

MARIANA FONSECA

Sistemas supra-anfifílicos derivados de meglumina e ácido oleico: síntese, caracterização e potencial aplicação no âmbito farmacêutico

Tese apresentada ao instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro

Araraquara

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

F676s Fonseca, Mariana
Sistemas supra-anfifílicos derivados de meglumina e ácido oleico: síntese, caracterização e potencial aplicação no âmbito farmacêutico / Mariana Fonseca. – Araraquara : [s.n.], 2017
139 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Clóvis Augusto Ribeiro

1. Química supramolecular. 2. Cristais líquidos. 3. Colóides. 4. Ligação de hidrogênio. 5. Calorimetria.
I. Título.

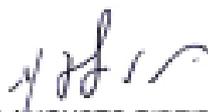
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Sistemas supra-anfílicos oleato-meglumina: síntese, caracterização e potencial aplicação em farmácia"

AUTORA: MARIANA FONSECA

ORIENTADOR: CLOVIS AUGUSTO RIBEIRO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. CLOVIS AUGUSTO RIBEIRO
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. ROSEMEIRE CRISTINA LINHARI RODRIGUES PIETRO
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara


Profa. Dra. LEILA APARECIDA CHIAVACCI
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara


Dra. PATRICIA BENTO DA SILVA
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara


Profa. Dra. ROSELENA FAES
Departamento de Ciências da Natureza, Matemática e Educação / Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR - Araras

Araraquara, 09 de outubro de 2017

DADOS CURRICULARES

MARIANA FONSECA

● Dados Pessoais

Nascimento: 02 de dezembro de 1988

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Itumbiara-GO

Filiação: Aparecida de Jesus Fonseca e José Divino Fonseca

Estado civil: Solteira

● Formação Acadêmica

2014 – 2015. Programa Especial de Formação Pedagógica de Docentes – Licenciatura em Química – Universidade de Franca, Araraquara-SP.

2011 – 2013. Mestrado em Química – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (IQ-UNESP/Araraquara). Bolsista Cnpq.

2007 – 2010. Bacharel em Farmácia – Universidade de Uberaba, Uberaba-MG. Bolsista ProUni.

● Atividades acadêmicas relevantes durante o período do Doutorado

Estágio no exterior (período sanduíche)

Universidade: Case Western Reserve University.

Local e ano: Cleveland-OH, USA; maio/2015 a maio/2016.

Trabalho: Development of a cyanate ester functional benzoxazine for protection against ultra-high energy intergalactic cosmic radiation.

Artigos acadêmicos

Ferreira, L.M.B; Kurokawa, S.S.S; Alonso, J.D; Cassimiro, D.L.; Souza, A.L.R; Fonseca, M; Sarmiento, V.H.V; Regasini, L.O; Ribeiro, C.A. Structural and thermal behavior of Meglumine-based supra-amphiphiles in bulk and assembled in water. **Langmuir**, v.32, p.11878-11887, 2016.

Cassimiro, D.L; Ferreira, L.M.B; Souza, A.L.R; Fonseca, M; Kurokawa, S.S.S; Alonso, J.D; Sarmiento, V.H.V; Ribeiro, C.A. On the influence of fatty acid chain unsaturation on supramolecular gelation of aminocarbohydrate-based supra-amphiphiles. **Langmuir**. *Submetido em agosto de 2017.*

Fonseca, M; Ferreira, L.M.B; Soares, R.A.M; Kobelnik, M; Fontanari, G.G; Crespi, M.S; Ribeiro, C.A. Ultrasound extraction of soursop oil (*Annona muricata* L.): chromatographic evaluation and thermal behavior study. **Journal of Thermal analysis and calorimetry**. *Submetido em setembro de 2017.a*

Fonseca, M; Torres, M.G; Kobelnik, M; Ferreira, L.M.B; Soares, R.A.M; Fontanari, G.G; Ribeiro, C.A. Comparative study of chemical composition and thermal behavior of papaya seed oil and extra virgin olive oil. *Em fase final de escrita.*

Souza, A.L.R; Fonseca, M; Ferreira, L.M.B; Kurokawa, S.S.S; Kiill, C.P; Ferreira, N.N; Pyrrho, A.S; Sarmiento, V.H.V; Silva, A.M; Gremião, M.P.D; Ribeiro, C.A. Self-assembly of meglumine-based supra-amphiphiles in liquid crystals to be used as topical drug delivery – influence of the state of water on bioadhesive properties. *Em fase de escrita.*

Participação em eventos científicos – Trabalhos enviados e/ou apresentados

252nd American Chemical Society National Meeting & Exposition

Local e ano: Philadelphia, PA; 2016.

Trabalho apresentado: Arza, C.R; Abarro, G; Fonseca, M; Froimowicz, P; Ishida, H. **Development of benzoxazine resins for the protection of astronauts from ultra-high energy galactic cosmic rays.**

Hathaway Brown's Science Research & Engineering Program – Poster Section & Reception

Local e ano: Cleveland, OH; 2016.

Trabalho apresentado: Gleydura, M; Fonseca, M; Froimowicz, P; Ishida, H.
Development of hig-performance materials for the protection of astronauts in space against ultra-high energy intergalactic cosmic rays.

XIII Brazilian MRS Meeting

Local e ano: João Pessoa, PB; 2014.

Trabalhos apresentados:

1. Fonseca, M.; Souza, A.L.R.; Miziara, L.; Kurokawa, S.S.S.; Ribeiro, C.A. **DSC studies of water behavior in liquid crystal systems from meglumine-based supra-amphiphile.**
2. Kurokawa, S.S.S.; Miziara, L.; Fonseca, M.; Souza, A.L.R.; Ribeiro, C.A. **Development and characterization of supra-amphiphiles based on meglumine and ricinoleic acid maleinized as a precursor of supramolecular polymers.**

41st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society

Local e ano: Chicago, IL; 2014.

Trabalhos apresentados:

1. Souza, A.L.R.; Fonseca, M.; Miziara, L.; Kurokawa, S.S.S.; Cassimiro, D.L.; Kiill, C.P.; Jakubic, M.; Gremião, M.P.D.; Sarmiento, V.H.V.; Ribeiro, C.A. **Development of liquid crystal systems from meglumine-based supra-amphiphiles for topical delivery of drugs.**
2. Souza, A.L.R.; Kiill, C.P.; Miziara, L.; Kurokawa, S.S.S.; Fonseca, M.; Cassimiro, D.L.; Jakubic, M.; Gremião, M.P.D.; Ribeiro, C.A. **Mechanical and bioadhesive behavior of hexagonal liquid crystals from meglumine-based supra-amphiphile for topical drug delivery systems.**

17º Encontro Nacional de Química Analítica

Local e ano: Belo Horizonte, MG; 2010

Trabalho apresentado: Ribeiro, C.A.; Fonseca, M.; Crespi, M.S.; Kurokawa, S.S.S.
Caracterização térmica de aduto de ácido ricinoléico maleinizado-meglumina e sua interação com a água.

12º Congresso Brasileiro de Polímeros

Local e ano: Florianópolis, SC; 2013.

Trabalho apresentado: Fonseca, M.; Miziara, L.; Kurokawa, S.S.S.; Cassimiro, D.L.; Crespi, M.S.; Ribeiro, C.A. **Polímeros supramoleculares óleo de mamão-maleinizado meglumine: caracterização espectroscópica e térmica.**

Supervisão científica

Aluno: Christian Grimme

Universidade: Case Western Reserve University (EUA)

Trabalho: “Study of a hydrogen-rich benzoxazine synthesized for protection of astronauts from galactic cosmic radiation”

Período: Janeiro/2016 a Maio/2016.

Aluno: Spencer Sharp

Universidade: Case Western Reserve University (EUA)

Trabalho: “Synthesis and characterization of a novel hydrogen-rich cyanate ester type benzoxazine”

Período: Fevereiro/2016 a Maio/2016.

Disciplina ministrada (bolsista didático do Departamento de Química Analítica – IQ/Unesp)

Química Analítica Quantitativa (prática)

Curso: Licenciatura em Química

Período: agosto/2014 a dezembro/2014 – 8 horas/semana.

Participação em banca de comissões avaliadoras

Avaliadora institucional na comissão de solicitação de bolsas de Doutorado Sanduíche no exterior PDSE/CAPES do Programa de Pós-Graduação em Química.

Local: IQ/Unesp – Araraquara-SP

Período: 2013 a 2014.

Participação em órgãos colegiados do Instituto de Química da Unesp Araraquara

Representante discente titular na Congregação.

Período: 2014/2 a 2015/1.

Representante discente titular na Pós-Graduação em Química.

Período: 2013-2014.

Representante discente suplente na Pós-Graduação em Química.

Período: 2012-2013.

À minha mãe Aparecida

Ào meu pai José

Ào meu irmão Diego

.... pela vida, amor, educação e apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial ao meu orientador, Professor Doutor Clóvis Augusto Ribeiro, o qual considero meu pai científico. Muitíssimo obrigada pela imensa contribuição na minha formação, pela dedicação, paciência, tantos ensinamentos e pelo exemplo de profissional em que eu me inspiro.

Ao Professor Doutor Hatsuo Ishida, por me aceitar e receber tão bem em seu grupo durante o Doutorado Sanduíche na Case Western Reserve University (EUA). Obrigada pela orientação, pelos ensinamentos, motivação e por me proporcionar uma experiência profissional inenarrável.

À Professora Doutora Marisa Crespi, pela convivência, todo auxílio e ensinamentos valiosos.

Ao Professor Doutor Pablo Froimowicz pela paciência, orientação e valiosas discussões durante o período do meu Doutorado Sanduíche.

Ao Professor Doutor Hernane Barud, pela amizade, ensinamentos e por ser essa pessoa sempre disposta a ajudar e exemplo de profissional o qual eu tanto admiro.

À Professora Doutora Hideko Yamanaka, pela parceria, paciência e conhecimentos adquiridos nas aulas de química analítica quantitativa durante o bolsista didático.

Ao Professor Doutor Luís Rogério Hein do Laboratório de Microscopia e Microanálise da Faculdade de Engenharia da Unesp de Guaratinguetá, pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.

À Professora Doutora Maria Palmira Gremião da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unesp de Araraquara, pelos ensaios de bioadesão.

À Professora Doutora Amélia da Universidade de Trás os Montes e Alto Douro (UTAD), Portugal, pelas análises de citotoxicidade.

À Doutora Ana Luiza Ribeiro de Souza e à Doutora Charlene Kiill, minhas grandes amigas. Muito obrigada pelas discussões tão enriquecedoras, pelos conselhos e tudo que sempre fizeram por mim. Nossa amizade vai além dessa tese.

Ao Doutor Leonardo Miziara, meu amigo, pela sabedoria e capacidade de transmitir tão bem tudo que sabe e com uma humildade ímpar.

Ao Departamento de Físico-Química e Química Inorgânica do Instituto de Química de Araraquara, pelas análises de reologia e infravermelho.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) de Campinas, pelas análises de espalhamento de raios-X a baixo ângulo.

A todos os funcionários do IQ de Araraquara! Muito obrigada por serem sempre tão dedicados e empenhados a ajudar. Vocês são exemplos de profissionais!

À Amanda (Jaci), minha amiga, com quem além de dividir apartamento dividimos também conhecimento, medos, sonhos e auxílio mútuo.

Aos meus amigos do Laboratório de Análise Térmica de Materiais, muito obrigada pela convivência excelente, reuniões científicas de grupo sempre enriquecedoras e encontros sociais sempre regados a comida boa e longas conversas. Muito obrigada pela amizade de cada um! Ao pessoal do Gresco, com quem dividi o espaço do laboratório e que me acolheram tão bem desde a minha chegada a essa universidade. Em especial meu muitíssimo obrigada à Lucy e ao Fernandinho. Vocês são uns amigos muito queridos e exemplo de humanidade.

Aos meus amigos do grupo de pesquisa do Dr. Ishida. Muito obrigada Pablo, Carlos, Seishi e meus alunos de iniciação científica, por todo o conhecimento que adquiri com vocês. Em especial quero agradecer à Cirlene Forquet, a Lu Han e a Porosha Taheri, minhas amigas além do laboratório. Sou muito grata a tudo que aprendi com vocês e por tudo que sempre fizeram por mim!

Aos amigos brasileiros que conheci durante o Doutorado Sanduíche, em especial aos do grupo “ Para sempre 6 (+1). ” As nossas conversas, reuniões e churrascos fizeram a minha vida mais alegre em Cleveland.

Aos meus amigos da “Jogatina ”, muito obrigada pelo companheirismo e pelas reuniões sempre alegres que tivemos.

Aos amigos que conheci através do IQ de Araraquara, obrigada pela amizade e pelo convívio sempre agradável!

Aos meus amigos de Itumbiara, em especial à Tátilla, Fer, Bia e Gabriel. Vocês mesmo longe sempre me encorajam a seguir adiante. Muito obrigada!

À minha família, pelo constante apoio e orações durante toda minha trajetória.

À minha mãe Aparecida e ao meu pai José. A vocês eu devo tudo que sou hoje. Muito obrigada por me amarem, sempre me mostrarem o caminho do bem, da honestidade e do respeito ao próximo. Obrigada por nunca pouparem esforços para que eu chegasse até aqui! A vocês o meu mais sincero amor e agradecimento eterno!

Ao meu irmão Diego, pelo companheirismo e por tudo que fez e faz por mim. Você é meu melhor amigo! Te amo!

Ao meu amor Martin! Seus conselhos, paciência, dedicação, me fazem uma pessoa melhor. Obrigada por sempre me entender e ver o melhor em mim. Você é o melhor presente que Cleveland poderia ter me dado! I love you! Em especial agradeço também à família Mangan. Eles que me acolheram tão bem desde o primeiro encontro, como uma filha e fizeram também meus dias em Cleveland tão agradáveis! Thank you so much!

À CAPES, pelas bolsas concedidas.

E principalmente, agradeço a Deus! O Senhor da minha vida, sem o qual nada seria possível ou valeria a pena.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”

Martin Luther King.

RESUMO

A auto-montagem é a organização dos blocos de construção que compõem um sistema, em estruturas hierarquicamente ordenadas, sem qualquer tipo de influência externa. As forças que governam esse processo de auto-montagem das moléculas são as interações não covalentes, tais como interações de van der Waals, eletrostática, hidrofóbica, ligação de hidrogênio, dentre outras. A inspiração para o surgimento de materiais com base nessas interações veio da natureza e dos sistemas biológicos, que ocorrem naturalmente, tais como o DNA. A natureza reversível das interações não covalentes assegura que os blocos de construção que constituem o sistema podem se romper e se recombinar de acordo com as características do meio externo. Essa propriedade faz desses sistemas capazes de responder aos mais variados estímulos, tais como variações de temperatura, pH, solvente, radiação, etc. A reação de um ácido orgânico com a meglumina, um aminocarboidrato, leva à formação de um par iônico denominado genericamente de carboxilato-meglumina. Os objetivos nesse estudo, além da síntese de sistemas supra-anfifílicos foi ainda avaliar esses sistemas em fase aquosa e correlacionar as propriedades com uma potencial aplicação no âmbito farmacêutico. Nesse trabalho, ácido oleico e meglumina foram utilizados como os blocos de construção de um sistema anfifílico supramolecular. Inicialmente o par iônico entre ácido oleico e meglumina se formava, gerando o par oleato-meglumina e esse anfifílico se mantinha em fase aquosa através de interações hidrofóbicas e ligação de hidrogênio. Foi sintetizado dois tipos de sistemas, sendo um em proporções equimolares e outro em excesso de meglumina. Sistemas contendo diferentes concentrações de água foram sintetizados, a partir dos adutos precursores e a caracterização desses sistemas foi realizada por microscopia de luz polarizada (MLP), espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) e microscopia eletrônica de varredura no modo ambiental (ESEM). Os resultados mostraram que os supra-anfifílicos, sintetizados em proporções equimolares ou não, puderam se organizar em sistemas micelares ou cristais líquidos hexagonais, de acordo com a quantidade de água. O estado da água presente nesses anfifílicos foi avaliado por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e foi observado que os supra-anfifílicos sintetizados a partir de sistemas em excesso de meglumina conseguiram reter mais a água em sua estrutura. A avaliação da citotoxicidade desses sistemas foi realizada em células SV-80, o que mostrou que eles poderiam reduzir a viabilidade celular, de um modo dose-dependente. A capacidade bioadesiva desses supra-anfifílicos foi também avaliada, *in vitro*, em um analisado TAXT *plus* no modo *Hold Until Time* e demonstrou que os sistemas possuíam propriedades bioadesivas superiores ao gel de Carbopol 5%, usado em formulações farmacêuticas. Por fim, um fármaco modelo foi incorporado em alguns sistemas e a organização estrutural após a incorporação foi avaliada por MLP e SAXS, o que permitiu observar que o arranjo líquido-cristalino observado inicialmente foi mantido, evidenciando assim que não houve mudança estrutural nesses sistemas com a adição do fármaco.

Palavras-chave: interações intermoleculares; oleato-meglumina; supra-anfifílicos; cristais líquidos; estado da água.

ABSTRACT

Self-assembly is the organization of building blocks in a system, in hierarchically-ordered structures without any external influence. The driving forces on molecular self-assembly are non-covalent interactions, such as van der Waals, electrostatics, hydrophobic, hydrogen bonding, amongst others. The inspiration for the emergent materials based on these interactions come from nature and naturally occurring biological systems such as DNA. The reversible nature of the non-covalent interactions ensures that the building blocks in a system can be broken and reunited according to the external environment. This property makes them capable of responding to different stimuli, such as variations in temperature, pH, solvent, radiation, etc. The reaction of an organic acid with meglumine, an aminocarbohydrate, leads to the formation of an ionic pair generally called carboxylate-meglumine. The aim of this work, besides the synthesis of the supra-amphiphiles, was to evaluate these systems in aqueous phase, and correlate the properties with potential application of them in the pharmaceutical field. In this work, oleic acid and meglumine were used as the building blocks for the synthesis of a supramolecular amphiphilic system. Initially, the ionic pair between oleic acid and meglumine was formed, generating oleate-meglumine. That amphiphilic was maintained in aqueous phase through hydrophobic interactions and hydrogen bonds. Two systems were synthesized, one in equimolar conditions and another in excess of meglumine. Systems with different water concentrations were synthesized from the precursor adducts, and the characterization was performed by polarized light microscopy (PLM), small angle X-ray scattering (SAXS) and scanning electron microscopy in the environmental mode (ESEM). The results showed that the supra-amphiphiles, either synthesized in equimolar conditions or not, were structured in micellar systems or hexagonal liquid crystals, according to the amount of water. The state of the water present in these amphiphiles was evaluated by differential scanning calorimetry (DSC), and it was observed that supra-amphiphiles synthesized from systems in non-equimolar conditions were able to retain a larger amount of water in their structure. The evaluation of the cytotoxicity of these systems was performed for SV-80 cells, which showed that the adducts could reduce cell viability in a dose-dependent manner. The *in vitro* bioadhesion of the supra-amphiphiles was also evaluated in a TAXT plus test in the Hold Until Time mode. It demonstrated that the systems presented superior bioadhesive properties compared to carbopol gel 5% used in pharmaceutical formulations. Finally, a model drug was incorporated in some systems, and the structural organization was re-evaluated by PLM and SAXS, which demonstrated that no structural change was observed in these systems with the drug incorporation

Keywords: intermolecular interactions; oleate-meglumine; supra-amphiphiles; liquid crystals; water behavior.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Modelo proposto para interação da vancomicina com peptídeos. As linhas pontilhadas indicam as ligações de hidrogênio.....30
- Figura 2** - Auto-montagem macroscópica entre os géis hospedeiros CD e hóspedes. Um gel β -CD (em vermelho) é colocado em contato com o gel Ad (em verde) e o reconhecimento molecular é responsável pela união dos dois géis. Por último, pedaços dos géis foram misturados e agitados em água resultando num agregado.....31
- Figura 3** - Bases nitrogenadas complementares na estrutura de hélice do DNA (A) e bases pareadas através de ligações de hidrogênio (B).33
- Figura 4** - Características essenciais para a auto-montagem. (A) A agregação ocorre quando há uma atração e um equilíbrio de separação entre os componentes. O equilíbrio de separação geralmente representa o balanço entre a atração e a repulsão; (B) Agregação irreversível; (C) Componentes que podem equilibrar ou ajustar suas posições quando em contato, podem formar cristais ordenados se a forma ordenada for a de menor energia; (D) Exemplo de auto-montagem de uma proteína, uma nanoestrutura assimétrica e cataliticamente ativa.34
- Figura 5** - Protótipos naturais para o delineamento de catalisadores supramoleculares.37
- Figura 6** - Sistemas diversos e materiais *soft* em escalas de tamanho.41
- Figura 7** - Agregação da unidade anfifílica de bis-ureia em diferentes solventes. (A) Em água, as ligações de hidrogênio estão dispostas ao longo da direção do filamento. As interações solvofóbicas são responsáveis pelo empacotamento lateral das moléculas. Em acetonitrila (B) elas não são suficientemente fortes.....45
- Figura 8** - Exemplo da transformação da estrutura em nanofibras, após adição de água.....47
- Figura 9** - Esquema do processo de auto-montagem do anfifílico pillar[5]areno (1) em microtubos.49
- Figura 10** - Representação esquemática de moléculas BKP (a) e processo de transformação morfológica dos agregados de BKP (b).51
- Figura 11** - Representação do processo de auto-montagem com base no reconhecimento hóspede-hospedeiro e o comportamento termorresponsivo do sistema que mimetiza GPx.....53

Figura 12 - Estrutura de PS20-[Ru]-PEO70 (poli(estireno)-[Ru]-poli(óxido de etileno)) (a) e representação esquemáticas das micelas PS20-[Ru]-PEO70 em água (b). Nessa figura um núcleo PS em cinza é rodeado por filamentos finos os quais são complexos bis (2,2':6',2"- terpiridina)rutênio II e uma coroa PEO.	55
Figura 13 - Representação esquemática da formação de micelas. Os grupos anfílicos são construídos através de interação eletrostática entre os grupos carboxílicos (-COOH) do poliácido láctico e grupos amino (-NH ₂) de ciclodextrinas modificadas. Em água essa molécula anfifílica pode se auto-montar em uma estrutura micelar núcleo-concha, cuja concha é constituída de ciclodextrinas.	56
Figura 14 - Representação esquemática da formação e degradação fosfatase-induzida do supra-anfifílico polimérico e agregados poliméricos.	57
Figura 15 - Representação esquemática da fabricação racional e evolução programável de nanoestruturas bem definidas através de engenharia supramolecular dos supra-anfílicos.	58
Figura 16 - Supra-anfifílico do tipo rotaxano baseado em interações hóspede-hospedeiro.	60
Figura 17 - Auto-montagem do supra-anfifílico sintetizado e sua responsividade ao pH.	61
Figura 18 - Fórmula estrutural condensada de (a) sorbitol e (b) meglumina.	62
Figura 19 - Representação esquemática do teste de bioadesão e uma típica curva força x tempo obtidas a partir das medidas de destacamento do teste bioadesivo.	74
Figura 20 - Aspecto macroscópico dos supra-anfílicos MEG-AO em condição equimolar (à esquerda) e em condição não-equimolar (MEG-AO 2:1) (à direita).	79
Figura 21 - Reação ácido-base de formação do grupo oleato-meglumina (par iônico).	80
Figura 22 - Espectros na região do infravermelho para os sistemas MEG1AO1 e MEG2AO1.	81
Figura 23 - Curvas TG e DTG de (a) ácido oleico; (b) meglumina; (c) MEG1AO1 e (d) MEG2AO1.	83
Figura 24 - Exemplo de supra-anfifílico com concentração de água até 80% m/m (A) e com concentração de 60% m/m ou inferior.	85
Figura 25 - Características macroscópicas dos supra-anfílicos MEGAO de maior (esquerda) para o menor (direita) conteúdo de água.	85

Figura 26 - Fotomicrografia a 25 °C dos sistemas sintetizados em condição equimolar, MEG1AO1 com diferentes conteúdos de água. a) MEG1AO1_90; MEG1AO1_80 e MEG1AO1_70; b) MEG1AO1_60; c) MEG1AO1_50; d) MEG1AO1_40; e) MEG1AO1_30; f) MEG1AO1_20; g) MEG1AO1_10.	88
Figura 27 - Fotomicrografia a 25 °C dos sistemas sintetizados em condição não-equimolar, MEG2AO1 com diferentes conteúdos de água a) MEG2AO1_90; MEG2AO1_80 e MEG2AO1_70; b) MEG2AO1_60; c) MEG2AO1_50; d) MEG2AO1_40; e) MEG2AO1_30; f) MEG2AO1_20; g) MEG2AO1_10.	89
Figura 28 - Representação esquemática de auto-organização de anfifílicos em um cristal líquido liotrópico de fase hexagonal. Na fase hexagonal direta (a) a água se localiza na fase externa do cilindro, interagindo com a porção polar da espécie anfifílica. Na fase reserva esta fica aprisionada no interior das estruturas (b).....	90
Figura 29 - Perfis de SAXS para os sistemas MEG1AO1/água em função do conteúdo de água (% m/m) a 25 °C.....	92
Figura 30 - Perfis de SAXS para os sistemas MEG2AO1/água em função do conteúdo de água (% m/m) a 25 °C.....	94
Figura 31 - Representação esquemática da mesofase hexagonal.....	95
Figura 32 - Representação esquemática de curvas de escoamento de fluidos newtoniano e não-newtonianos de propriedades independente do tempo de cisalhamento.....	97
Figura 33 - Variação da taxa de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento para as amostras (a) MEG1AO1_90 e (b) MEG1AO1_80.	98
Figura 34 - Evolução dos módulos de armazenagem (G') e de perda (G'') dos sistemas supra-anfifílicos MEG1AO1 em conteúdo de água de 70 a 30%. As formas geométricas preenchidas representam o módulo G' e as formas geométricas vazias representam o módulo G''.	99
Figura 35 - Curvas DSC de resfriamento para os sistemas MEG1AO1/água e água pura, a 5 °C min ⁻¹ em atmosfera de N ₂ . Exo (para cima).....	103
Figura 36 - Curvas DSC de resfriamento para os sistemas MEG2AO1/água e água pura, a 5 °C min ⁻¹ em atmosfera de N ₂ . Exo (para cima).....	105
Figura 37 - Curvas DSC de aquecimento para os sistemas MEG1AO1/água e água pura, a 5 °C min ⁻¹ em atmosfera de N ₂ . Exo (para cima).....	107

Figura 38 - Curvas DSC de aquecimento para os sistemas MEG2AO1/água e água pura, a 5 °C min ⁻¹ em atmosfera de N ₂ . Exo (para cima).....	108
Figura 39 - Relação entre T _f (a) e água ligada (b) de acordo com o conteúdo de água.....	109
Figura 40 - Ampliações das curvas DSC na região de -70 a 10 °C dos sistemas MEG2AO1_40 e MEG2AO1_30.	110
Figura 41 - Micrografias ESEM de MEG1AO1 contendo (a) 70%, (b) 50% de água e (c) 30% de água. Magnificação de 3000x.....	111
Figura 42 - Viabilidade celular (% do controle) de células SV-80 após 24 h de exposição. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n = 4).	115
Figura 43 - Fotomicrografia a 25 °C das amostras a) MEG1AO1_50 F; e b) MEG2AO1_50 F.	116
Figura 44 - Perfis de SAXS para os sistemas antes da incorporação do fármaco (A) MEG1AO1_50 e (B) MEG2AO1_50 e após a incorporação do fármaco em (C) MEG1AO1_50 F e (D) MEG2AO1_50 F a 25 °C.	117
Figura 45 - Exemplo de um esquema de síntese da benzoxazina.	121
Figura 46 - Exemplo do mecanismo de cura da benzoxazina.	121
Figura 47 - Espectro de ¹ H RMN de BZXOCN após 7 h de reação.....	125
Figura 48 - Curva DSC de BZXOCN em atmosfera de N ₂	126
Figura 49 - Espectro FTIR do monômero de BZXOCN.	126

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição dos sistemas MEG-AO e água.....	69
Tabela 2 - Dados TG para ácido oleico (AO); meglumina (MEG) e supra-anfifílicos MEG1AO1 e MEG2AO1.	84
Tabela 3 - Composição dos anfifílicos MEGAO/água estudadas e os resultados de MLP e SAXS.....	96
Tabela 4 - Dados de DSC para as curvas de resfriamento e aquecimento dos sistemas supra-anfifílicos/água.....	106
Tabela 5 - Parâmetros de bioadesão in vitro dos sistemas MEG1AO1/água.	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ad – adamantino

AIE – emissão agregação-induzida

AO – ácido oleico

ATP – adenosina trifosfato

Azo – azobenzeno

BKP – bloco de construção formado por um bis-pireno aromático, ligações de hidrogênio e uma cadeia de polietilenoglicol

BNAPHV – anfifílico *bola-shape* contendo naftaleno

BNDIV – anfifílico *bola-shape* contendo naftaleno diimida

BZX – benzoxazina

BZXOCN – benzoxazina funcionalizada com éster cianato

CD – ciclodextrina

CnDAs – derivados de bis-quaternário de amônio

C₁₂G₄ – tetraglicerol laurileter

DMV – dodecilmetil viologeno

DRF-4367 – molécula de ácido fraco anti-inflamatória

DSC – calorimetria exploratória diferencial

FDA – *United States Food and Drug Administration*

FTIR – espectroscopia de absorção no infravermelho

GPx – glutathione peroxidase

HDMV – hexadecilmetil viologeno

HP β CD – 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina

IFA – insumo farmacêutico ativo

MEG – meglumina

MEG1AO1 – supra-anfifílico sintetizado em condições equimolares

MEG2AO1 – supra-anfifílico sintetizado em condições não-equimolares

MLP – microscopia de luz polarizada

NaPFFKYp – peptídeo anfifílico (Nap-Phe-Phe-Lys-pTyr)

PEG – polietilenoglicol

PEO – poli(óxido de etileno)

PS – poliestireno

PYR – 8-hidroxipireno-1,3,6-ácido trissulfônico sal trissódico

RV – anfifílico derivado de viologeno

SAXS – espalhamento de raios-X a baixo ângulo

SV-80 – células de fibroblastos

S6-CAP – corona[n]-areno solúvel em água

TGEI – grupos terminais de interações eletrostáticas

TPE – 1,2,2,-trifenilvinilbenzeno

TTFA, TTFB, TTFC, TTFD – sais hidrossolúveis de tetrafulvaleno tetracarboxilato tetrapotássio

WP7 – pilar[7]areno solúvel em água

β-CD – estrutura da ciclodextrina com sete anéis de molécula de açúcar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	28
1.1 Introdução à química supramolecular.....	28
1.2 Conceitos básicos da química supramolecular	29
1.2.1 Reconhecimento molecular.....	29
1.2.2 Auto-montagem molecular	32
1.3 Nanoarquitetônica em agregados supramoleculares dinâmicos	34
1.4 Aplicações envolvendo a química supramolecular	36
1.5 Auto-montagem supramolecular em água.....	43
1.6 Sistemas supra-anfifílicos	47
1.6.1 Síntese não-covalente de anfifílicos.....	48
1.6.2 Aplicações de sistemas supra-anfifílicos	59
1.7 Meglumina.....	62
2 OBJETIVOS	65
2.1 Objetivo Geral.....	65
2.2 Objetivos Específicos	65
3 SEÇÃO EXPERIMENTAL	66
3.1 Materiais.....	66
3.2 Síntese do supra-anfifílico meglumina-ácido oleico (MEG-AO).....	66
3.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	66
3.4 Análise Termogravimétrica (TG)	67
3.5 Síntese e caracterização dos supra-anfifílicos MEG-AO em fase aquosa ...	68
3.5.1 Procedimento de síntese	68
3.5.2 Caracterização físico-química dos supra-anfifílicos MEG-AO em fase aquosa.....	69
3.5.2.1 Microscopia de Luz polarizada (MLP).....	69
3.5.2.2 Espalhamento de Raios-X a baixo ângulo (SAXS)	70
3.5.2.3 Reologia	71
3.5.2.3.1 Determinação das propriedades de fluxo	71
3.5.2.3.2 Experimentos oscilatórios.....	71
3.5.2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	72
3.5.2.5 Microscopia eletrônica de varredura no modo ambiental (ESEM).....	72
3.5.2.6 Análise in vitro da bioadesão dos supra-anfifílicos	73

3.6 Avaliação da citotoxicidade dos supra-anfifílicos MEG-AO em células SV-80	75
.....	75
3.6.1 Cultura celular	75
.....	75
3.6.2 Tratamento das células	75
.....	75
3.6.3 Ensaio de citotoxicidade com Alamar Blue®	76
.....	76
3.7 Incorporação de um fármaco modelo nos sistemas MEG-AO/água	77
.....	77
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
.....	78
4.1. Síntese dos supra-anfifílicos meglumina-ácido oleico (MEG-AO)	78
.....	78
4.2 Espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	79
.....	79
4.3 Comportamento térmico	82
.....	82
4.4 Avaliação dos supra-anfifílicos em fase aquosa	84
.....	84
4.4.1 Descrição do sistema	84
.....	84
4.4.2 Caracterização físico-química dos sistemas	86
.....	86
4.4.3 Microscopia de Luz Polarizada (MLP)	87
.....	87
4.4.4 Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS)	91
.....	91
4.4.5 Reologia	96
.....	96
4.4.6 Análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC)	102
.....	102
4.4.7 Microscopia eletrônica de varredura no modo ambiental (ESEM)	110
.....	110
4.4.8 Bioadesão	112
.....	112
4.5 Ensaio de citotoxicidade dos supra-anfifílicos MEG-AO em células SV-80	114
.....	114
4.6 Caracterização estrutural dos sistemas supra-anfifílicos com a incorporação de um fármaco modelo	116
.....	116
5. CONCLUSÃO	119
.....	119
6 ESTUDO REALIZADO DURANTE O DOUTORADO SANDUÍCHE PDSE-CAPES	120
.....	120
REFERÊNCIAS	128
.....	128

APRESENTAÇÃO

Nos últimos anos, a química supramolecular tem crescido e se tornado uma área de grande interesse, pelo respaldo no desenvolvimento das interfaces da biologia, química e física, estabelecendo assim a ciência e tecnologia supramolecular como um amplo domínio multidisciplinar, o que gerou um campo fértil para a criatividade de cientistas ao redor do mundo (LEHN, 2002).

