatória, ronda os 130.000 e considerando que os grupos 2-hidroxipropila introduzem centros opticamente ativos, o total de isômeros geométricos e ópticos é ainda maior.

Estudos de antigenicidade, mutagênese e irritabilidade tópica demonstraram que HP-β-CD é um material seguro que pode ser utilizado em produtos de uso cotidiano, como em perfumaria e cosmética. É incorporada como excipiente em produtos parenterais com dose máxima diária de até 16 g, como por exemplo o traconazol. Um relato de duas crianças com 5 anos tratados por doença de Niemann-Pick tipo C receberam 2500 mg/Kg (iv) de HP-β-CD, duas vezes por semana por mais de um ano e foi bem tolerada. Em geral, em tratamento de crianças desde 7 meses até 5 anos com produtos contendo este derivado, não existem relatos de efeitos indesejáveis com a dose de 100 mg/Kg/dia de HP-β-CD, administrada em dose única ou dosis múltiplas (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2014).

Os principais fornecedores mundiais de HP-β-CD são Janssen Farmacêutica (Bélgica), Wacker Chemie (Alemanha) e Cerestar, atual Ingredion (Estados Unidos de América) (DAVIS; BREWSTER, 2004).

*- Sulfoalquil derivados*

A reação da CD com propano-sulfona em solução alcalina produz sulfopropil-CD e a reação com butano-sulfona, gera a sulfobutil-CD.

O derivado da β-CD, sulfobutil éter-β-CD com 7 substituintes (SBE7-β-CD), apresentado na Figura 5, foi selecionado para uso comercial, sob a marca Captisol ® e sua patente pertence a CyDex Pharmaceuticals, Inc. (Estados Unidos de América), considerando questões de segurança, maior sucesso na formação de complexos e maior capacidade solubilizante, comparado com SBE4-β-CD e SBE1-β-CD (PUSKÁS et al., 2015).

Estudos mediante espectrometria de massas demonstraram que não é possível mais de uma substituição por unidade de glicose e o RMN $^{1}H$ indicou que o grupo hidroxila primário era o principal sitio de substituição (PUSKÁS et al., 2015).

É incluída em vários produtos parenterais, por exemplo como excipiente de voriconazol, com dose máxima diária de até 14 g/Kg. Em estudos desenvolvidos com ratos durante 14 días foi observada alguma alteração reversível dos túbulos renais que começa com incremento do tamanho de vacúolos apicais seguido de surgimento de lisossomos gigantes. Este incremento no tamanho é também observado como resposta orgânica adaptativa à excreção de substâncias osmóticas, como glicose, manitol e dextrana em altas concentrações. Em humanos não foram observados efeitos indesejáveis após administração de 250 mg/Kg/dia

durante 6 meses, pelo qual é considerada segura em crianças maiores de dois anos (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2014).

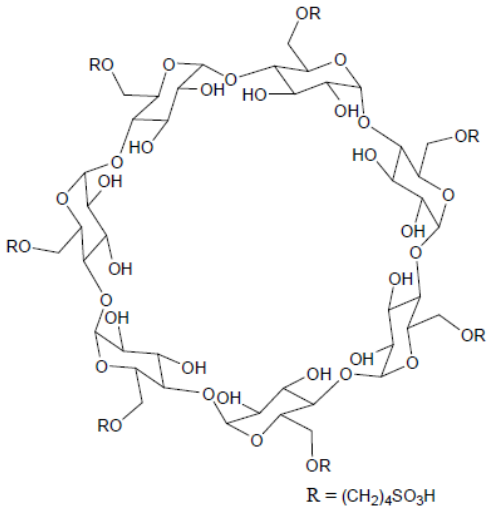


**Figura 5.** Representação esquemática da estrutura química da molécula de sulfobutil éter7- β-CD (SHITYAKOV et al., 2015).

Igual a HP-β-CD, estudos farmacocinéticos demonstraram que SBE-β-CD é eliminada pela urina de forma inalterada, não ultrapassa barreira hematoencefálica e não existem evidências de retenção em nenhum tecido. Ensaios toxicológicos demonstraram que SBE-β-CD não tem efeitos na fertilidade e não é teratogênica. Também não mostrou atividade mutagênica em células bacterianas nem de mamíferos (ensaios "*in vitro"*) ou atividade clastogênica (ensaios "*in vitro"* e "*in vivo"*) (LUKE et al., 2010).

### *2.2.4. Formação de complexos de inclusão*

Requisitos importantes para formação do complexo fármaco-CD estável é que a molécula hóspede deve se encaixar completamente ou pelo menos, parcialmente na cavidade da CD e apresentar baixa polaridade. A formação dos

complexos, no caso de moléculas altamente volumosas é possível, desde que o hospedeiro contenha cadeias laterais ou grupos com suficiente tamanho molecular para permitir a inclusão. Neste caso, geralmente ocorre inclusão parcial (CABRAL-MARQUES, 1994b). A estabilidade do complexo de inclusão também depende da polaridade da molécula hóspede. Em geral, moléculas ou resíduos hidrofóbicos mostram maior afinidade pela cavidade das CD que aquelas hidrofílicas, onde os complexos formados são muito fracos ou não se formam (LI; PURDY, 1992). A formação do complexo constitui um processo reversível que muda as propriedades físico químicas da molécula hóspede e do hospedeiro.

A estrutura do complexo em solução pode diferir da estrutura do mesmo no estado sólido. Em solução, a molécula hóspede encaixa total ou parcialmente na cavidade central da CD e o complexo é rodeado e solvatado por uma cápsula de hidratação (multicamadas). No estado cristalino, no entanto, a molécula hóspede pode encaixar em um espaço vazio ou interstício na estrutura cristalina e não necessariamente na cavidade central do toroide (JONES et al., 1984). Durante a formação do complexo podem-se formar ou romper ligações não covalentes entre o fármaco e a ciclodextrina. Ao dissolver em água, o complexo dissocia-se rapidamente, dando lugar a moléculas de fármaco livre, em equilíbrio dinâmico com moléculas de fármaco ainda ligadas na cavidade da CD (LOFTSSON; BREWSTER, 1996).

A formação do complexo de inclusão com CD em solução aquosa ocorre de acordo com as seguintes etapas (BEKERS et al., 1991; CABRAL-MARQUES, 1994b).

1- Aproximação das moléculas do fármaco e da CD.

2- A água é liberada do interior da cavidade da CD para a solução (+$\Delta H$).

3- O complexo é formado devido a interações entre a molécula hóspede ou seus grupos substituintes, e grupos do anel ou da cavidade interna vazia da CD (interações de Van der Waals e/ou ligações de hidrogênio).

4- Reidratação da parte exposta da molécula hóspede depois da formação do complexo.

Ainda que a liberação das moléculas de água do interior da cavidade da CD seja provavelmente uma importante força motriz para a formação do complexo, também o estabelecimento de interações relativamente fracas não covalentes podem estar envolvidas. Estas incluem forças de Van der Waals (interações dipolo-dipolo induzido e forças de dispersão de London), interações hidrofóbicas, liberação da energia de tensão dos aneis da CD e variações na tensão superficial do solvente (LI; PURDY, 1992). As CDs tem a habilidade de formar complexo de inclusão "in situ" no meio de dissolução, pelo qual podem melhorar a solubilidade e velocidade de dissolução ainda quando não se formou o complexo previamente no estado sólido (CHALLA et al., 2005).

Porém, os grupos hidroxila da superfície exterior das CDs são capazes de estabelecer ligações de hidrogênio com outras moléculas analogamente a polissacarídeos não cíclicos e formar complexos hidrossolúveis (sem inclusão). Assim, tem sido demonstrado que α-CD pode formar tanto complexos de inclusão como complexos sem inclusão (LOFTSSON; DUCHENE, 2007). Também um estudo por espectroscopia de RMN da associação de riboflavina com β-CD e HP-β-CD mostrou ausência de interações entre os prótons do fármaco com os referentes à cavidade interna das CDs (H3, H5) e finalmente o experimento de dinâmica molecular mostrou a possibilidade de interação fora do anel das CDs,

ainda quando a solubilidade e atividade antitumoral foram incrementadas (DE JESUS et al., 2012).

Em soluções aquosas diluídas é muito frequente que uma molécula do fármaco forme complexo com uma molécula da CD, então a estequiometria do complexo sob estas condições é 1:1.

As constantes de associação (K) reportadas variam entre 0 e 20.000 $M^{-1}$. Alguns estudos demonstraram que ainda para fármacos fortemente ligados a CD, uma diluição de 1:100 reduz a porcentagem de fármaco no complexo de 100% a 30%. Esta diluição pode ser facilmente atingida por injeção do complexo ou por diluição no conteúdo do estômago e intestino. Por este motivo, é importante avaliar o efeito da diluição antes do uso clínico dos produtos que contém complexos fármaco-CD e que poderiam ser administrados por estas vias. Os fármacos que são administrados na forma de complexos de inclusão pela via oftálmica, transmucosa e transdérmica, são mais sensíveis à força de associação, devido a diluição mínima nestes sítios (CHALLA et al., 2005).

### *2.2.5. Métodos de preparação de complexos*

Existem vários métodos que permitem obter complexos com CDs através de processos relativamente simples e sua escolha dependerá das propriedades da molécula que se deseja complexar e da natureza da ciclodextrina. O quadro 2 apresenta os principais métodos de obtenção.

**Quadro 2.** Métodos de obtenção de complexos de inclusão com ciclodextrinas

| Método | Características | Necessidades e limitantes | Exemplos de fármacos encapsulados |
|---|---|---|---|
| *Formação de pasta* | Formação de uma pasta da CD com pequenos volumes de água e posterior incorporação do fármaco. A pasta é secada para obter o complexo sólido. | Adequado para compostos pouco solúveis em água.<br>Dificuldade de preparação em grande escala | Benznidazol (SOARES-SOBRINHO et al., 2012)<br>Carvedilol (SHARMA; JAIN, 2013)<br>Timol (TAO et al., 2014)<br>Ibuprofeno (PEREVA et al., 2016) |
| *Co-precipitação* | A substância é dissolvida em solvente orgânico e posteriormente é adicionada a uma solução aquosa da ciclodextrina com agitação. A solução final é esfriada e o complexo deve precipitar | Muito usada para substâncias não solúveis em água.<br>Baixo rendimento devido a competição com solventes orgânicos que podem inibir a formação do complexo | Silymarin (GHOSH; BISWAS; GHOSH, 2011)<br>Meclizine (GEORGE; VASUDEVAN, 2012)<br>2-metoxiestradiol (CAIRA et al., 2015)<br>Oxaprozin (MENNINI et al., 2016)<br>Tropolon (SUZUKI et al., 2017) |
| *Aquecimento em recipiente fechado* | Após adsorção de uma quantidade definida de vapor de água, a mistura | A técnica pode ser desenvolvida sob atmosfera de nitrogênio e usada para complexar | Ácido salicílico e flurbiprofeno (HIGASHI et al., 2011) |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | física do composto e a CD é colocada em recipiente selado e aquecida | substâncias voláteis e termoestáveis | Timol (NIEDDU et al., 2014) α-naftol (FENG et al., 2018) |
| *Liofilização (Freeze-drying)* | Proporções requeridas da substância e da CD dissolvem-se em água com agitação. A solução resultante é liofilizada e adicionalmente secada a vácuo. | Adequado para substâncias termolábeis ou para hóspedes solúveis.<br><br>Geralmente produz bom rendimento e é possível escalonamento.<br><br>É um dos mais utilizados na formação de complexos de inclusão. | Óleos de cinamomo e cravo (HILL; GOMES; TAYLOR, 2013).<br><br>Estragol (KFOURY et al., 2015)<br><br>Kamebakaurina (RAZA et al., 2017)<br><br>Sevoflurano (SHITYAKOV et al., 2015)<br><br>Acyclovir (IJAZ et al., 2016)<br><br>Dadzeina (LI et al., 2017). |
| *Secagem por Atomização (Spray-Drying)* | A CD e a substância a encapsular são dissolvidas em água deionizada ou mistura etanol/água e depois a solução resultante é submetida a secagem no Spray-dryer | O aparelho é operado considerando variáveis como temperatura de entrada e velocidade de alimentação. Devido às altas temperaturas usadas, esta técnica é aplicável à complexação de substâncias termoestáveis. | Albendazol (GARCÍA et al., 2014)<br><br>Glimepride (SHASHIKANT; PATIL, 2016).<br><br>Carvedilol (ALONSO et al., 2016)<br><br>Citral (PHUNPEE et al., 2017). |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Fluídos supercríticos* | Utiliza o dióxido de carbono supercrítico como alternativa para solubilização dos compostos a encapsular, evitando o uso de solventes orgânicos. | A principal limitante é a elevada pressão requerida, o alto custo de manutenção e requisitos dos acessórios/equipamento auxiliar. | Cetoprofeno (BANCHERO; RONCHETTI; MANNA, 2013).<br><br>Flurbiprofeno (RUDRANGI et al., 2016)<br><br>Dadzeina (PAN et al., 2017)<br><br>Baicalina (LI et al., 2018) |

### *2.2.6. Aplicações farmacêuticas*

O alto custo envolvido no desenvolvimento de novas substâncias químicas farmacologicamente ativas tem dirigido o foco das companhias farmacêuticas na projeção de formulações mais eficazes com fármacos antigos. A tecnologia das CDs proporciona aos formuladores a valiosa oportunidade de melhorar os aspectos negativos das propriedades físico-químicas de ativos e incrementar potencialmente seu perfil farmacológico, farmacocinético e/ou diminuir os efeitos adversos.

*- Incremento da solubilidade e velocidade de dissolução de fármacos*

A aplicação farmacêutica mais comum das CDs é melhorar a solubilidade aquosa de fármacos pouco solúveis e melhorar sua biodisponibilidade e estabilidade (BEKERS et al., 1991; RAJEWSKI; STELLA, 1996). Também os complexos fármaco-CD podem ser usados na redução da irritabilidade gástrica, na conversão de ativos líquidos em pós microcristalinos ou amorfos e para prevenir

interações entre fármacos ou fármaco-excipiente. A extensão na qual as CDs podem incrementar a solubilidade não pode ser predita exatamente, no entanto, existem três métodos empíricos que podem servir de auxílio:

1- Fármacos com menor solubilidade aquosa tem maior tendência a melhorar significativamente sua solubilidade ao formar complexos com CDs (LACH; COHEN, 1963);

2- A hidrofobicidade da CD usada afetará sua capacidade solubilizante. Por exemplo, um dos derivados mais hidrofóbicos (DM-β-CD) mostra o maior potencial de solubilização (SZEJTLI, 1994, YOSHIDA et al., 1988);

3- Os derivados das CDs com baixo grau de substituição são melhores solubilizantes que os mesmos derivados com maior grau de substituição (LOFTSSON; BREWSTER, 1996).

O complexo com CD de um fármaco de baixa solubilidade em água é usualmente mais solúvel que o fármaco livre. O complexo formado em geral também apresenta melhor molhabilidade e dissolve mais rápido. A complexação pode produzir marcante redução no tamanho do cristal ou diminuição da cristalinidade, gerando um sistema de dissolução mais fácil (CABRAL-MARQUES, 1994b). Portanto, um incremento na velocidade de dissolução é geralmente o resultado da combinação dos múltiplos fatores mencionados, facilitando a rápida captação no sistema circulatório e consequentemente incrementando a biodisponibilidade (AGATONOVIC-KUSTRIN et al., 2011).

A melhora na biodisponibilidade não está limitada só à administração de complexos pela via oral, também tem sido observada para formulações administradas pelas vias dérmica, retal e parenteral (CABRAL-MARQUES, 1994b).

*- Estabilidade de fármacos*

A formação de complexos de inclusão pode influenciar a estabilidade de fármacos e dependendo da forma em que a molécula hóspede está incluída na CD, a degradação pode ser diminuída (Figura 6), incrementada ou permanecer sem afetações (POPIELEC; LOFTSSON, 2017).