A química supramolecular ou como foi bem descrita por Lehn como a “química além da molécula”, introduz a ideia de desenvolver entidades químicas altamente complexas que interagem entre si através de interações não covalentes (LEHN, 2002). A compreensão dessas interações entre os blocos de construção moleculares é a base para o entendimento da auto-montagem em um sistema (HIRST et al., 2008).

A auto-montagem representa a organização espontânea dos blocos de construção em estruturas ordenadas, sem a necessidade de qualquer influência externa. Durante o processo de auto-montagem, as moléculas se organizam guiadas por interações intermoleculares tais como interações de van der Waals, hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, entre outras. O arranjo dos sistemas através dessas interações permite que a montagem seja revertida com a alteração de parâmetros do sistema. Assim, o processo é reversível e pode ocorrer somente sob condições definidas. Qualquer alteração destas condições faz com que o sistema retorne ao estado inicial de organização (TAMHANE, 2007).

Na natureza, muitos sistemas são mantidos através dos processos de auto-montagem e auto-organização. O sistema supramolecular mais marcante talvez seja o ácido desoxirribonucleico (DNA), cuja arquitetura em dupla hélice depende da cooperação de várias ligações de hidrogênio. Devido à reversibilidade das ligações de hidrogênio a dupla hélice pode ser desfeita e novamente constituída durante o processo de divisão celular (MANNA, 2013). Nesse sentido, é possível obter estruturas supramoleculares desejáveis que se auto-montam por meio da manipulação dos blocos de construção iniciais e do controle das condições de síntese. A estrutura final do sistema depende assim da natureza e extensão dos blocos de construção e das interações intermoleculares presentes (TAMHANE, 2007).

Com base na química supramolecular, uma classe de materiais, os “*soft materials*”, tem atraído grande atenção como uma classe de materiais

“transformáveis”, devido à sua flexibilidade e mobilidade moderadas, o que permite que eles rapidamente alterem as suas propriedades dependendo das condições do meio. Alguns exemplos incluem coloides, polímeros, cristais líquidos, géis e emulsões (YU et al., 2013).

Os cristais líquidos são materiais *soft*, dinâmicos e funcionais, que possuem tanto ordenação quanto mobilidade em níveis molecular, supramolecular e macroscópico (BISOY; KUMAR, 2011). Os sistemas que formam cristais líquidos pela adição de solventes são denominados cristais líquidos liotrópicos. As mesofases liotrópicas contém pelo menos dois componentes químicos: a molécula orgânica e o solvente. A porção orgânica deve exibir alguma complexidade química, ou de outra forma o solvente irá simplesmente dissolver a molécula, formando um sistema sem estrutura e provavelmente não um cristal líquido (HYDE, 2001).

Os exemplos mais simples são o das moléculas anfifílicas. A adição de um solvente, como por exemplo a água, irá seletivamente hidratar a porção hidrofílica de cada molécula, evitando as regiões hidrofóbicas. Essa relação entre o solvente e a molécula orgânica é o que orienta as moléculas a se auto-montarem, minimizando assim a exposição das porções hidrofóbicas à água (HYDE, 2001).

O ácido oleico (18:1 9c) é o mais comum dos ácidos graxos cis-monoenoicos e é encontrado na maioria dos lipídeos de origem animal e vegetal, além de ser o ácido graxo majoritário do óleo de oliva (70 – 75%) e muitos outros tais como óleo de macadâmia, amêndoas e avelã (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007). É ainda amplamente utilizado como aditivo nas indústrias alimentícias ou como lubrificante na indústria química (SALIMON; SALIH, 2009).

Aplicações do ácido oleico na área farmacêutica também podem ser observadas, visto que este é um excipiente utilizado em várias formulações, atuando como tensoativo e emulsificante. A monoleína, um monoglicerídeo de ácido oleico é um dos agentes formadores de cristal líquido mais utilizado, empregados em sistemas de liberação de fármacos, quando em água, devido às suas características como transição de fase dependente da temperatura, textura gelatinosa e baixa toxicidade (LOPES et al., 2006; LEE; KELLAWAY, 2000).

Propriedades bioadesivas de sistemas contendo monoleína e água em fases líquido-cristalinas cúbicas e lamelares foram também reportadas na literatura (LEE; KELLAWAY, 2000). Apesar de ser bem estabelecido que os cristais líquidos possam ser facilmente preparados, sua real aplicação em cosmética e farmácia ainda é

limitada, tendo em vista as altas concentrações de tensoativos exigidas (COMELLES; SÁNCHEZ-LEAL; GONZÁLES, 2005).

O interesse no estudo de ácidos orgânicos como base para o desenvolvimento de sistemas anfifílicos iniciou recentemente, quando nosso grupo de pesquisa verificou a formação de um polímero entre adutos flunixinina-meglumina e diclofenaco-meglumina, o qual era mantido por interações não covalentes. Os resultados das análises espectroscópicas evidenciaram que a meglumina estava diretamente envolvida na polimerização (CASSIMIRO et al., 2012).

A meglumina, também conhecida como *N*-metilglucamina, é um aminocarboidrato obtido a partir da glicose e metilamina (GALLAS et al., 2002), de estrutura análoga ao do sorbitol, cuja aplicabilidade comercial ocorre principalmente em formulações farmacêuticas visando o aumento da solubilidade de ativos em meio aquoso.

Em sucessão a esse, outro estudo envolvendo meglumina e óleo de rícino modificado, deu origem à sistemas supra-anfifílicos que foram capazes de se estruturar em mesofases líquido-cristalinas lamelares em fase aquosa. Esses sistemas apresentaram propriedades bioadesivas de acordo com a quantidade de meglumina e o estado da água no sistema. Os resultados permitiram aos autores concluir que tais materiais tem um potencial considerável para aplicações biomédicas, uma vez que a água desenvolve um papel importante nas interações biointerfaciais (FERREIRA et al., 2016).

A estrutura da água líquida e sua interação com as superfícies da membrana apresenta-se como um objeto ativo de interesse de pesquisadores, o que sem dúvidas interfere positivamente nos esforços futuros a serem destinados em áreas como desenvolvimento e liberação de fármacos (LOFTSON; BREWSTER, 2008). Diante disso, avaliar a dispersão desses sistemas supra-anfifílicos em água, com vistas a uma potencial aplicação biológica, parece ao nosso ver, bastante promissora.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Introdução à química supramolecular

Algumas das moléculas bastante familiares tais como metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) são compostas por átomos que são mantidos unidos por interações químicas denominadas ligações covalentes. Enquanto a química molecular concentra-se na formação e quebra de ligações covalentes para a síntese de novas moléculas, a química supramolecular tem seu foco nas interações não-covalentes, mais fracas, tais como as forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio, interações π - π , forças de van der Waals ou efeitos hidrofóbicos. Essas interações não covalentes, quando consideradas de forma independente são fracas, mas em conjunto podem resultar em sistemas ou complexos bastante estáveis (GALE, 2000; MANNA, 2013).

A existência de forças intermoleculares foi inicialmente postulada por van der Waals em 1983. Mais tarde, em 1984, Fischer introduziu as bases filosóficas da química supramolecular sugerindo o mecanismo “chave-fechadura” para interações entre enzima e substrato, que é o princípio fundamental do reconhecimento molecular da química hóspede-hospedeiro. No início do século passado as ligações não covalentes foram concebidas em maiores detalhes, sendo as ligações de hidrogênio descritas então em 1920, por Latimer e Rodebush. Tais descobertas possibilitaram um melhor entendimento acerca da estrutura de proteínas e outros processos biológicos. Um exemplo foi a elucidação da estrutura de dupla hélice do DNA que ocorreu quando perceberam que existia duas fitas de nucleotídeos conectadas através de ligações de hidrogênio. O uso das ligações não covalentes é essencial na replicação, já que elas possibilitam que as fitas sejam separadas e utilizadas como um modelo para a nova dupla fita de DNA (MANNA, 2013).

A química supramolecular, bem descrita por Lehn como a “química além da molécula”, se baseia no reconhecimento molecular e em estruturas auto-montadas altamente ordenadas formadas por meio de interações não covalentes. Em 1987, Cram, Lehn e Pedersen receberam o Prêmio Nobel em Química devido ao “desenvolvimento e uso de moléculas com interações estrutura-específica de alta

seletividade”. A partir de então, a importância da química supramolecular foi bem estabelecida (HUANG; ANSLYN, 2015).

Desde então, essa vertente vem crescendo gradualmente graças ao trabalho de diversos pesquisadores em auto-montagem (KATO; FRÉCHET, 1995; WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002), reconhecimento molecular (GALE, 2000) e química covalente dinâmica (ROWAN et al., 2002). O desenvolvimento simultâneo da nanotecnologia teve também uma grande influência nessa área, sendo os blocos de construção derivados de nanopartículas (TAYLOR et al., 2013), dendrímeros (SCOTT et al., 2005), fulerenos (TEGOS et al., 2005), entre outros, envolvidos nas estratégias de síntese (MANNA, 2013).

Alguns conceitos básicos desempenham um importante papel no entendimento e desenvolvimento de novos sistemas tendo como base a química supramolecular. O reconhecimento molecular, por exemplo, é a ligação seletiva a um substrato em particular a uma molécula receptora através de interações não covalentes. Algumas ligações como as ligações de hidrogênio e as de coordenação metal-ligante são direcionais, o que permite que informações sejam “programadas” nas subunidades moleculares fazendo com que possam se auto-montar em estruturas supramoleculares com potenciais aplicações. A auto-montagem é, portanto, um processo que quando combinado com as modificações tradicionais da química sintética covalente, permite a concepção de novas moléculas que anteriormente não poderiam ser concebidas (HUANG; ANSLYN, 2015; LEHN, 2007).

1.2 Conceitos básicos da química supramolecular

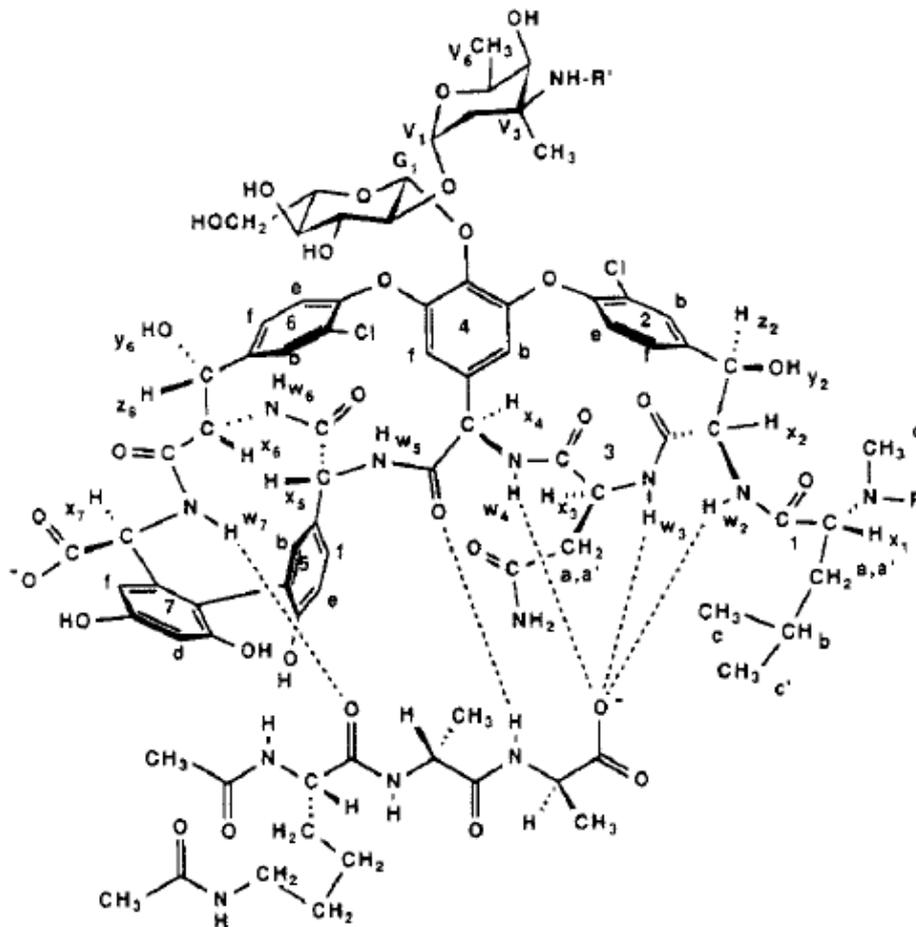
1.2.1 Reconhecimento molecular

O reconhecimento molecular é a ligação específica de uma molécula hospedeira a uma molécula hóspede complementar, formando um complexo hóspede-hospedeiro. No reconhecimento molecular, as moléculas são capazes de se identificar através de interações não-covalentes e em adição a essas interações, o solvente também pode desempenhar um papel indireto na interação molecular em solução (MANNA, 2013).

Inúmeros receptores moleculares capazes de se ligarem seletivamente a substratos específicos, através de ligações não covalentes, têm sido desenvolvidos

de modo a executar o reconhecimento molecular com base na informação molecular armazenada nas espécies que interagem entre si (LEHN, 2007). Um importante exemplo de reconhecimento molecular é o antibiótico vancomicina, que se liga seletivamente com os peptídeos nas células bacterianas através de cinco ligações de hidrogênio (Figura 1). A vancomicina é letal a essas bactérias e uma vez ligada a esses peptídeos compromete a integridade da parede celular das mesmas (MANNA, 2013).

Figura 1 – Modelo proposto para interação da vancomicina com peptídeos. As linhas pontilhadas indicam as ligações de hidrogênio.

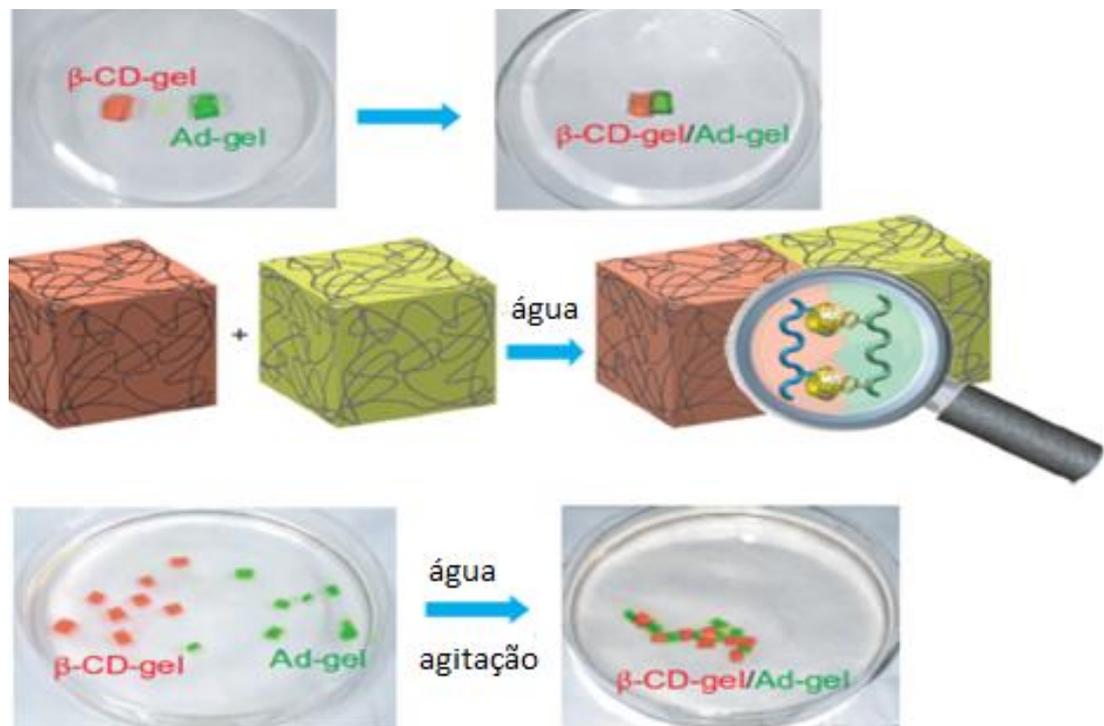


Fonte: Adaptado de Kannan et al. (1988).

Harada e colaboradores (2011) ainda demonstraram que materiais *soft* são diferenciados através de reconhecimento molecular, o que permite a associação macroscópica das estruturas. No trabalho desses autores, um pedaço do gel de beta-ciclodextrina, β -CD (um gel hospedeiro) foi colocado em contato com um pedaço do gel de derivado adamantino, Ad (um gel hóspede) em água, o gel β -CD se aderiu

firmemente ao Ad a fim de formar o gel combinado (Figura 2). Quando pedaços do gel β -CD e Ad foram misturados e agitados em meio aquoso, os géis β -CD e Ad se ligaram entre si formando um agregado. Uma avaliação mais profunda do agregado permitiu aos autores observar que pedaços de gel β -CD estão em contato somente com o gel Ad e vice-versa. Assim, pares de gel β -CD/ β -CD e Ad/Ad não se mantêm unidos entre si. Além disso, em experimentos controle observaram que pedaços do gel tido como o branco não se ligam entre si ou formam agregados com os géis β -CD ou Ad. Essas observações, na opinião dos autores, ressaltam a importância do reconhecimento molecular, que desempenha um papel importante não só a nível molecular, mas também no nível macroscópico.

Figura 2 - Auto-montagem macroscópica entre os géis hospedeiros CD e hóspedes. Um gel β -CD (em vermelho) é colocado em contato com o gel Ad (em verde) e o reconhecimento molecular é responsável pela união dos dois géis. Por último, pedaços dos géis foram misturados e agitados em água resultando num agregado.



Fonte: Adaptado de Harada et al. (2011).

1.2.2 Auto-montagem molecular

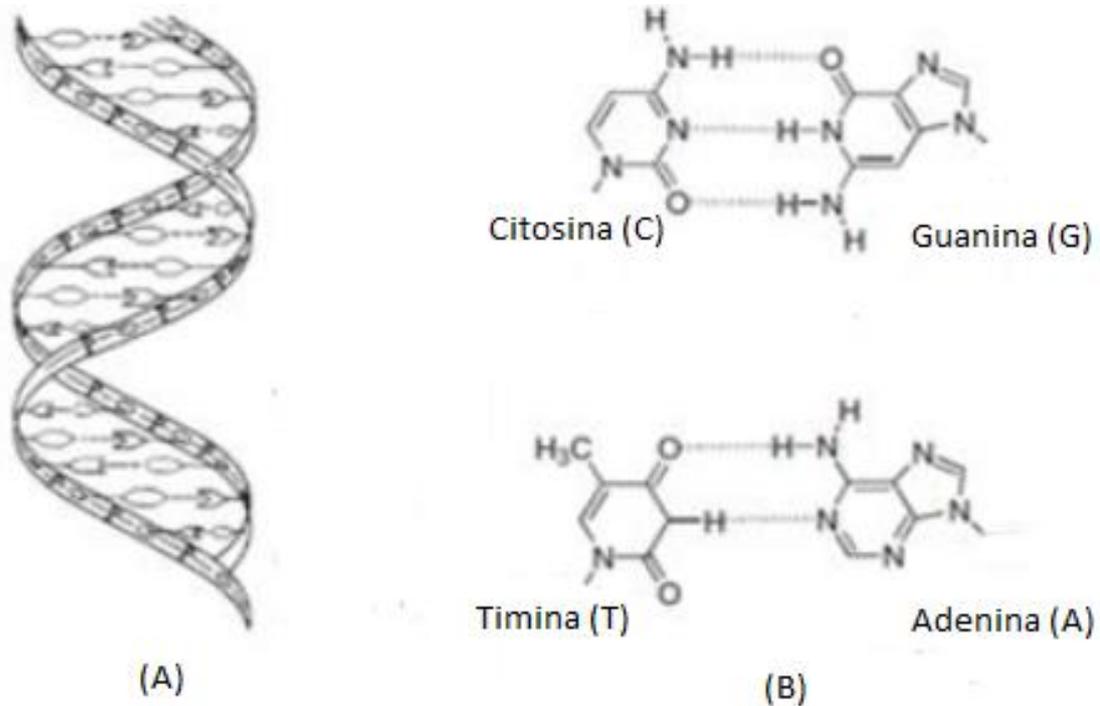
A auto-montagem molecular é um processo no qual as moléculas ou parte delas formam agregados ordenados, estáveis, de modo espontâneo. A auto-montagem molecular é uma combinação de características tais como agregação de átomos estruturalmente bem definidos, formação de moléculas bem definidas de alguma complexidade estrutural, formação de agregados maiores, definidos e estáveis dessas moléculas através de interações não covalentes, tais como ligação de hidrogênio, interações de van der Waals e interações hidrofóbicas. A ideia central aqui é compreender e controlar essas interações não covalentes entre as moléculas, a fim de entender e superar a entropia intrínseca desfavorável envolvida na manutenção de muitas moléculas unidas em um único agregado (WHITESIDES; MATIAS; SETO, 1991).

A auto-montagem molecular é a base para a formação de sistemas em diversas áreas, tais como a química, a biologia e a ciência dos materiais e sistemas como os coloidais e sistemas líquidos cristalinos são exemplos de sistemas que se desenvolvem a partir da auto-montagem molecular.

A auto-montagem é cientificamente interessante e tecnologicamente importante devido a diversas razões. Uma está relacionada à importância da vida, já que as células contêm uma gama de estruturas complexas tais como membranas lipídicas, agregados proteicos, ácidos nucleicos e muitos outros que se formam por auto-montagem (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002).

Talvez a estrutura de auto-montagem molecular mais conhecida em sistemas biológicos seja o DNA, um sistema que ocorre na natureza e que existe na forma de dupla hélice. As duas fitas individuais são mantidas unidas por um número de ligações de hidrogênio das bases purinas e pirimidinas a fim de manter a estrutura de dupla hélice (Figura 3a). A base guanina (G) forma ligações de hidrogênio triplas com a citosina (C) e a adenina (A) forma ligações de hidrogênio duplas com a base timina (T). A base guanina interage seletivamente com a citosina porque o complexo G-C é muito mais estável que o complexo G-T, o qual formaria somente uma ligação de hidrogênio (Figura 3b). Do mesmo modo, a base adenina forma complexos exclusivamente com a timina já que a adenina não formaria ligações de hidrogênio com a citosina (MANNA, 2013).

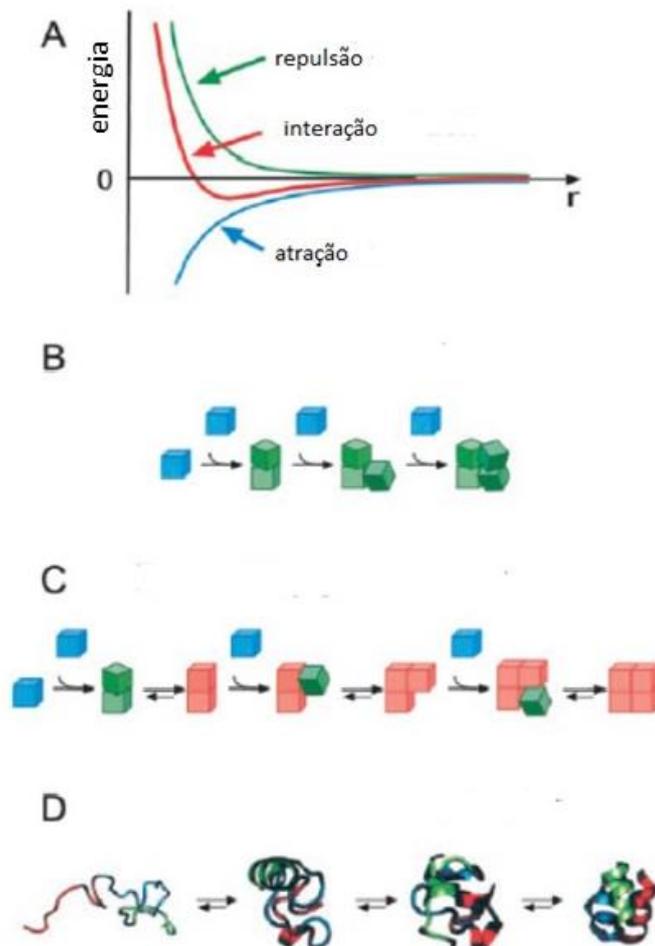
Figura 3 - Bases nitrogenadas complementares na estrutura de hélice do DNA (A) e bases pareadas através de ligações de hidrogênio (B).



Fonte: Adaptado de Manna (2013).

Os conceitos de auto-montagem originalmente vieram do estudo dos processos moleculares. O sucesso da auto-montagem em um sistema molecular é determinado por cinco características do sistema (Figura 4). Os componentes; as interações; a reversibilidade, já que para a auto-montagem gerar estruturas ordenadas a associação dever ser ou reversível ou permitir que os componentes ajustem suas posições dentro do agregado uma vez que ele for formado; o meio, pois o processo de auto-montagem das moléculas é normalmente conduzido em solução ou em uma interface a fim de possibilitar as condições requeridas pelos componentes do sistema; e a flexibilidade, uma vez que para a auto-montagem acontecer, as moléculas devem ser móveis. No design de tais sistemas, o primeiro desafio é assegurar a mobilidade dos componentes, à medida que vão se tornando maiores que as moléculas (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002).

Figura 4 - Características essenciais para a auto-montagem. (A) A agregação ocorre quando há uma atração e um equilíbrio de separação entre os componentes. O equilíbrio de separação geralmente representa o balanço entre a atração e a repulsão; (B) Agregação irreversível; (C) Componentes que podem equilibrar ou ajustar suas posições quando em contato, podem formar cristais ordenados se a forma ordenada for a de menor energia; (D) Exemplo de auto-montagem de uma proteína, uma nanoestrutura assimétrica e cataliticamente ativa.



Fonte: Adaptado de Whitesides; Grzybowski (2002).

1.3 Nanoarquitetônica em agregados supramoleculares dinâmicos

A fim de estabelecer uma metodologia para controle da construção de materiais e a física e a química relacionada a eles em escala nano, Aono e co-autores propuseram uma transição do termo nanotecnologia para nanoarquitetônica (AONO; BANDO; ARIGA, 2012).

O conceito de nanoarquitetônica é novo e foi definido por Aono, no ano 2000, durante um simpósio e a ideia principal se baseia na formação de materiais funcionais de maneira dinâmica pela harmonização de diversos fatores, incluindo a manipulação e o controle ao nível atômico/molecular, nano fabricação e auto-organização. A aplicabilidade da nanoarquitetônica é ampla e pode ser encontrada na literatura recente nas áreas de agregados supramoleculares (RAMATHAN et al., 2014), nanomateriais funcionais (MAURIN-PASTUREL et al., 2014), catálises (KUMAR; JOSEPH; PHANI, 2007), baterias (GOODENOUGH; KIM, 2010) e nas ciências e tecnologia (bio) médicas (ARIGA et al., 2016; HOWORKA, 2013).

Devido à flexibilidade e reversibilidade, os agregados supramoleculares dinâmicos são geralmente vantajosos comparados aos materiais sintetizados por ligações covalentes. A fim de garantir propriedades de auto-reparação, os designs supramoleculares não covalentes são vantajosos, já que a ligação reversível permite um ajuste dinâmico da adesão e da capacidade de auto-reparação. Tal abordagem pode ser aplicada a muitos materiais importantes dentre eles géis e materiais para revestimento de superfícies (ARIGA et al., 2016).

Sistemas responsivos a estímulos têm recebido também muita atenção liderando as principais pesquisas na área de agregados supramoleculares dinâmicos, como por exemplo cristais líquidos colestéricos responsivos à luz (EELKEMA, 2011). Esses agregados supramoleculares dinâmicos podem ser excelentes carreadores de moléculas tais como fármacos. Callan e colaboradores (SWAMINATHAN et al., 2014) sintetizaram um sistema anfifílico a partir de cadeias hidrofílicas decílicas e hidrofóbicas oligo (etilenoglicol). O anfifílico resultante se agregava em nanopartículas capazes de aprisionar moléculas pequenas em seu núcleo hidrofóbico. Nesse caso as nanopartículas foram capazes de acomodar tanto doadores quanto aceptores e mesmo quando estes encontravam-se aprisionados em nanopartículas carreadoras diferentes, a troca de hospedeiros entre os carreados ainda ocorria de maneira eficiente (ARIGA et al., 2016). Os resultados obtidos sugeriram que a troca de carga da nanopartícula pode ocorrer mesmo depois da internalização, o que pode fazer desses sistemas úteis para a liberação independente ou complementar de fármacos até as células.

A auto-montagem de supra-anfifílicos envolvendo lipídeos ou proteínas mimetizam a estrutura dos sistemas biológicos, destacando assim a necessidade fundamental de um entendimento físico da auto-montagem do anfifílico, a fim de

compreender os mecanismos complexos que operam na natureza. O design multifuncional de nanoestruturas pelo conceito da nanoarquitetônica utiliza esse simples processo de montagem. Microestruturas auto-montadas de um tensoativo não iônico, tetraglicerol lauriléter, ($C_{12}G_4$), biocompatíveis e biodegradáveis em um meio aquoso foram sintetizadas e a caracterização espectroscópica mostrou uma forte evidência da auto-montagem de estruturas tais como micelas normais, cristal líquido hexagonal e micelas reversas estáveis até pelo menos 100 °C, demonstrando a ótima estabilidade térmica dessas mesofases auto-montadas. O formato e tamanho dessas micelas foram avaliados e permaneceram aparentemente inalterados em um amplo intervalo de concentrações, até 20% (SHRESTHA et al., 2015).

Aono e colaboradores (2012) criaram o termo nanoarquitetônica para expressar uma inovação na nanotecnologia. Ele engloba a tecnologia que permite o arranjo estrutural das unidades em nanoescala, seja um grupo de átomos, moléculas ou componentes funcionais em uma configuração que cria uma nova funcionalidade através de interações mútuas entre essas unidades. A nanoarquitetônica é classificada em duas abordagens hierárquicas de desenvolvimento de materiais, a nano criação, que está relacionado à construção de materiais inexistentes na natureza e a nano organização, que está relacionada à tecnologia envolvida na funcionalidade do material.

1.4 Aplicações envolvendo a química supramolecular

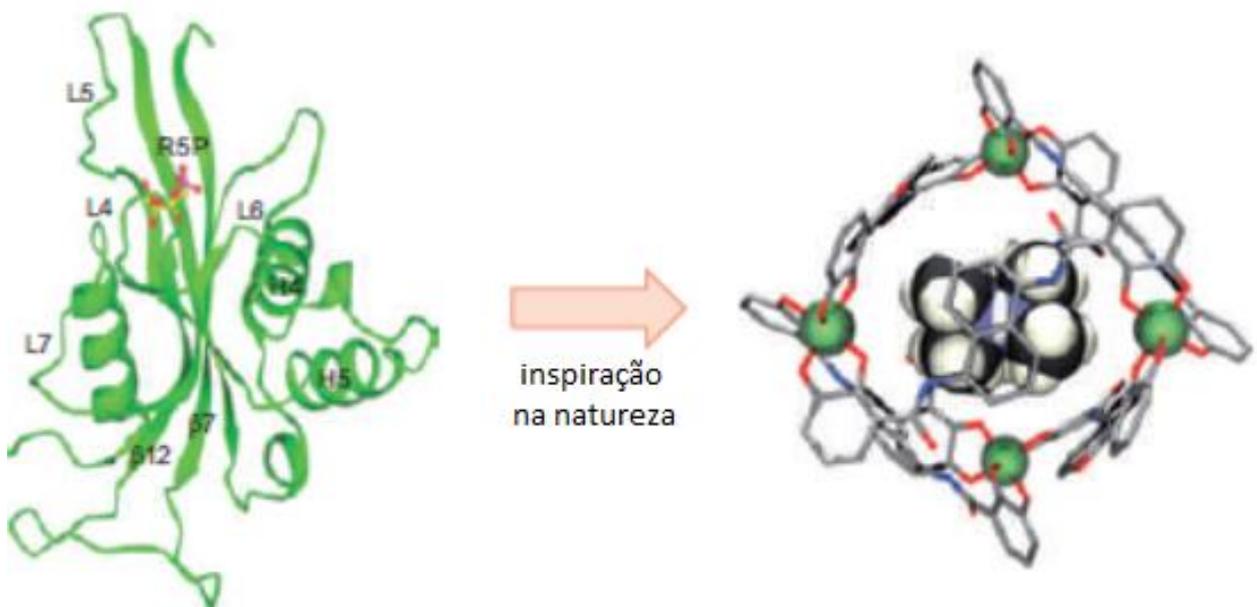
Os princípios da química supramolecular vêm sendo aplicados como base para o desenvolvimento de novos materiais (AMABILINO; SMITH; STEED, 2017). Além disso, a maioria das abordagens em nanotecnologia mais recentes são baseadas em química supramolecular (MATTIA; OTTO, 2015; ZHANG et al., 2016).

a) catálise supramolecular

Assim como a natureza foi a principal inspiração no desenvolvimento da química supramolecular, com a catálise não foi diferente, já que as enzimas tem sido os protótipos naturais para o delineamento dos catalisadores supramoleculares

(Figura 5). Como consequência disso, muito esforço tem sido colocado a fim de construir sistemas nos quais um receptor é conectado a um sítio ativo, com o objetivo de mimetizar a catálise enzimática, geralmente envolvendo reações típicas das que são conduzidas por enzimas (MEEUWISSEN; REEK, 2010).

Figura 5 - Protótipos naturais para o delineamento de catalisadores supramoleculares.



Fonte: Adaptado de Pluth et al. (2007).

Um catalisador metálico ou um organocatalisador e o substrato(s) estão normalmente envolvidos no processo catalítico. O controle do processo em termos de reatividade e seletividade depende da interação mútua estabelecida entre esses parceiros ao longo do ciclo catalítico. As interações não covalentes, principalmente as ligações de hidrogênio, interação eletrostática e hidrofóbicas, são interações reversíveis que podem permitir um ajuste fino das propriedades de um determinado sistema catalítico (HUNTER, 2004; RAYNAL et al., 2013).

Até pouco tempo atrás, a construção de um catalisador metálico se referia somente à coordenação de um ou mais ligantes com estrutura unicamente covalente com o metal central. Atualmente, as interações supramoleculares têm sido utilizadas

na auto-montagem de ligantes e esfera de coordenação dos catalisadores metálicos (RAYNAL et al., 2013).

No delineamento de estruturas auto-montadas para aplicações em catálise, o desenvolvimento de estruturas hospedeiras maiores e mais sofisticadas é considerado um avanço importante. Para hospedeiros orgânicos, essa abordagem tem sido relatada em diversos trabalhos (GOUDRIAAN et al., 2008; MEEUWISSEN; REEK, 2010; RAYNAL et al., 2013) cujo processo de auto-montagem se dá principalmente por ligações de hidrogênio. Uma abordagem complementar a essa se baseia na utilização de ligações metal-ligante na construção de estruturas hospedeiras em nanoescala. A coordenação metal-ligante lábil permite que a estrutura mais termodinamicamente estável se forme, excluindo assim estruturas com geometria ou estequiometria desfavoráveis (RAYNAL et al., 2013).

Os exemplos dentro dessa perspectiva destacam que além dos desafios de entender e mimetizar os sistemas biológicos, como as enzimas, novas possibilidades têm surgido no que tange a catálise e a química supramolecular e apesar de ainda no início de seu desenvolvimento, diversas reações e catalisadores supramoleculares tem emergido com propriedades superiores aos catalisadores já existentes (MEEUWISSEN; REEK, 2010).

b) Química verde

Sistemas anfífilos supramoleculares que surgem a partir de recursos renováveis têm atraído bastante interesse principalmente por serem compostos ambientalmente amigáveis.

As pesquisas em química supramolecular têm uma vertente voltada à química verde, já que muitas reações se desenvolvem no estado sólido e direcionadas por interações não covalentes, o que é altamente desejável já que reduzem a necessidade de solvente durante o processo (MANNA, 2013).

A química supramolecular vem ainda sendo bastante apreciada na indústria farmacêutica, já que permite o entendimento de interações fármaco-receptor bem como o desenvolvimento de novas terapias. O objetivo da indústria farmacêutica em produzir processos mais verdes tem ganhado mais atenção desde a pesquisa e desenvolvimento até a produção e dentre várias possibilidades, o desenvolvimento de

processos livres de solvente ou usando água tem sido uma alternativa eficaz (BARON, 2012).

Machut e colaboradores (2010) demonstraram que sistemas supra-anfifílicos puderam ser facilmente obtidos a partir de derivados desses recursos renováveis. Além disso, os derivados de sorbitol utilizados em seu trabalho formaram complexos bem definidos com a β -CD e tais complexos exibiram um comportamento tensoativo observado por dados experimentais que mostraram redução significativa na tensão superficial da água pura de 72 mN m^{-1} a valores entre 32 e 42 mN m^{-1} .

c) Dispositivos eletrônicos

Há atualmente um grande interesse no desenvolvimento de dispositivos eletrônicos moleculares e particularmente a facilidade de construção de arquiteturas condutivas. A maioria das pesquisas nessa esfera tem focado principalmente em duas áreas relativas a nanoeletrônicos e polímeros eletrônicos. Tais arquiteturas de tamanho nanométrico são capazes de transporte eletrônico direcional e de longo alcance (HIRST et al., 2008; MEIJER; SCHENNING, 2002).

O tema principal dessas áreas, além da modificação básica do grupo funcional, tem sido o estabelecimento de ordenação supramolecular na escala de operação requerida em eletrônicos orgânicos. Posto isso, surgem dois tópicos desafiadores a serem superados. O primeiro deles é a síntese de moléculas que são capazes de possuir alguma funcionalidade, o que para isso deve-se ater à rigidez estrutural de modo a reduzir defeitos conformacionais e continuidade eletrônica, propiciando ininterruptos canais necessários para a comunicação eletrônica. Apesar de parecerem simplista, qualquer esforço para que esse caminho seja bem-sucedido necessita o design de moléculas com dimensões e tamanho precisos e ao mesmo tempo lidar com sínteses complexas (JAIN; GEORGE, 2015).

O segundo desafio trata da utilização de moléculas π -conjugadas eletronicamente ativas que se auto-montam unidas entre si, pela modulação das forças não covalentes. Tal abordagem é simples, do ponto de vista da síntese mas tem que lidar com o desafio de superar a dinâmica complexa das forças não covalentes. A estratégia usada pelos pesquisadores nesse caso tem sido a utilização de interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e interações π - π de maneira

combinada, mesmo que isso custe muitas vezes agregação aleatórias das moléculas em diferentes níveis hierárquicos. Entretanto, tal procedimento resulta em alta polidispersão a nível supramolecular, fazendo com que as propriedades eletrônicas fiquem muito aquém, devido a defeitos no empacotamento dessas estruturas auto-montadas, o que torna evidente que a monodispersão na síntese supramolecular seja bastante desejada. Com isso, o controle dos tamanhos de agregados, ou seja, a monodispersividade, a tradução de uma ordem supramolecular em escala nano para uma escala global no dispositivo, bem como controle da separação molecular a fim de permitir domínios separados para comunicação eletrônica tem sido os principais interesses dessa área até o momento (JAIN; GEORGE, 2015).

O uso da auto-montagem quimicamente programada é útil na criação de nanofios a partir de praticamente qualquer sistema π -conjugado, oligomérico ou polimérico. Dentre os componentes sintéticos mais promissores para a criação de dispositivos (opto) eletrônicos estão inclusos oligômeros (GIERSCHNER; CORNIL; EGELHAAF, 2007; JAIN; GEORGE, 2015), ftalocianinas (HANACK; LANG, 1994; HIRST et al., 2008) e os tetrathiafulvalenos (TTFs) (HIRST et al., 2008; SEGURA; MARTIN, 2001). As propriedades e desempenho desses materiais, no entanto, depende tanto da estrutura eletrônica das moléculas em si quanto da organização espacial precisa dos componentes com estrutura geométrica bem definida em relação às moléculas vizinhas (HIRST et al., 2008; MEIJER; SCHENNING, 2002; SCHENNING; MEIJER, 2005).

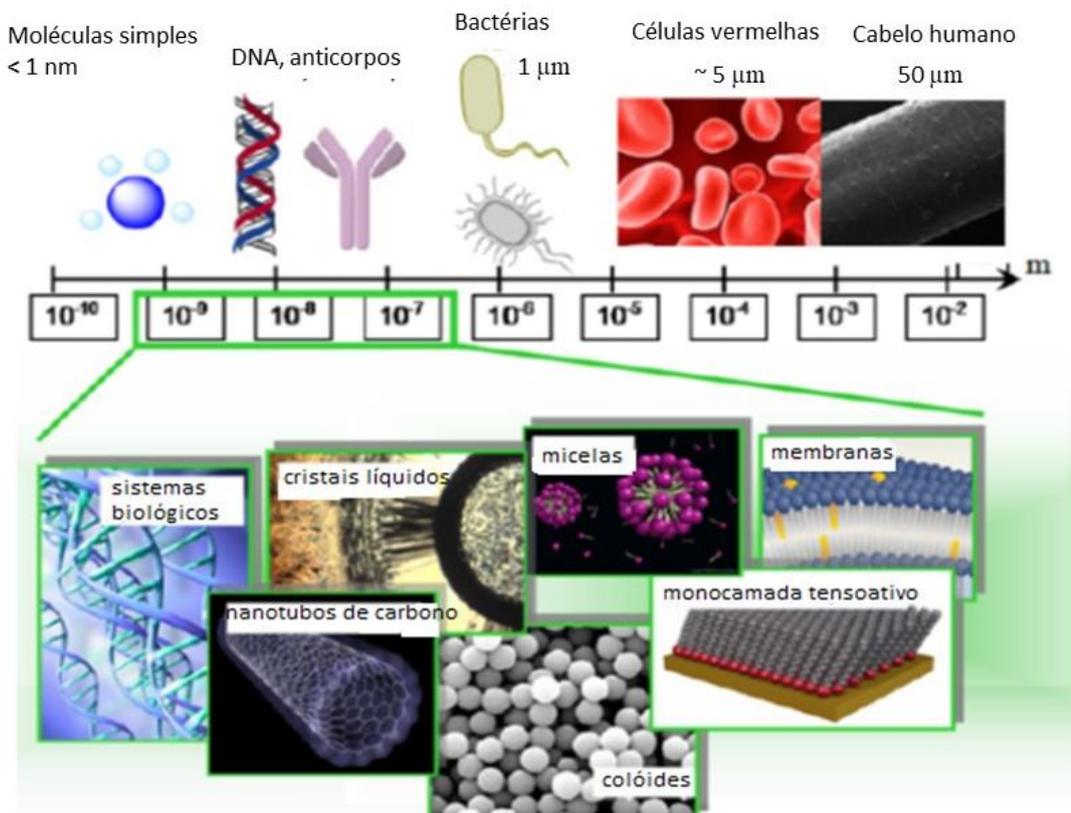
Ainda que os pesquisadores tenham avançado quanto ao controle de dispersão e dinâmica da auto-montagem dessas nanoestruturas, a questão mais desafiadora remanescente é controlar a separação dos domínios a nível supramolecular e controlar ainda a aleatoriedade na orientação dessas estruturas. Uma das estratégias tem sido a síntese de sistemas anfifílicos. Tradicionalmente, os sistemas anfifílicos têm sido constituídos por agregados em água. Estudos recentes, entretanto, têm trazido um novo olhar sobre esses materiais e a respeito do controle da organização de moléculas π -conjugadas (HOLLAMBY et al., 2014; JAIN; GEORGE, 2015; SCHENNING; GEORGE, 2014).

d) Medicina

O conceito de auto-montagem por si só tem muito a oferecer a áreas como química e biologia. Desse ponto de vista, a auto-montagem é uma das estratégias mais importantes utilizadas pela biologia para o desenvolvimento de estruturas complexas e funcionais. É possível obter estruturas com capacidade de auto-regeneração, por exemplo pela incorporação de estruturas biológicas como blocos de construção de um sistema (ANSARIAN et al., 2008).

A manipulação e controle de materiais químicos ou biológicos em nanoescala, objeto de estudo da nanociência, abrange sistemas biológicos supramoleculares naturais, tais como membranas celulósicas, proteínas e ácidos nucleicos; materiais supramoleculares nanoestruturados sintéticos, como os nanotubos de carbono e cristais líquidos, bem como sistemas supramoleculares baseados em colóides, dentre eles as micelas e lipossomas (Figura 6) (PENON; RODRIGUES; PÉREZ-GARCÍA, 2013).

Figura 6 - Sistemas diversos e materiais *soft* em escalas de tamanho.



Fonte: Adaptado de Penon; Rodrigues; Pérez-García, 2013.

A abordagem supramolecular de muitos sistemas em química medicinal tem permitido, portanto, que a nanotecnologia aproxime ainda mais áreas como a biologia moderna e a medicina (SMITH, 2005).

Recentemente, tem crescido também o foco em inúmeras doenças graves que surgem por um caminho supramolecular. Uma de particular interesse, a doença de Alzheimer, é causada pela agregação de proteínas em espaços extracelulares no cérebro. Esses agregados proteicos são responsáveis pelos efeitos de perda da função mental e essa doença ocorre quando a proteína envolvida sofre uma mutação e se enovela de uma maneira diferente. As proteínas então, em vez de realizarem o seu papel normal, formam agregados mediados por interações supramoleculares e são essas fibras ou placas de agregados proteicos que causam danos ao cérebro (SMITH, 2005).

É interessante observar que muitas moléculas desenvolvidas sob a ótica da química supramolecular ilustram também a habilidade de se montarem em estruturas fibrilares. Ainda assim, pequenas modificações químicas nos blocos de construção usados na montagem dessas fibras podem transformar drasticamente a formação da fibra, tanto pela inibição da agregação molecular quanto pela modificação da estrutura do agregado resultante como um todo (ESCH; FERINGA, 2000; HIRST et al., 2003; SMITH, 2005). Fazendo uma analogia com o discutido acima sobre a doença de Alzheimer, polímeros supramoleculares pequenos e solúveis se formam inicialmente e esses vão se montar formando os agregados fibrilares insolúveis. Nesse sentido, a abordagem com base na química supramolecular se faz útil tanto na proposição de modelos de desenvolvimento de doenças quanto na habilidade de desenvolvimento de novas moléculas biologicamente ativas que atuem de maneira eficiente em tal processo (SMITH, 2005).

Em termos de tecnologia farmacêutica muitos avanços têm sido observados, utilizando-se de nanomateriais designados como nanocarreadores multifuncionais, realizando funções de liberação do fármaco em alvos mais específicos e seletivos. O estudo de tais carreadores como sistemas de liberação inclui desde lipossomas, polímeros e micelas até nanopartículas paramagnéticas e nanotubos de carbono (PENON; RODRIGUES; PÉREZ-GARCÍA, 2013). No campo de liberação de fármacos estratégias que permitam, por exemplo, a otimização da eficácia terapêutica, redução da dose administrada ou da frequência de administração e melhora da adesão terapêutica pelo paciente devem ser consideradas. A versatilidade advinda do

delineamento com base em química supramolecular fornece caminhos para que esses objetivos sejam alcançados em uma abordagem racional (WEBBER; LANGER, 2017).

Uma outra abordagem interessante na área de química supramolecular envolvendo liberação de fármacos é a utilização dos materiais supramoleculares sendo eles mesmos os agentes ativos, o que leva a uma função “*drug-like*” emergente desses ordenados supramoleculares. Os benefícios dessa abordagem advêm principalmente do uso de unidades molecularmente discretas e definidas de composição conhecida atuando como o bioativo. Enquanto que os materiais supramoleculares necessitam múltiplos componentes trabalhando em sinergismo e em razões definidas para a solubilização ou liberação controladas de ingredientes ativos, a utilização do material em si como o bioativo terapêutico consegue superar esses obstáculos (WEBBER; LANGER, 2017).

1.5 Auto-montagem supramolecular em água

A água é uma molécula singular, que além de fornecer o ambiente para a vida ainda media, regula e controla muitos processos na natureza. As moléculas de água formam uma infinita rede dinâmica de ligações de hidrogênio localizadas e estruturadas. Esse processo bastante favorável é a razão principal pela qual o efeito hidrofóbico ocorre: moléculas de óleo e água se atraem, entretanto, não tão forte como as moléculas de água atraem umas às outras. Em contrapartida, moléculas polares são fortemente hidratadas pela água e participam na rede de ligações de hidrogênio, o que influencia as propriedades das espécies solvatadas. Essas propriedades da água estão relacionadas com dois dos principais desafios da química supramolecular em meio aquoso, a saber, como obter alta solubilidade em água e como evitar, minimizar ou explorar o forte envolvimento da água nos processos não covalentes (OSHOVSKY; REINHOUDT; VERBOOM, 2007).

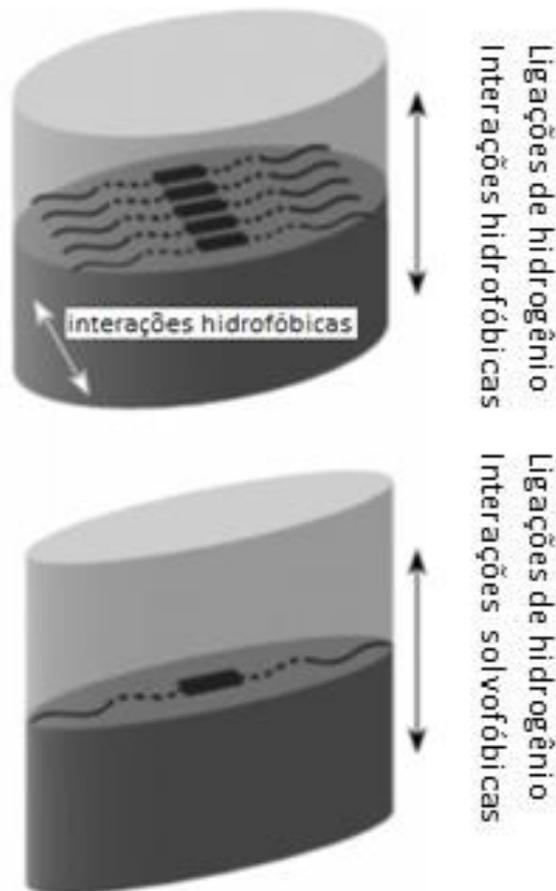
Por ser um solvente complexo, cuja física é um campo fértil da ciência, estratégias no sentido de construir estruturas supramoleculares que possam suportar a natureza dinâmica e competitiva em um ambiente aquoso, ainda é bastante explorada. Estruturas que se montam com base em ligações de hidrogênio precisam ser consideradas quanto à estabilidade e competição em meio aquoso. Sistemas sintéticos construídos com base em ligações de hidrogênio fornecem a possibilidade de ajuste das interações resultantes através do design molecular. Por exemplo, ao

introduzir funcionalidades que desestabilizam as estruturas mantidas por ligação de hidrogênio ou que as reforçam através da multivalência. Entretanto, em ambiente apolar ou aquoso, as interações como ligação de hidrogênio podem apresentar-se enfraquecidas devido à competição (ZAYED et al., 2010).

Agregados anfífilos de bis-ureia são capazes de se auto-montar em estruturas ordenadas, graças às ligações de hidrogênio, tanto em água como em solventes orgânicos (OBERT et al., 2007). As unidades de bis-ureia foram delineadas para aumentar a solubilidade em água das espécies orgânicas enquanto cria um bolsão hidrofóbico ao redor da ureia. A blindagem dos componentes mantidos por ligações de hidrogênio das moléculas competitivas de água é uma estratégia interessante para promover a formação de estruturas ordenadas e mantidas por ligações de hidrogênio em meio aquoso (ZAYED et al., 2010)

As bis-ureias anfífilas são capazes de se auto-montarem de maneira diferente em água e em solvente orgânico polar (Figura 7). Os efeitos hidrofóbicos desempenham um papel dominante em água, dirigindo entropicamente as bis-ureias a se compactarem lateralmente enquanto que as ligações de hidrogênio promovem o empilhamento vertical, guiado pela entalpia (ZAYED et al., 2010).

Figura 7 - Agregação da unidade anfifílica de bis-ureia em diferentes solventes. (A) Em água, as ligações de hidrogênio estão dispostas ao longo da direção do filamento. As interações solvofóbicas são responsáveis pelo empacotamento lateral das moléculas. Em acetonitrila (B) elas não suficientemente fortes.



Fonte: Adaptado de Obert et al. (2007) e Zayed et al. (2010).

Em adição às interações doador-aceptor de ligações de hidrogênio que ocorrem em sinergia, a proximidade espacial é também importante para estabilidade em meio aquoso. É nítido que as estruturas ordenadas por ligações de hidrogênio têm sido construídas com sucesso, superando os desafios da natureza dinâmica e competitiva do ambiente aquoso. A estratégia chave no sentido de preservar essas estruturas é a criação dos bolsões hidrofóbicos que servem para realçar as ligações de hidrogênio entre as estruturas montadas. Tal estratégia pode ser atingida através do design molecular, isolando as unidades ou através da ação natural desse meio

como resultado do empilhamento formado e guiado pela entropia o que visa minimizar a exposição dessas unidades a moléculas competitivas de água (ZAYED et al., 2010).

A abordagem de Krieg e Rybtchinski (2011) para obtenção de materiais supramoleculares perpassa primeiro pelo design racional dos blocos de construção moleculares e em seguida pela auto-montagem dessas moléculas em estruturas supramoleculares. A fim de obter arquiteturas supramoleculares em nanoescala, a separação de fases macroscópica entre os agregados moleculares e o meio (precipitação) deve ser superada. Por essa razão, os grupos hidrofílicos são incorporados nos blocos de construção moleculares, gerando um sistema anfifílico. A auto-montagem de sistemas anfifílicos é altamente governada pelo tamanho dos grupos hidrofílico e hidrofóbico, a solvatação do grupo hidrofílico e a geometria da porção hidrofóbica.

Interações não covalentes em água são essenciais na elucidação de sistemas biológicos de natureza estrutural complexa, além de mediar padrões de reconhecimento molecular. As de interações não covalentes terem sido empregadas na criação de materiais supramoleculares em meio aquoso tais como hidrogéis e membranas e as interações hidrofóbicas têm sido relacionadas à mudança de propriedades em um sistema, o que remonta a ideia de que interações em água não podem ser generalizadas e descritas em termos de interações “fracas”, mas sim tais interações retêm características adaptativas, além de permitir uma síntese menos complexa e capacidade de auto-reparação dos materiais. Importante também é que a cinética lenta da auto-montagem dos sistemas em água pode ser benéfica na caracterização desses materiais, permitindo a observação direta das transições morfológicas (WEISSMAN; RYBTCHINSKI, 2012).

No trabalho de Liao et al (2016) a investigação do mecanismo de auto-montagem de anfifílicos, envolvendo um peptídeo (NapFFKYp), em nanofibras foi investigado através da combinação de dados experimentais e métodos de simulação. Para explorar o efeito da água na formação da nanofolha eles avaliaram a imagem da estrutura antes e após adição de água e evidenciaram que essa adição foi a responsável pela transformação das nanofolhas em nanofibras. Quando a água foi adicionada, observou-se uma tendência da porção hidrofílica em ser circundada pela água e formar então a nanofibra (Figura 8).

Figura 8 - Exemplo da transformação da estrutura em nanofibras, após adição de água.



Fonte: Adaptado de Liao et al. (2016).

Como resultado essa estrutura é então a que permaneceu estável em água. Tais resultados evidenciaram uma forte interação hidrofóbica na nanofibra e o processo de auto-montagem dominado pelas interações hidrofóbicas e interações iônicas foi também evidenciado posteriormente por simulação molecular (LIAO et al., 2016).

1.6 Sistemas supra-anfifílicos

Anfifílicos são moléculas constituídas tanto por uma porção hidrofílica quanto por uma hidrofóbica as quais são ligadas entre si por ligações covalentes. As mais variadas formas que as porções hidrofílicas e hidrofóbicas são covalentemente ligadas conduzem a diferentes topologias. O estudo dessas moléculas anfifílicas convencionais, de suas sínteses e propriedades revelam tanto detalhes sobre a microestrutura de tais sistemas como também impulsiona o surgimento de diversas aplicações, como detergentes, emulsificantes, sistemas de liberação de fármacos, entre outros. Os sistemas anfifílicos sempre foram e ainda serão o futuro das pesquisas em ciência coloidal e interface (KANG; LIU; ZHANG, 2014).

Em contraste a esses anfifílicos convencionais, os supra-anfifílicos são formados com base em interações não covalentes e ligações covalentes dinâmicas. As ligações covalentes dinâmicas e reversíveis tais como imina e ligações dissulfeto,

que são similares a interações não covalentes sob certas condições, também podem ser usadas na formação de supra-anfifílicos. Os blocos de construção de supra-anfifílicos podem variar desde moléculas sintéticas até naturais, desde moléculas pequenas até componentes poliméricos. Além disso, os sistemas supra-anfifílicos podem funcionar como novos blocos de construção capazes de se auto-montar e desmontar, levando à materiais supramoleculares de arquiteturas e funcionalidade desejadas (KANG; LIU; ZHANG, 2014; ZANG; WANG, 2011).

A natureza dinâmica das interações não covalentes e das ligações covalentes dinâmicas faz com que os supra-anfifílicos possuam inúmeras vantagens. As longas e tediosas sínteses são reduzidas, moléculas funcionais podem ser facilmente introduzidas nesses sistemas fazendo com que estes possam ser sensíveis a estímulos externos. Ainda mais, a fabricação de supra-anfifílicos pode ser considerada a primeira etapa de montagem do sistema e os sistemas supra-anfifílicos resultantes podem ser utilizados como os blocos de construção de estruturas montadas, ordenadas hierarquicamente, fornecendo mais possibilidades para o ajuste de suas funcionalidades (KANG; LIU; ZHANG, 2014).

1.6.1 Síntese não-covalente de anfifílicos

A síntese de sistemas supra anfifílicos pode ser discutida com base no tipo de força dirigente envolvida, no entanto, deve ser mencionado que em muitos casos esses sistemas são formados não só por uma, mas por diferentes interações combinadas, apesar de uma geralmente desempenhar o papel principal.

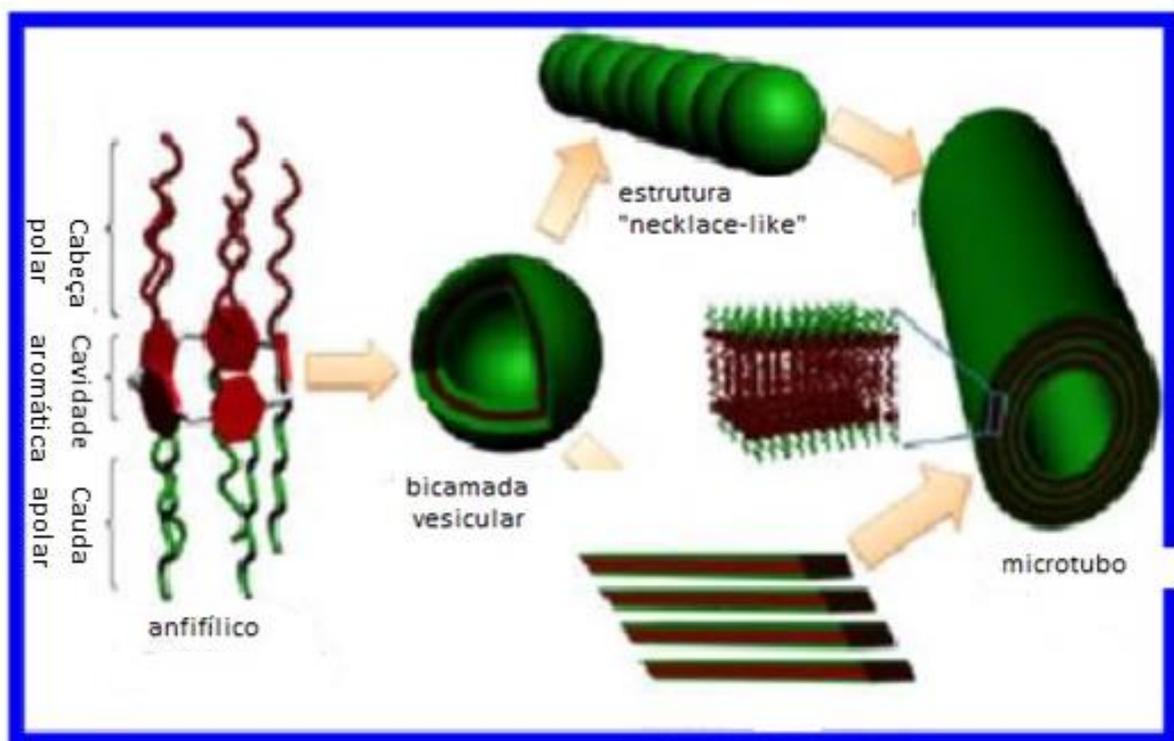
Apesar do caráter fraco das interações envolvidas na auto-montagem dos anfifílicos, um número relevante dessas interações irá produzir um efeito total forte o suficiente para manter as moléculas anfifílicas unidas bem como manter a estabilidade em solução. Além disso, o fato dessas interações não serem tão fortes faz com que essas estruturas sejam mais flexíveis fazendo desse sistema capaz de suportar menores perturbações e ainda preservar a reversibilidade da estrutura auto-montada (LOMBARDO et al., 2015).

a) Ligação de hidrogênio

Devido à estabilidade, dinâmica e direcionalidade, a ligação de hidrogênio é uma das mais amplamente utilizadas em termos de interação entre os materiais supramoleculares. Além desses, diversos materiais supramoleculares possuem grupos funcionais que os permitem realizar ligações de hidrogênio, os quais desempenham papel de destaque no reconhecimento molecular, auto-montagem molecular e consequente formação da estrutura supramolecular (KATO; FRÉCHET, 1995).

As ligações de hidrogênio foram a base para o sistema anfifílico sintetizado por Yao et al (2012). Esses sistemas se auto-montavam e formavam vesículas e microtubos em água (Figura 9).

Figura 9 - Esquema do processo de auto-montagem do anfifílico pillar[5]areno (1) em microtubos.