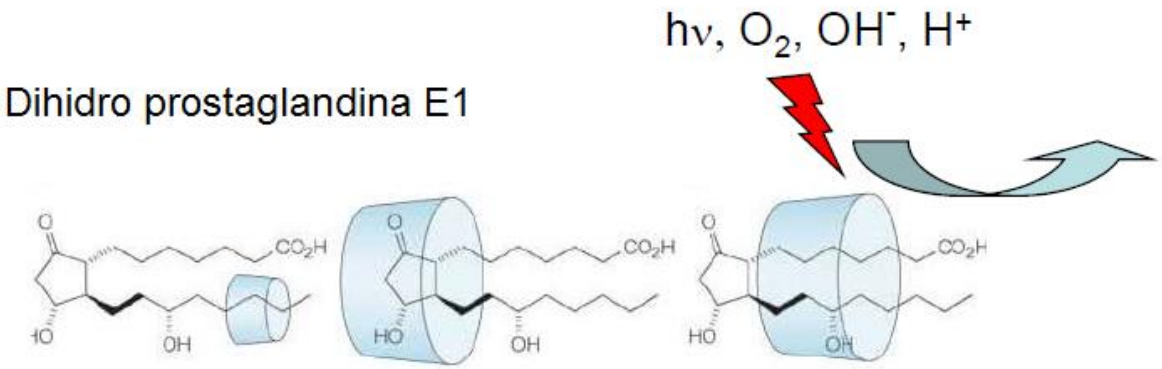


**Figura 6.** Representação esquemática do incremento na estabilidade química da dihidroprostaglandina E1 por inclusão em ciclodextrinas (PUSKÁS; MALANGA, 2017).

Também é importante destacar que a estereoquímica e/ou a estequiometria do complexo podem influenciar os efeitos estabilizantes ou desestabilizantes da complexação. Entre as reações que tem sido observadas incluem hidrólise, oxidação, transformações estereoquímicas, racemização e outras formas de isomerização, polimerização, decomposição térmica, fotodegradação e em alguns

casos, degradação enzimática (BEKERS et al., 1991; CABRAL-MARQUES, 1994b; LOFTSSON; BREWSTER, 1996).

Alguns estudos demonstraram que as CDs protegem o anel β-lactâmico de antibióticos dos grupos das penicilinas e cefalosporinas frente à hidrólise em condições ácidas (HIDAKA et al., 2010; POPIELEC et al., 2016), não tem nenhum efeito ou catalisam a degradação em meio neutro (ALSARRA et al., 2007; POPIELEC et al., 2016) e definitivamente catalisam a degradação em condições básicas (LOFTSSON; BREWSTER, 1996). Este comportamento é associado à ionização/deionização do grupo carboxila do antibiótico em função do pH e da maior afinidade da forma não ionizada pela cavidade da CD. O efeito catalítico é típico de sacarídeos, como por exemplo a glicose, em condições neutras ou básicas (POPIELEC; LOFTSSON, 2017). Também o efeito degradativo foi estudado considerando o tipo de CD, assim a hidrólise catalisada por base da benzilpenicilina, sob determinadas condições, foi inibida por RM-β-CD, no entanto, HP-β-CD incrementou a velocidade de degradação. Quando os grupos hidroxila foram substituídos por grupos com carga negativa como carboximetila, diminuiu o efeito catalítico (POPIELEC et al., 2016). O efeito catalítico de algumas CDs em solução aquosa deve-se geralmente à deprotonação do grupo hidroxila localizado na saída do anel, comportamento que é similar a outros carboidratos e álcoois polihídricos com grupos hidroxila adjacentes, situação que é principalmente notável em condições básicas (LOFTSSON et al., 2005).

O furoato de diloxanida, fármaco utilizado no tratamento de infeções diarreicas produzidas por ameba, sofre hidrólise catalisada por esterases. Alguns trabalhos mostraram que as CDs podem reduzir a degradação hidrolítica em condições básicas, assim como a degradação enzimática do fármaco, que não foi

só atribuída à formação de complexo de inclusão, se não também à inibição da enzima (MONTEIRO et al., 2003).

CDs também podem estabilizar substâncias frente à oxidação. O co-trimoxazol é susceptível a este tipo de degradação. Em condições de estresse com peróxido de hidrogênio, os complexos com HP-β-CD incrementaram a vida média da mistura de fármacos (11 vezes para o sulfametoxazol e 4,2 vezes para o trimetroprim) (POURMOKHTAR; JACOBSON, 2005).

Um estudo comparativo do efeito de várias CDs na oxidação de ziprasidona demonstrou que o comprimento da cadeia lateral e o caráter eletro-doador podem influir na catálise do complexo. Em solução aquosa as cadeias carregadas negativamente e eletro-doadoras catalisam a reação por estabilização de um intermediário oxidativo seguindo a ordem: CE-β-CD>SBE-β-CD>HP-β-CD>RM-β-CD> β-CD > sem CD. No estado sólido o efeito das CDs esteve relacionado com a natureza cristalina ou amorfa dos complexos formados, sendo mais estáveis frente à oxidação aqueles que formaram estruturas cristalinas. Os autores sugerem que no estado sólido a oxidação nos complexos é mais influenciada pela alta mobilidade do fármaco nas formas amorfas (HONG; SHAH; MCGONAGLE, 2011).

O Limaprost, derivado da prostaglandina E1, apresenta baixa estabilidade frente a temperatura e umidade relativamente elevadas. O Limaprost alfadex, é um complexo da substância com α-CD que, na forma de comprimidos, mantém a estabilidade por três anos ou mais quando é embalada em blister com revestimento de alumínio e contendo dessecante. Porém, sem a embalagem degrada rapidamente. Um estudo demonstrou que a liofilização de Limaprost alfadex com β-CD e posterior incorporação desta última como excipiente nos comprimidos contribuiu para melhorar a estabilidade por três meses ou mais em condições de

30°C/75 %HR. O mecanismo de estabilização da β-CD foi discutido desde o ponto de vista da redução da mobilidade das moléculas de água, além do próprio processo de inclusão na CD (INOUE et al., 2014).

*- Fotoestabilidade*

CDs tem o potencial para controlar reações químicas e fotoquímicas. Isso é devido à microplanaridade da cavidade do hospedeiro e a limitada mobilidade molecular do fármaco por restrições estéricas. Estudos demonstraram que a complexação pode alterar as propriedades de absorção de luz do complexo. A natureza de estados menos excitados da molécula hóspede, mecanismos de desativação e os produtos da reação podem ser modulados pelo microambiente da CD. Portanto, as mudanças estruturais que ocorrem quando a molécula do fármaco está formando complexo com a CD podem trazer consigo efeitos estabilizantes ou desestabilizantes (SORTINO et al., 2001). A velocidade das reações secundárias também podem ser influenciadas assim como a evolução dos intermediários da reação (BORTOLUS et al., 1993; LOFTSSON et al., 2005). Em geral, estes efeitos dependem do tipo de CD, o fármaco e as condições experimentais, como por exemplo o comprimento de onda e a intensidade de irradiação (LOFTSSON et al., 2005).

Existe relativamente pouca informação relativa à fotoestabilidade de complexos fármaco-CD em estado sólido, visto que o principal motivo de uso das CDs é incrementar a solubilidade aquosa, por isso a maioria dos estudos está focada à fotoestabilidade dos complexos em solução (HIDAKA et al., 2010). Independentemente de se o fármaco esteja em solução ou em estado sólido, a melhora na fotoestabilidade quando ele está na forma de complexo com CD

depende da CD em particular. Por exemplo, a fotoestabilidade do diclofenaco em formulações tópicas tipo gel, foi melhorada por inclusão com β-CD, apresentando o maior valor de constante de associação ($K_{1:1}$) comparado com ME-β-CD, α-CD e γ-CD (IOELE et al., 2014).

A cinética e o mecanismo de fotodegradação da molécula de fármaco é diferente dentro da cavidade da CD, porque o interior constitui um ambiente isolado, com propriedades físico-químicas diferentes das propriedades do meio externo, as quais as espécies incluídas frequentemente apresentam-se como uma única molécula. A fotoquímica é, portanto, restrita a eventos intramoleculares, exceto em casos em que mais de uma molécula esteja presente dentro do toroide (JONES et al., 1984).

A degradação do ácido oxolínico (quinolona) em solução aquosa segue uma cinética de primeira ordem, e a velocidade da reação aumenta com aumento da concentração inicial de ácido oxolínico. Este fenómeno se deve à formação de dímeros ou agregados de alta ordem. A formação de complexo de inclusão com HP-β-CD previne essa reação e retarda a degradação (ORFANOU et al., 2009).

A sofalcona (2´-carboxilmetoxi-4,4´´-bis (3-metil-2-buteniloxi) chalcona) (CBC) sofre fotoisomerização (E) - (Z), resultando em perda de sua atividade biológica. Quando as moléculas formaram complexo de estequiometria 1:1 com α-CD, a inclusão da CBC na pequena cavidade dificultou significativamente a rotação da dupla ligação do grupo cinamoil, resultando em diminuição da velocidade de isomerização. Porém, quando forma complexo 1:2 com γ-CD, a velocidade da reação é significativamente superior (TADANOBU et al., 1993).

A velocidade de fotodegradação do clofibrato diminuiu pela formação de complexo molecular sólido 1:1 com β-CD e γ-CD (UEKAMA et al., 1983)

Numerosos estudos tentaram melhorar a fotoestabilidade da nifedipina em estado sólido utilizando a complexação com CDs (TESHIMA et al., 1989; MIELCAREK; SADAJ, 1994). Num deles observou-se melhora na fotoestabilidade em 5 vezes comparado com fármaco livre, quando formou complexo preparado por formação de pasta 1:1 com β-CD (MIELCAREK; SADAJ, 1994) e outros autores notaram só uma ligeira melhora nos complexos de inclusão com β-CD, γ-CD, DM-β-CD, TM-β-CD e polímero β-CD (TOMONO et al., 1988). Outro trabalho comparou a fotoestabilidade dos complexos preparados por formação de pasta com β-CD, γ-CD, RM-β-CD, DM-β-CD e HP-β-CD. Como resultado, a vida média do fármaco foi menor que 60 min, independentemente da relação molar usada e do método de preparo. Observou-se melhora na fotoestabilidade dos complexos com β-CD e γ-CD na relação molar 1:1, porém o complexo com HP-β-CD apresentou um pequeno efeito desestabilizante com relação ao controle (média vida de 43,6 minutos na mistura física e 34,7 minutos no preparado por formação de pasta) e não foi detectado nenhum efeito quando foram usadas RM-β-CD e DM-β-CD na relação molar 1:1. Também foi investigado o efeito da proporção fármaco:CD para γ-CD demonstrando que o incremento na proporção desta CD aumentou o efeito estabilizante (1:2 > 1:1 > 2:1). No caso da RM-β-CD não foi detectado efeito estabilizante adicional nas relações molares 1:2 ou 2:1. Os autores concluem que a fotoestabilização observada quando foram usadas β-CD e γ-CD para formar os complexos preparados por formação de pasta poderia estar relacionada com mudanças na opacidade durante a exposição, o qual poderia reduzir a transmissão de luz dentro do material e diminuir a velocidade de fotodegradação (GLASS et al., 2001).

Outro trabalho, o qual obtiveram os complexos usando secagem por atomização com α-CD, β-CD e γ-CD, determinou que a extensão da fotodegradação foi comparável com a mistura física nifedipina: HP-β-CD (1:1), sugerindo mínima fotoproteção proporcionada por essas CDs (THOMA, 1996).

Estudos QSAR indicaram que a força motriz para a complexação da nifedipina, além da concentração da CD, são a hidrofobicidade e interações de Van del Waals (parâmetros de solubilidade 3D, área superficial hidrofílica e índice de conectividade diferencial) (AGATONOVIC-KUSTRIN et al., 2011).

No estado sólido, a furosemida degrada menos do 2 % em 2 horas de exposição à luz na presença de DM-β-CD e TM-β-CD, mas este valor aumenta aproximadamente até 12 % e 20 % na presença da β-CD e polímero β-CD, respectivamente.

A velocidade de fotodegradação e a natureza e distribuição dos produtos da reação podem ser alterados devido à complexação com CDs (BORTOLUS et al., 1993; TADANOBU et al., 1993; MIELCAREK, 1997). Um estudo desenvolvido utilizando RM-β-CD para melhorar a solubilidade do midazolam, demostrou um mecanismo de fotoreação em sequência altamente seletiva, devido ao controle conformacional sobre os reagentes (RAO; TURRO; RAMAMURTHY, 1986; REDDY; RAMAMURTHY, 1987). O "efeito caixa" da inclusão das moléculas na cavidade da CD gera um par de radicais que sofrem reação de condensação com outra molécula antes de ser capaz de difundir ao meio externo. Isto ocorre em menor medida na solução fora da cavidade devido à difusão mais rápida (REDDY et al., 1986).

*- Volatilização*

Vários estudos mostraram que as CDs podem incrementar a estabilidade física de diferentes tipos de compostos (fragrâncias) (BUSCHMANN; SCHOLLMEYER, 2002; CHEIRSILP; RAKMAI, 2017), pesticidas (SZENTE; SZEJTLI, 1981; SZENTE, 1998; BERGAMASCO; ZANIN; MORAES, 2005), poluentes orgânicos (FOURMENTIN et al., 2001; YEQIANG et al., 2016) e fármacos como a nitroglicerina (CENTKOWSKA; SZNITOWSKA, 2008), diminuindo significativamente sua volatilização seja por vaporização (linalol, alcanfor, mentol, timol) (CABRAL-MARQUES, 2010; CIOBANU et al., 2012; CIOBANU et al., 2013; NIEDDU et al., 2014) e/ou sublimação (naproxeno e ibuprofeno) (MAXWELL; CHICKOS, 2012), através da formação de complexos de inclusão.

*- Liberação modificada de fármacos*

Em épocas mais recentes as CDs também tem sido utilizadas tanto na liberação controlada como no "*targeting*". Assim estudos demonstraram que CDs podem associar-se com folato ou subunidades (Figura 7), mantendo a capacidade de formar complexo de inclusão, o qual possibilita o direcionamento do fármaco a tecido/órgão alvo (CEBORSKA, 2017; CEBORSKA et al., 2018), por exemplo no estudo da formação do complexo doxorubicina- ácido fólico-c2-β-CD, utilizando como espaçador duas moléculas de ácido capróico entre o agente de *targeting* e a CD. A alternativa contribuiu para incrementar a atividade antitumoral "*in vitro"* e "*in vivo"* utilizando um método de preparação relativamente simples (OKAMATSU et al., 2013; MIZUSAKO et al., 2015).