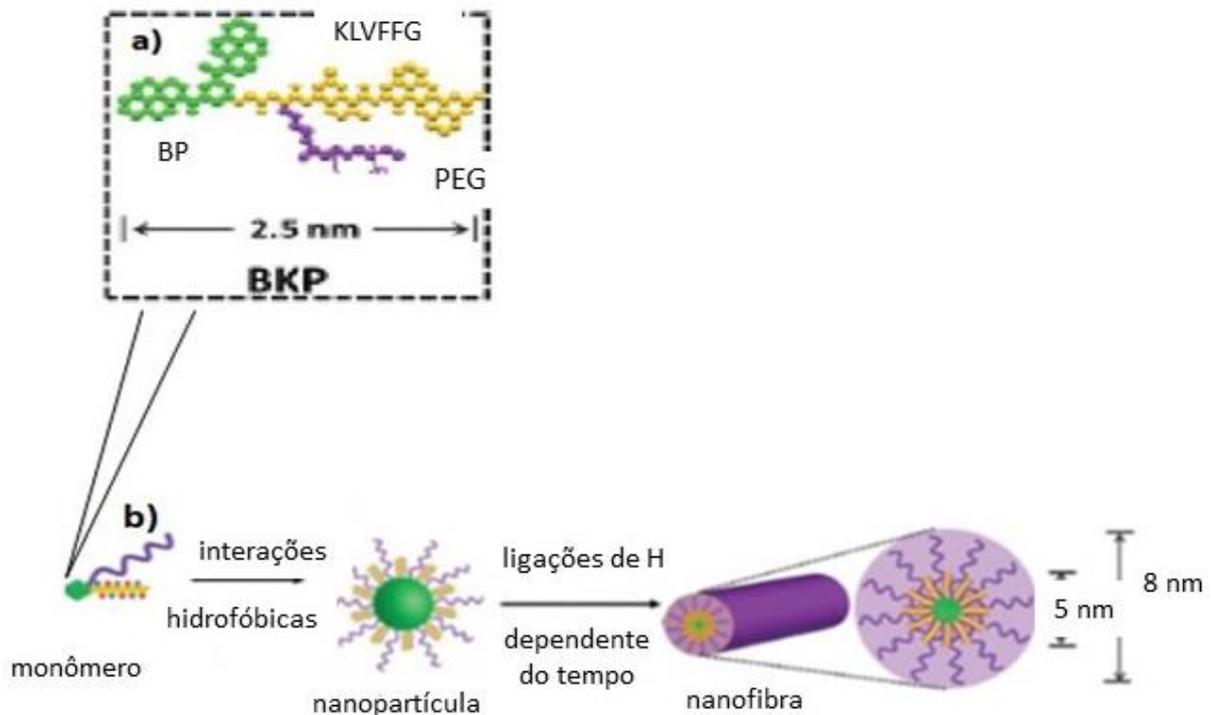
Fonte: Adaptado de Yao et al. (2012).

O mecanismo provável de formação desses microtubos é que as moléculas do anfifílico pillar[5]areno inicialmente passam por empacotamento formando a bicamada vesicular. Em sequência, alguns desses arranjos são transformados em estruturas

com empacotamento “*necklace-like*” quando estão mais próximas umas das outras, enquanto que outras vesículas se fundiam em vesículas maiores com uma nova estrutura devido ao rompimento das vesículas maiores. As estruturas “*necklace-like*” se fundiam mais tarde formando os microtubos ao passo que as outras estruturas se enovelavam por meio de ligações de hidrogênio, o que também levou ao surgimento dos microtubos. Além disso, ligações de hidrogênio entre os grupos amino e acilaminos contribuíram para a geração dos microtubos e estabilidade das arquiteturas resultantes (YAO et al., 2012).

No trabalho de Yang et al (2016), através de ligações de hidrogênio, blocos de construção BKP, compostos de um bis-pireno, uma porção capaz de realizar ligações de hidrogênio e uma cadeia de PEG hidrofílica, se auto-montaram em nanopartículas e em seguida em nanofibras (Figura 10). A organização das nanopartículas em nanofibras foi afetada pelas propriedades da superfície das nanopartículas e pelas ligações de hidrogênio internas. Quanto maiores as cadeias de PEG, maior a hidrofiliabilidade da molécula de BKP e mais rápido as fibras se formaram, induzidas pelas ligações de hidrogênio. Além disso, com o aumento da massa molecular de PEG, a repulsão inter-cadeias aumentou, o que pode ter desempenhado um papel importante na nova morfologia.

Figura 10 - Representação esquemática de moléculas BKP (a) e processo de transformação morfológica dos agregados de BKP (b).



Fonte: Adaptado de Yang et al. (2016).

A auto-montagem de BKP em nanofibras de maneira geral ocorreu devido a interações tanto das ligações de hidrogênio como de interações hidrofóbicas e π - π .

O papel das ligações de hidrogênio no comportamento de fase de dímeros supramoleculares líquido-cristalinos foi reportado por Martínez-Felipe e Imrie (2015). Por ser uma ferramenta bastante versátil, o design de novos materiais líquido-cristalinos tendo como base os conceitos da química supramolecular tem crescido substancialmente. A força das ligações de hidrogênio permite a obtenção de materiais altamente estáveis termicamente, enquanto que o caráter não covalente dessas interações introduz a possibilidade de manipulação dessas estruturas através de estímulos externos tais como temperatura, solvente e concentração.

Esses autores avaliaram o papel das ligações de hidrogênio em determinar o comportamento transicional de misturas equimolares contendo um doador de ligação de hidrogênio baseado em um derivado de ácido benzoico e dois aceptores de ligação de hidrogênio contendo um fragmento piridil. Os resultados das análises espectroscópicas mostraram que a formação dos complexos não era quantitativa nas misturas, mas em vez disso uma mistura complexa existia acima do intervalo de

temperatura avaliado, envolvendo o complexo equimolar, os dímeros e moléculas livres de derivados ácido benzoico e piridil. O comportamento líquido cristalino foi atribuído, em parte, também à formação de ligações de hidrogênio em proporções equimolares entre os derivados de ácido benzoico e os derivados piridil (Martínez-Felipe; Imrie, 2015).

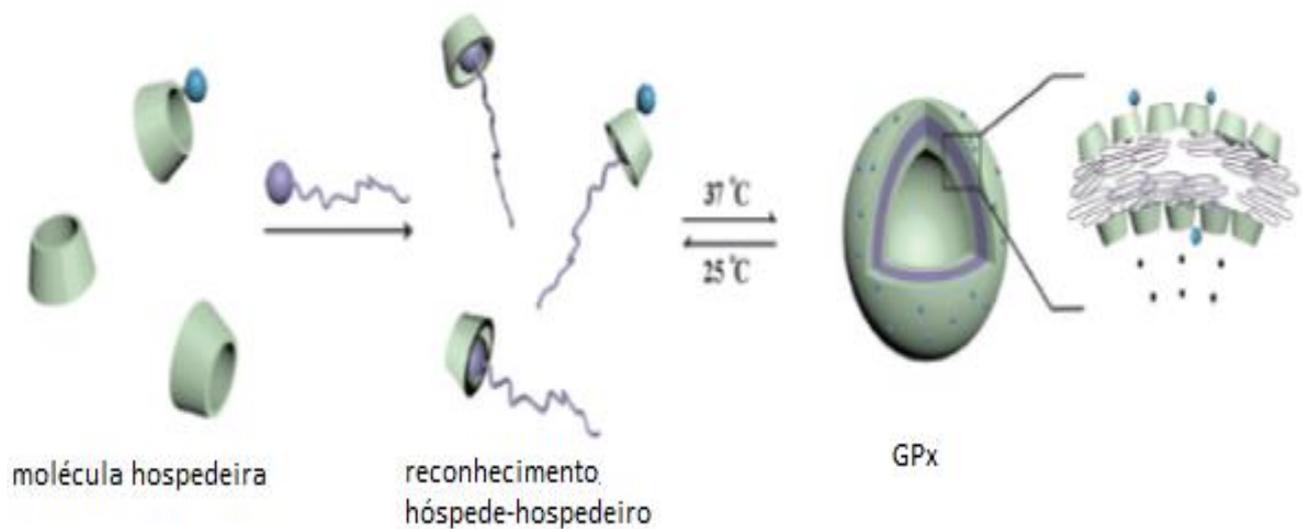
b) Reconhecimento hóspede-hospedeiro

Dentre todas as interações não covalentes utilizadas na fabricação de supra-anfifílicos, as interações hóspede-hospedeiro têm atraído atenção devido às suas constantes de ligação ajustáveis e efeitos eletrônico e estérico. O desenvolvimento de novas moléculas macrocíclicas hóspedes com alta solubilidade e força de ligação é muito importante nessa área. O trabalho de Zeng et al (2017) reportou o emprego de um areno solúvel em água como um bloco de construção de um supra-anfifílico. O corona[n]areno pode ser tanto lipo quanto hidrossolúvel, dependendo dos seus substituintes periféricos. Além de tudo, sua flexibilidade faz dele adaptativo ao tamanho e formato das moléculas hospedeiras. Esses autores demonstraram que as interações entre um hospedeiro, o corona[n]-areno (S6-CAP) e uma série de moléculas hóspedes, derivados de bis-quaternário de amônio (C_n DAs) em água, formam complexos hóspede-hospedeiro equimolares e suas constantes de ligação diminuem conforme o tamanho da cadeia alquila dos derivados de amônio aumentam. Além disso, o processo de ligação é dirigido pela entropia, enquanto que a mudança da entalpia desempenha um importante papel favorecendo as interações hóspede-hospedeiro. Alguns complexos formam ainda agregados micelares em água, sendo que tais sistemas possuíram melhores atividade de auto-montagem e estabilidade do que os blocos de construção por si mesmos.

Nas últimas décadas, progressos significantes têm sido feitos na racionalização das interações não covalentes e desenvolvimento de vários sistemas poliméricos com base na auto-montagem, incluindo micelas poliméricas a partir de blocos anfifílicos de co-polímeros. As ciclodextrinas são espécies ideais para o desenvolvimento de novos sistemas de auto-montagem baseado em interações hóspede-hospedeiro. A cavidade das CD em forma de cone pode agir como um hospedeiro para uma variedade de hóspedes macromoleculares (DONG et al., 2008).

Um supra-anfifílico termossensitivo baseado em interação hóspede-hospedeiro entre CD e derivados de adamantino (Ad) foi sintetizado por Zou e colaboradores (2015) a fim de construir um novo sistema artificial que mimetiza a glutathiona peroxidase (GPx). Nesse trabalho, o derivado de adamantino serviu como a molécula hóspede enquanto que a CD atuou como o hospedeiro no complexo (Figura 11).

Figura 11 - Representação do processo de auto-montagem com base no reconhecimento hóspede-hospedeiro e o comportamento termorresponsivo do sistema que mimetiza GPx.



Fonte: Adaptado de Zou et al. (2016).

Introduzindo-se suportes temporários (*scaffolds*) termossensitivos e a porção catalítica no Ad e CD, respectivamente, o complexo de CD catalítico funcionalizado, com a termossensitividade do Ad funcionalizado, direcionou a formação de uma vesícula supramolecular cuja ação mimetiza a de GPx a 37 °C. Além disso, a atividade catalítica do sistema GPx artificial pôde ser modulado reversivelmente pela temperatura.

Até o momento a maioria dos supra-anfifílicos macrocíclicos foram preparados utilizando a CD, com base nas interações hóspede-hospedeiro e supra-anfifílicos sintetizados a partir de outros derivados macrocíclicos tais como calixarenos e cucurbiturilas, por interações hóspede-hospedeiro, tem sido raramente reportados. Os pilararenos, são uma nova geração de hospedeiros macrocíclicos que têm sido empregados na construção de materiais supramoleculares funcionais, tais como

polímeros supramoleculares, devido à suas propriedades únicas e alta funcionalidade. (CHI et al., 2015; GUO; LIU, 2012; KIM et al., 2007).

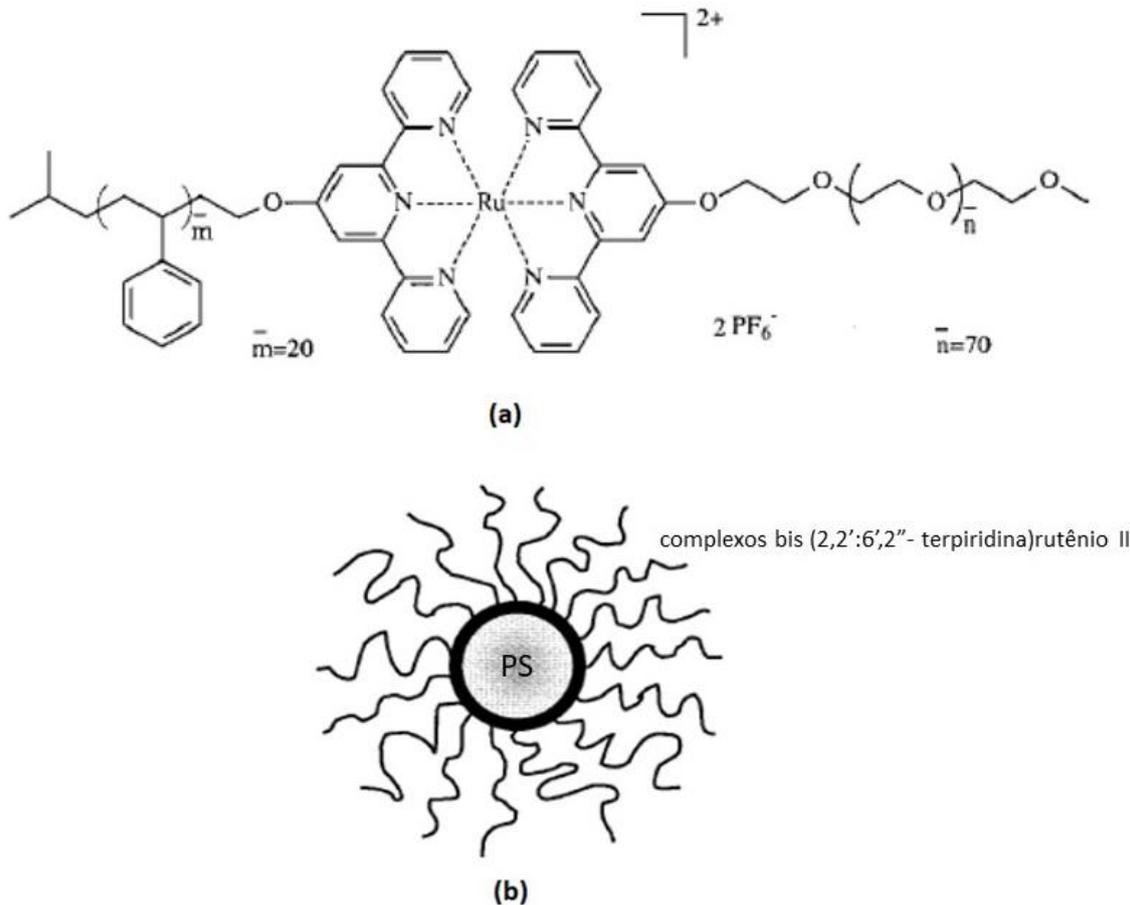
O trabalho desenvolvido por Chi e co-autores (2015) combina ciência dos polímeros com a química supramolecular do pilarareno a fim de construir materiais supramoleculares funcionais. Eles relataram o reconhecimento molecular de um sistema entre um pilar[7]-areno (WP7) solúvel em água e um derivado azobenzeno. Eles se utilizaram desse reconhecimento molecular para construir o primeiro supra-anfifílico poli-pseudorotaxano a base de pilarareno que podia se auto-montar e formar vesículas em meio aquoso. Devido à termoresponsividade de WP7 e a fotorresponsividade da unidade azobenzeno as transformações reversíveis entre as nanoesferas e vesículas puderam ser realizadas pelo ajuste da temperatura da solução ou da irradiação da luz UV-vis. Essa dupla responsividade rendeu a esse novo sistema aplicações práticas tal como o controle da liberação de moléculas hidrofílicas de corantes.

c) Interação metal-ligante

A coordenação metal-ligante é também uma força dirigente na síntese de sistemas supra-anfifílicos. Essas são um tipo de ligação não-covalente mais forte do que a maioria das interações intermoleculares, entretanto, sua reversibilidade faz dela um tipo de ligação supramolecular (ZHANG; WANG, 2011).

O uso de co-polímeros como blocos de construção para fabricação de sistemas supra-anfifílicos tem sido reportado na literatura (GOHY; LOHMEIJER; SCHUBERT, 2002). Um complexo metal-ligante foi usado como um ligante supramolecular entre os co-polímeros dos blocos de construção hidrofóbicos e hidrofílicos. Os polímeros metalossupramoleculares oferecem inúmeras vantagens, devido à reversibilidade das ligações, processo de auto-montagem e ainda a presença do metal na estrutura do co-polímero introduz propriedades redox, eletro e fotoquímica a esses compostos. Nesse trabalho, foi possível a formação de micelas a partir de co-polímeros metalossupramoleculares, que se mostraram estáveis nas condições experimentais de preparação e caracterização (Figura 12).

Figura 12 - Estrutura de PS20-[Ru]-PEO70 (poli(estireno)-[Ru]-poli(óxido de etileno)) (a) e representação esquemática das micelas PS20-[Ru]-PEO70 em água (b). Nessa figura um núcleo PS em cinza é rodeado por filamentos finos os quais são complexos bis (2,2':6',2''- terpiridina)rutênio II e uma coroa PEO.



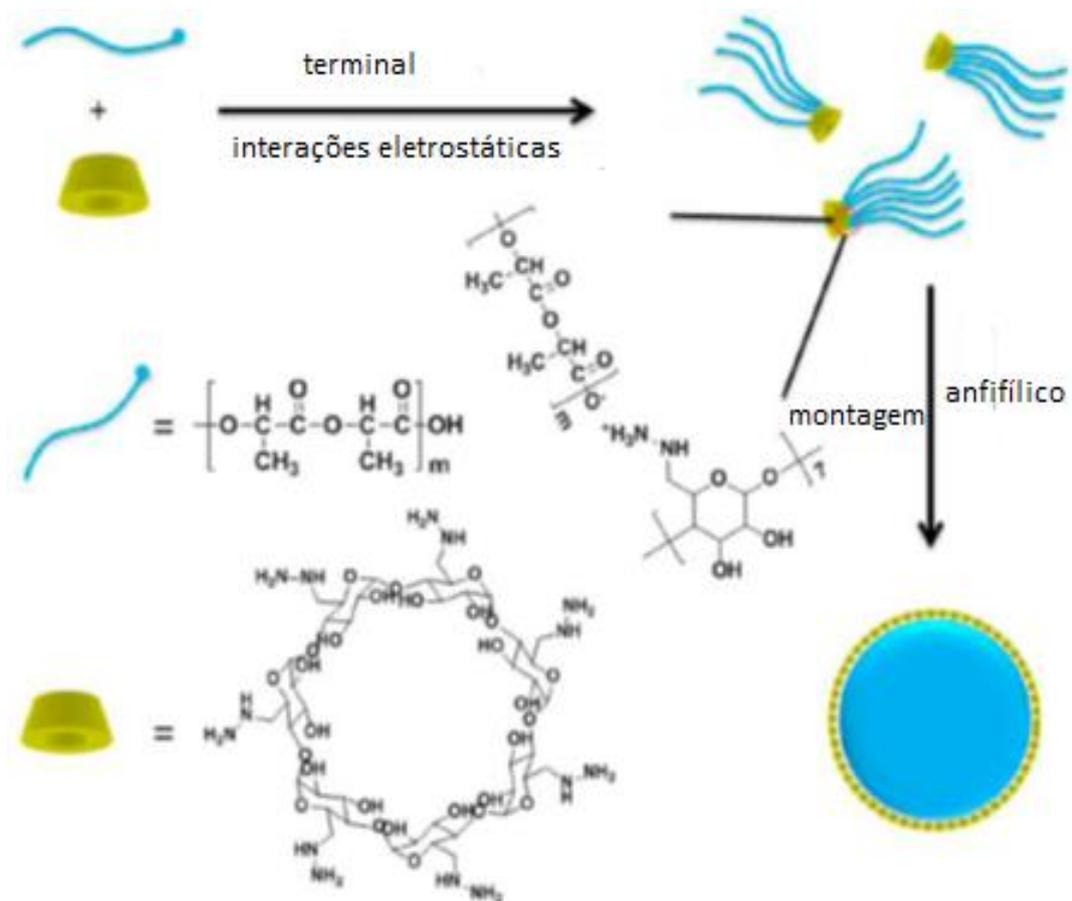
Fonte: Gohy; Lohmeijer; Schubert. (2002).

Um sistema supra-anfifílico de arquitetura supramolecular também foi reportado no trabalho de Wang e colaboradores (2015). O supra-anfifílico obtido por eles foi capaz de se auto-montar espontaneamente em nanopartículas ordenadas em água e emitir fluorescência mesmo em soluções mais diluídas devido ao efeito de emissão por agregação induzida (AIE). Tal supra-anfifílico à base de 1,2,2,-trifenilvinilbenzeno (TPE) apresentou características como biocompatibilidade e potencial promissor no campo de bioimagem.

d) Interações eletrostáticas

As interações eletrostáticas têm provado ser uma eficiente maneira de construir supra-anfifílicos. O trabalho de Liu et al (2014) reporta uma nova estratégia na construção de supra-anfifílicos, a partir da interação de grupos terminais eletrostáticos (TGEI) nos quais o terminal homopolímero carregado é usado na interação com ciclodextrinas modificadas.

Figura 13 - Representação esquemática da formação de micelas. Os grupos anfifílicos são construídos através de interação eletrostática entre os grupos carboxílicos ($-\text{COOH}$) do poliácido láctico e grupos amino ($-\text{NH}_2$) de ciclodextrinas modificadas. Em água essa molécula anfifílica pode se auto-montar em uma estrutura micelar núcleo-concha, cuja concha é constituída de ciclodextrinas.



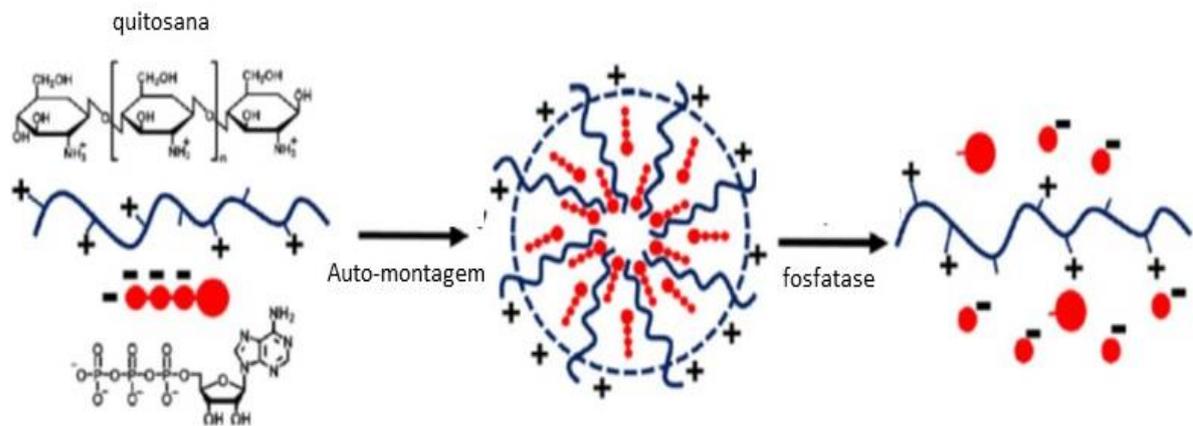
Fonte: Adaptado de Liu et al. (2014).

O anfifílico nesse caso se auto-montava em uma estrutura micelar (Figura 13) em solução aquosa. A superfície exterior da micela, a qual era composta pelas CDs, puderam ser, em seguida, modificadas através de interações do tipo hóspede-

hospedeiro. Devido a biocompatibilidade desses blocos de construção, os autores exploraram ainda a aplicação dessas micelas como um nanocarreador de fármacos anti-câncer.

Kang et al (2012) reportaram o uso de quitosana e adenosina trifosfato (ATP) como blocos de construção para a fabricação de um supra-anfifílico polimérico (Figura14).

Figura 14 - Representação esquemática da formação e degradação fosfatase-induzida do supra-anfifílico polimérico e agregados poliméricos.



Fonte: Adaptado de Kang et al. (2012).

No trabalho desses autores, o ATP foi designado para se associar com a quitosana e formar supra-anfifílicos poliméricos através de interações eletrostáticas. Como a razão entre ATP e quitosana variava, parte da quitosana estava associada ao ATP e parte remanesce catiônica e hidrofílica. Dessa forma o supra-anfifílico formado era responsável pela formação dos agregados quitosana-ATP por auto-montagem, fazendo da quitosana e do ATP blocos de construção naturais. O supra-anfifílico polimérico foi capaz de se auto-montar em água formando agregados responsivos a enzimas. Isso permitiu aos autores obterem sistemas mais biocompatíveis e a fabricação de sistemas enzima-responsivos em larga escala e de modo econômico.

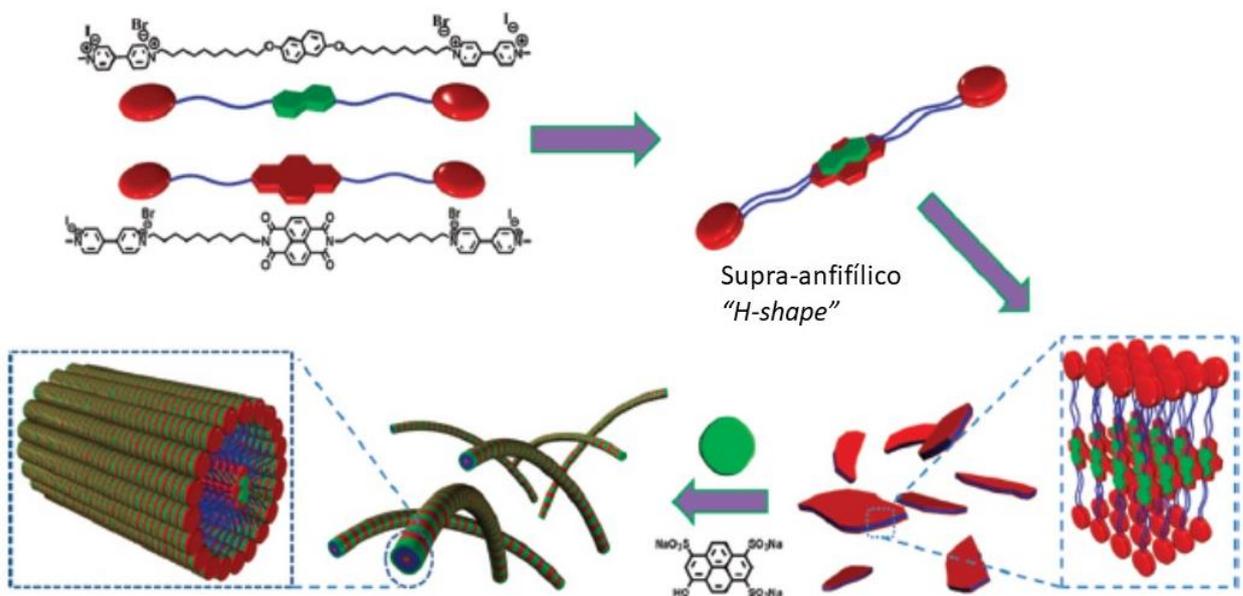
e) Interação por transferência de cargas

A interação por transferência de cargas entre uma espécie doadora e uma aceptora de par de elétrons aparece como uma outra opção de força dirigente para a síntese de supra-anfifílicos.

LV e co-autores (2015) avaliaram quatro sais hidrossolúveis (TTFA, TTFB, TTFC e TTFD) e dois metil-viologenos anfifílicos (DMV e HDMV) a fim de sintetizar oito supra-anfifílicos por transferência de cargas. Os viologenos anfifílicos agiam não somente como um acceptor de elétrons a fim de aumentar a condutividade sem nenhuma dopagem externa, mas eles também eram responsáveis pelo início dos supra-anfifílicos resultantes se ordenarem através de interações hidrofóbicas.

Liu et al (2012) sintetizaram supra-anfifílicos em fase aquosa com base em interações de transferência de cargas (Figura 15).

Figura 15 - Representação esquemática da fabricação racional e evolução programável de nanoestruturas bem definidas através de engenharia supramolecular dos supra-anfifílicos.



Fonte: Adaptado de Liu et al. (2012).

Diferentes blocos de construção foram sintetizados e utilizados. Eles incluíam corantes hidrossolúveis carregados negativamente, PYR, anfifílicos "bola-shape"

contendo naftaleno (BNAPHV) e naftaleno diimida (BNDIV) e em ambos derivados viologenos carregados positivamente foram usados como as cabeças hidrofílicas.

Os supra-anfifílicos com base em interações de transferência de cargas foram fabricados em duas etapas. Inicialmente, a interação de transferência de carga entre BNDIV e o naftaleno foi utilizada como a força dirigente para a formação dos supra-anfifílicos. A auto-montagem desse supra-anfifílico levou à formação de nanoestruturas 2D. Por último, a adição de PYR à solução contendo os supra-anfifílicos levou à interação por transferência de cargas altamente forte e direcional entre o PYR e os derivados viologenos, levando a transformação das nanoestruturas 2D em 1D (LIU et al., 2012).

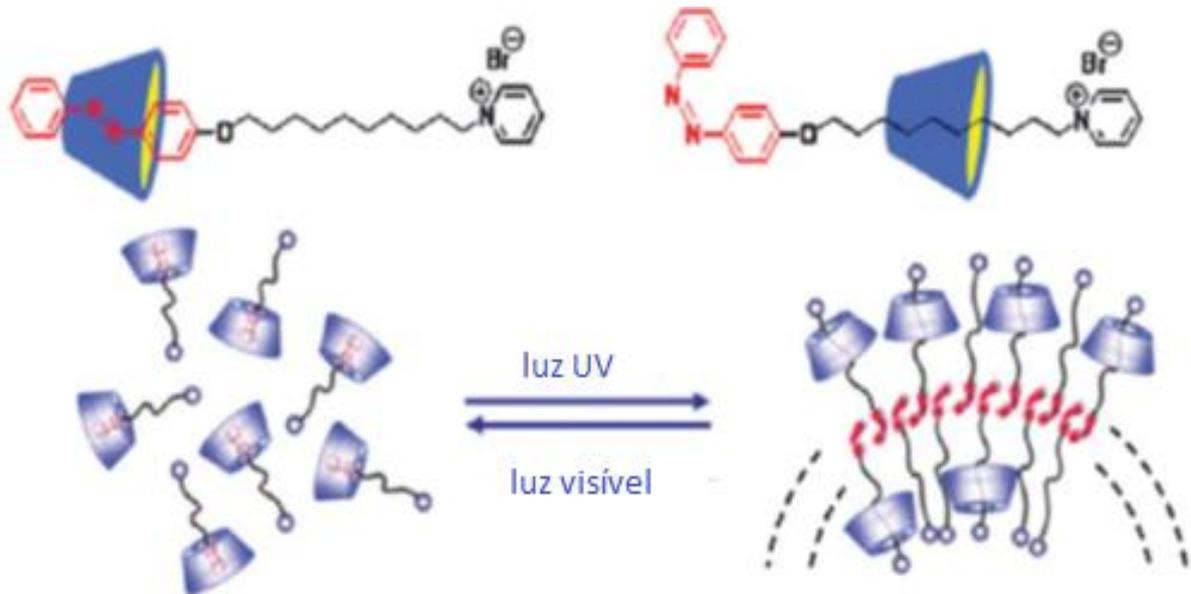
1.6.2 Aplicações de sistemas supra-anfifílicos

O aumento no interesse em sistemas supra-anfifílicos pode ser entendido a partir de dois aspectos principais. Um está relacionado ao controle da auto-montagem. Sistemas anfifílicos mantidos por interações não covalentes podem ser preparados através de procedimentos menos tediosos que as sínteses convencionais, além de permitir a formação e desmanche de estruturas auto-montadas, permitindo o ajuste da anfifilicidade. Como resultado, o controle da auto-montagem pode ser realizado. O outro aspecto é relacionado às potenciais aplicações desses materiais. Dependendo da natureza dos blocos de construção e as forças que governam os mesmos, sistemas supra-anfifílicos podem por exemplo, apresentar-se responsivos a vários estímulos, incluindo irradiação da luz, pH, oxidação e redução (ZHANG; WANG, 2011).

Interações do tipo hóspede-hospedeiro entre CD e *trans* ou *cis*-azobenzeno podem ser significativamente diferentes. Enquanto existe complementaridade entre a CD e o derivado azo *trans*, isso é perdido quando a mesma CD interage com o correspondente *cis* (ZHANG; WANG, 2011). Wang e colaboradores utilizaram um surfactante contendo um azobenzeno juntamente com α -CD para fabricação de um supra-anfifílico dinâmico do tipo rotaxano. Como visto na Figura 16, a supramolécula se torna mais hidrofílica quando o grupo benzeno é incluído na α -CD. Sob irradiação UV, o *trans*-azobenzeno é foto-isomerizado para a forma *cis*, forçando a α -CD a se deslizar ao longo da cadeia alquílica. Dessa forma, a supramolécula se tornava mais anfifílica. Ainda, de maneira interessante, sob irradiação da luz visível a α -CD poderia

se mover e voltar a interagir com o azobenzeno modificado novamente, revertendo a anfifilicidade da supramolécula levando à ruptura dos agregados (WANG et al., 2007; ZHANG; WANG, 2011).