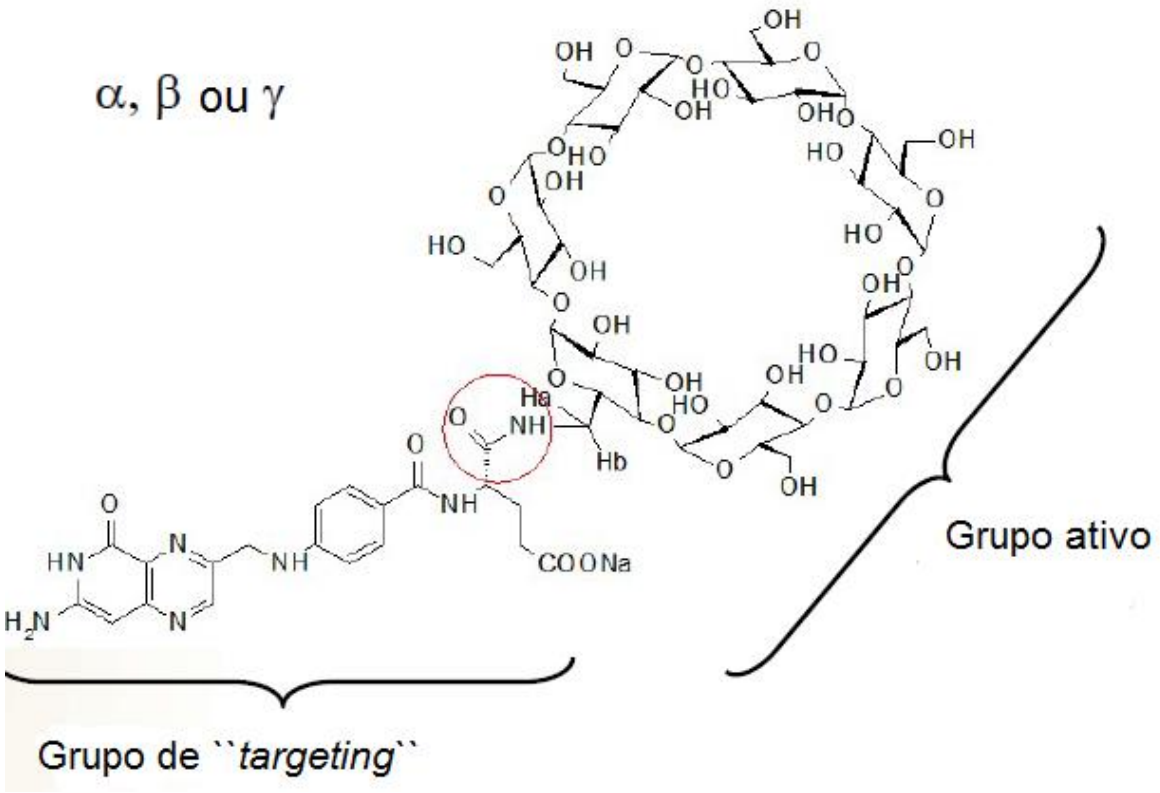


**Figura 7.** Estrutura química da associação ciclodextrina-folato para vectorização de fármacos (PUSKÁS; MALANGA, 2017).

Também a formação dos sistemas fármaco-em-CD-em-lipossomas tem sido uma alternativa útil na liberação de fármacos lipofílicos, considerando que quando estes últimos são incorporados na forma livre no lipossoma, se depositam maioritariamente na bicamada lipídica lipossomal, sendo liberados de forma rápida, limitando assim a efetividade na liberação prolongada. Já a incorporação do complexo de inclusão do fármaco no compartimento aquoso do lipossoma constitui uma alternativa para solucionar essa limitação (GHARIB et al., 2015). Um estudo utilizando flurbiprofeno formando complexo de inclusão com β-CD, HP-β-CD e SBE-β-CD e incorporados posteriormente em lipossomas melhorou a

biodisponibilidade do fármaco pouco solúvel, com os melhores resultados para o complexo flurbiprofeno/HP-β-CD (ZHANG et al., 2015).

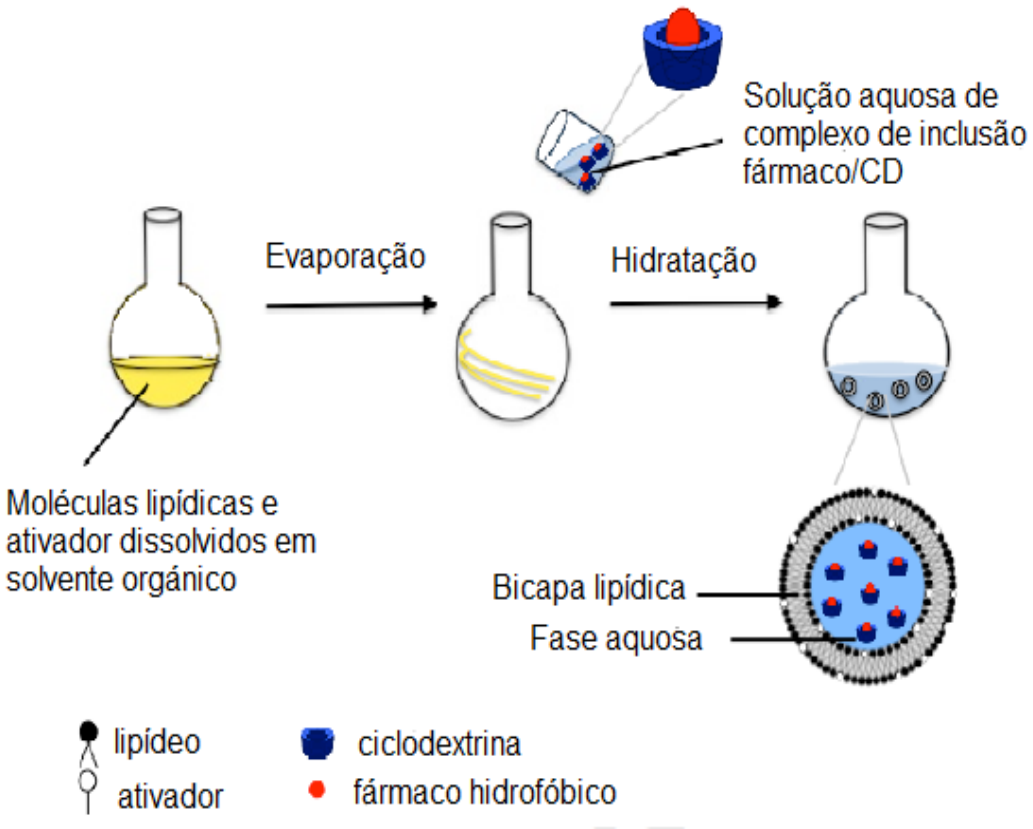


**Figura 8.** Esquema da metodologia de preparação de lipossomas contendo complexos de inclusão de fármaco em ciclodextrinas pelo método de hidratação de filme (GHARIB et al., 2015).

Este tipo de sistema também foi utilizado com sucesso no incremento da encapsulação, estabilidade, fotoproteção e retenção da substância volátil anetol em complexo de inclusão com HP-β-CD (GHARIB et al., 2017).

Um polipseudorotaxano utilizando γ-CD e lipossomas pegilados foi avaliado com sucesso na liberação prolongada de doxorubicina (HAYASHIDA et al., 2014).

Outro tipo de sistema avaliado tem resultado da combinação de complexos de inclusão com cristais líquidos. Um estudo demonstrou que a liberação da diosgenina, sua biodisponibilidade e distribuição na pele, melhorou quando seu complexo com β-CD foi incorporado ao cristal líquido constituído por uma dispersão de mono-oleato de glicerila e fitantriol, em água (OKAWARA et al., 2014).

Materiais poliméricos biodegradáveis de associação espontânea que mimetizam os proteoglicanos são sintetizados por um método simples de uma etapa e escalonável, a partir de complexos de inclusão de tensoativos catiônicos com γ-CD e o polímero natural polianiônico ácido hialurônico. Estas matrizes supramoleculares foram carregadas com substâncias hidrofílicas (albumina bovina sérica) e lipofílicas (curcumina, cetotifeno) para avaliar sua liberação em condições fisiológicas. Os sistemas foram totalmente biodegradados e os fármacos liberados de forma prolongada, pelo qual são considerados alternativa viável em formulações tópicas, implantes ou injeções depot (SZENTE et al., 2014). Outro estudo, baseado na formação da associação supramolecular biocompatível entre o ácido hialurônico (aniônico), o polímero catiônico poli-L-lisina e o oligossacarídeo aniônico SBE-β-CD contendo os fármacos inibidores da transcriptasa reversa zidovudina e lamivudina, mostrou atividade antirretroviral potente e permitiu a liberação sustentada dos fármacos, o qual facilitaria a adesão ao tratamento antirretroviral por parte dos individuos que padecem de infeção por HIV (SONG et al., 2016).

### *2.2.7. Efeitos sobre a segurança de fármacos*

O incremento na efetividade das CDs na maioria dos casos deve-se à diminuição da dose terapêutica de fármacos como consequência do incremento na solubilidade e biodisponibilidade. Por outra parte, a formação de complexo a nível

molecular previne o contato direto do fármaco com as estruturas biológicas, contribuindo com a redução de efeitos indesejáveis. Numerosos fármacos melhoraram seu perfil toxicológico por inclusão em CDs (HANUMEGOWDA; WU; ADAMS, 2014). A inclusão de 2-etil-hexil-p-dimetilaminobenzoato diminuiu a irritabilidade da substância por redução do contato com a pele (SCALIA; VILLANI; CASOLARI, 1999). β-CD melhorou a atividade antiviral do ganciclovir em linhagens celulares de citomegalovírus e o resultante incremento da potência do fármaco reduziu a toxicidade (NICOLAZZI et al., 2002). Também a SBE-β-CD inibiu a citotoxicidade do composto DY-9760e em células endoteliais das veias de cordão umbilical e suprimiu o dano vascular induzido pelo fármaco em coelhos (NAGASE et al., 2003). Um estudo de toxicidade aguda do líquido iônico imiscível 1-dodecil-3-metilimidazolio tetrafluorborato (DMIM-$BF_4$) em complexo com β-CD em modelo animal de *Danio rerio* mostrou incremento do valor de $DL_{50}$ (redução da toxicidade), ampliando sua potencialidade de aplicação (HODYNA et al., 2016).

HP-β-CD teve influência significativa na viabilidade celular da linhagem SH-SY5Y (neuroblastoma humano) quando o complexo de inclusão com Aβ (proteína β-amiloide com defeito no enovelamento, marca patológica da doença de Alzheimer) foi avaliado no ensaio de MTT. O estudo mostrou viabilidade celular de quase 99 % nos controles com HP-β-CD, Aβ altamente citotóxica, e as misturas Aβ- HP-β-CD 1:1, 1:2 e 1:5 com 74%, 93% e 82 % de viabilidade durante as 24 h de incubação. Nas maiores relações molares 1:5 e 1:10, a HP-β-CD tem tendência à agregação espontânea, o qual pode bloquear os sítios ativos de interação com Aβ (REN et al., 2016).

A toxicidade ocular "*in vitro"* e "*in vivo"* de diclofenaco de sódio foi reduzida por formação de complexos com HP-β-CD e γ-CD, sendo os complexos com α- e

β-CD menos efetivos na redução da toxicidade, resultantes de sua habilidade para extrair colesterol e outros componentes lipídicos das membranas da córnea (ABDELKADER et al., 2018a).

Descobertas em 1891, caraterizadas na primeira metade do passado século e disponibilizadas como compostos altamente puros nos últimos 40 anos, as CDs tem resultado em importante alternativa na melhora da biodisponibilidade e estabilidade de numerosos fármacos devido a sua capacidade de formação de complexos de inclusão, porém, é conhecido atualmente a possibilidade de outros tipos de associações intermoleculares. Ainda quando algumas CDs tem restrições quanto à via de administração, estes excipientes oferecem novas alternativas como a formação de agregados em combinação com outros excipientes e inclusão em sistemas dispersos coloidais sintonizáveis de liberação de fármacos e sínteses de novos derivados para vetorização a sitio específico.

Há mais de 100 anos após o descobrimento, as CDs são ainda consideradas como excipientes noveles com possibilidades ainda inexploradas.

## 2.3. Micropartículas

### *2.3.1. Definição e características gerais.*

Micropartículas são partículas de diâmetro maior que 1 μm. O termo microcápsula é referido a aquelas micropartículas em que o material de cobertura rodeia o material encapsulado, conformando uma parede ou cápsula. As micropartículas em que o material a encapsular está disperso aleatória ou

homogeneamente dentro de uma matriz, com alta tendência a esfericidade, são conhecidas como microesferas (LU; PARK, 2012).

Alguns autores classificam como macrocápsulas aquelas partículas com diâmetros maiores de 1000 μm. Uma ampla variedade de substâncias pode ser encapsulada, incluindo agroquímicos, enzimas, fragrâncias, células, tintas e ativos farmacêuticos. A maioria dos materiais de cobertura são polímeros orgânicos, mas também lipídeos e ceras podem ser usadas (LU; PARK, 2012).

As micropartículas podem apresentar diversas estruturas. Algumas são esféricas com uma região contínua do material de cobertura. Outras apresentam geometria irregular e contém um número determinado de gotículas ou partículas de material encapsulado no interior (Figura 9).

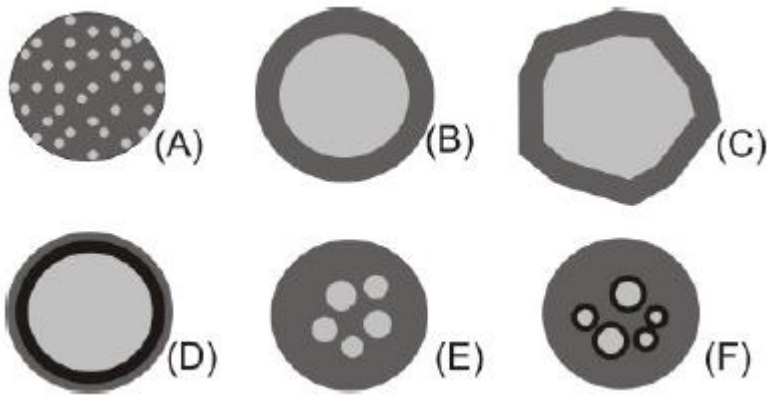


**Figura 9.** Estruturas típicas das micropartículas: (A): Sistema matricial (microesfera); (B) Microcápsula esférica com núcleo simples; (C): Microcápsula irregular; (D): Microcápsula de doble parede; (E): Microcápsula multinucleada; (F): Microcápsulas encapsuladas. (AZEREDO, 2008).

### *2.3.2. Principais aplicações*

A microencapsulação constitui uma estratégia útil para resolver problemas de estabilidade de fármacos, tanto "*in vitro*" quanto "*in vivo*", ou para prevenir interações fármaco/excipiente não desejadas na formulação. Dependendo das propriedades do polímero e das condições de microencapsulação, estes sistemas podem estender a vida útil de vários ativos devido à proteção frente a condições ambientais como umidade, oxigênio, luz e temperatura durante o processamento e estocagem (ABBAS et al., 2012). Assim, a fotoestabilidade de amlodipina (RAGNO et al., 2003), nifedipina (DINARVAND et al., 2006), etilhexilmetoxicinamato (GOGNA et al., 2007), ubiquinona-10 (BULE; SINGHAL; KENNEDY, 2010), pantoprazol sódico (DHURKE; KUSHWAHA; DESAI, 2013), ranitidina HCl (PRAKASH et al., 2013), avobenzona (CABRERA et al., 2014) e curcumina (PECORA et al., 2016) foi incrementada por formação de micropartículas. Também podem proteger substâncias altamente sensíveis como peptídeos, proteínas e células frente à degradação enzimática e resposta imune após administração (HERNÁNDEZ et al., 2010; SERRA et al., 2011).

A volatilização de várias substâncias como norfluorazon e alaclor (SOPEÑA et al., 2007), salicilato de metila (BANSODE et al., 2010), óleo de menta (ZHU et al., 2010) foi diminuída e a estabilidade térmica do aldeído cinâmico incrementada (SONG et al., 2018), utilizando microencapsulação.

Redução da toxicidade e irritabilidade gástrica do sulfato ferroso e cloreto de potássio foi verificada quando estes foram microencapsulados (BANSODE et al., 2010).

Adicionalmente, a microencapsulação apresenta uma solução na manipulação de substâncias higroscópicas, materiais que liberam grandes quantidades de pó e para pós com baixa fluidez (DESAI; JIN PARK, 2005).

Outra das aplicações das micropartículas é no mascaramento do sabor desagradável de alguns fármacos, usualmente incorporadas em suspensões ou comprimidos como forma final de administração (MALIK; ARORA; SINGH, 2011; KHOR et al., 2017). A microencapsulação de líquidos aderentes ou viscosos em sólidos, permite melhorar a incorporação destes nos processos de preenchimento, mistura e compressão (BURGESS; HICKEY, 2007).