Figura 16 - Supra-anfifílico do tipo rotaxano baseado em interações hóspede-hospedeiro.



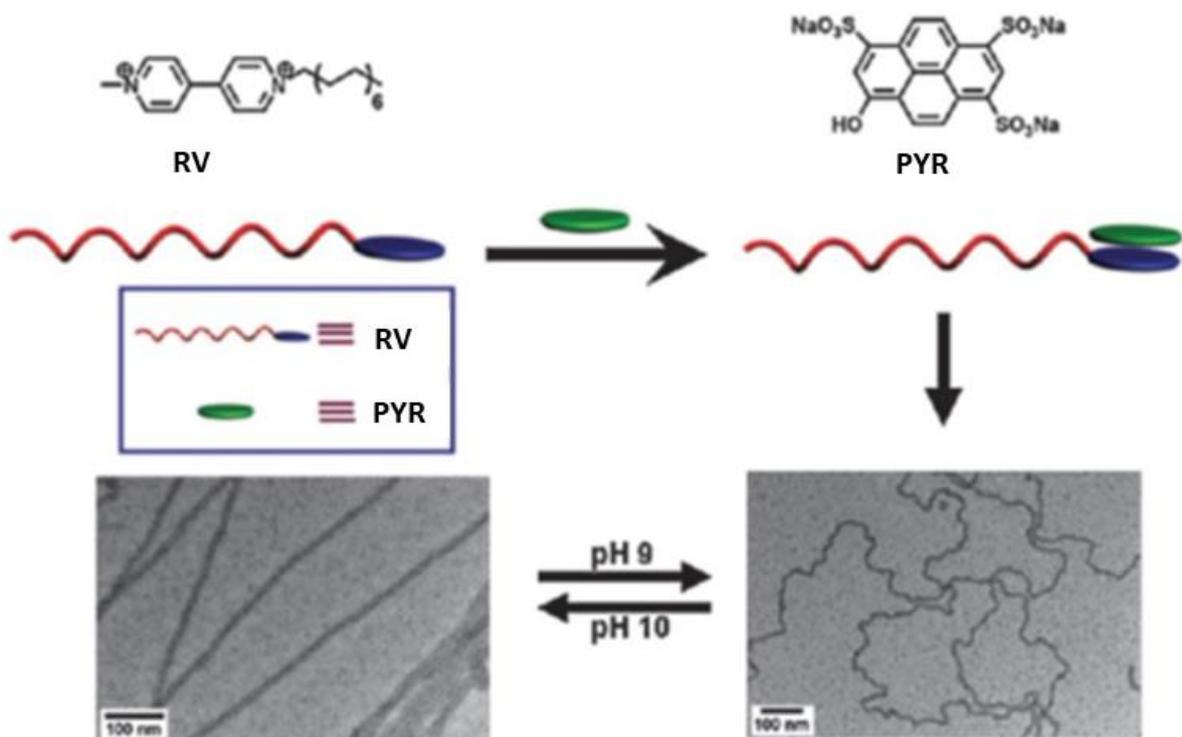
Fonte: Adaptado de Wang et al. (2007) e Zhang; Wang (2011).

Devido às interações não covalentes e ligações covalentes dinâmicas, isoladas, serem sempre mais fracas do que as ligações covalentes convencionais, os supra-anfifílicos podem ser reversíveis, dinâmicos e sensíveis ao meio. Nesse sentido, a estímulo-responsividade das interações não covalentes podem ser exploradas nos supra-anfifílicos levando à formação de agregados funcionais. Além disso, blocos de construção com propriedades estímulo-responsivas podem ser empregados conforme demanda na fabricação de sistemas supra-anfifílicos e agregados funcionais (KANG; LIU, ZHANG, 2014).

Um exemplo de nanoestruturas responsivas ao pH baseadas em supra-anfifílicos foi reportada por Wang et al (2009). O supra-anfifílico sintetizado por eles foi composto de dois componentes, sendo um anfifílico contendo um aceptor de elétrons (RV) e um derivado ácido doador de elétrons e responsivo ao pH (PYR). Conforme observado na Figura 17, RV e PYR formam um supra-anfifílico (RV-PYR), o qual é governado por interações eletrostáticas e de transferência de carga. Ao contrário da estrutura vesicular formada por RV, o supra-anfifílico forma nanofibras

ultra-longas pela auto-montagem em água, que são responsivas ao pH. Em pH 10, PYR é carregado negativamente e as porções adjacentes carregadas se repelem entre si, fazendo que a nanofibra enrolada se torne reta. Em pH 9, essas nanofibras retas se tornam enroladas novamente. Ao mesmo tempo em que a curvatura das nanofibras pode ser ajustada as propriedades físicas tais como condutividade muda conforme varia o pH. O estudo de nanofibras ultra-longas ainda está sob desenvolvimento e apresenta bom potencial para aplicações em nanodispositivos inteligentes (ZHANG; WANG, 2011; WANG et al., 2009).

Figura 17 - Auto-montagem do supra-anfifílico sintetizado e sua responsividade ao pH.



Fonte: Adaptado de Zhang; Wang (2011) e Wang et al. (2009).

Sistemas supra-anfifílicos à base de monoglicerídeos têm sido estudados quanto à formação de uma variedade de estruturas em meio aquoso, dependendo do conteúdo de água e temperatura. A adição de pequenas quantidades de água a lipídeos a 37 °C resulta na formação inicial de micelas reversas. Conforme o conteúdo de água e/ou a temperatura aumenta, diferentes mesofases tais como a lamelar, hexagonal reversa, cúbica e isotrópica são formadas. Dispersões aquosas de fases lipídicas cúbicas podem ser usadas no desenvolvimento de nanopartículas para liberação de fármacos caracterizados por alta biocompatibilidade, bioadesividade e

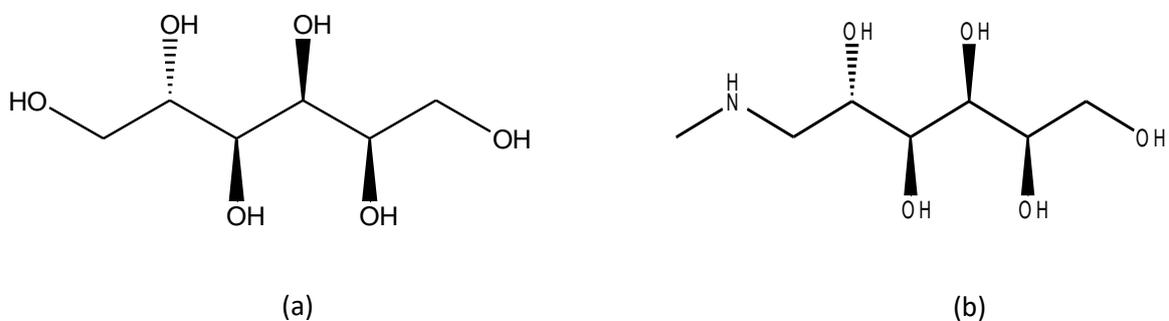
protocolo simplificado de síntese. Devido à essas propriedades, a versatilidade na liberação desses sistemas permite a administração oral, parenteral ou percutânea (D'ANTONA et al., 2000; ESPOSITO et al., 2003; LARSSON, 2000).

Esposito e colaboradores (2003) avaliaram a influência de alguns parâmetros experimentais na morfologia e características dimensionais de sistemas anfifílicos supramoleculares derivados de monoglicerídeo. As dispersões sintetizadas por esses autores foram avaliadas em formulações farmacêuticas, apresentando-se estáveis no período estudado e foram propostas para uso tópico, tais como por via percutânea ou aplicações em mucosa. Devido às propriedades microbicida dos monoglicerídeos, estas puderam ser designadas para tratamento intravaginal de doenças sexualmente transmitidas causadas por vírus, tais como o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou por bactérias tais como a *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*.

1.7 Meglumina

A *N*-metilglucamina (*2R,3R,4R,5S*)-6-metilaminoexano-1,2,3,4,5-pentol, também conhecida como meglumina, é um aminocarboidrato derivado do sorbitol no qual o grupo hidroxila da posição 1 é substituído por um grupo metilamina (Figura 18). A meglumina é um excipiente farmacêutico aprovado pelo FDA e, em contraste, é também um insumo farmacêutico ativo (IFA).

Figura 18 - Fórmula estrutural condensada de (a) sorbitol e (b) meglumina.



Fonte: Autor.

A aplicação histórica da meglumina além de um reagente de imagem na área médica (ISHIGUCHI; TAKAHASHI, 2010), se encontra também como um excipiente farmacêutico para o aumento da solubilidade aquosa de fármacos pouco solúveis, já que sua estrutura polihidroxilada permite a formação de adutos com esses ácidos carboxílicos (CASSIMIRO et al., 2011; JASPRICA et al., 2011; KALEPU; NEKKANTI, 2015) ou ainda em sua utilização como um contra-íon, aumentando a estabilidade de biomoléculas (FUJITA; UEDA; HANDA, 2009).

Basavaraj e colaboradores (2006) investigaram a influência da meglumina como um componente ternário na complexação de uma molécula ácida pouco solúvel (DRF-4367), de propriedades anti-inflamatórias, com 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina HP β CD. Estudos de solubilidade sugeriram que a meglumina foi a responsável pelo aumento da solubilidade devido a múltiplos fatores e não somente pelo fornecimento de um pH favorável. Os mecanismos e fatores que governaram o aumento da solubilidade foi investigado por esses autores, os quais verificaram que a complexação de DRF-4367 com HP β CD é termodinamicamente favorável devido às energias livre de Gibbs da transferência do fármaco para a cavidade da ciclodextrina serem negativas. Nesse trabalho, a eficiência de solubilização e estabilidade foram também otimizadas com a adição da meglumina. A inclusão ternária de DRF-4367, HP β CD e meglumina mostraram aumento significativo na dissolução, comparados com o fármaco não-complexado e o sistema binário. Além disso, o fenômeno de reprecipitação observado na mistura binária durante a dissolução pôde também ser evitado com a adição de meglumina no sistema. Esse comportamento físico-químico melhorado no complexo ternário com a inclusão da meglumina se mostrou como um aumento da biodisponibilidade oral de DRF-4367 comparado tanto com a droga não-complexada quanto na nanosuspensão.

Muitos exemplos de formulações farmacêuticas, tais como soluções orais ou formas farmacêuticas sólidas, contendo complexos de meglumina com o ingrediente ativo têm sido descritos também em patentes. Duas patentes descrevem as invenções relacionadas à formação de sais de meglumina e fármacos anti-inflamatórios não-estereoidais (AINEs) e tem sido evidenciado que a meglumina propicia melhora nas propriedades organolépticas além da solubilidade em água (MOTOLA et al., 1991; VERONESI, 1998).

Além da utilização da meglumina como um componente rotineiramente empregado em preparações farmacêuticas e aprovado pelos órgãos de regulação,

seu efeito biológico direto *in vivo* na síndrome metabólica e diabetes tipo 2 foi relatado recentemente (BRAVO-NUEVO et al., 2014). Nesse estudo foram administrados por via oral 18 mM de meglumina em ratos normais (SV129) por seis semanas. Nesse período não foram observados nenhum efeito gastrointestinal ou outro efeito adverso, mas tiveram um marcante efeito de aumento de estamina muscular e a longo prazo limitando o ganho de peso. Pelo modelo utilizado de diabetes não insulino-dependente, a administração oral de meglumina aumentou significativamente o controle da glicemia e reduziu os níveis de triglicérides no plasma e fígado. Comparado aos animais controle, não tratados, a meglumina também reduziu a nefropatia diabética aparente. Os resultados encontrados forneceram suporte para a avaliação clínica da meglumina, nesse estudo, a um baixo custo e seguro, com potencial de aumento da função muscular, limitação da síndrome metabólica e redução de complicações da diabetes.

Apesar de toda essa versatilidade da meglumina, de acordo com o nosso conhecimento são muito poucos os estudos, que não do nosso grupo de pesquisa, em que se reporta a utilização da meglumina na formação de agregados supramoleculares (FRÉZARD et al., 2008; ROBERTS; MCMURRAY; RAINEY, 1998).

Recentemente nosso grupo verificou a formação de um polímero supramolecular derivado de adutos supramoleculares flunixinina-meglumina. Os adutos flunixinina-meglumina formavam agregados durante o aquecimento, que resultava em uma estrutura vítrea rígida polimérica, com uma alta massa molecular, por volta de 291 ± 88 MDa e transição vítrea observada próximo a $49,5$ °C. As análises espectroscópicas evidenciaram que o polímero supramolecular resultante sofria uma reação reversível e era estável até aproximadamente 60 dias, dependendo do tratamento térmico e a meglumina estava diretamente envolvida na polimerização (CASSIMIRO et al., 2012; CASSIMIRO et al., 2013).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo desse trabalho foi a síntese e avaliação de sistemas supra-anfifílicos à base de meglumina e ácido oleico em fase aquosa.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolvimento de sistemas supra-anfifílicos à base de meglumina e avaliação de sua citotoxicidade em células SV-80;
- Avaliar a estrutura microscópica desses sistemas quanto à formação de estruturas ordenadas em fase aquosa;
- Investigar a influência das condições de síntese do supra-anfifílico no comportamento da água que compõe esses sistemas;
- Correlacionar as propriedades desses materiais a fim de propor uma potencial aplicabilidade na área farmacêutica.

3 SEÇÃO EXPERIMENTAL

3.1 Materiais

Ácido oleico, acetato de etila e metanol foram adquiridos da Synth Produtos para Laboratório Ltda. N-metilglucamina (meglumina) foi adquirida pela Sigma Aldrich Co. Todos os reagentes foram usados da maneira como recebidos. A água utilizada nos experimentos foi a MilliQ. Os antibióticos utilizados na cultura celular (penicilina/estreptomicina), a L-glutamina, o soro fetal bovino e tripsina 0,05% foram adquiridos pela Gibco, Life Technologies. O meio base *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM sem L-glutamina) foi adquirido da LOnza, Biowhittaker. O corante Alamar Blue® foi adquirido pela Invitrogen, Life Technologies.

3.2 Síntese do supra-anfifílico meglumina-ácido oleico (MEG-AO)

Duas condições de síntese foram utilizadas no preparo dos sistemas anfifílicos. Uma em condições equimolares e a outra em condições não-equimolares, com excesso de MEG. Para o preparo do primeiro (MEG1AO1), ácido oleico (14,47 g; 51,20 mmol) foi solubilizado em acetato de etila em quantidade suficiente para a total solubilização (~ 37 mL). Meglumina (10,00 g; 51,20 mmol) foi solubilizada em metanol em quantidade suficiente para a total solubilização (~ 50 mL). Na condição não-equimolar (MEG2AO1), o ácido oleico (10,85 g; 38,40 mmol) e meglumina (15,00 g; 76,80 mmol) foram também solubilizados em acetato de etila (~ 27 mL) e metanol (~ 75 mL), respectivamente. A solução de meglumina foi aquecida a 50 °C e mantida sob agitação magnética. A solução de ácido oleico foi adicionada à essa solução por gotejamento manual. Ao final, a solução resultante foi mantida ainda sob agitação e nessa temperatura por 10 minutos. Após esse tempo, a solução foi concentrada e o produto resultante foi então seco sob fluxo de N₂.

3.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A fim de obter evidências sobre a formação do supra-anfifílico, análises de infravermelho com transformada de Fourier foram realizadas.

A radiação infravermelha (IV) corresponde à porção do espectro situada entre as regiões do visível e das micro-ondas e a porção de maior utilidade está situada entre 4.000 e 400 cm^{-1} . O espectro de IV é característico da molécula com um todo, porém certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência, independente da estrutura da molécula. É através da correlação entre essas bandas no espectro, bem como a consulta em tabelas com informações estruturais úteis que permitem a identificação das estruturas (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1991).

Os espectros nos ensaios de FTIR foram obtidos utilizando um espectrofotômetro FTIR- VERTEX 70, Bruker Corporation, com detector DLaTGS, utilizando a técnica de reflexão total atenuada - ATR. O comprimento de onda selecionado foi de 4000 a 400 cm^{-1} , 64 varreduras e uma resolução espectral de 4 cm^{-1} .

A técnica ATR se baseia no fato de que um feixe de luz refletido internamente pela superfície de um meio transmissor penetra uma pequena distância além da superfície refletora e retorna ao meio durante o processo de reflexão. Quando a amostra é colocada em contato com a superfície refletora, a luz atravessa o material até a profundidade de alguns micrômetros, produzindo assim o espectro (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1991).

As amostras foram dispostas na célula com o auxílio de uma pipeta (amostras líquidas) ou com uma espátula (amostras semi-sólidas). As medidas foram realizadas colocando-se quantidade suficiente de amostra para cobrir o cristal de ATR. Os espectros foram editados utilizando o software OPUS 7.5.

3.4 Análise termogravimétrica (TG)

A análise térmica tem sido uma técnica aplicada na avaliação de voláteis e se baseia nas mudanças da massa conhecida de uma amostra quando esta é submetida a um programa de temperatura ou tempo, em uma atmosfera de gás definida (NOGUEIRA et al., 2012). É uma técnica geralmente usada em conjunto com outros métodos, tais como a calorimetria exploratória diferencial (DSC) a fim de que processos dependentes da temperatura tais como vaporização, sublimação ou decomposição sejam avaliados (HINZ, 2007). A fim de verificar a eficiência do método

de secagem e a estabilidade térmica dos supra-anfifílicos sintetizados, curvas TG-DTG foram obtidas em um instrumento SDT 2960, TA Instruments. Para essa análise os precursores ácido oleico e meglumina e os supra-anfifílicos foram pesados em uma massa de aproximadamente 5,00 mg em um cadinho de α -alumina e aquecidas até 600 °C, em uma razão de 10 °C min⁻¹, em atmosfera de N₂ e fluxo de 100 mL min⁻¹. As curvas termogravimétricas foram avaliadas com o auxílio do software Universal Analysis 2000 versão 3.9A.

3.5 Síntese e caracterização dos supra-anfifílicos MEG-AO em fase aquosa

3.5.1 Procedimento de síntese

Os sistemas supra-anfifílicos MEG-AO/água foram preparados em concentrações de 10 a 90% m/m de água, variando-se de 10 em 10%, o que deu origem a 9 amostras para cada supra-anfifílico, como mostra a Tabela 1. Esses sistemas foram preparados pesando-se quantidade necessária de MEG1AO1 e MEG2AO1 em *vials*, que foram colocados em um banho maria a 65 °C por 5 minutos. Em seguida, a quantidade de água foi pesada e transferida para cada *vial*. Esses sistemas foram manualmente homogeneizados e deixados por mais 5 minutos em repouso na temperatura mencionada acima. Após esse período, foram resfriados até temperatura ambiente e mantidos em repouso por pelo menos 48 h antes de qualquer análise, a fim de garantir o equilíbrio. Todos os sistemas foram inicialmente avaliados por inspeção visual, quanto à transparência e quanto ao fluxo, através do teste simples de inversão do *vial* a fim de verificar se o sistema fluía ou não.

Tabela 1- Composição dos sistemas MEG-AO e água.

Amostras	Componentes (% m/m)	
	MEG1AO1/ MEG2AO1	Água
MEG1AO1_10 MEG2AO1_10	90	10
MEG1AO1_20 MEG2AO1_20	80	20
MEG1AO1_30 MEG2AO1_30	70	30
MEG1AO1_40 MEG2AO1_40	60	40
MEG1AO1_50 MEG2AO1_50	50	50
MEG1AO1_60 MEG2AO1_60	40	60
MEG1AO1_70 MEG2AO1_70	30	70
MEG1AO1_80 MEG2AO1_80	20	80
MEG1AO1_90 MEG2AO1_90	10	90

Fonte: Autor.

3.5.2 Caracterização físico-química dos supra-anfifílicos MEG-AO em fase aquosa

3.5.2.1 Microscopia de luz polarizada (MLP)

Moléculas anfifílicas, quando misturadas a um solvente, sendo o mais comum a água, formam por muitas vezes fases líquido-cristalinas. Nesse caso, as porções hidrofílicas e hidrofóbicas das moléculas se organizam de tal forma a minimizar o contato da porção hidrofóbica com o solvente (COWLING, 2014).

Para essas análises, as amostras de supra-anfifílicos MEG-AO em fase aquosa foram dispostas em lâminas de vidro, cobertas com lamínula e avaliadas em um microscópio DM 2700M, Leica Microsystems, sob luz polarizada. As amostras foram avaliadas quanto à presença de anisotropia, o que é um indicativo da formação de

cristais líquidos. As fotomicrografias foram obtidas em temperatura ambiente através de uma câmera digital (DMC 2900) acoplada ao microscópio e foram editadas utilizando o software Leica Application Suite 4.4.0.

3.5.2.2 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS)

O espalhamento de raios-X a baixo ângulo é uma técnica de caracterização de alta resolução, capaz de prover informações características no intervalo de 1 a 100 nm e uma importante vantagem dessa técnica é que espécies biológicas podem ser estudadas em seu estado natural. O SAXS é geralmente empregado na determinação de tamanho, forma, distribuição e localização de diversas nanoestruturas (ALLEC et al., 2015).

O arranjo estrutural dos supra-anfifílicos MEG-AO em fase aquosa nas diferentes composições foi avaliado por medidas de SAXS. Os dados foram coletados na estação de medidas D02-SAXS2 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) em Campinas-SP. A linha é equipada com um monocromador do tipo Si (111) com radiação de comprimento de onda $\lambda = 1,488 \text{ \AA}$ e detector MAR-165, com 165 mm de diâmetro de área ativa. As amostras injetáveis foram colocadas em um porta amostra de 1 mm de espessura entre duas folhas de mica e amostras sólidas dispostas em cela, a temperatura ambiente. O tempo de exposição das amostras ao feixe, para aquisição do sinal, variou de acordo com cada amostra. O espalhamento de partículas existentes no sistema sem amostra foi subtraído da intensidade total da amostra. As intensidades de todas as amostras foram medidas em unidades relativas, mas para uma comparação quantitativa, as amostras foram normalizadas nas mesmas condições experimentais. O parâmetro de rede (α) nos supra-anfifílicos foi calculado conforme a Equação 1.

$$\alpha = \frac{(4\pi / \sqrt{3})}{q_{100}} \quad (1)$$

3.5.2.3 Reologia

A reologia é a técnica de escolha quando se busca valores quantitativos para descrever a resistência ao fluxo (viscosidade). A reologia também pode fornecer informações relativas à estrutura e dinâmica dos agregados e até mesmo sobre os seus mecanismos de auto-montagem e é também uma técnica importante na elucidação de características de géis supramoleculares (YU, et al., 2013).

As análises de reologia dos supra-anfifílicos MEG-AO em fase aquosa foram realizadas em um reômetro de tensão controlada AR2000, TA Instruments. Para as amostras menos viscosas foi utilizado um dispositivo de placas paralelas de 60 mm de diâmetro e distância entre as placas de 200 μm .

Para os demais sistemas um dispositivo de placas paralelas com diâmetro igual a 20 mm e espaçamento entre as placas de 1000 μm foi utilizado. A temperatura foi mantida constante, a $25 \pm 0,5$ °C com o auxílio de um dispositivo “Peltier”. Todas as amostras foram mantidas em repouso por 3 minutos antes de iniciar as medidas. As propriedades reológicas destes sistemas foram avaliadas por ensaios de escoamento e solicitações oscilatórias.

3.5.2.3.1 Determinação das propriedades de fluxo

No ensaio de escoamento foi realizado um estudo de tensão de cisalhamento em função da velocidade de cisalhamento na região de 0 a 150 s^{-1} para a curva ascendente e de 150 a 0 s^{-1} para a curva descendente. Esse intervalo foi selecionado com base na força de resistência às tensões aplicadas. O reograma foi avaliado quanto à tensão de cisalhamento obtida em relação à taxa de cisalhamento, a partir do qual calculou-se os valores de índice de consistência e de fluxo, os quais fornecem informações relativas à viscosidade.

3.5.2.3.2 Experimentos oscilatórios

As análises oscilatórias de cada amostra foram realizadas após a determinação da sua região de viscoelasticidade linear a 25 °C. A análise da varredura de frequência

foi realizada na região de 0,1 a 30 Hz, aplicando uma tensão oscilatória constante de 10 Pa.

3.5.2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica termoanalítica na qual a diferença entre a quantidade de calor necessária para o aumento da temperatura em uma amostra e a referência é medida em função do tempo ou temperatura. O princípio básico nesse método é que quando a amostra passa por alguma transformação física, mais ou menos calor será necessário para manter amostra e referência na mesma temperatura. O fato de mais ou menos calor fluir para a amostra vai depender se o processo em questão é exotérmico ou endotérmico (YU et al., 2013).

Para essas análises, um módulo DSC 1 Star^e, Mettler Toledo, capaz de operar entre -100 a 500 °C, acoplado à um módulo de resfriamento por N₂ (IntraCooler) foi utilizado. O instrumento apresenta precisão e exatidão de temperatura igual à ± 0,02 °C e ± 0,2 °C, respectivamente. A calibração foi realizada com índio e zinco, conforme as recomendações do fabricante.

Curvas DSC de resfriamento e aquecimento foram obtidas em atmosfera de N₂ (50 mL min⁻¹). Massa de amostra da ordem de 5,0 mg foram pesadas em cadinhos de alumínio selados, numa razão de aquecimento de 5 °C min⁻¹. O método dinâmico consistiu em resfriamento entre 25 °C a -80 °C, seguido por aquecimento até 20 °C. Os dados relativos à entalpia, temperatura de pico e onset, foram obtidos com a integração dos picos, utilizando o software STAR^e versão 11.00a.

3.5.2.5 Microscopia eletrônica de varredura no modo ambiental (ESEM)

O microscópio eletrônico de varredura que opera em modo ambiental permite a visualização da amostra em seu estado natural, o que é especialmente útil para amostras biológicas. A temperatura da amostra e a pressão de vapor na câmara podem ser controladas e combinadas, o que resulta no controle da umidade relativa. A vantagem de manter a amostra totalmente hidratada é que isso garante que

amostras naturalmente hidratadas vão manter sua condição durante a aquisição da imagem.

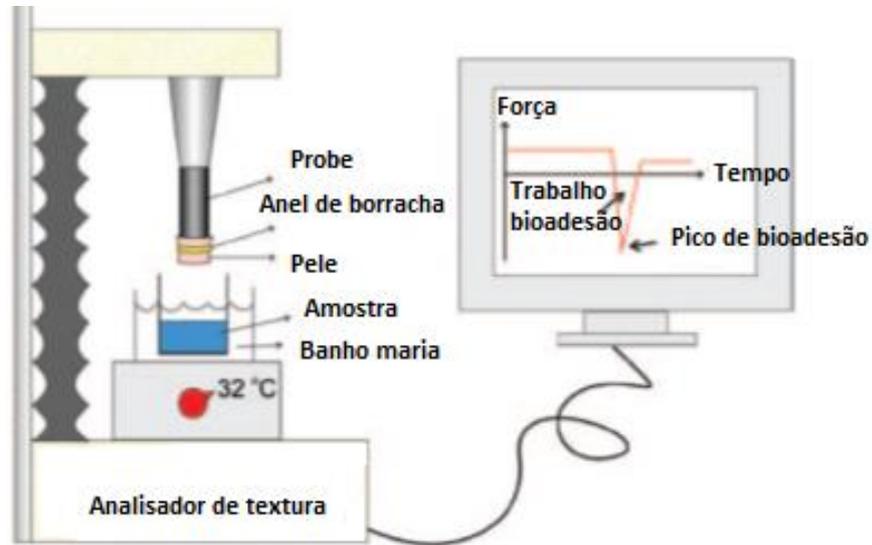
A morfologia do sistema MEG1AO1_70, MEG1AO1_50 e MEG1AO1_30, sem nenhum tratamento prévio, foi analisada em um microscópio eletrônico de varredura EVO® LS 15-Karl Zeiss, no modo ambiental, utilizando o modo de pressão prolongada, operando em 2 kV, com aumento de 3000 vezes. A pressão da câmara interna foi ajustada de acordo com cada amostra, entre 70 e 160 Pa, para compensar os efeitos de íons positivos e cargas estáticas (“*charge-up*”), devido à baixa condutividade das amostras. O gás usado na câmara foi nitrogênio 5.0 (99.999%). Os sinais de elétrons espalhados (BSE) foram detectados utilizando o detector Zeiss VPSE-G3, designado especificamente para pressões até 400 Pa.

3.5.2.6 Análise *in vitro* da bioadesão dos supra-anfifílicos

A bioadesão é caracterizada como um fenômeno amplo, que envolve a adesão de materiais, tanto naturais quanto sintéticos, a superfícies biológicas. Diversos fatores determinam essa adesão biológica, tais como fatores fisiológicos e interações físico-mecânicas que normalmente atuam em conjunto promovendo a adesão entre as interfaces de interesse (PALACIO; BRUSHAN, 2012).

Em estudos de resistência à tração realizados em texturômetro, a amostra é colocada em contato com o tecido biológico e a força necessária para quebrar a ligação adesiva é medida, conforme esquema apresentado na Figura 19.

Figura 19 - Representação esquemática do teste de bioadesão e uma típica curva força x tempo obtida a partir das medidas de destacamento do teste bioadesivo.



Fonte: Adaptado de Carvalho et al. (2013).

A força de adesão entre a pele de orelha de porco e os sistemas supra-anfifílicos/água foi avaliada em um analisador de textura TAXT *plus* no modo *Hold Until Time* (HUT). Orelhas frescas foram obtidas de porcos saudáveis de 6 meses de idade de um abatedouro local e preparadas conforme procedimento descrito por Dick e Scott (1992). As orelhas foram lavadas com água ($25 \pm 0,05$ °C), sendo que orelhas com qualquer ferimento foram descartadas. As peles íntegras foram então removidas da cartilagem com um bisturi e uma camada de 400 μm de espessura do estrato córneo e epiderme foram separadas do tecido adiposo com um dermatômetro. As peles preparadas foram congeladas a -20 °C e armazenadas por um período menor ou igual a 4 semanas.

Para o experimento, as peles foram descongeladas em solução fisiológica, 0,9% NaCl (m/v), a $25 \pm 0,05$ °C por 30 minutos. O pêlo foi então retirado com uma tesoura e a pele anexada na extremidade inferior da prova cilíndrica (10 mm de diâmetro) com um elástico de borracha. As amostras a serem analisadas foram colocadas abaixo da prova e imersas em um banho de água a $32 \pm 0,5$ °C. O teste foi feito abaixando a prova a uma velocidade constante (1 mm/s) até que a pele e as amostras entrassem em contato, como detectado pela força de 2 mN. A pele e a

amostra foram mantidas em contato por 60 segundos e nenhuma força foi aplicada durante esse intervalo. Após 60 segundos, a pele subiu (0,5 mm/s) até que o contato entre as superfícies fosse rompido. Durante o experimento, uma curva força-tempo foi adquirida. A partir do trabalho de adesão (T_A), a área sob a curva força-distância durante a fase de afastamento e a adesão do pico (F_A) foram calculadas. Triplicatas foram analisadas a $32 \pm 0,5$ °C.

3.6 Avaliação da citotoxicidade dos supra-anfifílicos MEG-AO em células SV-80

3.6.1 Cultura celular

Células SV-80 (CLS nº 300345), que são fibroblastos isolados de pulmão humano, disponíveis no Laboratório de Cultura Celular do Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (CITAB, UTAD), Vila Real, Portugal, foram cultivadas, como de rotina, em meio de cultura completo contendo o meio base *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM sem L-glutamina) suplementado com 2 mM de L-glutamina, antibióticos (200 U mL⁻¹ penicilina e 200 µg mL⁻¹ estreptomicina) e 10% de soro fetal bovino e então incubadas em uma atmosfera modificada de 5% de CO₂/ 95% de ar a 37 °C, em frascos de cultura ventilados. Em confluência (próximo de 80 – 90%), as células SV-80 foram subcultivadas por tripsinização (0,05% Tripsina-EDTA), de forma a evitar uma diminuição do índice mitótico e morte celular (PHELAN, 2007; WILLARD; MERRITT; DEAN, 1965).

3.6.2 Tratamento das células

Células foram semeadas em placas de cultura de 96 poços a uma densidade de 5×10^3 células/ mL (5000 células/poço) e incubadas por 24 h com meio completo para restabelecimento das condições. Após o período de 24 h, o meio foi removido e substituído por 100 µL de meio de cultura sem soro suplementado com as amostras a serem avaliadas; meglumina, ácido oleico e o supra-anfifílico MEG-AO, nas concentrações de 5, 10, 50 e 100 µg mL⁻¹ ou por meio de cultura sem soro (controle).

3.6.3 Ensaio de citotoxicidade com Alamar Blue®

O indicador Alamar Blue® foi utilizado a fim de avaliar a proliferação e a viabilidade celular. Este é um teste simples e rápido, onde 10% da solução comercial disponível deste corante é adicionada ao meio de cultura e as medidas são realizadas tanto por colorimetria ou fluorimetria. O Alamar Blue® oxidado, azul, não-fluorescente é reduzido, no meio, a um corante rosa fluorescente por atividade celular. O Alamar Blue® é captado pelas células ativas e é então reduzido por uma das oxirredutases da cadeia respiratória, sendo um indicador direto da atividade mitocondrial da célula. Existe uma correlação direta entre a redução do Alamar Blue® no meio de crescimento e a quantidade/proliferação de organismos vivos, desde bactérias às células de mamíferos (O'BRIEN et al., 2000).

Após 24 h a 48 h de incubação da placa, o meio de cultura contendo as substâncias foi retirado e adicionou-se meio de cultura contendo Alamar Blue®, seguido por um período de incubação de 24 h (37 °C, 5% de CO₂ e 95% de umidade) antes da medida de absorbância, nos comprimentos de onda de 570 nm (forma reduzida) e 620 nm (forma oxidada). Devido à sobreposição no espectro de absorção das formas oxidada e reduzida deste corante, a porcentagem de redução do Alamar Blue® foi medida empregando-se a Equação 2 derivada por Willard, Merritt e Dean (1965) e fornecida pelo fabricante (LARSON et al., 1997):

$$\% \text{ de Redução do AlamarBlue}^{\circledR} = \frac{\epsilon_{oxid\ 620nm} (A_{570nm}) - \epsilon_{oxid\ 570nm} (A_{620nm})}{\epsilon_{red\ 570nm} (A'_{620nm}) - \epsilon_{red\ 620nm} (A'_{570nm})} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

$\epsilon_{oxid\ 620nm}$ = Coeficiente de extinção molar do AlamarBlue® na forma oxidada a 620 nm;

$\epsilon_{oxid\ 570nm}$ = Coeficiente de extinção molar do AlamarBlue® na forma oxidada a 570 nm;

$\epsilon_{red\ 570nm}$ = Coeficiente de extinção molar do AlamarBlue® na forma reduzida a 570 nm;

$\epsilon_{red\ 620nm}$ = Coeficiente de extinção molar do AlamarBlue® na forma reduzida a 620 nm;

A_{570nm} = Absorbância dos poços testados a 570 nm;

A_{620nm} = Absorbância dos poços testados a 620 nm;

A'_{620nm} = Absorbância dos poços de controle negativo a 620 nm;

A'_{570nm} = Absorbância dos poços de controle negativo a 570 nm.

3.7 Incorporação de um fármaco modelo nos sistemas MEG-AO/água

Após a caracterização dos supra-anfifílicos, as amostras MEG1AO1_50 e MEG2AO1_50 foram selecionadas para incorporação de um fármaco modelo. A dexametasona foi selecionada como o fármaco modelo, já que é um corticosteroide frequentemente utilizado para aplicação tópica. O fármaco foi incorporado após o preparo das formulações, na concentração de 10 mg g⁻¹ (1%, m/m). Essas amostras contendo o fármaco foram caracterizadas por microscopia de luz polarizada (MLP) e espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS), de acordo com procedimento descrito nas seções 3.5.2.1 e 3.5.2.2, respectivamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Síntese dos supra-anfifílicos meglumina-ácido oleico (MEG-AO)

Nesse trabalho nós introduzimos uma classe de sistemas supra-anfifílicos produzidos a partir de ácido oleico e meglumina.

Ácidos carboxílicos e aminocarboidratos já tem sido utilizado como base de sistemas supramoleculares. Por exemplo, óleo de rícino modificado e meglumina foram utilizados na síntese de um gel supramolecular, o qual apresentou um grande potencial para aplicações biomédicas (FERREIRA et al., 2016). Outro exemplo ainda é a formação de sistemas supra-anfifílicos em quantidades equimolares de um aminocarboidrato e um ácido graxo, sem evidência de subprodutos, o que permitiu a síntese de supra-anfifílicos de maior pureza e que ainda se mostraram eficazes na inibição de *Candida albicans* em biofilme (CASSIMIRO et al., 2013; CASSIMIRO, 2015).

A fim de entender e avaliar se as características desses sistemas derivados de ácido oleico e meglumina iriam se diferir em condições não-estequiométricas, foi sintetizado também o supra-anfifílico em excesso estequiométrico de meglumina.

Sínteses em condições não-equimolares são reportadas na literatura por autores que desejam avaliar se o excesso de algum componente provoca qualquer alteração na estrutura do sistema, quando comparado ao mesmo em condições de síntese equimolar.

Ren e colaboradores (2004) avaliaram complexos de surfactantes fluorados sintetizados em condições não-equimolares e uma das descobertas mais importantes do referido trabalho foi que a mudança da razão molar entre surfactantes e grupos carregados de um polieletrólito poderia alterar a estrutura mesomorfa dos complexos.

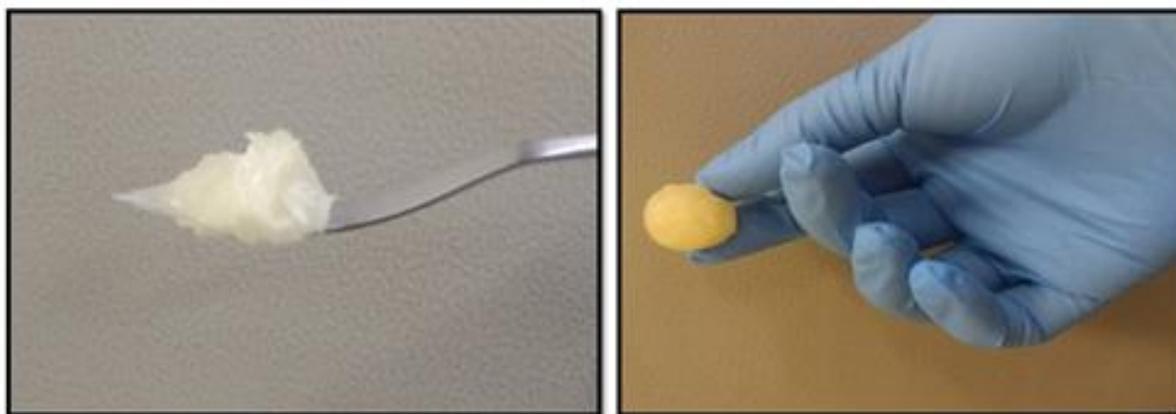
O estudo de reações não-equimolares tem atraído também a atenção da indústria farmacêutica, visto que a performance de fármacos em relação à solubilidade e aspectos farmacocinéticos, dependem criticamente do seu estado de agregação, como no trabalho realizado por Pratik e Datta (2016) no qual avaliaram reações envolvendo quantidades não-equimolares de ácidos e bases. Os resultados obtidos por eles indicaram que por meio da cooperatividade, uma reação no estado sólido

pode ser ajustada a fim de isolar um co-cristal ou um sal, resultado esse importante no design de fármacos e predição das propriedades de insumos farmacêuticos ativos.

Ainda nesse âmbito, um trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa abordou a síntese de derivados anfifílicos de meglumina e ácido ricinoleico modificado, em condições não estequiométricas. Resultados de ressonância magnética nuclear de ^1H indicaram que a razão entre o ácido carboxílico e o aminocarboidrato levava à diferença na extensão das interações iônicas, favorecendo a formação de ligações de hidrogênio quando em excesso de meglumina (FERREIRA et al., 2016).

O supra-anfifílico sintetizado em quantidades equimolares de ácido oleico e meglumina (MEG1AO1) e na razão ácido oleico-meglumina 1:2 (MEG2AO1) foi avaliado quanto às características macroscópicas. Ambos possuem aspecto de um semi-sólido, no entanto o primeiro apresenta-se menos viscoso que o segundo (Figura 20).

Figura 20 - Aspecto macroscópico dos supra-anfifílicos MEG-AO em condição equimolar (à esquerda) e em condição não-equimolar (MEG-AO 2:1) (à direita).



Fonte: Autor.

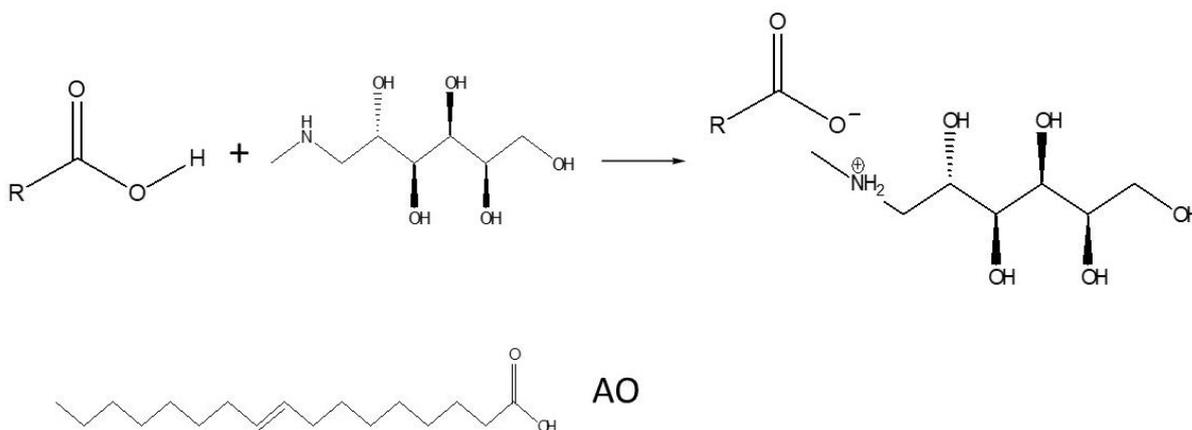
4.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Sistemas anfifílicos obtidos através de interação eletrostática entre ácidos orgânicos e aminas são bem conhecidos na literatura (AKAY, et al., 2013; ZANG; WANG, 2011) e apresentam mecanismos similares de estabilização dos blocos de construção, que é possível através da formação do par iônico produzido e unido por interação eletrostática.

O trabalho desenvolvido por Cassimiro (2015) identificou que a interação que propicia a formação dos supra-anfifílicos obtidos com sistemas análogos ao desse trabalho, utilizando ácido oleico e meglumina, é a formação do par iônico entre o cátion amônio e o ânion carboxilato.

A Figura 21 mostra a reação de obtenção dos supra-anfifílicos preparados nesse trabalho, empregando-se o ácido oleico e meglumina. O sistema anfifílico é formado por interações não covalentes, sendo a cauda apolar, constituída pela cadeia alquílica do ácido oleico e a cabeça polar representada pelos átomos carregados e pela meglumina.

Figura 21 - Reação ácido-base de formação do grupo oleato-meglumina (par iônico).



Fonte: Autor.

A formação de um sal entre um ácido carboxílico e uma amina pode ser sensitivamente detectada por espectroscopia no infravermelho (BASIT et al., 2008).

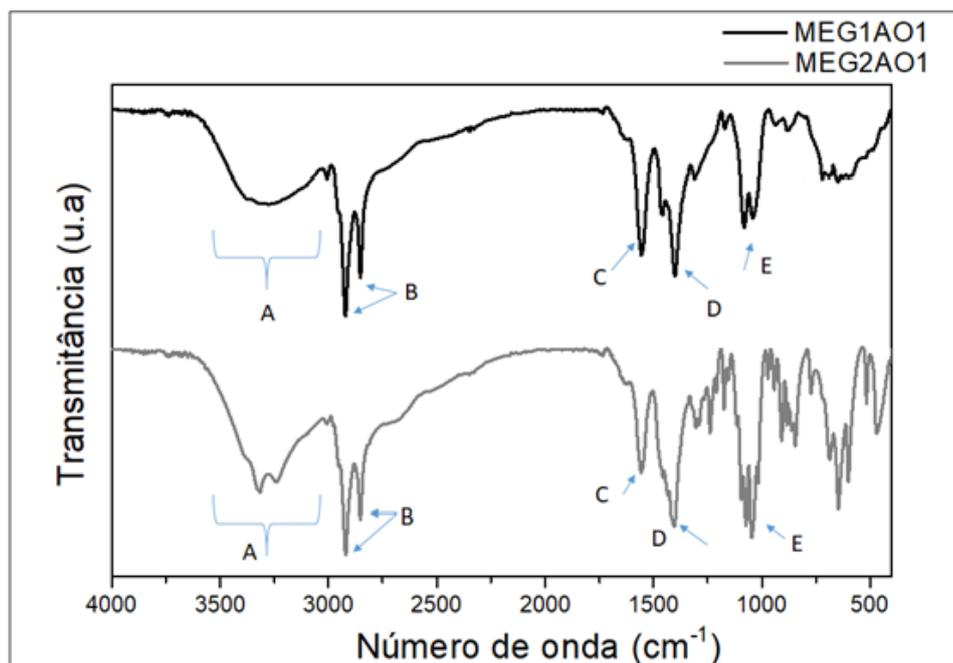
A Figura 22 apresenta os espectros de FTIR de MEG1AO1 e MEG2AO1, onde estão indicadas as bandas mais características dessas espécies.

Para o anfifílico MEG1AO1, observa-se na região A ($3500 - 3000 \text{ cm}^{-1}$), uma banda intensa e alargada, típico da deformação axial de O–H envolvido em ligação de hidrogênio, além da deformação axial das aminas secundárias, que aparece sobreposta nessa região e ainda as vibrações assimétricas metil ($-\text{CH}_3$) e metileno ($-\text{CH}_2-$). Em B é observada a deformação axial de C–H alifática em 2925 cm^{-1} e a deformação axial simétrica, CH_2 em 2855 cm^{-1} . A carbonila de ácido carboxílico aparece no espectro na região de $1720 - 1706 \text{ cm}^{-1}$. Entretanto, com a formação do carboxilato, essa banda reduziu drasticamente para valores de 1550 cm^{-1} (C). Além

disso, uma nova banda característica de deformação axial do carboxilato foi formada em 1397 cm^{-1} (D). Essas novas bandas indicam então a formação do sal carboxilato e, portanto, do par iônico oleato-meglumina. As vibrações correspondentes às ligações C–OH da meglumina foram observadas em 1080 e 1040 cm^{-1} .

Bandas similares às atribuídas ao anfifílico MEG1AO1 são observadas para MEG2AO1. A região A ($3380 - 3012\text{ cm}^{-1}$), apresenta-se como uma região alargada, típica da deformação axial de O–H envolvido em ligação de hidrogênio. Esta também é uma região de deformação axial das aminas secundárias que provavelmente aparece sobreposta, assim como vibrações assimétricas metil ($-\text{CH}_3$) e metileno ($-\text{CH}_2-$). A deformação axial de C–H alifática em 2924 cm^{-1} e a deformação axial simétrica, CH_2 em 2849 cm^{-1} também foi assinalada. A formação do par iônico nesse supra-anfifílico foi confirmada pelas bandas C (1553 cm^{-1}) e D (1402 cm^{-1}), característico da deformação axial assimétrica e simétrica dos grupos carboxilato (COO^-), respectivamente. Vibrações correspondentes às ligações C–OH da meglumina foram observadas com bandas múltiplas de 1116 e 1016 cm^{-1} . Essa banda aparece mais alargada e mais intensa em MEG2AO1, quando comparada a MEG1AO1, já que esse anfifílico foi sintetizado em condições não equimolares de ácido oleico e meglumina.

Figura 22 - Espectros na região do infravermelho para os sistemas MEG1AO1 e MEG2AO1.



Fonte: Autor.

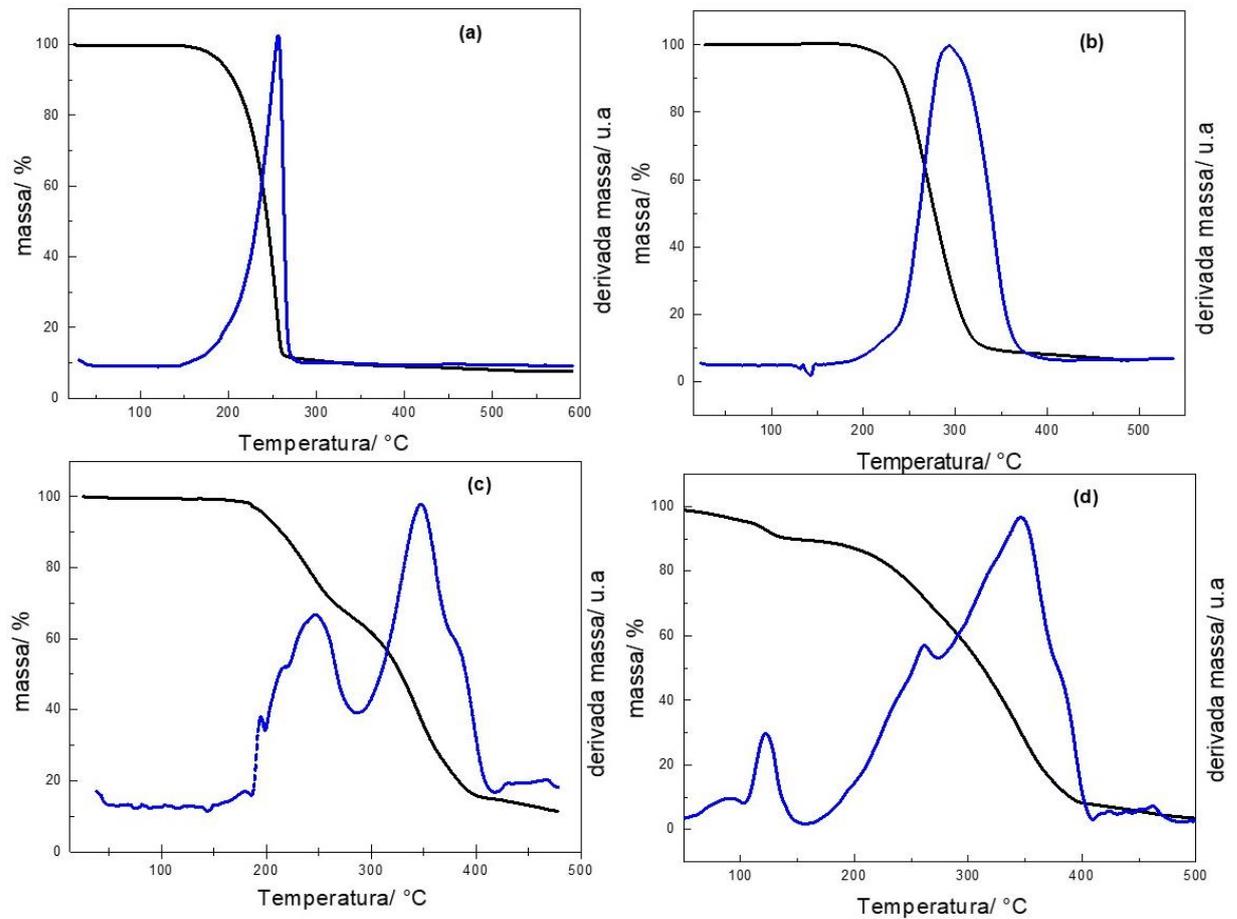
4.3 Comportamento térmico

A fim de avaliar o processo de secagem dos supra-anfifílicos sintetizados, bem como a estabilidade térmica desses sistemas, análises termogravimétricas foram conduzidas. As curvas TG de ácido oleico, meglumina e dos supra-anfifílicos MEG1AO1 e MEG2AO1 são apresentadas na Figura 23.

Pode-se observar em MEG2AO1 (Fig. 23-d) um evento exotérmico entre 67 °C a 153 °C, que é atribuído ao solvente residual. Embora essa temperatura seja superior à temperatura de ebulição dos solventes utilizados nessa síntese, isso se dá provavelmente por algum tipo de interação entre as cadeias do supra-anfifílico com o solvente. Acredita-se que essa interação de alguma forma consegue aprisionar moléculas de solvente em sua estrutura, já que o sistema foi deixado em capela de fluxo laminar e com fluxo de N₂ em contato direto com o sistema por várias semanas e mesmo assim o processo mostrou-se não ser totalmente eficiente.

O comportamento térmico foi também avaliado e mostrou que a decomposição ocorre em até duas etapas principais (Figura 23 a-d).

Figura 23 - Curvas TG e DTG de (a) ácido oleico; (b) meglumina; (c) MEG1AO1 e (d) MEG2AO1.



Fonte: Autor.

Os supra-anfifílicos MEG1AO1 e MEG2AO1 apresentaram estabilidade térmica maior do que o seu ácido graxo precursor. Nesse caso, o aumento na estabilidade acontece, muito provavelmente, devido à formação de carboxilatos, que são mais estáveis que o ácido original. Além disso, observa-se que a condição de síntese também influenciou na estabilidade térmica. O supra-anfifílico com excesso de meglumina apresentou uma menor estabilidade térmica quando comparado ao supra-anfifílico sintetizado em condições estequiométricas, como pode-se observar pela diminuição da temperatura *onset* de MEG2AO1 em relação a MEG1AO1 (Tabela 2).

Tabela 2 - Dados TG para ácido oleico (AO); meglumina (MEG) e supra-anfifílicos MEG1AO1 e MEG2AO1.

Amostra	Decomposição T_{onset}/ °C	Perda de massa(%) / Temperatura (°C)	
AO	118,5	88,36/291,2	-
MEG	160,1	91,33/365,6	-
MEG1AO1	158,9	31,73/281,8	52,23/422,4
MEG2AO1	153,9	82,73/425,2	-

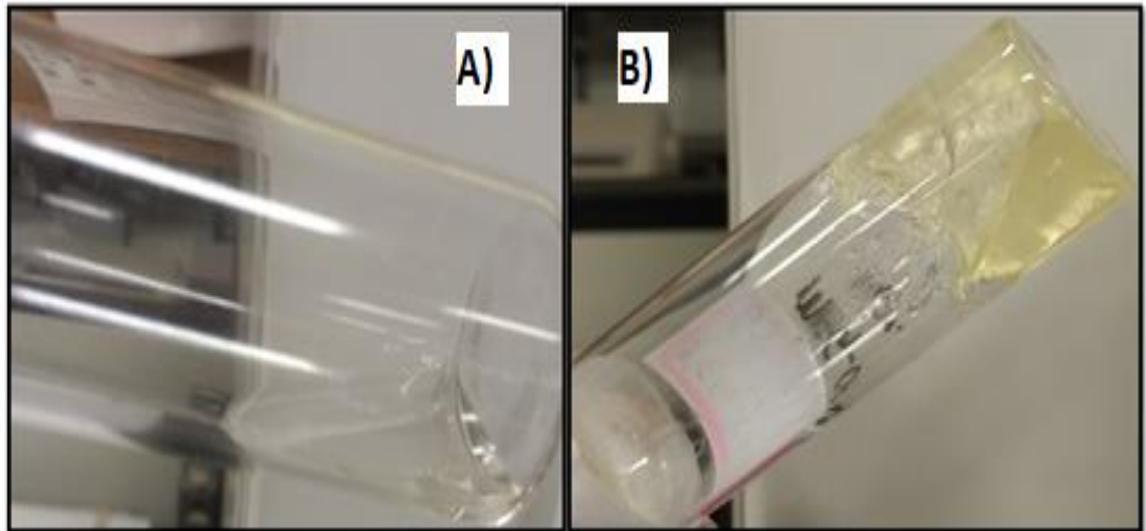
Fonte: Autor.

4.4 Avaliação dos supra-anfifílicos em fase aquosa

4.4.1 Descrição do sistema

Foi observado que as amostras com menor concentração de supra-anfifílico e maior concentração de água (até 80% m/m de água) formaram um sistema líquido, que não apresentou características de gel (Fig. 24-a). Para a amostra com concentração de água de 70%, um material mais viscoso que as primeiras amostras, foi formado, mas ainda se apresentava fluido. O teste simples de inversão do *vial*, em que se observa o fluxo, sugeriu que o ponto de gel se dava a partir de 40% de supra-anfifílico e, portanto, 60% de água (Fig. 24-b).

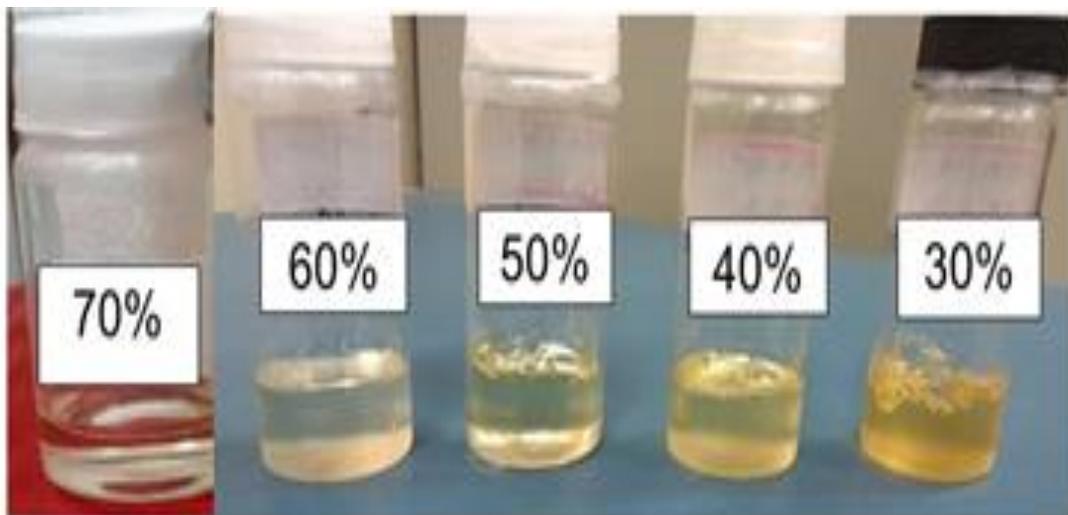
Figura 24 - Exemplo de supra-anfifílico com concentração de água até 80% m/m (A) e com concentração de 60% m/m ou inferior.



Fonte: Autor.

Essas amostras possuíam característica espumosa logo após o preparo, devido à agitação manual intensa e para a melhor observação macroscópica desses sistemas, estes foram deixados em repouso, em temperatura ambiente, por 24 h. Após esse período observou-se que todos os sistemas se apresentaram como sistemas límpidos (Figura 25).

Figura 25 - Características macroscópicas dos supra-anfifílicos MEGAO de maior (esquerda) para o menor (direita) conteúdo de água.



Fonte: Autor.

Essas observações foram semelhantes tanto para sistemas com o supra-anfifílico preparado em condições equimolares quanto para aqueles preparados em excesso estequiométrico de meglumina. Uma diferença visual observada entre esses dois grupos de amostras foi que para os supra-anfifílicos preparados em condições não-equimolares, os sistemas em fase aquosa apresentavam-se mais viscosos que os do outro grupo de amostras, o que já era esperado, visto a diferença na consistência dos supra-anfifílicos precursores.

4.4.2 Caracterização físico-química dos sistemas

Os anfifílicos, em solução aquosa, tendem a formar microestruturas, como característica do fenômeno de auto-organização molecular a fim de atingir a sua estabilidade termodinâmica. Tal fenômeno representa a base para a aplicação tecnológica dos anfifílicos, como sistemas organizados, nas ciências biológicas (FORMARIZ et al., 2005).

A caracterização de cristais líquidos é realizada através de diversas técnicas, desde as mais simples, tais como a observação visual, até o uso de técnicas de maior complexidade tais como microscopia de luz polarizada (MLP), difração de raio-X (DRX) e espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS).

Os principais fatores a serem considerados quando se trata de cristais líquidos envolvem a posição, orientação e a ordem de orientação de suas ligações. Considerando esses parâmetros, as fases líquidas cristalinas podem ser corretamente identificadas bem como as interações entre as moléculas que as compõem (AN et al., 2016).

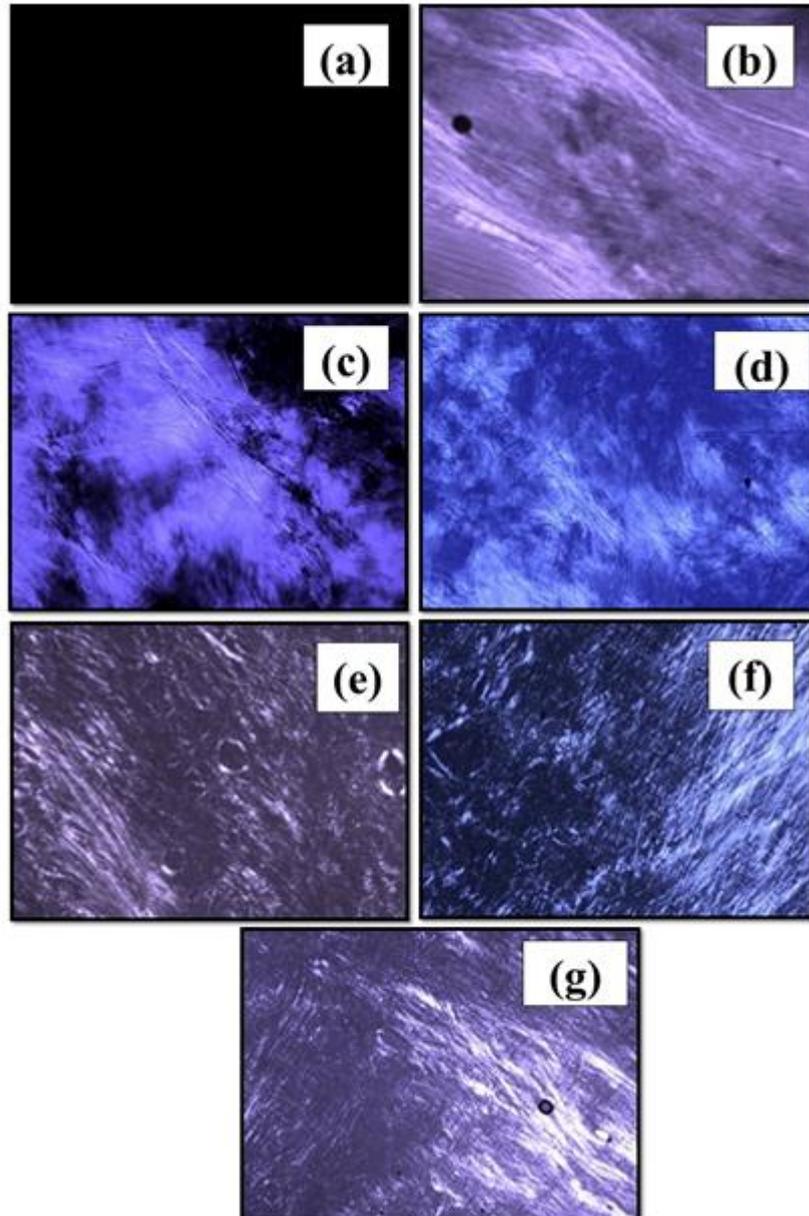
Através da observação visual dos sistemas supra-anfifílicos em água foi possível identificar que algumas amostras, principalmente as mais concentradas possuíam uma birrefringência, o que já nos levou a esperar a presença de algum tipo de ordenação molecular. Essa é também uma característica macroscópica de mesofases líquidas cristalinas e, portanto, esses sistemas foram avaliados através da microscopia de luz polarizada, o que nos permitiria identificar a presença ou não dessas mesofases. Além da MLP, os sistemas desenvolvidos nesse trabalho foram ainda caracterizados por SAXS, reologia, ESEM e DSC.