Uma das principais razões da microencapsulação é conseguir liberação modificada, em muitos casos sustentada, de fármacos, visando reduzir a frequência de administração, especialmente conveniente para fármacos de meia-vida plasmática curta, ou reduzir oscilação nas concentrações plasmáticas, minimizando efeitos colaterais (KRAJIŠNIK; ČALIJA; CEKIĆ, 2017).

### *2.3.3. Métodos de obtenção*

Existem vários métodos que se utilizam na produção de micropartículas. Pela importância que teve no presente trabalho, o método de microencapsulação por formação de emulsão/evaporação do solvente será mais amplamente comentado. Os restantes métodos são apresentados no quadro 3.

*- Formação de emulsão/evaporação do solvente*

É um método muito comum na produção de micropartículas, onde dois ou mais líquidos imiscíveis são dispersos, um no interior do outro, na forma de gotículas. Entre os mais usados estão solventes orgânicos voláteis como

componentes da fase dispersa e água contendo um tensoativo apropriado como fase contínua. No caso de fármacos hidrofóbicos, estes podem ser dissolvidos junto com o polímero de cobertura em solvente orgânico comum, como cloreto de metileno ou diclorometano, e emulsificados em uma solução aquosa de tensoativo polimérico, como álcool polivinílico, para produzir uma emulsão óleo em água (O/A) (AKASH et al., 2013). O procedimento também pode ser adaptado para encapsular fármacos hidrofílicos, o qual deve ser dissolvido em água (fase dispersa) e emulsificada com uma fase orgânica contínua que contém o polímero formador da cobertura, produzindo uma emulsão primária tipo água em óleo (A/O). Esta é posteriormente emulsificada com uma fase externa aquosa, dando lugar a uma emulsão do tipo água-óleo- água (A/O/A) (LIU et al., 2016). Outros tipos de emulsões podem ser obtidas: óleo em óleo (O/O) e múltiplas como A/O/O, O/A/O, entre outras. Estas últimas tem como objetivo proteger fármacos altamente hidrosolúveis da partição na interfase O/A, causando perdas de fármaco e baixos valores de eficiência de encapsulação. Para todos os tipos de emulsões, o procedimento de emulsificação é seguido da eliminação do solvente, dando lugar ao sistema sólido. Dependendo do método de solidificação, o método poderá ser classificado como evaporação do solvente, extração do solvente ou reticulação (YE; KIM; PARK, 2010).

Na evaporação do solvente, este é eliminado em duas etapas: primeiro o solvente difunde através da fase dispersa até a fase contínua e segundo, o solvente é eliminado na interfase (fase contínua-ar). Para facilitar esta última etapa, pode–se aquecer o sistema. Teoricamente, se o solvente é totalmente extraído das micropartículas para a fase contínua, então a etapa de evaporação não é necessária. Na prática, utilizando uma relação de volume suficientemente grande

entre fase contínua e fase dispersa ou utilizando um cosolvente apropriado de elevada afinidade pela fase contínua, o solvente orgânico pode ser extraído das micropartículas completamente (LU; PARK, 2012).

O terceiro tipo de método de emulsificação requer o processo de reticulação, que é usado para favorecer a solidificação quando polímeros hidrofílicos são usados (gelatina, albumina, dextrana, quitosana, entre outros). A reticulação pode ser promovida por calor, adição de contraíons ou agentes reticulantes específicos (LU; PARK, 2012).

Vários trabalhos tem estudado a influência de diferentes parâmetros nas emulsões e no produto final: as micropartículas. Entre eles, alguns parâmetros físicos como: configuração do aparelho, velocidade de agitação, relação volumétrica entre fase contínua e fase dispersa e relação de massas entre material a encapsular e material de cobertura. Parâmetros físico-químicos como: tensão interfacial, viscosidade e densidade das fases dispersa e contínua, parâmetros químicos como: tipo de polímero, propriedades do fármaco, tensoativo e solvente. A otimização destes parâmetros é específica do material, por exemplo para diferentes sistemas fármaco-polímero os valores dos parâmetros podem diferir (FREITAS; MERKLE; GANDER, 2005; MATEOVIĆ-ROJNIK et al., 2005; JYOTHI et al., 2010).

**Quadro 3.** Métodos de microencapsulação

| Método | Características | Referencias |
|---|---|---|
| *Coacervação - Separação de Fases.* | Envolve de-solvatação parcial do polímero da solução polimérica.<br><br>Pode ser simples (um polímero) ou complexa (dois polímeros). | (SHIMOKAWA et al., 2013).<br><br>(BUTSTRAEN; SALAÜN, 2014). |
| *Secagem por atomização (Spray Drying)* | O material a encapsular é disperso na solução concentrada do material de cobertura. A mistura é atomizada na câmara de secagem quente que contém um gás que contribui a eliminar o solvente rapidamente para produzir as micropartículas. | (FATNASSI et al., 2014)<br><br>(JYOTHI et al., 2010)<br><br>(ZHANG et al., 2014) |
| *Fluidos supercríticos* | A capacidade de solvatação destes fluidos pode ser alterada com a temperatura e a pressão.<br><br>A obtenção do produto microencapsulado pode–se efetuar em uma etapa que consta de dois processos principais: (1) solvatação do ingrediente ativo pelo fluido na rápida expansão da solução supercrítica e (2) precipitação do composto pelo fluido supercrítico no processo de cristalização supercrítica anti-solvente | (COCERO et al., 2009).<br><br>(GIROTRA; SINGH; NAGPAL, 2013) |
| *Electrospraying* | Baseado na habilidade do campo elétrico para deformar a interfase de uma gota de líquido. A carga elétrica gera uma força eletrostática dentro da gota (força de Coulomb) que compete com a força coesiva intrínseca da gota e quando esta última é superada pela primeira, faz quebrar a gota em pequenas gotículas na escala micro ou nano.<br><br>Vários parâmetros podem influir no produto final: Viscosidade, voltagem, calibre da agulha, distância do coletor, velocidade de fluxo, solvente, | (ALMERÍA et al., 2010).<br><br>(BOCK et al., 2011).<br><br>(ZHOU et al., 2016).<br><br>(BARRON; HE, 2017). |

| | | |
|---|---|---|
| | surfactantes, tipo de polímero, etc., pelo qual a otimização do processo resulta altamente complexa. | |
| *Gelificação ionotrópica* | Baseado na capacidade de polieletrólitos de reticular na presença de íons de carga contrária para formar hidrogéis. Os grânulos de hidrogel são produzidos por gotejamento de uma solução polimérica contendo fármaco em uma solução aquosa de cátions polivalentes. Os cátions difundem nas gotas, formando uma rede tridimensional reticulada. | (PATEL; PATEL; PATEL, 2010).<br>(PATIL et al., 2010).<br>(UPPALA et al., 2013).<br>(PREZOTTI; CURY; EVANGELISTA, 2014).<br>(GIRI, 2016).<br>(ABDELKADER et al., 2018). |
| *Revestimento por atomização*<br>*(Em tambor)* | As partículas ficam em movimento dentro de um sistema com desenho específico entanto a solução de revestimento é atomizada na superfície das partículas. As micropartículas formadas são secas por evaporação do solvente da solução de revestimento ou por esfriamento. | (JAMEKHORSHID; SADRAMELI; FARID, 2014). |
| *Revestimento por atomização*<br>*(Em leito fluidizado)* | O sistema mantém as partículas sólidas suspensas numa corrente de ar. A posição do atomizador no aparelho pode variar (superior, tangencial ou inferior). Podem ser desenvolvidos vários ciclos de atomização-secagem até conseguir a espessura do revestimento desejada.<br>Vários fatores relacionados com o aparelho (fluxo de gás, distância do atomizador ao leito, número de atomizadores, velocidade de atomização e | (DEASY, 1991). (GUIGNON; DUQUENOY; DUMOULIN, 2002).<br>(SEMYONOV et al., 2012). |

| | | |
|---|---|---|
| | temperatura) assim como parâmetros físico químicos como a viscosidade da solução de revestimento e densidade do material podem influir na qualidade do revestimento. | |
| *Extrusão centrifuga* | Dois líquidos imiscíveis são bombeados dentro de um eixo atomizador para dois fluidos. O líquido a encapsular é alimentado ao canal central entanto o líquido de revestimento é colocado no canal de alimentação lateral. Quando a coluna com os dois líquidos emerge do atomizador, esta espontaneamente se quebra produzindo uma corrente de pequenas gotículas contendo material líquido a encapsular no interior, rodeadas de material de revestimento. Este último solidifica por resfriamento rápido quando as gotículas saem do atomizador ou alternativamente, por resfriamento em banho gelado. | (LU; PARK, 2012).<br><br>(JAMEKHORSHID; SADRAMELI; FARID, 2014). |
| *Separação por suspensão rotacional* | O material a encapsular é disperso em uma formulação líquida de revestimento e a dispersão é transportada até um disco rotatório. As micropartículas individuais resultantes são expulsadas do disco rotatório e resfriadas rapidamente para favorecer a solidificação da cobertura. | (LU; PARK, 2012). (TOMARO-DUCHESNEAU et al., 2013). |
| *Polimerização interfacial* | A cápsula é formada devido a uma reação de polimerização de monômeros que reagem na interface entre o material de revestimento e o material a encapsular. Pode ser usada para encapsular substâncias miscíveis ou imiscíveis com água. | (BERCHANE; JEBRAIL; ANDREWS, 2010) (PERIGNON et al., 2015). |
| *Polimerização in situ* | Não são incorporados reagentes de polimerização na fase que contém o material a encapsular. A reação ocorre exclusivamente na parte da interface da fase contínua. Quando o polímero começa a | (JYOTHI et al., 2010) |

formar, este vái depositando na superfície do material a encapsular, onde a reação de reticulação tem lugar, formando uma cápsula sólida.

### *2.3.4. Etilcelulose (EC)*

É um polissacarídeo linear derivado semi-sintético da celulose, com amplo uso em alimentos, cosméticos e indústria farmacêutica. Nesta última, é particularmente usada devido a suas propriedades de baixa toxicidade (sendo um dos poucos polímeros organosolúvel/insolúvel em água que conta com aprovação da FDA para uso interno), bom formador de filme, com favorável resistência mecânica, termoplasticidade e relativamente baixo custo. É utilizado como excipiente em comprimidos obtidos por compressão direta (YU et al., 2007; GUERRA-PONCE et al., 2016), na obtenção de dispersões utilizando a técnica de extrusão/ fusão à quente (REPKA et al., 2008; FENG et al., 2016) e na formação de micropartículas para estabilização de fármacos frente a interações, hidrólise e oxidação (PRASERTMANAKIT et al., 2009; WALKER, 2012) e para conseguir liberação controlada em micro (ARICI et al., 2014; PARIDA et al., 2016; WAGH; MUJUMDAR; NAIK, 2018) e nanopartículas (LOKHANDE et al., 2013).

A obtenção da EC ocorre por dissolução alcalina da celulose, com objetivo de quebrar sua estrutura supramolecular, com posterior adição de cloroetano (ATALLA; ISOGAI, 2005), para substituir os grupos hidroxila por grupos etila terminais. A estrutura química da EC consiste em cadeias de unidades de anidroglicose unidas por pontes de oxigênio (Figura 10). Nos materiais mais comuns, o grau de substituição dos grupos etóxi varia entre 43 e 50 %. As

propriedades físicas da EC são influenciadas pelo grau de polimerização da cadeia principal assim como pelas propriedades da cadeia lateral, incluindo o grau de substituição e a distribuição dos substituintes na cadeia polimérica e entre as posições dos carbonos C(2), C(3) e C(6) das unidades de anidroglicose. O alongamento, a flexibilidade e em menor medida, a temperatura de transição vítrea (*Tg*), diminuem drasticamente com incremento da etoxilação e a dureza e absorção de umidade diminuem quando o conteúdo de etóxi incrementa acima de 43-51% (DAVIDOVICH-PINHAS; BARBUT; MARANGONI, 2014).

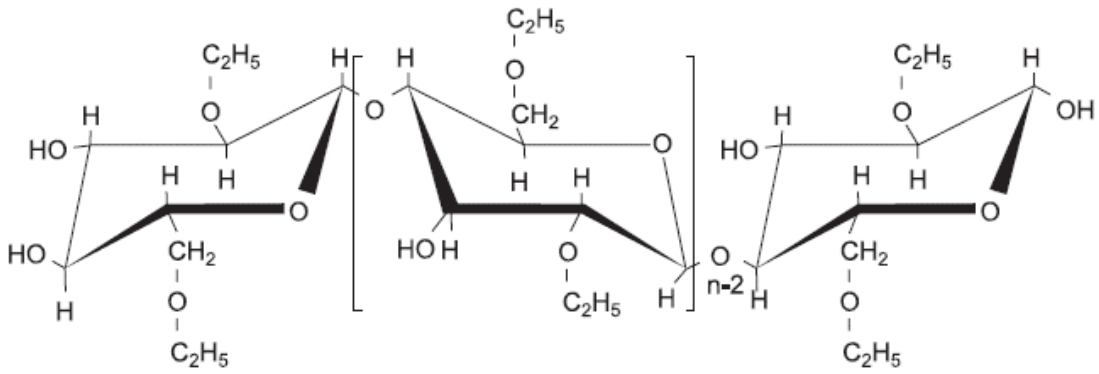


**Figura 10.** Estrutura química da etilcelulose. (MURTAZA, 2012).

EC é um material altamente amorfo, porém apresenta reconhecidas propriedades de líquidos cristalinos liotrópicos. Este polímero é um forte formador de cristal, pelo qual a variação da capacidade calorifica na *Tg* é relativamente sutil, resultando difícil sua detecção (HYPPÖLÄ; HUSSON; SUNDHOLM, 1996), mas existe consenso geral que está em torno de 130 °C dependendo da massa molar e do grau de substituição. Alguns trabalhos que estudaram a influência da razão de aquecimento (2, 5 e 10 °C/min) mostraram que há influencia mínima sobre o valor

da *Tg* (LAI; PITT; CRAIG, 2010). A mobilidade molecular incrementa a partir dos 60-70 °C, com máxima energia de dissipação em 131,5 °C. Também é conhecido que existe uma transição complexa do material acima dos 180 °C que pode-se manifestar como uma combinação de respostas endo e exotérmicas, que alguns autores associam à oxidação do polímero (DUBERNET; ROULAND; BENOIT, 1990). Trabalhos posteriores demonstraram o impacto da razão de aquecimento na temperatura de início da transição assim como da presença de oxigênio proveniente do ar comprimido quando usado como gás transportador usando TGA como técnica de análise. Os autores sugerem a formação de peróxido nos grupos éter como reação primária e logo depois sua decomposição com remoção dos correspondentes aldeídos, álcoois, alquil hidroperóxidos e outros produtos derivados da decomposição (reações secundárias) (LAI; PITT; CRAIG, 2010).

Levando em conta as amplas possibilidades que oferece a microencapsulação na melhora da estabilidade química e física de numerosas substâncias e ausencia de estudos anteriores relativos à utilização de etilcelulose na proteção do derivado furânico, consideramos esta metodologia de interesse para ser avaliada no presente trabalho.

# 3. Objetivos

### Objetivo geral

Avaliar os complexos de inclusão com ciclodextrinas e micropartículas poliméricas como alternativas tecnológicas que contribuam para a estabilização do 2-(2-nitrovinil) furano e que permitam sua incorporação em formas farmacêuticas estáveis e adequadas para uso humano e/ou veterinário.