4.4.3 Microscopia de Luz Polarizada (MLP)

A microscopia de luz polarizada é uma técnica padrão na identificação de fases líquidas cristalinas, através da determinação de sua isotropia óptica (FORMARIZ et al., 2005). Os sistemas em que a luz incidida tem a mesma velocidade (índice de refração) em todas as direções são denominados isotrópicos (PATZELT, 1974). Se os sistemas conseguem polarizar a luz incidente estes são considerados anisotrópicos. Uma vez que os cristais líquidos de fase lamelar e hexagonal, por exemplo, são anisotrópicos, estes são capazes de polarizar a luz incidente, apresentando alguma estrutura na microscopia de luz polarizada. Algumas mesofases como a cúbica, são isotrópicas e apresentam-se como um campo escuro na microscopia de luz polarizada.

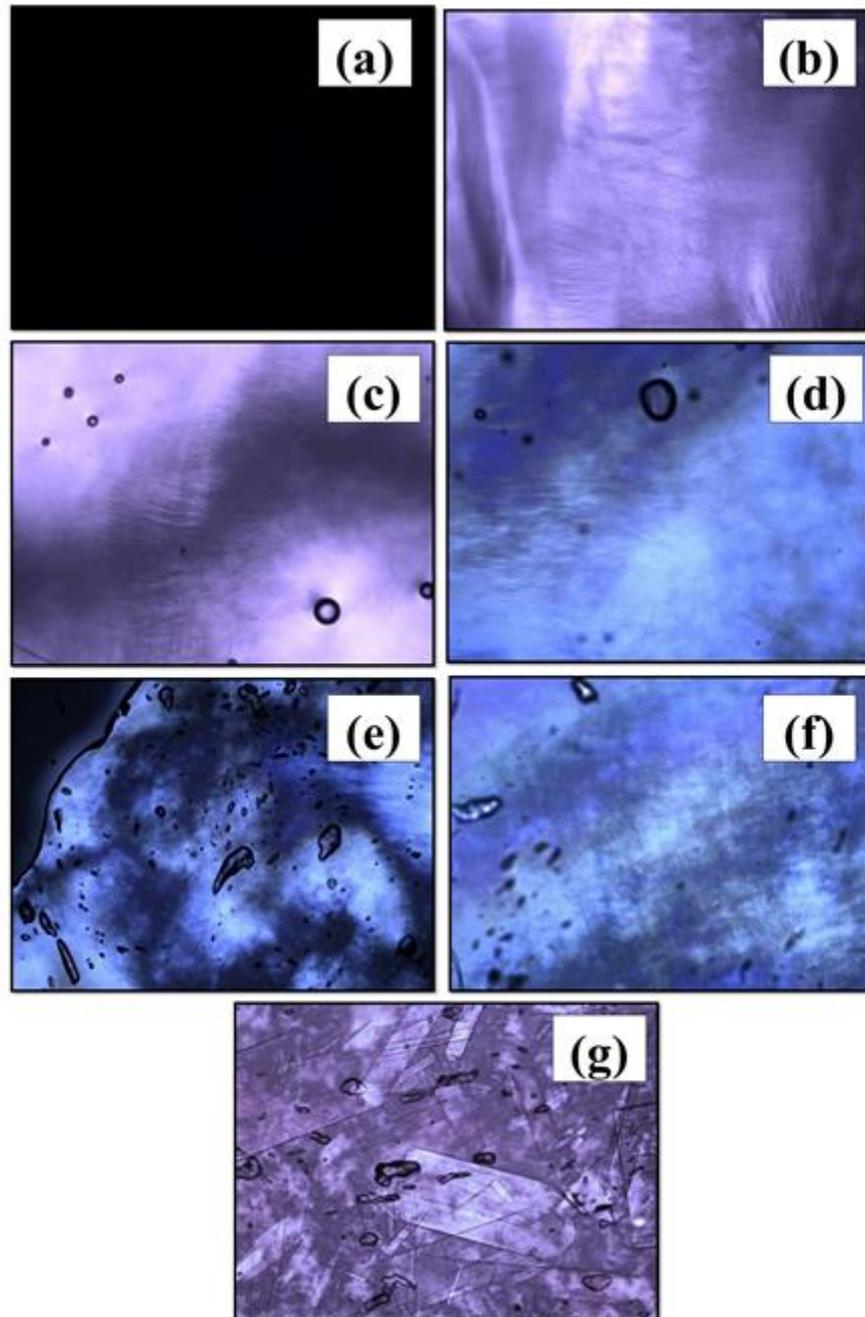
A isotropia e anisotropia das amostras reveladas por MLP (Figuras 26 e 27) permitiram a diferenciação das estruturas formadas em cada amostra, as quais foram depois confirmadas por SAXS.

Figura 26 - Fotomicrografia a 25 °C dos sistemas sintetizados em condição equimolar, MEG1AO1 com diferentes conteúdos de água. a) MEG1AO1_90; MEG1AO1_80 e MEG1AO1_70; b) MEG1AO1_60; c) MEG1AO1_50; d) MEG1AO1_40; e) MEG1AO1_30; f) MEG1AO1_20; g) MEG1AO1_10.



Fonte: Autor.

Figura 27 - Fotomicrografia a 25 °C dos sistemas sintetizados em condição não-equimolar, MEG2AO1 com diferentes conteúdos de água a) MEG2AO1_90; MEG2AO1_80 e MEG2AO1_70; b) MEG2AO1_60; c) MEG2AO1_50; d) MEG2AO1_40; e) MEG2AO1_30; f) MEG2AO1_20; g) MEG2AO1_10.



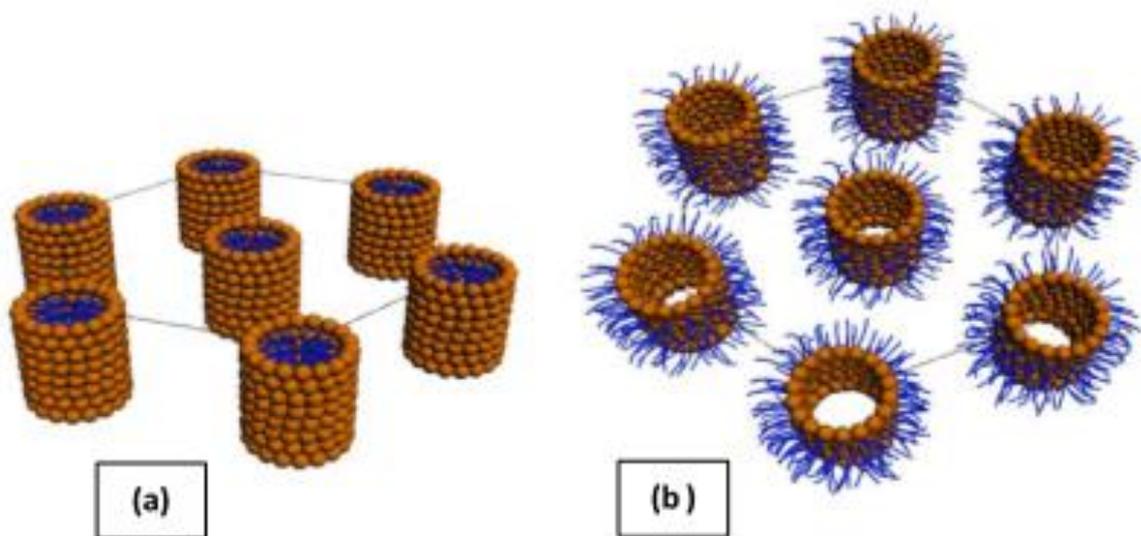
Fonte: Autor.

Observa-se que as amostras com concentração de água até 70% (Figuras 26 e 27-a) apresentaram campo escuro quando avaliadas sob luz polarizada e foram caracterizadas como soluções micelares. Esses são sistemas opticamente

isotrópicos, ou seja, não alteram a posição da luz, apresentam baixa viscosidade e se formam quando o sistema atinge sua concentração micelar crítica (c.m.c). Acima da c.m.c, as espécies se agregam espontaneamente e de forma reversível, mediante interações hidrofóbicas, o que forma uma variedade de estruturas, desde mesofases lamelares, hexagonais, cúbicas até micelas.

Os cristais líquidos apresentam geometrias diversas conforme a mesofase em que se estruturam. Os cristais líquidos liotrópicos nas quais os agregados de moléculas anfifílicas assumem a forma de cilindros bidimensionais são classificados como hexagonais (Figura 28). No caso das fases hexagonais diretas, o solvente polar (como a água) se localiza na região externa aos cilindros, enquanto que na fase reversa este encontra-se aprisionado no interior da estrutura cilíndrica.

Figura 28 - Representação esquemática de auto-organização de anfifílicos em um cristal líquido liotrópico de fase hexagonal. Na fase hexagonal direta (a) a água se localiza na fase externa do cilindro, interagindo com a porção polar da espécie anfifílica. Na fase reversa esta fica aprisionada no interior das estruturas (b).



Fonte: Adaptado de Neto (s.n.t).

As fotomicrografias das amostras contendo 60% ou menos de água mostraram a existência de agregados anisotrópicos, além de textura de estrias, típica da fase líquido cristalina hexagonal (Figura 26 b-g e Figura 27 b-f). Para a amostra contendo 10% de água, cujo supra-anfifílico foi preparado em condições não-equimolares

(Figura 27-g) não foi possível observar um padrão de textura definido e observa-se a presença de cristais em toda a extensão da amostra. Isso se deve provavelmente à quantidade insuficiente de água, para essa amostra, necessária para uma organização dos agregados moleculares com formação de uma mesofase líquido cristalina definida.

4.4.4 Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS)

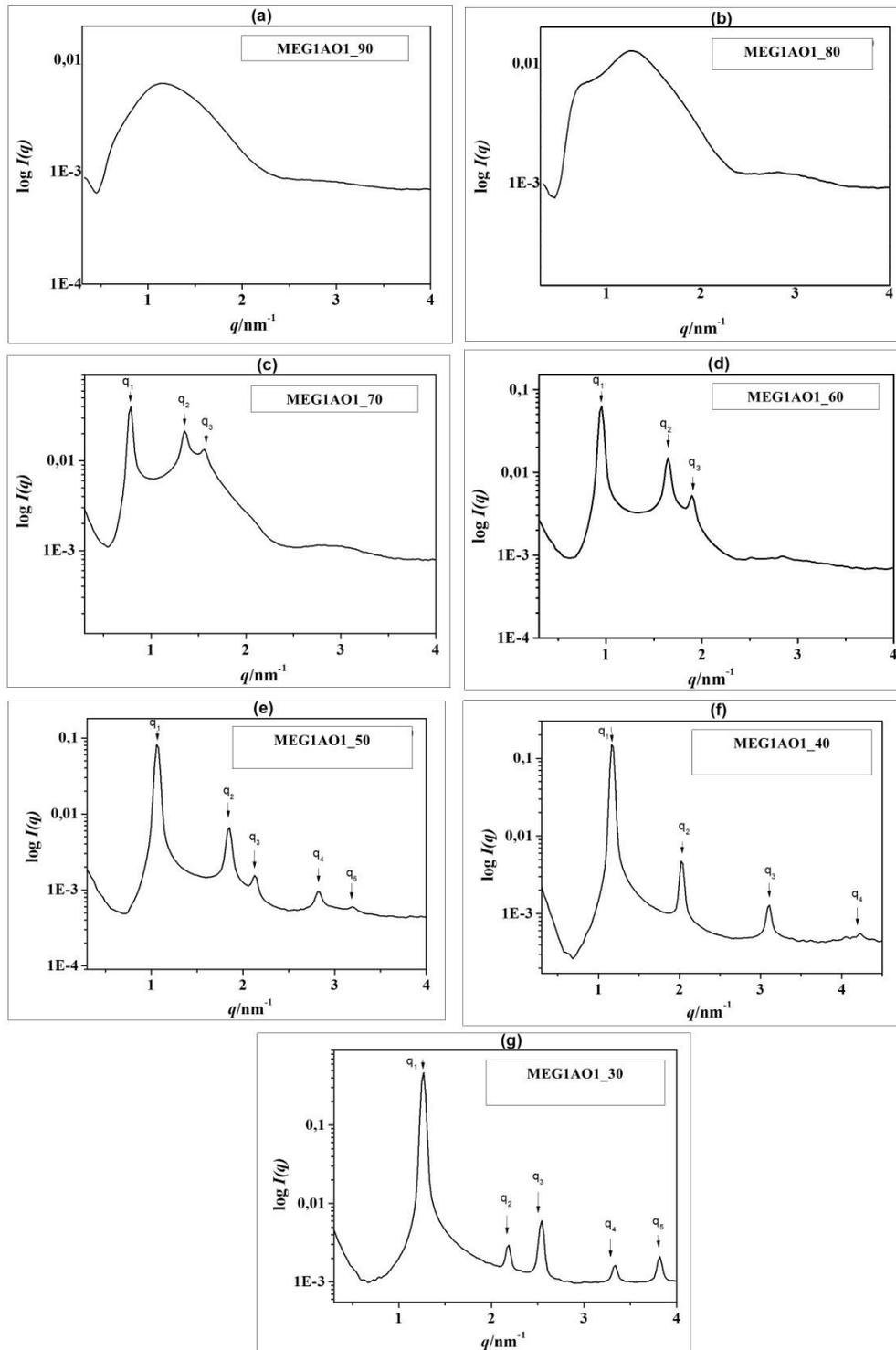
O SAXS é uma ferramenta indispensável na investigação estrutural de cristais líquidos. O alto poder de penetração dos raios-X faz do SAXS aplicável a quase todos os tipos de sistemas (PETUKHOV, 2015).

Experimentos de SAXS foram realizados a fim de confirmar as avaliações das mesofases obtidas por MLP. Os tensoativos podem se estruturar em diferentes tipos de agregados, os quais podem ser identificados de acordo com a posição dos picos no eixo do vetor de espalhamento q .

Nos cristais líquidos liotrópicos, a posição e intensidades relativas dos picos de Bragg permitem a determinação das estruturas, pela análise das distâncias relativas dos picos, as quais são ditadas pelas leis de reflexão, correspondendo à razão entre o parâmetro unitário de cela e as distâncias interplanares para cada mesofase. Para os sistemas isotrópicos, formados apenas por aglomerados micelares, tem-se uma contribuição maior do fator forma do que do fator estrutura para o sinal de SAXS, não apresentando padrão de reflexão periódico que define uma estrutura organizada, como visto nas mesofases (CAMPOS et al., 2012).

A Figura 29 apresenta as curvas de SAXS, intensidade de espalhamento, $I(q)$ em função do vetor de espalhamento (q) obtidas para os sistemas MEG1AO1/água.

Figura 29 - Perfis de SAXS para os sistemas MEG1AO1/água em função do conteúdo de água (% m/m) a 25 °C.



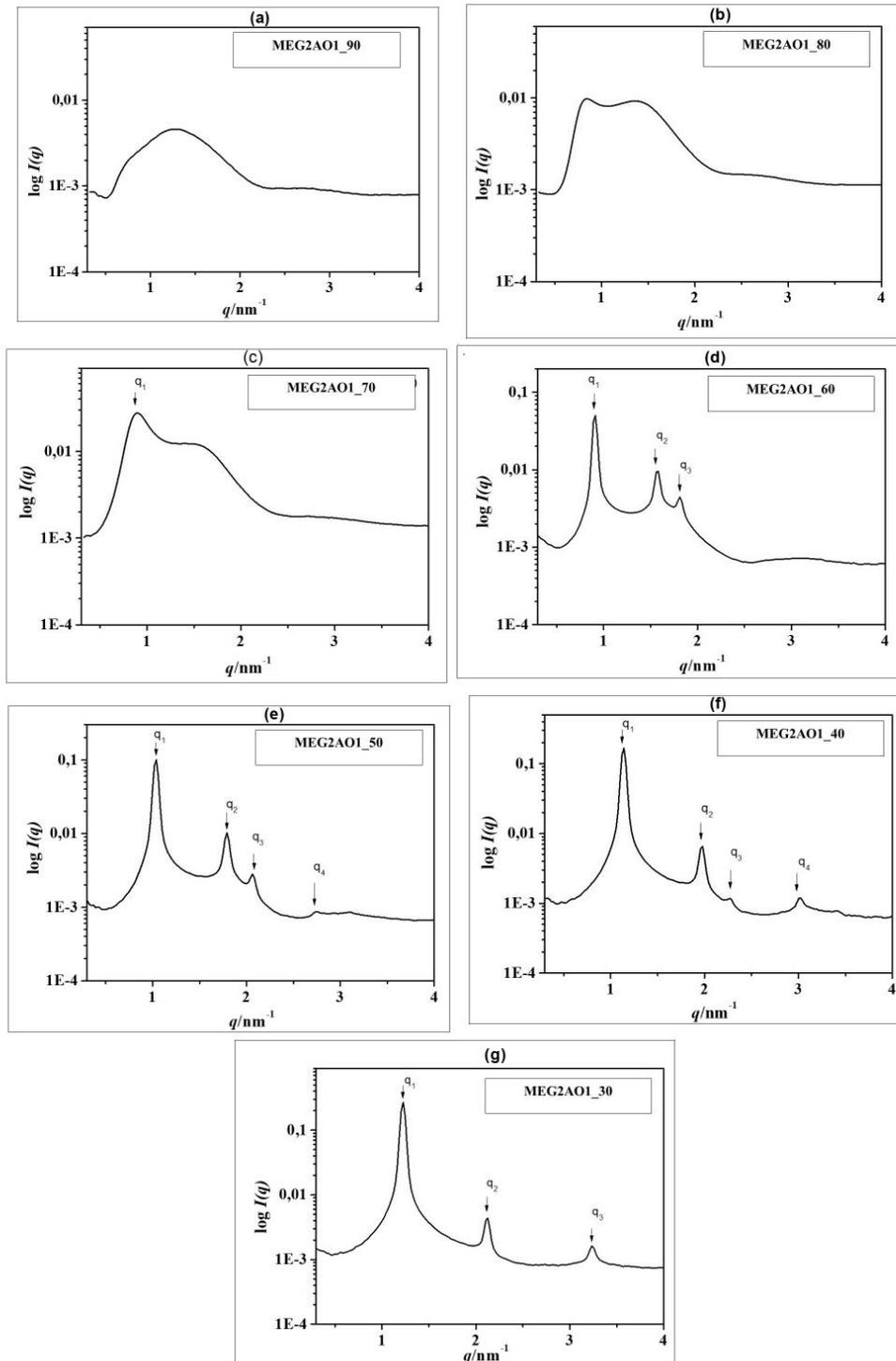
Fonte: Autor.

Para as amostras contendo maior quantidade de água, MEG1AO1_90 (Fig. 29-a) a curvas de SAXS apresentou somente um pico alargado com máximo de intensidade em um valor de $q \neq 0$, seguido por uma longa cauda, o que é característico de estruturas micelares (FANUN, 2008). O sistema MEG1AO1_80, apresenta picos que estão começando a se definir, porém ainda bastante alargados, o que indica um menor nível de organização nesses sistemas (Fig. 29-b). Para o sistemas com 70% ou menos de água (Fig. 29 c-g), os padrões de SAXS mostram picos que guardam uma relação de periodicidade entre si, indicando a presença de mesofases. Nesses sistemas, as curvas de SAXS apresentaram picos de Bragg nas razões $q_1:q_2:q_3:q_4:q_5 = 1:\sqrt{3}:2:\sqrt{7}:3$, os quais são característicos de fase hexagonal.

A Figura 30 apresenta as curvas de SAXS para os sistemas MEG2AO1/água.

O perfil de SAXS de MEG2AO1 com quantidade de água de 90% apresentou-se semelhantes àquele para os anfifílico MEG1AO1, mostrando um pico alargado, característico de fase isotrópica e típico de sistemas micelares, o que correlaciona com as imagens de campo escuro observada para ambos anfifílicos na MLP. Assim como para o anfifílico MEG1AO1_80, a curva de SAXS de MEG2AO1_80 mostrou um começo de definição de picos que ainda são bastante largos. Para o sistema MEG1AO1_70, a curva de SAXS mostra que o sistema já apresenta organização estrutural, visto pela periodicidade nos picos de Bragg característicos de fase hexagonal. Para o sistema MEG2AO1_70 nota-se um pico intenso em valor de $q = 0.90 \text{ nm}^{-1}$, indicando também uma contribuição da fase mais ordenada, o que também não havia sido observado por MLP, mas provavelmente em um nível de organização menor que o anfifílico MEG1AO1 na mesma concentração de água. Isso pode indicar o começo de uma organização estrutural nesse sistema, em uma região de transição de fases.

Figura 30 - Perfis de SAXS para os sistemas MEG2AO1/água em função do conteúdo de água (% m/m) a 25 °C.



Fonte: Autor.

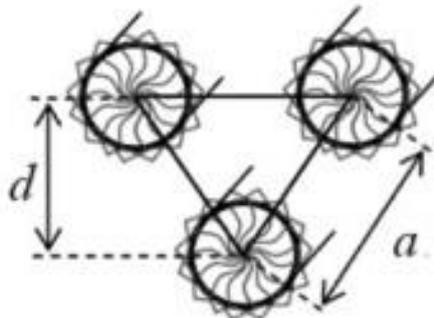
É possível observar ainda pelas curvas de SAXS que o estreitamento dos picos torna-se mais evidente à medida que o conteúdo de água no sistema vai diminuindo, o que denota a ideia da contribuição da água na estruturação desses sistemas. As interações hidrofóbicas levam os sistemas a se agregarem espontaneamente, formando estruturas ordenadas, nesse caso em fases liquido-cristalinas hexagonais, dependendo da proporção de supra-anfifílico e água.

O parâmetro de rede α , que representa a distância do centro de um cilindro ao outro, incluindo o diâmetro total do cilindro e espessura da camada aquosa, está listado na Tabela 3 e foi calculado a partir do primeiro pico de difração (q_{100}) através da Equação 1 (WANG et al., 2006).

$$\alpha = \frac{(4\pi / \sqrt{3})}{q_{100}} \quad (1)$$

Os parâmetros de rede da microestrutura são representados pela aresta do hexágono (a) que se relaciona com a distância entre os planos que passam por dois cilindros adjacentes (d), (CAMPOS et al., 2012) como mostra a Figura 31.

Figura 31 - Representação esquemática da mesofase hexagonal.



Fonte: Campos et al (2012).

Os valores apresentados na Tabela 3 mostram que há uma compactação destas estruturas conforme a concentração de anfifílico aumenta no meio, já que a distância de correlação entre os centros dos cilindros diminui, demonstrando o alto grau de empacotamento da fase hexagonal. De forma inversa, a presença de água

intumesce o sistema, conforme evidenciado pelo aumento nas distâncias à medida em que aumenta o conteúdo de água no sistema.

Tabela 3 - Composição dos anfífilos MEGAO/água estudadas e os resultados de MLP e SAXS

AMOSTRA	MLP	SAXS		CLASSIFICAÇÃO DAS FASES
		q_{100} (nm ⁻¹)	α (nm)	
MEG1AO1_90	Isotrópica	-	-	Sistema micelar
MEG1AO1_80	Isotrópica	-	-	Sistema micelar
MEG1AO1_70	Isotrópica	0,78	9,31	Hexagonal
MEG1AO1_60	Anisotrópica	0,95	7,64	Hexagonal
MEG1AO1_50	Anisotrópica	1,06	6,85	Hexagonal
MEG1AO1_40	Anisotrópica	1,16	6,26	Hexagonal
MEG1AO1_30	Anisotrópica	1,20	6,05	Hexagonal
MEG2AO1_90	Isotrópica	-	-	Sistema micelar
MEG2AO1_80	Isotrópica	-	-	Sistema micelar
MEG2AO1_70	Isotrópica	0,87	8,34	Hexagonal
MEG2AO1_60	Anisotrópica	0,90	8,07	Hexagonal
MEG2AO1_50	Anisotrópica	1,04	6,98	Hexagonal
MEG2AO1_40	Anisotrópica	1,14	6,37	Hexagonal
MEG2AO1_30	Anisotrópica	1,23	5,90	Hexagonal

Fonte: Autor.

Os resultados de SAXS aliados à MLP permitiram a identificação estrutural desses sistemas e mais ainda, nos permitiram um conhecimento mais aprofundado sobre os seus níveis de organização. Os resultados mostraram ainda que a adição de água no sistema leva à formação de arranjos líquido-cristalinos, dependendo da composição. O aumento do conteúdo de água, após uma certa quantidade forma sistemas isotrópicos.

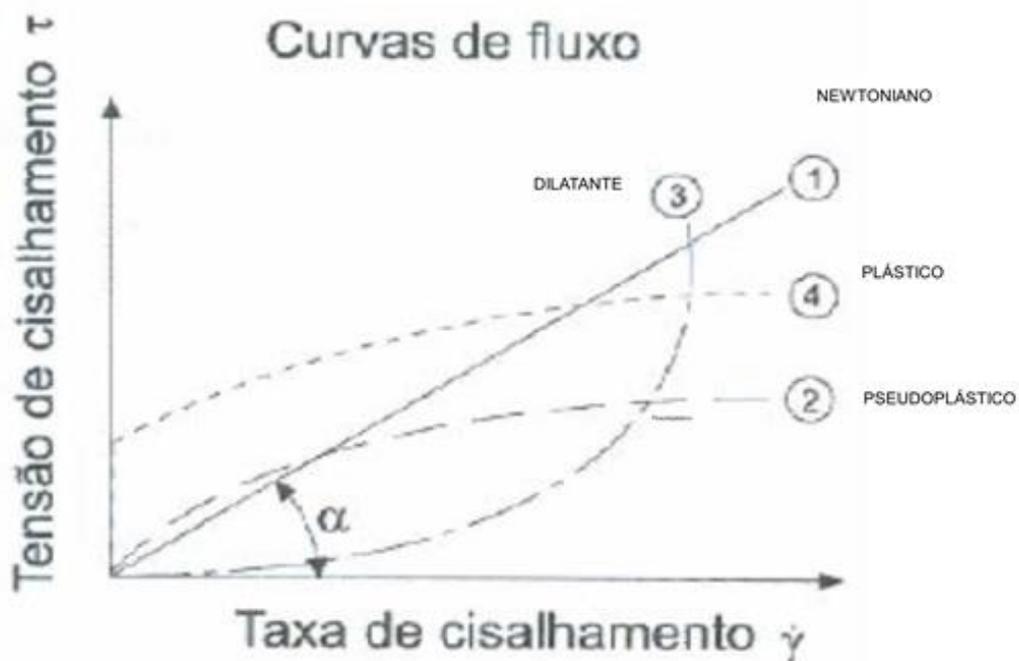
4.4.5 Reologia

A reologia é a técnica de escolha quando valores quantitativos são procurados para descrever a resistência ao fluxo (viscosidade) de soluções. É amplamente aplicável na caracterização de sistemas coloidais, uma vez que o comportamento do fluido está relacionado com o tipo e o grau de organização dos sistemas.

Para a caracterização de géis supramoleculares dois experimentos reológicos comuns são geralmente realizados: (1) a resposta linear do módulo (G' e G'') a uma pequena amplitude fixa de “*stress*”, variando a frequência e (2) o comportamento não linear do módulo a uma frequência fixa, variando-se a tensão de cisalhamento (YU et al., 2013). Como resultado, o material é um “*solid-like*” em seu comportamento reológico, sendo que o módulo de armazenamento (G') deve permanecer maior do que o módulo de perda (G'') em uma faixa de frequência ampla (incluindo baixas frequências) dentro da região viscoelástica linear. A força mecânica do gel é relacionada às magnitudes absolutas dos módulos e à razão G'/G'' (WEISS, 2014).

A reologia classifica um fluido em Newtoniano ou não Newtoniano, de acordo com a relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento. Os fluidos newtonianos são aqueles cuja viscosidade é constante e seguem, portanto, a Lei de Newton da viscosidade. Os fluidos não newtonianos são aqueles em que a relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento não é constante (Figura 32).

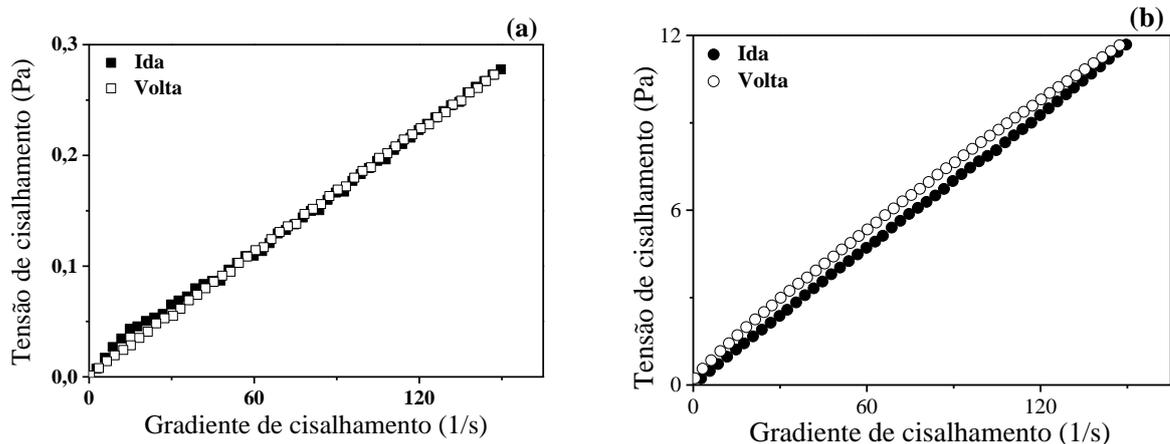
Figura 32 - Representação esquemática de curvas de escoamento de fluidos newtoniano e não-newtonianos de propriedades independente do tempo de cisalhamento.



Fonte: Adaptado de Viana (s.n.t).

A Figura 33 mostra a variação da tensão de cisalhamento (τ) em função da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$). O resultado é uma curva ascendente e descendente que indicam o comportamento de escoamento das amostras com 90% e 80% de água em sua composição. Observa-se que as amostras MEG1AO1_90 e MEG1AO1_80 apresentam um comportamento muito próximo ao newtoniano, visto através da reação de linearidade entre a tensão e a taxa de cisalhamento, o que é característico de sistemas micelares. Esse efeito pode ocorrer devido a uma maior mobilidade dos agregados micelares que com a ação do cisalhamento alinham-se em direção ao escoamento.

Figura 33 - Variação da taxa de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento para as amostras (a) MEG1AO1_90 e (b) MEG1AO1_80.



Fonte: Autor.

O ensaio de escoamento não foi realizado para as amostras contendo 70% ou menos de água em sua composição, devido à sua alta viscosidade. Para estas amostras o comportamento reológico foi avaliado através dos ensaios oscilatórios.

Nas medidas de reologia oscilatória, uma torção sinoidal é aplicada a uma amostra e a resposta mecânica é então medida em função da frequência oscilatória ou em função da temperatura. Em um sólido puro a maior resposta torcional é observada quanto maior for a força aplicada por unidade de área. Assim, nestes sistemas a energia aplicada é usada para garantir a recuperação instantânea do próprio sistema ao final do “stress” (força por unidade de área – Pa) aplicado. Ao contrário, em um líquido Newtoniano a energia aplicada não é armazenada, mas sim

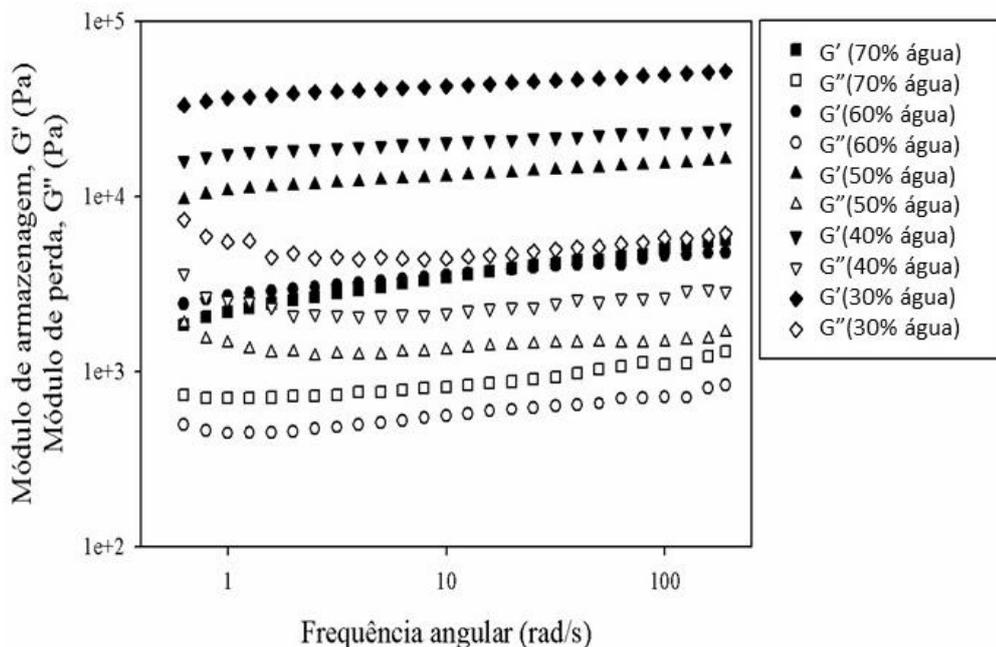
dissipada como calor no processo de escoamento. Os materiais viscoelásticos possuem características intermediárias aos sólidos e líquidos (GRATIERI, 2010; JONES; BROWN; WOOLFSON, 2001).