### Objetivos específicos

1. Desenvolver estudos de estabilidade acelerada dos complexos de inclusão liofilizados de G-0 com HP-β-CD e SBE-β-CD.
2. Avaliar a fotoestabilidade do G-0 na forma de complexos de inclusão com HP-β-CD e SBE-β-CD no estado sólido, através de métodos de irradiação forçada e em câmara climática.
3. Avaliar a volatilização do fármaco na forma de complexos de inclusão utilizando métodos de análise térmica e cromatográfica.
4. Desenvolver estudos de liberação *in vitro* e de permeabilidade em mucosa vaginal.
5. Avaliar a influência da formação dos complexos de inclusão nas propriedades biológicas do G-0 através do ensaio de susceptibilidade *in vitro* frente à *Candida spp* e da citotoxicidade através do ensaio de viabilidade de queratinócitos e fibroblastos.
6. Desenvolver sistemas de micropartículas poliméricas com G-0 incorporado.

7. Caracterizar os sistemas poliméricos através de métodos de análise térmica e espectroscópica, difratometría de raios X de pó e microscopia eletrônica de varredura.
8. Avaliar a influência da incorporação de G-0 nas micropartículas na fotoestabilidade, volatilização, liberação e estabilidade acelerada da substância ativa.

## 4. Conclusões

1. Os complexos de inclusão com HP-β-CD e SBE-β-CD liofilizados constituem uma excelente alternativa na estabilização química e física do 2-(2-nitrovinil) furano, considerando a manutenção das características organolépticas, a porcentagem de fármaco na faixa de 95-105%, ausência de produtos de degradação detectáveis durante o período de estabilidade acelerada e a diminuição muito significativa das perdas de fármaco por volatilização.
2. Os complexos formados são fotossensíveis. O método de irradiação forçada permitiu detectar três produtos de degradação nos dois complexos, entre eles um principal (PD1) que foi caracterizado através dos métodos espectroscópicos de RMN como uma mistura de duas substâncias em equilíbrio.
3. A formação dos complexos contribuiu para aumentar significativamente a velocidade de dissolução do G-0 no fluido vaginal simulado, embora o fármaco não permeou significativamente ao compartimento receptor da célula de Franz, porém aproximadamente um 2,5 % da massa inicial foi recuperada da mucosa vaginal bovina, sem diferenças estatísticas significativas por incorporação da substância ativa nos complexos.
4. Os complexos de inclusão do 2-(2-nitrovinil) furano com HP-β-CD e SBE-β-CD mantiveram ou aumentaram pouco a atividade antifúngica em relação ao fármaco livre frente às cepas de *Candida albicans* e *Candida krusei*, sendo que o complexo FD G-0/SBE-β-CD mostrou menor citotoxicidade do que o G-0 livre em queratinócitos e fibroblastos.
5. O planejamento fatorial permitiu selecionar com maior precisão dois sistemas com eficiência de encapsulação entre 70-80%, alta circularidade e adequada

recuperação. Os sistemas caracterizados apresentaram superfícies irregulares com alguns poros, diminuição da cristalinidade, principalmente no sistema G-0/EC (1:1,5 m/m) e ausência de interações químicas fármaco-polímero.

6. A formação de micropartículas de etilcelulose nas duas proporções de polímero, contribuiu para melhorar a fotoestabilidade do G-0 em condições forçadas em comparação com o fármaco livre, porém só o sistema de micropartículas ME G-0/EC (1:1,5 m/m) diminuiu de forma considerável as perdas por volatilização em aproximadamente um 50 % do conteúdo de fármaco.
7. A porcentagem de G-0 liberada das micropartículas no meio tamponado pH 4,2 foi menor que a porcentagem de fármaco livre dissolvida, sendo mais notável este efeito para o sistema com maior proporção de etilcelulose. Ambas as curvas de liberação apresentaram elevada correlação quando avaliadas no modelo cinético de Korsmeyer-Peppas, com valores de coeficiente difusional que indicou modo anômalo.
8. A avaliação das características organolépticas, o conteúdo de fármaco e a presença de produto de degradação demonstram que, durante o ensaio de estabilidade acelerada, o sistema de micropartículas G-0/EC (1:1 m/m) apresentou maior estabilidade que o sistema com maior proporção polimérica, mantendo esta última a estabilidade só em condições de refrigeração.

## 5. Referências bibliográficas


AAMIR, M. N.; AHMAD, M. Development of tramadol microparticles by non-solvent addition method and their in vitro characterization. **Iranian Polymer Journal**, v. 18, n. 12, p. 937–946, 2009.

ABBAS, S. et al. Ascorbic acid: Microencapsulation techniques and trends—A review. **Food Reviews International**, v. 28, n. 4, p. 343–374, 2012.

ABDELKADER, H. et al. Cyclodextrin enhances corneal tolerability and reduces ocular toxicity caused by diclofenac. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1–13, 2018a.

ABDELKADER, H. et al. Review on micro-encapsulation with chitosan for pharmaceuticals applications. **MOJ Current Research & Reviews**, v. 1, n. 2, p. 77–84, 2018b.

ABDELMALAK, N. S.; EL-MENSHAWE, S. F. A new topical fluconazole microsponge loaded hydrogel: Preparation and characterization. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. SUPPL.1, p. 460–469, 2012.

AGATONOVIC-KUSTRIN, S. et al. Modeling the effect of selected cyclodextrins on nifedipine solubility. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 8, n. 2, p. 146–154, 2011.

AJIBOYE, T. O. et al. 2-(2-nitrovinyl)furan promotes oxidation of cellular proteins, lipids, and dna of male rat liver and kidney. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 29, n. 3, p. 114–122, 2015.

AKASH, H. M. . et al. Characterization of ethylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose microspheres for controlled release of flurbiprofen. **J Pharm Drug Deliv Res**, v. 2, n. 1, p. 1–10, 2013.

ALABI, K. ; HASSAN, G. Determination of minimum inhibitory concentrations of 2-(2-nitrovinyl ) furan. **Academia Journal of Microbiology Research**, v. 2, n. 2, p. 28–32, 2014.

ALMERÍA, B. et al. Controlling the morphology of electrospray-generated PLGA microparticles for drug delivery. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 343, n. 1, p. 125–133, 2010.

ALONSO, E. C. P. et al. Development of carvedilol-cyclodextrin inclusion complexes using fluid-bed granulation: a novel solid-state complexation alternative with technological advantages. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 10, p. 1299–1309, 2016.

ALSARRA, I. A. et al. Effect of β-cyclodextrin derivatives on the kinetics of degradation of cefotaxime sodium in solution state. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 17, n. 5, p. 353–357, 2007.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, ID. e35671, 2012.

ANDERSON, D. J.; MARATHE, J.; PUDNEY, J. The Structure of the Human Vaginal *Stratum Corneum* and its Role in Immune Defense. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 71, n. 6, p. 618–623, 2014.

ANDERSON, N.; STEPHEN, J. Photostability Testing: Design and Interpretation of Test on New Drug Substances and Dosage Forms. In: TONNESEN, H. (Ed.). **Photostability of Drugs and Drugs Formulations**. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2004. p. 137–160.

ARICI, M. et al. Preparation of naproxen–ethyl cellulose microparticles by spray-drying technique and their application to textile materials. **Journal of Microencapsulation**, v. 31, n. 7, p. 654–666, 2014.

ATALLA, R.; ISOGAI, A. Recent developments in spectroscopic and chemical characterization of cellulose. In: DUMITRIU, S. (Ed.). **Polysaccharides: Structural diversity and functional versatility**. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker, 2005. p. 123–157.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação a teoría dos alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89–97, 2008.

BALCI, M. **Basic 1H- and 13C- NMR Spectroscopy**. Oxford: Elsevier, 2005.

BANCHERO, M.; RONCHETTI, S.; MANNA, L. Characterization of ketoprofen/methyl-β-cyclodextrin complexes prepared using supercritical carbon dioxide. **Journal of Chemistry**, v. 2013, ID. 583952, p. 1–8, 2013.

BANDGAR, B. ; ZIRANGE, M. ; WADGAONKAR, P. Envirocat EPZG as e new heterogeneous catalyst for the efficient synthesis of conjugated nitroolefins. **Synlett**, v. 2, p. 149–150, 1996, doi: 10.1055/s-1996-5347.

BANSODE, S. S. et al. Microencapsulation: A review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 1, n. 2, p. 38–43, 2010.

BARRON, C.; HE, J-Q. Alginate-based microcapsules generated with the coaxial electrospray method for clinical application. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 28, n. 13, p. 1245–1255, 2017.

BEKERS, O. et al. Cyclodextrins in the pharmaceutical field. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 17, n. 11, p. 1503–1549, 1991.

BENZIGER, C. P.; RIBEIRO, A. L. P.; NARULA, J. After 100 years, the diagnosis, treatment, and control of chagas disease remains a challenge. **Global Heart**, v. 10, n. 3, p. 137–138, 2015.

BERCHANE, N. S.; JEBRAIL, F. F.; ANDREWS, M. J. Optimization of PLG microspheres for tailored drug release. **International Journal of Pharmaceutics**,

v. 383, n. 1–2, p. 81–88, 2010.

BERGAMASCO, R. DE C.; ZANIN, G. M.; MORAES, F. F. DE. Sulfluramid volatility reduction by β-cyclodextrin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 1139–1143, 2005.

BERGINC, K. et al. Development and evaluation of an in vitro vaginal model for assessment of drug's biopharmaceutical properties: curcumin. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 4, p. 1045–1053, 2012.

BOCK, N. et al. Electrospraying, a reproducible method for production of polymeric microspheres for biomedical applications. **Polymers**, v. 3, n. 1, p. 131–149, 2011.

BORTOLUS, P. et al. Photochemistry of cyclodextrin host-guest complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 125, n. 1–2, p. 261–268, 1993.

BOUKAMP, P. et al. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. **The Journal of Cell Biology**, v. 106, n. 3, p. 761–771, 1988.

BRAVO, L. **Estudio analítico de derivados furánicos mediante cromatografia gaseosa. Aplicaciones farmacéuticas**. 1998. Disertación (Master en Tecnología y Control de medicamentos) Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Cuba, 1998.

BULE, M. V.; SINGHAL, R. S.; KENNEDY, J. F. Microencapsulation of ubiquinone-10 in carbohydrate matrices for improved stability. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1290–1296, 2010.

BURGESS, D.; HICKEY, A. Microsphere technology and applications. In: SWARBRICK, J. (Ed.). **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**. 3rd. ed. New York: Informa Healthcare, 2007. p. 2328–2338.

BUSCHMANN, H-J.; SCHOLLMEYER, E. Applications of cyclodextrins in cosmetic

products: A review. **Journal of Cosmetic Sciences**, v. 53, n. 3, p. 185–191, 2002.

BUTSTRAEN, C.; SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum arabic and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, n. 2, p. 608–616, 2014.

CABRAL-MARQUES, H. M. Structure and properties of cyclodextrins: inclusion complex formation. **Revista Portuguesa de Farmácia**, v. 44, n. 2, p. 77–83, 1994a.

CABRAL-MARQUES, H. M. Applications of cyclodextrins. Thermodynamic aspects of cyclodextrin complexes. **Revista Portuguesa de Farmácia**, v. 44, n. 2, p. 85–96, 1994b.

CABRAL-MARQUES, H. M. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n. 5, p. 313–326, 2010.

CABRERA, C. G. et al. Characterization of encapsulation process of avobenzone in solid lipid microparticle using a factorial design and its effect on photostability. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 4, n. 12, p. 035–043, 2014.

CABRERA, M. et al. Experimental and theoretical determination of physicochemical properties in a novel family of microcydal compounds. **European Bulletin of Drug Research**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2001.

CAIRA, M. R. et al. Inclusion complexes of 2-methoxyestradiol with dimethylated and permethylated β-cyclodextrins: models for cyclodextrin-steroid interaction. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 11, p. 2616–2630, 2015, doi: 10.3762/bjoc.11.281.

CASTAÑEDO-CANCIO, N. et al. **Pharmaceutical compositions containing nitrovinylfuran derivatives for the treatment of leishmaniosis and trypanosomosis**, 12 fev. 2009. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US20090042978A1/en>. Acesso em: 29 nov.

2018

CASTRO- HERMIDA, J. A. et al. Anticryptosporidial activity of furan derivative G1 and its inclusion complex with beta-cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 1, p. 197–206, 2004.

CEBORSKA, M. Folate appended cyclodextrins for drug, DNA, and siRNA delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 120, p. 133–145, 2017.

CEBORSKA, M. et al. Comparative study of molecular recognition of folic acid subunits with cyclodextrins. **Carbohydrate Polymers**, v. 184, p. 47–56, 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.12.031.

CECMED. **RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO Nombre del producto: DERMOFURAL® 0,15 %**. Disponível em: <https://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/rcp/m07020d01_dermofural_0.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2018.

CENTKOWSKA, K.; SZNITOWSKA, M. Comparison of sublingual tablets with nitroglycerin complexed with beta-cyclodextrin or titrated with crosspovidone--technological approach. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 65, n. 5, p. 585–589, 2008.

CEVHER, E. et al. Bioadhesive tablets containing cyclodextrin complex of itraconazole for the treatment of vaginal candidiasis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 69, p. 124–136, 2014, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.05.033.

CHALLA, R. et al. Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. **AAPS PharmSciTech**, v. 6, n. 2, p. E329–E357, 2005.

CHATTOPADHYAY, N. Effect of cyclodextrin complexation on excited state proton

transfer reactions. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 58, n. 1, p. 31–36, 1991.

CHEIRSILP, B.; RAKMAI, J. Inclusion complex formation of cyclodextrin with its guest and their applications. **Biology, Engineering and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 1–6, 2017.

CHOUDHARY, H. et al. Evaluation and optimization of preparative variables for controlled-release floating microspheres of levodopa/carbidopa. **Die Pharmazie**, v. 65, n. 3, p. 194–198, 2010.

CIOBANU, A. et al. Inclusion interactions of cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers with linalool and camphor in Lavandula angustifolia essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 3, p. 1963–1970, 2012.

CIOBANU, A. et al. Retention of aroma compounds from Mentha piperita essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 291–297, 2013.

COCERO, M. J. et al. Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: fundamentals and applications. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 3, p. 546–555, 2009.

CUTRIGNELLI, A. et al. A new complex of curcumin with sulfobutylether-β-cyclodextrin: characterization studies and in vitro evaluation of cytotoxic and antioxidant activity on HepG-2 cells. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 12, p. 3932–3940, 2014.

D'ANGELO, S. et al. Effect of Annurca apple polyphenols on human HaCaT keratinocytes proliferation. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 11, p. 1024–1031, 2012.

DANN, O.; MÖLLER, E. F. Über die wachstumshemmenden Eigenschaften von

Nitroverbindungen. **Chemische Berichte**, v. 82, n. 1, p. 76–92, 1949.

DAS NEVES, J. et al. *In vitro* and *ex vivo* evaluation of polymeric nanoparticles for vaginal and rectal delivery of the anti-HIV drug dapivirine. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 7, p. 2793–2807, 2013.

DAVIDOVICH-PINHAS, M.; BARBUT, S.; MARANGONI, A. G. Physical structure and thermal behavior of ethylcellulose. **Cellulose**, v. 21, n. 5, p. 3243–3255, 2014.

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

DE JESUS, M. B. et al. Non-inclusion complexes between riboflavin and cyclodextrins. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 6, p. 832–842, 2012.

DE LIMA, E. **Síntese e caracterização de micropartículas de etilcelulose e seu uso na encapsulação do fungicida tebuconazole**. 2014. Tese (Doutorado em Química) Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2014.

DE ROJAS PÉREZ, M. **Estudio de los productos de degradación del 2-(2-nitrovinil)furano (g-0)**. 2006. Tesis (Doctorado en Química) Universidad de Cádiz, España, 2006.

DEASY, P. B. Microencapsulation of drugs by pan and air suspension techniques. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 8, n. 1, p. 39–89, 1991.

DELIANG, Z.; PORTER, W.; ZHANG, G. Drug stability and stability studies. In: QIU, Y. et al. (Eds.). **Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory & Practice**. New York: Academic Press, 2009. p. 87–124.

DESAI, K. G. H.; JIN PARK, H. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361–1394, 2005.

DHURKE, R.; KUSHWAHA, I.; DESAI, B. G. Improvement in photostability of

pantoprazole sodium by microencapsulation. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 67, n. 1, p. 43–52, 2013.

DI CAGNO, M.P. The potential of cyclodextrins as novel active pharmaceutical ingredients: a short overview. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 1–14, 2016, doi: 10.3390/molecules22010001.

DI DONATO, C. et al. Alpha- and beta-cyclodextrin inclusion complexes with 5-fluorouracil: characterization and cytotoxic activity evaluation. **Molecules**, v. 21, n. 12, p. 2–14, 2016.

DINARVAND, R. et al. Effect of microencapsulation on photo-stability of nifedipine. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 4, p. 239–244, 2006.

DUBERNET, C.; ROULAND, J. C.; BENOIT, J. P. Comparative study of two ethylcellulose forms (raw material and microspheres) carried out through thermal analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 64, n. 2–3, p. 99–107, 1990.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Background review for cyclodextrins used as excipients**. London: European Medicines Agency, 2017. Disponível em: <www.ema.europa.eu/contact>. Acesso em: 30 nov. 2018.

FARH, A. General aspects of dosage forms: stability and stabilization. In: FARH, A. (Ed.). **Voigt´s Pharmaceutical Technology**. 12th. ed. New York: John Wiley and Sons, 2018. p. 681–706.

FATNASSI, M. et al. Optimization of spray-dried hyaluronic acid microspheres to formulate drug-loaded bone substitute materials. **Powder Technology**, v. 255, p. 44–51, 2014.

FENG, T. et al. Preparation and structural characterization of different amylose-flavor molecular inclusion complexes. **Starch**, v. 70, n. 1–2, ID. 1700101, 2018.

FENG, X. et al. The effects of polymer carrier, hot melt extrusion process and

downstream processing parameters on the moisture sorption properties of amorphous solid dispersions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 5, p. 692–704, 2016.

FORMARIZ, T. P. et al. Relationship between structural features and in vitro release of doxorubicin from biocompatible anionic microemulsion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, n. 1, p. 28–35, 2007.

FOURMENTIN, S. et al. Reduction of the volatility of volatile organic compounds with cyclodextrins: application to their capture. **Annales Pharmaceutiques Francaises**, v. 59, n. 6, p. 369–373, 2001.

FOX, M. A. Photoinduced electron transfer in arranged media. In: MATTAY, J. (Ed.). **Photoinduced Electron Transfer III. Topics in Current Chemistry**. Berlin: Springer, Berlin, Heidelberg, v. 159, 1991, doi:10.1007/3-540-53257-9_2.

FREIBERG, S.; ZHU, X. X. Polymer microspheres for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 282, n. 1–2, p. 1–18, 2004.

FREITAS, S.; MERKLE, H. P.; GANDER, B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. **Journal of Controlled Release**, v. 102, n. 2, p. 313–332, 2005.

FREUDENBERG, K.; CRAMER, F.; PLIENINGER, H. A. G. **Verfahren zur Herstellung von Einschlussverbindungen physiologisch wirksamer organischer Verbindungen.** Germany, 26 ago. 1951. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/DE895769C/de>. Acesso em: 30 nov. 2018

GARCÍA, A. et al. Modified β-cyclodextrin inclusion complex to improve the physicochemical properties of albendazole. Complete *in vitro* evaluation and characterization. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. 3–10, 2014.

GEORGE, S.; VASUDEVAN, D. Studies on the preparation, characterization, and solubility of 2-HP-β-cyclodextrin-meclizine HCl inclusion complexes. **Journal of Young Pharmacists**, v. 4, n. 4, p. 220–227, 2012.

GHARIB, R. et al. Liposomes incorporating cyclodextrin–drug inclusion complexes: Current state of knowledge. **Carbohydrate Polymers**, v. 129, p. 175–186, 2015, doi:10.1016/j.carbpol.2015.04.048.

GHARIB, R. et al. Drug-in-cyclodextrin-in-liposomes as a carrier system for volatile essential oil components: application to anethole. **Food Chemistry**, v. 218, p. 365–371, 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.110.

GHOSH, A.; BISWAS, S.; GHOSH, T. Preparation and evaluation of silymarin β-cyclodextrin molecular inclusion complexes. **Journal of Young Pharmacists**, v. 3, n. 3, p. 205–210, 2011.

GIRI, T. K. Alginate containing nanoarchitectonics for improved cancer therapy. In: HOLBAN, A. M.; GRUMEZESCU, A. (Eds.). **Nanoarchitectonics for Smart Delivery and Drug Targeting**. Oxford: William Andrew Publishing, 2016. p. 565–588.

GIROTRA, P.; SINGH, S. K.; NAGPAL, K. Supercritical fluid technology: a promising approach in pharmaceutical research. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 18, n. 1, p. 22–38, 2013.

GIULIANI, A. et al. Molecular structure and vibrational analysis of 2-vinyl furan. **Chemical Physics Letters**, v. 379, n. 5–6, p. 406–411, 2003.

GLASS, B. D. et al. Influence of cyclodextrins on the photostability of selected drug molecules in solution and the solid-state. **International Journal of Photoenergy**, v. 3, n. 4, p. 205–211, 2001.

GOGNA, D. et al. Microsphere based improved sunscreen formulation of ethylhexyl

methoxycinnamate. **Current Drug Delivery**, v. 4, n. 2, p. 153–159, 2007.

GONZÁLEZ-BEDIA, M. et al. **Estudio de compatibilidad del 2-(2-nitrovinil)furano (G-0) con polímeros y ciclodextrinas**. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD CUBANA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, 10. **Anais**...La Habana, Cuba, 2008. Resumo. Disponível em: <https://www.academia.edu/3583739/X_CONGRESO_DE_LA_SOCIEDAD_CUBANA_DE_CIENCIAS_FARMACÉUTICAS>. Acesso em: 30 nov. 2018

GONZALEZ BORROTO, J. I. et al. The mutagenic potential of the furylethylene derivative 2-furyl-1-nitroethene in the mouse bone marrow micronucleus test. **Toxicological Sciences**, v. 72, n. 2, p. 359–362, 2003.

GONZÁLEZ BORROTO, J. I. et al. Comparative genotoxic evaluation of 2-furylethylenes and 5-nitrofurans by using the comet assay in TK6 cells. **Mutagenesis**, v. 20, n. 3, p. 193–197, 2005.

GONZÁLEZ BORROTO, J. I.; CREUS, A.; MARCOS, R. Genotoxic evaluation of the furylethylene derivative 2-furyl-1-nitroethene in cultured human lymphocytes. **Mutation Research**, v. 497, n. 1–2, p. 177–184, 2001.

GOTTLIEB, H. E.; KOTLYAR, V.; NUDELMAN, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 62, n. 21, p. 7512–7515, 1997.

GOULD, S.; SCOTT, R. C. 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD): A toxicology review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 10, p. 1451–1459, 2005.

GUERRA-PONCE, W. L. et al. In vitro evaluation of sustained released matrix tablets containing ibuprofen: a model poorly water-soluble drug. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 4, p. 751–759, 2016.

GUIGNON, B.; DUQUENOY, A.; DUMOULIN, E. D. Fluid bed encapsulation of

particles: principles and practice. **Drying Technology**, v. 20, n. 2, p. 419–447, 2002.

GUPTA, J. et al. Emulsion solvent diffusion evaporation technique: formulation design optimization and investigation of aceclofenac loaded ethyl cellulose microspheres. **International Journal of Drug Development and Research**, v. 5, n. 4, p. 336–349, 2013.

HANUMEGOWDA, U.; WU, Y.; ADAMS, S. Potential impact of cyclodextrin-containing formulations in toxicity evaluation of novel compounds in early drug discovery. **Journal of Pharmaceutics & Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 1–5, 2014.

HAYASHIDA, K. et al. Preparation and evaluation of cyclodextrin polypseudorotaxane with pegylated liposome as a sustained release drug carrier. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 10, p. 2756–2764, 2014, doi: 10.3762/bjoc.10.292.

HERNÁNDEZ, O. et al. El número y posición de los átomos de bromo en compuestos derivados del 2-furiletileno afectan la citotoxicidad e inducen resistencia en células de mamíferos. **Electronic Journal of Biomedicine**, v. 3, p. 44–52, 2011.

HERNÁNDEZ, R. M. et al. Microcapsules and microcarriers for *in situ* cell delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 7–8, p. 711–730, 2010.

HIDAKA, S. et al. Effect of beta-cyclodextrin on the degradation rate of amoxicillin in acidic solution. **Journal of the Pharmaceutical Society of Japan**, v. 130, n. 6, p. 889–893, 2010.

HIGASHI, K. et al. Structural Evaluation of Crystalline Ternary γ-Cyclodextrin Complex. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 1, p. 325–333, 2011.

HILL, L. E.; GOMES, C.; TAYLOR, T. M. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol,

cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 86–93, 2013.

HODYNA, D. et al. Efficient antimicrobial activity and reduced toxicity of 1-dodecyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ionic liquid/β-cyclodextrin complex. **Chemical Engineering Journal**, v. 284, p. 1136–1145, 2016, doi: 10.1016/j.cej.2015.09.041.

HONG, J.; SHAH, J. C.; MCGONAGLE, M. D. Effect of cyclodextrin derivation and amorphous state of complex on accelerated degradation of ziprasidone. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 7, p. 2703–2716, 2011.

HOSSEINI, S. G.; ESLAMI, A. The exploration of the influence of microencapsulation processing parameters on the stabilization of ammonium azide particles. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 126, n. 2, p. 455–466, 2016.

HYPPÖLÄ, R.; HUSSON, I.; SUNDHOLM, F. Evaluation of physical properties of plasticized ethyl cellulose films cast from ethanol solution Part I. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 133, n. 1–2, p. 161–170, 1996.

ICH EXPERT WORKING GROUP. **Guidance for Industry Q1B Photostability Testing of New Drug Substances and Products.** US Department of Health and Human Services. Geneva, Switzerland: ICH, 1996. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>. Acesso em: 3 dez. 2018

ICH EXPERT WORKING GROUP. **ICH Harmonised Tripartite Guideline. Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2).** US Department of Health and Human Services. Geneva, Switzerland: ICH, 2003. Disponível em: <https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/

Q1A_R2/Step4/Q1A_R2__Guideline.pdf>. Acesso em: 3 dez. 2018

IJAZ, M. et al. Thiolated cyclodextrin: development of a mucoadhesive vaginal delivery system for acyclovir. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 5, p. 1714–1720, 2016.

INOUE, Y. et al. Stabilizing effect of β-cyclodextrin on Limaprost, a PGE1 derivative, in Limaprost alfadex tablets (Opalmon®) in highly humid conditions. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 62, n. 8, p. 786–792, 2014.

IOELE, G. et al. The difficulties for a photolabile drug in topical formulations: The case of diclofenac. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 465, n. 1–2, p. 284–290, 2014.

JAEGER, A. et al. Oxidative stress-induced cytotoxic and genotoxic effects of nano-sized titanium dioxide particles in human HaCaT keratinocytes. **Toxicology**, v. 296, n. 1–3, p. 27–36, 2012.

JAMEKHORSHID, A.; SADRAMELI, S. M.; FARID, M. A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 31, p. 531–542, 2014, doi: 10.1016/j.rser.2013.12.033.

JIMÉNEZ, M. .; MIRANDA, M. A.; TORMOS, R. Photochemistry of naproxen in the presence of β-cyclodextrin. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 104, n. 1–3, p. 119–121, 1997.

JONES, T. . et al. Cyclodextrins in the pharmaceutical sciences. Part I: Preparation, structure and properties of cyclodextrins and cyclodextrin inclusion compounds. **Acta Pharmaceutica Technologica**, v. 30, n. 3, p. 213–223, 1984.

JULLIAN, C. et al. Characterization, phase-solubility, and molecular modeling of inclusion complex of 5-nitroindazole derivative with cyclodextrins. **Bioorganic and**

**Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 9, p. 5078–5084, 2008.

JYOTHI, N. V. N. et al. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of Microencapsulation**, v. 27, n. 3, p. 187–197, 2010.

KATZ, D. F.; YUAN, A.; GAO, Y. Vaginal drug distribution modeling. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 92, p. 2–13, 2015, doi: 10.1016/j.addr.2015.04.017.

KFOURY, M. et al. Complexation of estragole as pure compound and as main component of basil and tarragon essential oils with cyclodextrins. **Carbohydrate Polymers**, v. 118, p. 156–164, 2015, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.10.073.

KHAN, S. A. et al. Study of nimesulide release from ethylcellulose microparticles and drug-polymer compatibility analysis. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 4, p. 554–561, 2010.

KHOR, C. M. et al. Hot-melt extrusion microencapsulation of quercetin for taste-masking. **Journal of Microencapsulation**, v. 34, n. 1, p. 29–37, 2017.

KHUDHAIR, K. T.; AL-KHEDAIRY, E. B. H. A study on some variables affecting the preparation of ethyl cellulose based floating microspheres of lafutidine. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 41, n. 2, p. 281–289, 2016.

KOKATE, A.; LI, X.; JASTI, B. Effect of drug lipophilicity and ionization on permeability across the buccal mucosa: a technical note. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, n. 2, p. 501–504, 2008.

KOZMINA, O. P. On the mechanism of thermo-oxidative degradation of cellulose ethers. **Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia**, v. 16, n. 7, p. 4225–4240, 1967.

KRAJIŠNIK, D.; ČALIJA, B.; CEKIĆ, N. Polymeric microparticles and inorganic

micro/nanoparticulate drug carriers: an overview and pharmaceutical applications. In: ČALIJA, B. (Ed.). **Microsized and nanosized carriers for nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Formulation challenges and potential benefits**. London: Academic Press, 2017. p. 39–42.

KUMAR, J. R.; MURALIDHARAN, S.; PARASURAMAN, S. *In vitro* and *in vivo* evaluation of microspheres loaded topical gel delivery system of ketoconazole in male rats against *Candida glabrata*. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 6, n. 11, p. 376–381, 2014.

LACH, J. L.; COHEN, J. Interaction of pharmaceuticals with Schardinger dextrins II: interaction with selected compounds. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 2, p. 137–142, 1963.

LAI, H. L.; PITT, K.; CRAIG, D. Q. M. Characterisation of the thermal properties of ethylcellulose using differential scanning and quasi-isothermal calorimetric approaches. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 386, n. 1–2, p. 178–184, 2010.

LI, G. et al. Elemental impurities in pharmaceutical excipients. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 12, p. 4197–4206, 2015.

LI, S. et al. Studies on the inclusion complexes of daidzein with β-cyclodextrin and derivatives. **Molecules**, v. 22, n. 12, p. 1–11, 2017.

LI, S.; PURDY, W. C. Cyclodextrins and their applications in analytical chemistry. **Chemical Reviews**, v. 92, n. 6, p. 1457–1470, 1992.

LI, Y. et al. Hydroxypropyl-β-cyclodextrin for delivery of baicalin via inclusion complexation by supercritical fluid encapsulation. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1169–1183, 2018.

LIU, R. et al. Preparation of compound ornidazole/pefloxacin PLGA microspheres

and evaluation of the pharmacological effect on chronic periodontitis. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 9, n. 11, p. 20919–20929, 2016.

LOFTSSON, T. et al. Cyclodextrins in drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 2, n. 2, p. 335–351, 2005.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 10, p. 1017–1025, 1996.

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

LOFTSSON, T.; DUCHENE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1–2, p. 1–11, 2007.

LOKHANDE, A. B. et al. Preparation and characterization of repaglinide loaded ethylcellulose nanoparticles by solvent diffusion technique using high pressure homogenizer. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 5, p. 421–426, 2013.

LÓPEZ-GARCÍA, J. et al. HaCaT keratinocytes response on antimicrobial atelocollagen substrates: extent of cytotoxicity, cell viability and proliferation. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 5, n. 2, p. 43–57, 2014.

LÓPEZ, R. **Evaluación del uso profiláctico y terapéutico del 2-(2-nitrovinil) furano (G-0) en aves White Leghorn en condiciones de producción**. 2004 Disertación (Master en Parasitología) Instituto de Medicina Tropical “PEDRO KOURI¨, La Habana, Cuba, 2014.

LU, Y.; PARK, K. Microencapsulation: methods and pharmaceutical applications. In:

SWARBRICK, J (Ed.) . **Encyclopedia of Pharmaceutical Sciences and Technology.** 4th. ed. New York: Informa Healthcare, 2012. p. 1-13.

LUKE, D. R. et al. Review of the basic and clinical pharmacology of sulfobutylether-β-cydodextrin (SBECD). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 8, p. 3291–3301, 2010.

LUTKA, A. Effect of cyclodextrin complexation on the photostability of promazine in aqueous solution. **Die Pharmazie**, v. 54, n. 7, p. 549–550, 1999.

LUTKA, A.; KOZIARA, J. Interaction of trimeprazine with cyclodextrins in aqueous solution. **Acta poloniae pharmaceutica**, v. 57, n. 5, p. 369–374, 2000.

LYRA, M. A. M. et al. Study of benznidazole-cyclodextrin inclusion complexes, cytotoxicity and trypanocidal activity. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 73, n. 1–4, p. 397–404, 2012.

MACHADO, A.; DAS NEVES, J. Tissue-based *in vitro* and *ex-vivo* models for vaginal permeability studies. In: SARMENTO, B. (Ed.). **Concepts and Models for Drug Permeability Studies**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2016. p. 273–308.

MACHADO, M.P.; SILVEIRA, E.A.P. Estandarización del control de la calidad microbiológica de productos vinilfuránicos. **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET**, v. VI, n. 10, p. 1-9, 2005.

MAGNANI, C. et al. *In vitro* safety evaluation of caffeic acid. **Athens Journal of Health**, v. 1, n. 3, p. 181–188, 2014.

MALIK, K.; ARORA, G.; SINGH, I. Taste masked microspheres of ofloxacin: formulation and evaluation of orodispersible tablets. **Scientia Pharmaceutica**, v. 79, n. 3, p. 653–672, 2011.

MALLICK, S.; MONDAL, A.; SANNIGRAHI, S. Kinetic measurements of the hydrolytic degradation of cefixime: effect of Captisol complexation and water-soluble

polymers. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 60, n. 7, p. 833–841, 2008.

MARQUES, M. R. C.; LOEBENBERG, R.; ALMUKAINZI, M. Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing. **Dissolution Technologies**, v. 18, n. 3, p. 15–28, 2011.

MATEOVIĆ-ROJNIK, T. et al. Effect of preparation temperature in solvent evaporation process on Eudragit RS microsphere properties. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 1, p. 143–146, 2005.

MAXWELL, R.; CHICKOS, J. An examination of the thermodynamics of fusion, vaporization, and sublimation of ibuprofen and naproxen by correlation gas chromatography. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 2, p. 805–814, 2012.

MAYA, J. D. et al. Chagas disease: present status of pathogenic mechanisms and chemotherapy. **Biological Research**, v. 43, n. 3, p. 323–331, 2010.

MAYUR, K. et al. Ethyl cellulose based microsponge delivery system for anti-fungal vaginal gels of tioconazole. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**, v. 3, n. 6, p. 14–20, 2013.

MENNINI, N. et al. Analysis of physicochemical properties of ternary systems of oxaprozin with randomly methylated-ß-cyclodextrin and l -arginine aimed to improve the drug solubility. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 129, p. 350–358, 2016, doi: 10.1016/j.jpba.2016.07.024.

MIELCAREK, J. Photochemical stability of the inclusion complexes formed by modified 1,4-dihydropyridine derivatives with β-cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, n. 6, p. 681–686, 1997.

MIELCAREK, J.; SADAJ, A. Inclusion compounds of nifedipine and other 1,4-dihydropyridine derivatives with β-cyclodextrins II. Photochemical stability of the

inclusion compounds formed by nifedipine with β-cyclodextrins. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 51, p. 21–24, 1994.

MIZUSAKO, H. et al. Active drug targeting of a folate-based cyclodextrin–doxorubicin conjugate and the cytotoxic effect on drug-resistant mammary tumor cells *in vitro*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 9, p. 2934–2940, 2015.

MONDJINOU, Y. A. et al. Impact of mixed β-cyclodextrin ratios on pluronic rotaxanation efficiency and product solubility. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 7, n. 43, p. 23831–23836, 2015.

MONTEIRO, J. B. et al. Enzymatic hydrolysis of diloxanide furoate in the presence of beta-cyclodextrin and its methylated derivatives. **International journal of pharmaceutics**, v. 267, n. 1–2, p. 93–100, 2003.

MOORE, J. ; FLANNER, H. H. Mathematical comparison of curves with an emphasis on in vitro dissolution profiles. **Pharmaceutical Technology**, v. 20, n. 6, p. 64–74, 1996.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

MOYA, L.; GÓMEZ, L. Filtration method to recovery of the G-0 active principle from sugar cane byproduct. **Centro Azúcar**, v. 29, n. 3, p. 35–40, 2000.

MURTAZA, G. Ethylcellulose microparticles: A review. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 69, n. 1, p. 11–22, 2012.

MYLES, A. M. et al. Analysis and modelling of the structures of beta-cyclodextrin complexes. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1199, n. 1, p. 27–36, 1994.

NAGASE, Y. et al. Inhibitory effect of sulfobutyl ether β-cyclodextrin on DY-9760e-

induced cellular damage: *in vitro* and *in vivo* studies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, n. 12, p. 2466–2474, 2003.

NAIK, D. R.; RAVAL, J. P. A comparative study of acyclovir microencapsulation by novel solvent evaporation-matrix erosion and spray drying techniques. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology**, v. 5, n. 1, p. 1627–1637, 2012.

NEVES, L. O. et al. A randomized clinical trial comparing meglumine antimoniate, pentamidine and amphotericin B for the treatment of cutaneous leishmaniasis by Leishmania guyanensis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 1092–1101, 2011.

NICOLAZZI, C. et al. In vitro antiviral efficacy of the ganciclovir complexed with beta-cyclodextrin on human cytomegalovirus clinical strains. **Antiviral Research**, v. 54, n. 2, p. 121–127, 2002.

NIEDDU, M. et al. Improvement of thymol properties by complexation with cyclodextrins: *In vitro* and *in vivo* studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 393–399, 2014, doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.084.

OKAMATSU, A. et al. Folate-appended β-cyclodextrin as a promising tumor targeting carrier for antitumor drugs *in vitro* and *in vivo*. **Bioconjugate Chemistry**, v. 24, n. 4, p. 724–733, 2013.

OKAWARA, M. et al. Effect of liquid crystals with cyclodextrin on the bioavailability of a poorly water-soluble compound, diosgenin, after its oral administration to rats. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 472, n. 1–2, p. 257–261, 2014.

OLAZÁBAL-MANSO, E. et al. **Method of obtaining 2-(2-nitrovinyl)-furan and the use thereof as a coccidiostatic.** United States, 24 set. 2002. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US20050043551A1/en>. Acesso em: 30 nov.

2018

ORFANOU, F. et al. Photostabilization of oxolinic acid in hydroxypropyl-β-cyclodextrins; implications for the effect of molecular self-assembly phenomena. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 64, n. 3–4, p. 289–297, 2009.

ORFE-SARDIÑAS, Y. **Estudio de compatibilidad G0/excipientes mediante métodos isotérmicos y no isotérmicos**. 2014. Trabajo de Diploma (Licenciado en Ciencias Farmacéuticas), Facultad de Química y Farmacia, Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas, Cuba, 2014.

PAN, H. et al. A superior preparation method for daidzein-hydroxypropyl-β-cyclodextrin complexes with improved solubility and dissolution: supercritical fluid process. **Acta Pharmaceutica**, v. 67, n. 1, p. 85–97, 2017.

PANWAR, M. ; TANWAR, Y. Development and characterization of sustain release gastro retentive floating microsphere of diltiazem hydrochloride for the treatment of hypertension. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 9, n. 2, p. 107–112, 2015.

PARIDA, P. et al. Development and characterization of ethylcellulose based microsphere for sustained release of nifedipine. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 5, p. 341–344, 2016.

PATEL, H.; PATEL, H. R.; PATEL, G. Ionotropic gelation technique for microencapsulation of antihypertensive drug. **WebMed Central Pharmaceutical Sciences**, ID. WMC00922, p. 1–10, 2010, doi: 10.1201/b13336-2.

PATIL, J. S. et al. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: the novel techniques to design hydrogel particulate sustained modulated drug delivery system: a review. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 241–248, 2010.

PAULAI, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1013–1020, 2009.

PAVLOVSKA, G.; TANEVSKA, S. Influence of temperature and humidity on the degradation process of ascorbic acid in vitamin C chewable tablets. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 1971–1977, 2013.

PECORA, T. M. G. et al. Preparation, characterization and photostability assessment of curcumin microencapsulated within methacrylic copolymers. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 33, p. 88–97, 2016.

PEREVA, S. et al. Efficiency of “cyclodextrin-ibuprofen” inclusion complex formation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 35, p. 34–39, 2016, doi: 10.1016/j.jddst.2016.04.006.

PERIGNON, C. et al. Microencapsulation by interfacial polymerisation: membrane formation and structure. **Journal of Microencapsulation**, v. 32, n. 1, p. 1–15, 2015.

PESSINA, A. et al. High sensitivity of human epidermal keratinocytes (HaCaT) to topoisomerase inhibitors. **Cell Proliferation**, v. 34, n. 4, p. 243–252, 2001.

PHUNPEE, S. et al. Encapsulation of lemongrass oil with cyclodextrins by spray drying and its controlled release characteristics. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 81, n. 4, p. 718–723, 2017.

PIEL, G. et al. Study of the influence of γ-cyclodextrin on the molsidomine photostability. (J. Szejtli, L. Szente, Eds.). **Proceedings of the Eighth International Symposium on Cyclodextrins**. Budapest: Springer Science & Business Media, 1996, p. 297-300. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-94-011-5448-2_64>. Acesso em: 5 dez. 2018

PITHA, J.; PITHA, J. Amorphous water-soluble derivatives of cyclodextrins: nontoxic

dissolution enhancing excipients. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, n. 9, p. 987–990, 1985.

POLYAKOV, N. E. et al. β-Ionone cyclodextrins inclusion complexes: 1H NMR study and photolysis. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 161, n. 2–3, p. 261–267, 2004.

POMPONIO, R. et al. Photostability studies on nicardipine–cyclodextrin complexes by capillary electrophoresis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 35, n. 2, p. 267–275, 2004.

POPIELEC, A. et al. Effect of cyclodextrins on the degradation rate of benzylpenicillin. **Die Pharmazie**, v. 71, n. 2, p. 68–75, 2016.

POPIELEC, A.; LOFTSSON, T. Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, n. 2, p. 532–542, 2017.

POURMOKHTAR, M.; JACOBSON, G. A. Enhanced stability of sulfamethoxazole and trimethoprim against oxidation using hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Die Pharmazie**, v. 60, n. 11, p. 837–839, 2005.

PRAKASH, B. et al. Spray-dried floating microparticles of ranitidine HCl by factorial design for oral delivery. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 11, p. 240–248, 2013.

PRASERTMANAKIT, S. et al. Ethyl cellulose microcapsules for protecting and controlled release of folic acid. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 4, p. 1104–1112, 2009.

PREZOTTI, F. G.; CURY, B. S. F.; EVANGELISTA, R. C. Mucoadhesive beads of gellan gum/pectin intended to controlled delivery of drugs. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 286–295, 2014, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.07.021.

PUSKÁS, I. et al. Sulfobutylether-cyclodextrins: Structure, Degree of Substitution

and Functional Performance. In: RAMIREZ, F. (Ed.). **Cyclodextrins: Synthesis, Chemical Applications and Role in Drug Delivery**. New York: Nova Sciences Publishers, 2015. p. 293–320.

PUSKÁS, I.; MALANGA, M. Benefits and Limitations of Using Cyclodextrins in Drug Formulations. BIT'S 7TH ANNUAL SYMPOSIUM OF DRUG DELIVERY SYSTEMS (SDDS-2017). **Anais**...Prague: 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/318529125>. Acesso em: 5 dez. 2018

QUIROZ-CASTAÑEDA, R. E.; DANTÁN-GONZÁLEZ, E. Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. **BioMed Research International**, v. 2015, ID. 430610, p. 1–11, 2015, doi: 10.1155/2015/430610.

RAGNO, G. et al. Design and monitoring of photostability systems for amlodipine dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 265, n. 1–2, p. 125–32, 2003.

RAJEWSKI, R. A.; STELLA, V. J. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. *In vivo* drug delivery. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 11, p. 1142–1169, 1996.

RAJPUT, S. B.; KARUPPAYIL, S. M. Small molecules inhibit growth, viability and ergosterol biosynthesis in Candida albicans. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 1-6, 2013.

RAO, B. N.; TURRO, N. J.; RAMAMURTHY, V. Modification of chemical reactivity via inclusion complex formation: photochemistry of dibenzyl ketones and benzyl phenylacetates. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 460–464, 1986.

RAZA, A. et al. Preparation, characterization, and in vitro anti-inflammatory evaluation of novel water soluble kamebakaurin/hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex. **Journal of Molecular Structure**, v. 1130, p. 319–326, 2017, doi: 10.1016/j.molstruc.2016.10.059.

REDDY, G. D. et al. Modification of photochemistry by cyclodextrin complexation. Competitive Norrish type I and type II reactions of benzoin alkyl ethers. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 51, n. 16, p. 3085–3093, 1986.

REDDY, G. D.; RAMAMURTHY, V. Modification of photochemical reactivity by cyclodextrin complexation: alteration of photochemical behavior via restriction of translational and rotational motions. Alkyldeoxybenzoins. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 52, n. 25, p. 5521–5528, 1987.

REIS, T. A. **Desenvolvimento de uma formulação tópica contendo fluconazol nanoencapsulado para o tratamento de candidíase vulvovaginal**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, 2014.

REN, B. et al. HP-β-cyclodextrin as an inhibitor of amyloid-β aggregation and toxicity. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 30, p. 20476–20485, 2016.

REPKA, M. A. et al. Applications of hot-melt extrusion for drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 5, n. 12, p. 1357–1376, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI document M27-A3). **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Third Edition**. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2008. Disponível em: <www.clsi.org.>. Acesso em: 30 nov. 2018

RODRÍGUEZ-NEGRÍN, Z. Attainment of a rational and harmonic technology for the production of bio-active compounds from sugar cane residuals. Part II: Optimization of purification process. **Centro Azúcar**, v. 30, n. 1, p. 30–34, 2003.

RODRÍGUEZ, M. **Validación de los métodos de determinación de pureza de**

**los princípios activos G-1, G-0 y UC-244**. 1996. Trabajo de Diploma (Licenciado en Ciencias Farmacéuticas), Universidad Central de Las Villas, Cuba, 1996.

RUDRANGI, S. R. S. et al. Solid-state flurbiprofen and methyl-β-cyclodextrin inclusion complexes prepared using a single-step, organic solvent-free supercritical fluid process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 104, p. 164–170, 2016, doi: 10.1016/j.ejpb.2016.04.024.

RUZ, V. **Estudio de preformulación del 2-(2-nitrovinil)furano (G-0) con fines farmacéuticos**. 2006. Disertación (Master en Tecnología y Control de Medicamentos) Universidad de La Habana, Cuba, 2006.

RUZ, V. et al. Characterization and molecular modeling of the inclusion complexes of 2-(2-nitrovinyl) furan (G-0) with cyclodextrines. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 439, n. 1–2, p. 275–285, 2012.

RUZ, V. et al. Characterization of the sublimation and vapor pressure of 2-(2-nitrovinyl) furan (G-0) using thermogravimetric analysis: effects of complexation with cyclodextrins. **Molecules**, v. 20, n. 8, p. 15175–15191, 2015.

SAENGER, W. Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 19, n. 5, p. 344–362, 1980.

SCALIA, S.; VILLANI, S.; CASOLARI, A. Inclusion complexation of the sunscreen agent 2-ethylhexyl-p-dimethylaminobenzoate with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: effect on photostability. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, n. 12, p. 1367–1374, 1999.

SEMYONOV, D. et al. Air-suspension fluidized-bed microencapsulation of probiotics. **Drying Technology**, v. 30, n. 16, p. 1918–1930, 2012.

SERRA, M. et al. Microencapsulation technology: a powerful tool for integrating

expansion and cryopreservation of human embryonic stem cells. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, p. e23212, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0023212.

SHAH, M. et al. Molecular inclusion complexes of β-cyclodextrin derivatives enhance aqueous solubility and cellular internalization of paclitaxel: preformulation and in vitro assessments. **Journal of Pharmaceutics & Pharmacology**, v. 2, n. 2, p. 1-8, 2015.

SHARMA, A.; JAIN, C. Carvedilol–β-cyclodextrin system: preparation, characterization and in vitro evaluation. **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 1, p. 51–58, 2013.

SHASHIKANT, D.; PATIL, J. Design, evaluation and characterization of spray dried cyclodextrin inclusion complexes of glimepiride. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 8, p. 1029–1046, 2016.

SHIMOKAWA, K. et al. Physicochemical properties and controlled drug release of microcapsules prepared by simple coacervation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 104, p. 1–4, 2013, doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.11.036.

SHITYAKOV, S. et al. Sevoflurane-sulfobutylether-β-cyclodextrin complex: preparation, characterization, cellular toxicity, molecular modeling and blood-brain barrier transport studies. **Molecules**, v. 20, n. 6, p. 10264–10279, 2015.

SICARD, P.; SANIEZ, M-H. Biosynthesis of cycloglycosyltransferase and obtention of enzymatic reaction products. In: DUCHÊNE, D. (Ed.). **Cyclodextrins and Their Industrial Uses**. Paris: Editions de Santé, 1987. p. 77–103.

SIFONTES-RODRÍGUEZ, S. et al. The efficacy of 2-nitrovinylfuran derivatives against Leishmania in vitro and in vivo. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 2, p. 166–173, 2015.

SIFONTES-RODRÍGUEZ, S. **Descubrimiento racional de compuestos**

**químicos para el tratamiento de la leishmaniosis y la enfermedad de Chagas**. 2017. Tesis [Doctorado], Departamento de Parasitología, Universidad Complutense de Madrid, España, 2017.

SILVA-JARDIM, I.; THIEMANN, O. H.; ANIBAL, F. F. Leishmaniasis and Chagas Disease Chemotherapy: a Critical Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 10, p. 1810–1823, 2014.

SILVA, C. V. N. S. et al. Molecular modeling and cytotoxicity of diffractaic acid: HP-β-CD inclusion complex encapsulated in microspheres. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 494–503, 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.073.

SINGHVI, G.; SINGH, M. Review: *in-vitro* drug release characterization models. **International Journal of Pharmaceutical Studies and Research** , v. II, n. I, p. 77–84, 2011.

SITKIN, A.; KLIMENKO, V. The chemistry and technology of furan compounds. **Izd. Krasnodar, Politech. Inst.**, v. 97, p. 78–92, 1979.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J. **Practical HPLC method development**. 2nd. ed. New York: Wiley-Interscience, 1997.

SNYDER, R. D.; GREEN, J. W. A review of the genotoxicity of marketed pharmaceuticals. **Mutation Research**, v. 488, n. 2, p. 151–169, 2001.

SOARES-SOBRINHO, J. L. et al. Benznidazole drug delivery by binary and multicomponent inclusion complexes using cyclodextrins and polymers. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 2, p. 323–330, 2012.

SONG, A. Y. et al. Development of anti-insect microencapsulated polypropylene films using a large scale film coating system. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 4, p. 1011–1016, 2018.

SONG, B. et al. Hyaluronic acid-based biocompatible supramolecular assembly for sustained release of antiretroviral drug. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 9, p. 2760–2769, 2016.

SOPEÑA, F. et al. Ethylcellulose formulations for controlled release of the herbicide alachlor in a sandy soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 20, p. 8200–8205, 2007.

SORTINO, S. et al. The photochemistry of flutamide and its inclusion complex with beta-cyclodextrin. Dramatic effect of the microenvironment on the nature and on the efficiency of the photodegradation pathways. **Photochemistry and Photobiology**, v. 73, n. 1, p. 6–13, 2001.

SPAMPINATO, C.; LEONARDI, D. Candida infections, causes, targets, and resistance mechanisms: traditional and alternative antifungal agents. **BioMed Research International**, v. 2013, ID. 204237, 2013, doi: 10.1155/2013/204237.

SUR, D.; PURKAYASTHA, P.; CHATTOPADHYAY, N. Kinetics of the photoconversion of diphenylamine in β-cyclodextrin environments. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 134, n. 1–2, p. 17–21, 2000.

SUZUKI, R. et al. Properties of tropolone/γ-cyclodextrin complexes prepared using different methods. **World Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 9, p. 250–261, 2017.

SZEJTLI, J. Dimethyl-β-cyclodextrin as parenteral drug carrier. **Journal of Inclusion Phenomena**, v. 1, n. 2, p. 135–150, 1983.

SZEJTLI, J. Medicinal applications of cyclodextrins. **Medicinal Research Reviews**, v. 14, n. 3, p. 353–386, 1994.

SZEJTLI, J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, p. 1743–1754, 1998.

SZENTE, L. Stable, controlled-release organophosphorous pesticides entrapped in β-cyclodextrin. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 51, n. 3, p. 957–963, 1998.

SZENTE, L. et al. Supramolecular proteoglycan aggregate mimics: cyclodextrin-assisted biodegradable polymer assemblies for electrostatic-driven drug delivery. **Chemistry - An Asian Journal**, v. 9, n. 5, p. 1365–1372, 2014.

SZENTE, L. et al. Cyclodextrins: assessing the impact of cavity size, occupancy, and substitutions on citotoxicity and cholesterol homeostasis. **Molecules**, v. 23, n.5, p. 2-15, 2018, doi: 10.3390/molecules23051228.

SZENTE, L.; SZEJTLI, J. Cyclodextrin complex of a volatile insecticide (DDVP). **Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae**, v. 107, n. 3, p. 195–202, 1981.

TADANOBU, U. et al. Stoichiometry-dependent changes of solubility and photoreactivity of an antiulcer agent, 2′-carboxymethoxy-4,4′-bis(3-methyl-2-butenyloxy) chalcone, in cyclodextrin inclusion complexes. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 2, p. 81–87, 1993.

TANG, P. et al. Inclusion complexes of chlorzoxazone with β- and hydroxypropyl-β-cyclodextrin: Characterization, dissolution, and cytotoxicity. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, p. 297–305, 2015, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.05.055.

TAO, F. et al. Synthesis and characterization of β-cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 247–255, 2014.

TEIXEIRA, K. I. R. et al. Cyclodextrin modulates the cytotoxic effects of chlorhexidine on microrganisms and cells in vitro. **Drug Delivery**, v. 22, n. 3, p. 444–453, 2015.

TESHIMA, D. et al. Effects of cyclodextrins on degradations of emetine and cephaeline in aqueous solution. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, n. 6, p. 1591–1594, 1989.

THEERAKITTAYAKORN, K.; BUNPRASERT, T. Differentiation capacity of mouse L929 fibroblastic cell line compare with human dermal fibroblast. **International Journal of Medical and Health Sciences**, v. 5, n. 2, p. 51–54, 2011.

THOMA, K. Photodecomposition and stabilization of compounds in dosage forms. In: TONESSEN, H. (Ed.). **The Photostability of Drug and Drug Formulations**. London: Taylor & Francis, 1996. p. 111–140.

THONEMANN, B. et al. Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. **Dental Materials**, v. 18, n. 4, p. 318–323, 2002.

TIWARI, G.; TIWARI, R.; RAI, A. Cyclodextrins in delivery systems: applications. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 2, n. 2, p. 72–79, 2010.

TOMARO-DUCHESNEAU, C. et al. Microencapsulation for the therapeutic delivery of drugs, live mammalian and bacterial cells, and other biopharmaceutics: current status and future directions. **Journal of Pharmaceutics (Cairo)**, v. 2013, ID. 103527, p. 1–19, 2013, doi: 10.1155/2013/103527.

TOMONO, K. et al. Effect of β-cyclodextrin and its derivatives on the photostability of photosensitive drugs. **Yakuzaigaku**, v. 48, n. 4, p. 322–325, 1988.

TONNESEN, H. Formulation approaches for improving solubility and its impact on drug photostability. In: TONNESEN, H. (Ed.). **Photostability of Drugs and Drugs Formulations**. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2004. p. 351–366.

UEKAMA, K. et al. Improvement of some pharmaceutical properties of clofibrate by cyclodextrin complexation. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 58, n. 12, p. 338–

342, 1983.

UEKAMA, K. Pharmaceutical applications of methylated cyclodextrins. **Pharmacy International**, v. 6, p. 61–65, 1985.

UEKAMA, K.; HIRAYAMA, F.; IRIE, T. Cyclodextrin drug carrier systems. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, p. 2045–2076, 1998.

UPPALA, P. K. et al. Formulation and development of diltiazem HCl controlled released microcapsules by ionotropic gelation technique. **American Journal of Advanced Drug Delivery**, v. 1, n. 4, p. 394–412, 2013.

URIBARREN, T. **Enfermedad de Chagas**. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de Microbiología y Parasitología: Recursos em Parasitología. México, MX: UNAM, 2018. Disponível em: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/trypanosomosis.html>. Acesso em: 7 dez. 2018.

URQUIJO, A.G. Dermofural ointment (0,15 %) as antibacterial of local use in a burned patient. **Medicentro Electrónica**, v. 21, n. 3, p. 253-256, 2017.

VADHER, A. H. et al. Preparation and characterization of co-grinded mixtures of aceclofenac and neusilin US2 for dissolution enhancement of aceclofenac. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 2, p. 606–614, 2009.

VAN DER BIJL, P.; VAN EYK, A. D.; THOMPSON, I. O. Permeation of 17beta-estradiol through human vaginal and buccal mucosa. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 85, n. 4, p. 393–398, 1998.

VAN TONDER, A.; JOUBERT, A. M.; CROMARTY, A. Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. **BMC Research Notes**, v. 8, n. 47, p. 1–10, 2015.

VEREVKIN, S. P. Thermochemistry of nitro compounds. Experimental standard enthalpies of formation and improved group-additivity values. **Thermochimica Acta**, v. 307, n. 1, p. 17–25, 1997.

VILLIERS, M. A. Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique. **Comptes Rendus de l´Académie des Sciences**, v. 112, p. 536–538, 1891.

WAGH, P.; MUJUMDAR, A.; NAIK, J. B. Preparation and characterization of ketorolac tromethamine-loaded ethyl cellulose micro-/nanospheres using different techniques. **Particulate Science and Technology**, p. 1–11, 2018, doi: 10.1080/02726351.2017.1383330.

WALKER, H. M. **A preliminary study of the interaction of acidic and basic drugs using ethyl cellulose microspheres**. 2012. Dissertation (Master in Pharmaceutical Sciences with Industrial Pharmacy option) - University of Toledo, Ohio, USA, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Third WHO report on neglected tropical diseases**. Geneva: WHO, 2015. Disponível em: <www.who.int>. Acesso em: 7 dez. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Geneva: WHO: 2018. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)>. Acesso em: 7 dez. 2018.

WROBEL, K-H. et al. Histologische und ultrastrukturelle Untersuchungen am Vaginalepithel des Rindes. **Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C**, v. 15, n. 4, p. 303–328, 1986.

XU, Q.; BRICKHOUSE, M.; WANG, H. 2D NMR analysis of ethylcellulose. In: CHENG, H.; ENGLISH, A. (Eds.). **NMR Spectroscopy of polymers in solution**

**and in the solid state**. New York: American Chemical Society, 2003. p. 325–335.

YE, M.; KIM, S.; PARK, K. Issues in long-term protein delivery using biodegradable microparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 146, n. 2, p. 241–260, 2010.

YEQIANG, H. et al. Progress in the immobilization of β-cyclodextrin and their application in adsorption of environmental pollutants. **Chinese Journal of Organic Chemistry**, v. 36, n. 2, p. 248–257, 2016.

YOSHIDA, A. et al. Pharmaceutical evaluation of hydroxyalkyl ethers of β-cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 46, n. 3, p. 217–222, 1988.

YU, D. G. et al. Tablets with material gradients fabricated by three-dimensional printing. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 9, p. 2446–2456, 2007.

ZHANG, C. et al. Direct and real-time quantification of tenofovir release from pH-sensitive microparticles into simulated biological fluids using (1) H nuclear magnetic resonance. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 4, p. 1170–1177, 2014.

ZHANG, L. et al. Drug-in-cyclodextrin-in-liposomes: A novel drug delivery system for flurbiprofen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 492, n. 1–2, p. 40–45, 2015.

ZHENG, Y.; CHOW, A. H. L. Production and characterization of a spray-dried hydroxypropyl-β-cyclodextrin/quercetin complex. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 35, n. 6, p. 727–734, 2009.

ZHOU, D. . et al. Investigation of the anti-proliferative effect and the underlying mechanism of the crude extract of *Celastrus orbiculatus* on human HaCaT keratinocytes. **Journal of Undergraduate Life Sciences**, v. 5, n. 1, p. 54–58, 2011.

ZHOU, F.-L. et al. Preparation and characterization of polycaprolactone

microspheres by electrospraying. **Aerosol Science and Technology**, v. 50, n. 11, p. 1201–1215, 2016.

ZHU, L. et al. Encapsulation of menthol in beeswax by a supercritical fluid technique. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2010, ID. 608680, p. 1–7, 2010, doi: 10.1155/2010/608680.

# 6. Anexos

**Anexo 1.** Composição do Fluido Vaginal Simulado (SVF).

| **Composição (em água)** | **SVF 1 (g.L$^{-1}$)** | **SVF 2 (g.L$^{-1}$)** |
|---|---|---|
| Cloreto de sódio | 3,51 | 3,51 |
| Hidróxido de potassio | 1,40 | 1,40 |
| Hidróxido de cálcio | 0,222 | 0,222 |
| Albumina sérica bovina | 0,018 | 0,018 |
| Ácido láctico | 2,00 | 2,00 |
| Ácido acético | 1,00 | 1,00 |
| Glicerol | 0,16 | 0,16 |
| Ureia | 0,40 | 0,40 |
| Glicose | 5,00 | 5,00 |
| Mucina | - | 1,5 % (m/v) |
| **Propriedades** | | |
| pH | 4,5 | 4,5 |

**Anexo 2.** Equações referentes às cinéticas de liberação de fármaco avaliadas para a liberação de G-0 de micropartículas poliméricas com etilcelulose (SigmaPlot).

**Ordem zero**

f = y0 + a*x

**Primeira ordem**

f = 100*(1-exp(-k*t))

**Korsmeyer-Peppas**

f=k*t^n

**Higuchi**

f=k*sqrt(t)

**Weibull**

f=if(x<=x0-b*ln(2)^(1/c); y0; y0+a*(1-exp(-(abs(x-x0+b*ln(2)^(1/c))/b)^c)))