Nas análises reológicas, G' representa a energia armazenada por ciclo, e é o módulo de armazenamento ou elástico (“resposta de sólido”). O módulo de armazenagem é alto se a amostra é predominantemente elástica ou altamente estruturada, enquanto que G'' representa a energia dissipada por ciclo, e é o módulo de perda, ou viscoso (“resposta de líquido”). (CALLENS, et al., 2003; GRATIERI, 2010; JONES; BROWN; WOOLFSON, 2001).

As medidas oscilatórias nos fornecem, portanto, informações sobre as propriedades dinâmicas de um material, tais como valores de módulo elástico ou módulo viscoso, ao investigarem a resposta do material submetido a uma torção sinusoidal. Assim, os valores obtidos de G' e G'' podem ser utilizados para se prever o desempenho das formulações (GRATIERI, 2010).

A Figura 34 apresenta a evolução dos módulos de armazenagem, G' , e de perda G'' , dos sistemas MEG1AO1 em água.

Figura 34 - Evolução dos módulos de armazenagem (G') e de perda (G'') dos sistemas supraanfílicos MEG1AO1 em conteúdo de água de 70 a 30%. As formas geométricas preenchidas representam o módulo G' e as formas geométricas vazias representam o módulo G'' .



Fonte: Autor.

A análise de varredura de frequência demonstrou que as amostras a partir de 70% de água apresentaram características mais elásticas do que viscosas, devido aos valores de G'' serem inferiores aos de G' em todo o intervalo de frequência estudado. Essa característica é interessante do ponto de vista tecnológico, já que para formulações farmacêuticas, por exemplo, isso facilitaria a aplicação e o espalhamento no local. Esses resultados evidenciam um comportamento de gel, independente da frequência, o que reflete uma elevada organização estrutural do sistema, como visto também nas análises de MLP e SAXS. O comportamento típico de gel ($G' > G''$) já tem sido reportado na literatura para sistemas de cristais líquidos (ANTUNES et al., 2007; FONSECA-SANTOS, et al., 2016) e parece ser característico de alguns sistemas líquidos cristalinos de fase hexagonal.

Pode-se observar ainda pela Figura 34 que o aumento da frequência leva à um aumento do módulo elástico em relação ao módulo viscoso, ou seja a relação G'/G'' aumenta proporcionalmente à frequência, o que também indica estruturação do sistema. Quando se pensa em desenvolver um sistema para fins de liberação de fármacos, devem ser consideradas características do sistema biológico a que o material é destinado, tais como a presença de água ou fluidos na superfície biológica, o que pode ainda estar alterado, devido a processos fisiológicos como os desencadeados pela inflamação, por exemplo.

Nesse caso, uma diluição no sistema aumentaria o módulo viscoso do mesmo, ou seja, diminuiria a relação G'/G'' (GRATIERI, 2010). Entretanto, como é possível notar nessas amostras uma tendência na estruturação maior do sistema com o aumento da frequência, é possível que ao aplicar uma força sobre o material, como por exemplo, o ato de espalhamento de uma formulação na pele, compense esse efeito da diluição, garantindo que a formulação permaneça então no local de ação e evite ser rapidamente escoada.

A liberação de fármacos também pode ser modulada de acordo com a reologia dos sistemas. Saxena e colaboradores (2011) evidenciaram que o aprisionamento de um fármaco na estrutura de géis resultou na criação de espaços vazios na estrutura/imperfeições através da interação com os grupos funcionais de componentes desses géis, o que causou um enfraquecimento na estrutura interna que refletiu nos valores menores do módulo de armazenamento. Ainda, a liberação foi melhor em sistemas que possuíam valores maiores do módulo elástico G' , o que levou

os autores a concluírem que as características reológicas em uma matriz de gel determinam o comportamento de liberação de fármacos.

Os experimentos reológicos conduzidos nesse trabalho levam em conta somente o sistema e não a associação de sistema e fármaco. Assim, é importante destacar que de acordo com a finalidade a que se deseja destinar um sistema de liberação e, portanto, o uso de um ativo farmacêutico em associação com esse sistema deve ser avaliado a fim de garantir a eficácia do mesmo para o objetivo proposto.

Os experimentos nesse estudo foram realizados usando somente os sistemas em que os supra-anfifílicos foram preparados em condições equimolares. No caso das amostras com concentração de água até 80% acredita-se que os supra-anfifílicos preparados em condições não equimolares, MEG2AO1/água, apresentem comportamento semelhante ao observado para os anfifílicos avaliados. A caracterização dessas amostras por MLP e SAXS demonstrou um comportamento isotrópico desses sistemas, estruturados como micelas. Assim, espera-se que tais sistemas também apresentem uma relação linear entre a taxa e o gradiente de cisalhamento, que é característico de sistemas micelares, conforme observado aqui para os anfifílicos MEG1AO1/água.

Os sistemas MEG2AO1/água foram preparados a partir dos anfifílicos MEG2AO1, sintetizados em condições de excesso estequiométrico de meglumina. Nesse caso, para as amostras com maior quantidade de anfifílico, 40 a 70% m/m, espera-se que também evidenciem um comportamento típico de gel, conforme visualizado para os mesmos sistemas a partir de anfifílicos preparados em condições equimolares. No entanto, a extensão da relação entre os módulos elástico e viscoso e a frequência, poderia ser alterada.

Gratieri (2010) evidenciou em seu trabalho que a concentração de quitosana, um polissacarídeo, no sistema de liberação avaliado, contribuiu para a reestruturação do mesmo, que apresentava $G'' > G'$ inicialmente, em soluções bastante diluídas. A maior concentração de quitosana foi associada com a menor frequência necessária, ou seja, menor energia para promover a reestruturação do sistema.

A avaliação dos sistemas estudados nesse trabalho mostra que mesmo os supra-anfifílicos em condições equimolares já se apresentam como sistemas estruturados, a partir de 30% m/m de sistema anfifílico na amostra, independente da frequência, visto pela relação G'/G'' . Nesse caso, espera-se que os sistemas

MEG2AO1/água, cuja evidência de sistemas estruturados a partir de 30% m/m de anfifílico foi evidenciada por SAXS, apresentem também evidência de sua organização estrutural com comportamento reológico semelhante aos sistemas avaliados aqui. No entanto, devido à uma maior quantidade de meglumina, pode ser que esta interfira nos resultados dos módulos elástico e viscoso, e, portanto, na extensão da relação G'/G'' .

É importante ainda destacar que a caracterização reológica de sistemas com propriedades adesivas é muito importante, uma vez que tais análises indicam a rigidez e elasticidade desses sistemas. Isso porque os produtos desenvolvidos para um tempo de permanência prolongado na pele vão ser submetidos a tensões oscilantes, em diversas frequências, como resultado das atividades diárias normais. Assim, as propriedades reológicas devem ser bem compreendidas, já que irão influenciar diretamente o desempenho clínico desses sistemas (CARVALHO et al., 2013; JONES; BROWN; WOOLFSON, 2001).

4.4.6 Análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Considerando sistemas que se estruturam como cristais líquidos liotrópicos, pode-se afirmar que um dos principais constituintes desses sistemas contendo tensoativos é a água, cujo comportamento é sensível à presença de vários tipos de interfaces adjacentes (FÉHER, 2006). Entretanto, o estudo do estado desse importante componente, a água, é muitas vezes negligenciado, e somente o seu ponto de fusão no sistema é reportado. O comportamento da água é sensível à presença de interfaces adjacentes de natureza diversa, tais como as biomembranas, proteínas e compostos inorgânicos (SCHULZ, 1998).

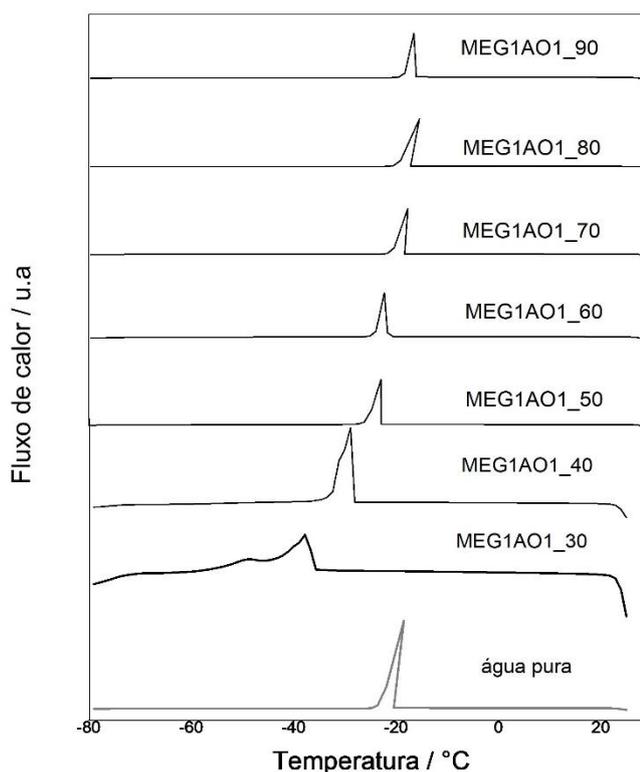
Muitos estudos relevantes de DSC tem proposto que o estado da água nesses sistemas pode ser dividido em três classes, os quais são: (i) água livre, que é a água não ligada, cujas temperaturas de transição e formato do pico são comparáveis aos da água livre ou em “*bulk*”, (ii) água não congelável, que é a água intimamente ligada ao sistema, cuja nenhuma transição de fase pode ser detectada no DSC e (iii) água ligada congelável, que apresenta temperaturas de cristalização e fusão abaixo de 0 °C, e o pico é observado, geralmente, mais alargado do que o da água livre (ZAMAN, et al., 2004; NAKAMUR, et al., 2004; MRLÍK, 2017).

O conhecimento da proporção dos diferentes tipos de água em cristais líquidos liotrópicos é importante para se obter informações sobre a estrutura, o que está relacionado com a liberação de fármacos a partir de preparações farmacêuticas (FÉHER, 2006).

Nesse trabalho, o DSC foi usado como o método para a avaliação do estado da água nos sistemas anfifílicos. A porção de água ligada foi calculada por diferença, da água calculada experimental. Para isso leva-se em conta a quantidade de água do sistema e os valores de entalpia de cada sistema e da água pura.

A Figura 35 apresenta as curvas de resfriamento do sistema MEG1AO1/água.

Figura 35 - Curvas DSC de resfriamento para os sistemas MEG1AO1/água e água pura, a 5 °C min^{-1} em atmosfera de N_2 . Exo (para cima).



Fonte: Autor.

Pode-se observar que todos os sistemas apresentaram picos exotérmicos no DSC, o que significa que essas amostras possuem água congelável, que representa água livre e ligada nos sistemas. O sistema com a menor quantidade de água avaliado, 30%, apresenta um pico exotérmico assimétrico, com temperatura onset de

-36,27 °C. Observa-se ainda uma tendência da temperatura da transição exotérmica em se deslocar para valores maiores, conforme o conteúdo de água no sistema aumenta (Tabela 4).

Para as amostras com conteúdo de água de 40%, um pico típico de um ombro é observado em temperaturas mais baixas que a temperatura da transição principal.

A presença de um ombro e uma transição principal ou picos mais alargados do que o solvente puro indica que pelo menos dois tipos de água coexistem no sistema congelado (CODONI; BELTON; QI, 2015).

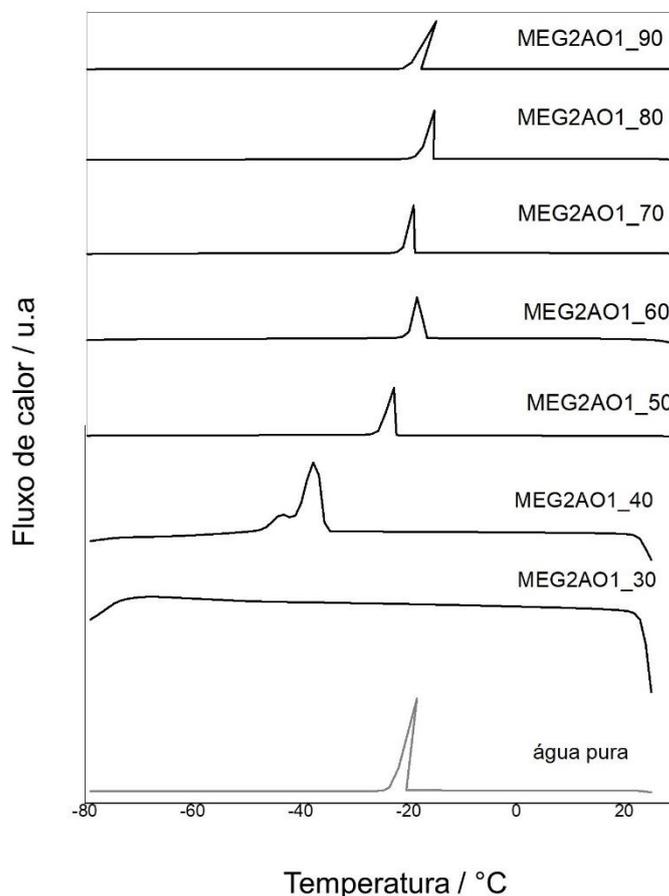
As curvas DSC indicam que os sistemas anfifílicos MEG1AO1 com conteúdo de água de 30 a 60% contém água ligada congelável. Estruturalmente, a água denominada de ligada congelável contém uma camada de moléculas de água que interagem com a superfície hidrofílica do sistema, o que faz com que o processo de congelamento ocorra diferente da água livre. O aumento dessas interações leva à uma maior dificuldade de difusão das moléculas de água, e com isso o congelamento da água leva mais tempo para ocorrer (FERREIRA et al., 2016).

Quando a saturação das interações das moléculas de tensoativo com a água ocorre, um novo estado da água aparece no sistema, com características que se assemelham mais à água pura. A existência de água livre nos sistemas MEG1AO1/água foi observada nos sistemas contendo 70 a 90% de água. Os picos mais estreitos e os valores de temperatura de cristalização são um indicativo da existência de água livre nesses sistemas.

Devido ao efeito de super-resfriamento, as moléculas de água livre congelam em um curto período de tempo, o que resulta no pico exotérmico fino (VRINGER; JOOSTEN; JUNGINGER, 1986).

Para os anfifílicos MEG2AO1 (Figura 36), o sistema com menor conteúdo de água, 30%, não apresenta nenhuma transição de primeira ordem no DSC. Esse fenômeno é causado pelo fato de que até uma certa quantidade de água existe uma forte interação entre as moléculas de água e do tensoativo. Esse tipo de água é denominado água ligada não congelável e tem sido interpretada como a água que forma uma camada de hidratação na microestrutura do sistema (FÉHER, 2006).

Figura 36 - Curvas DSC de resfriamento para os sistemas MEG2AO1/água e água pura, a 5 °C min^{-1} em atmosfera de N_2 . Exo (para cima).



Fonte: Autor.

Nos sistemas com conteúdo de água de 40 a 70% a evidência de água congelável ligada é observada, devido ao formato largo do pico e ainda pelas temperaturas de cristalização que são mais baixas, comparadas às do solvente puro, conforme o conteúdo de água vai diminuindo (Tabela 4). Para os sistemas com maior quantidade de água, 80 e 90%, a temperatura de cristalização é bastante semelhante ao do solvente puro, o que é uma evidência de água congelável do tipo livre.

Tabela 4 - Dados de DSC para as curvas de resfriamento e aquecimento dos sistemas supra-anfifílicos/água.

Amostra	Parâmetros			
	T _c (°C)	T _f (°C)	Entalpia de cristalização da água (J.g ⁻¹)	Entalpia de fusão da água (J.g ⁻¹)
MEG1AO1_30	-36,27	-26,39	35,72	35,46
MEG1AO1_40	-28,50	-13,22	71,50	71,36
MEG1AO1_50	-25,43	-6,22	122,29	128,04
MEG1AO1_60	-23,64	-4,01	158,64	160,57
MEG1AO1_70	-20,88	-2,38	196,15	203,88
MEG1AO1_80	-19,98	-1,66	245,16	255,69
MEG1AO1_90	-18,32	-1,26	223,57	239,12
MEG2AO1_30	^a	-30,53	^a	34,78
MEG2AO1_40	-35,67	-20,47	61,14	55,76
MEG2AO1_50	-25,28	-13,05	103,15	104,04
MEG2AO1_60	-20,32	-7,50	126,63	131,90
MEG2AO1_70	-21,70	-4,93	187,72	192,07
MEG2AO1_80	-18,32	-2,99	228,86	236,29
MEG2AO1_90	-21,16	-2,27	285,75	298,38

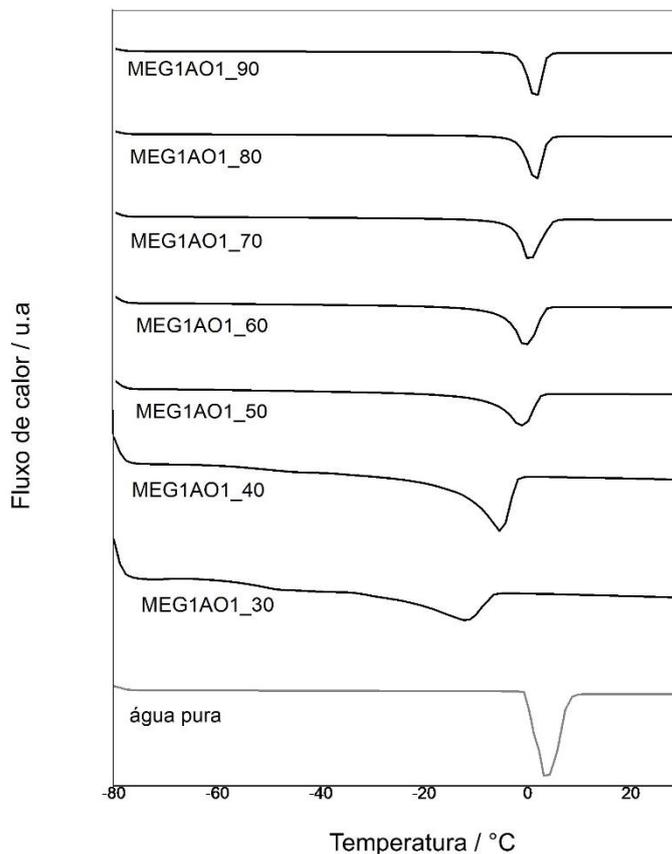
^a Não detectado no DSC

Fonte: Autor.

As curvas de aquecimento também podem ser avaliadas para a caracterização do estado da água (Figura 37 e 38) e corroboram com as conclusões acerca do estado da água obtidas pelas curvas de resfriamento.

Para os sistemas MEG1AO1 (Figura 37) em todos os conteúdos de água avaliados, foram observados um pico endotérmico, cuja temperatura se desloca para valores maiores conforme o conteúdo de água no sistema aumenta (Tabela 4). Os sistemas com 70 a 90% de água apresentam um pico endotérmico entre -2,38 °C e -1,26 °C, consistente com a presença de água cuja atividade é semelhante à observada para a água livre, indicando a presença então de água do tipo livre congelável nesses sistemas.

Figura 37 - Curvas DSC de aquecimento para os sistemas MEG1AO1/água e água pura, a 5 °C min^{-1} em atmosfera de N_2 . Exo (para cima).



Fonte: Autor.

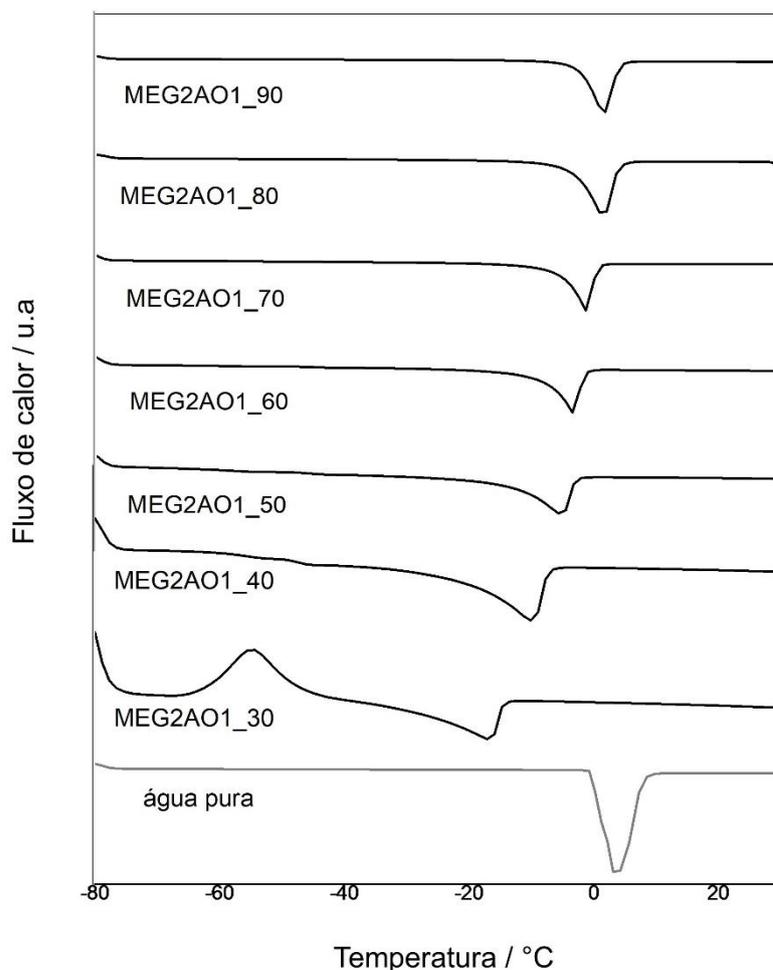
No caso dos sistemas MEG2AO1/água (Figura 38), no conteúdo de água de 30%, um pico de fusão foi observado, com onset em $-30,53\text{ °C}$. Pela curva de resfriamento, nenhuma transição foi detectada nessa amostra, no entanto, por meio da curva de aquecimento acredita-se que parte da água presente nessa amostra é uma água congelável ligada.

Os sistemas com conteúdo maior que 30 e até 70% de água, possuem temperaturas de fusão deslocadas para temperaturas maiores conforme o conteúdo de água aumenta. Para o conteúdo de água de 80 e 90%, observa-se picos endotérmicos em $-2,99\text{ °C}$ e $-2,27\text{ °C}$, respectivamente, muito semelhante com o observado para a água livre.

Os picos de fusão foram o indicativo da presença de água congelável nesses sistemas, apesar de não ter sido possível evidenciar, nas curvas de aquecimento,

picos individuais para os tipos de água, como foi observado nas curvas de resfriamento.

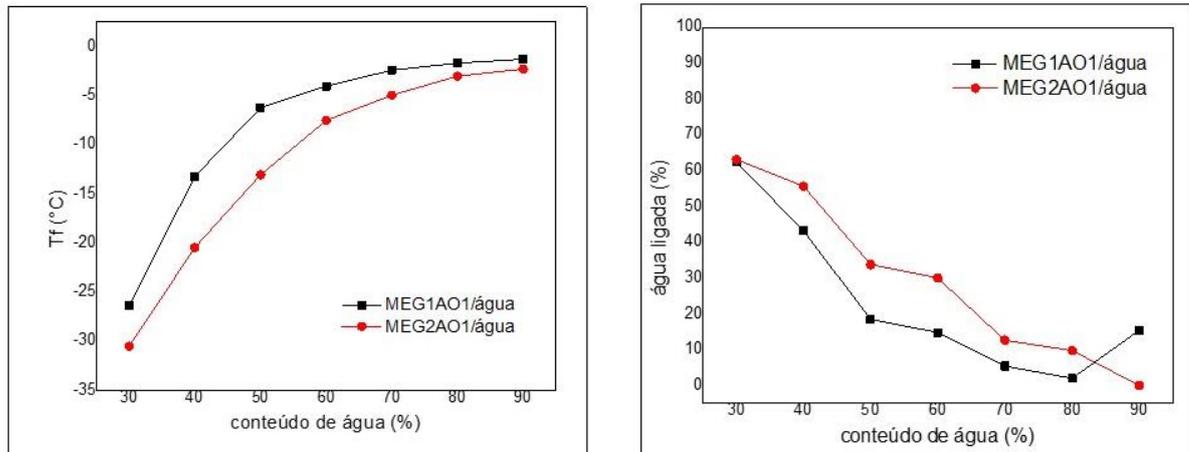
Figura 38 - Curvas DSC de aquecimento para os sistemas MEG2AO1/água e água pura, a 5 °C min^{-1} em atmosfera de N_2 . Exo (para cima).



Fonte: Autor.

As curvas de temperatura de fusão (T_f) e água ligada plotadas pelo conteúdo de água, fornecem uma melhor visualização da diferença entre os anfífilos (Figura 39). Pode-se observar que o excesso de meglumina no sistema MEG2AO1 contribui para uma maior retenção de água no sistema, evidenciado através das menores T_f e maiores porcentagens de água ligada, observada para o sistema MEG2AO1.

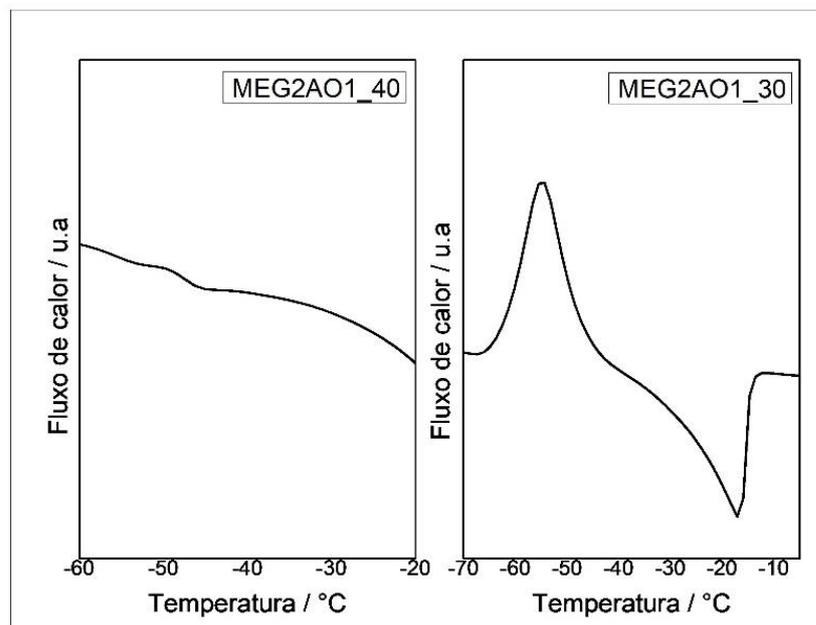
Figura 39 - Relação entre T_f (a) e água ligada (b) de acordo com o conteúdo de água.



Fonte: Autor.

Na curva de aquecimento de MEG2AO1_40 foi ainda observado uma transição vítrea em temperatura próxima a -50 °C e em MEG2AO1_30 foi observado um pico característico de cristalização a frio, que é a cristalização que ocorre durante a rampa de aquecimento, com T_{onset} em $-62,42$ °C. Pode ser que esse sistemas também apresente transição vítrea na mesma faixa de temperatura que o sistema com 40% de água, no entanto, devido ao pico de cristalização a frio acontecer na mesma faixa de temperatura, esta não pode ser observada. Esses eventos encontram-se ampliados na Figura 40.

Figura 40 - Ampliações das curvas DSC na região de -70 a 10 °C dos sistemas MEG2AO1_40 e MEG2AO1_30.



Fonte: Autor.

Apesar do entendimento do comportamento da água em sistemas como os estudados nesse trabalho ser bastante desafiador, principalmente quando se tem múltiplos tipos de água, o foco na análise térmica da água, permite obter muitas informações pertinentes e interessantes sobre o sistema. A água desempenha um papel importante como um meio que controla a estrutura, função, dinâmica e termodinâmica ligada a membranas biológicas (SCHULZ, 1998).

4.4.7 Microscopia eletrônica de varredura no modo ambiental (ESEM)

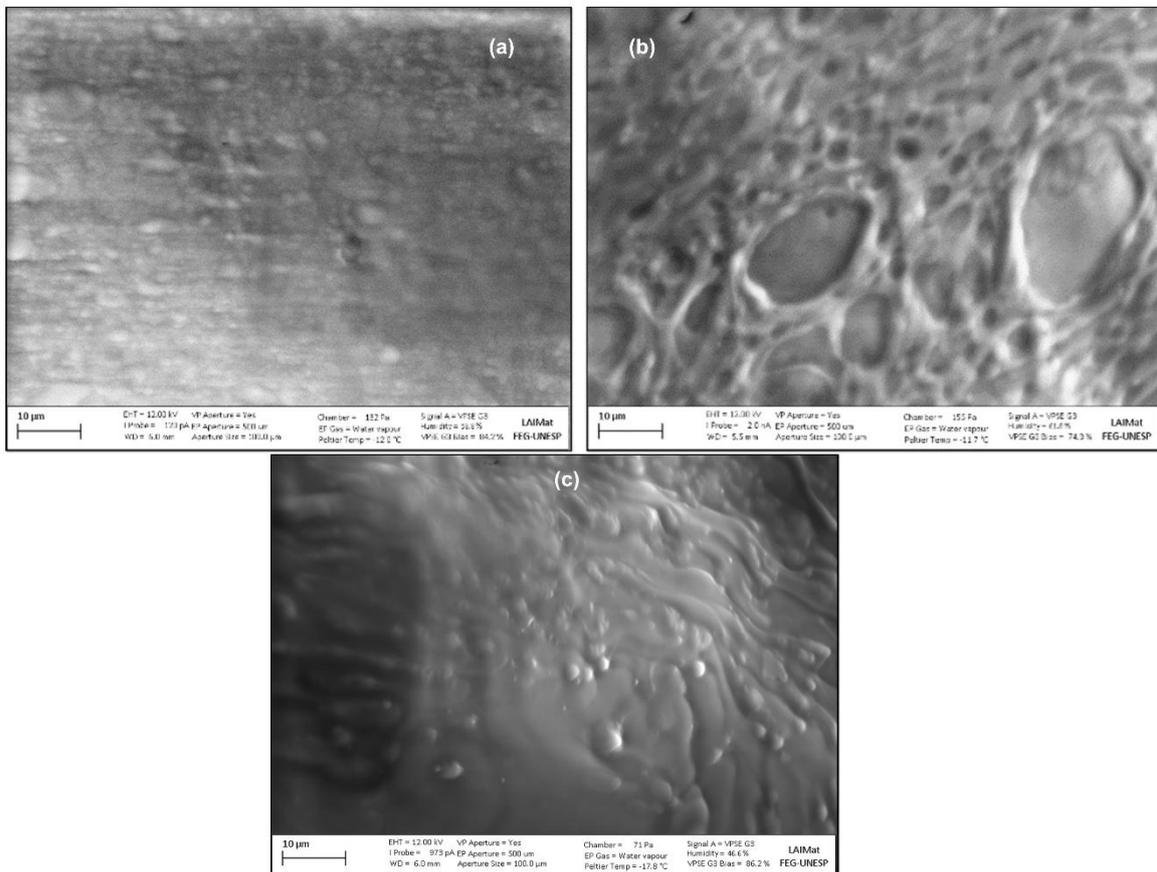
No intuito de caracterizar a topografia da superfície da fase hexagonal obtida nos sistemas avaliados nesse estudo, duas amostras com conteúdos de água diferentes foram selecionadas para medidas de microscopia eletrônica de varredura, no modo ambiental.

A microscopia eletrônica de varredura no modo ambiental (ESEM) é uma técnica poderosa para investigação da hidratação de amostras em seu estado nativo e em baixas pressões. Em contraste com a microscopia eletrônica de varredura convencional (MEV), que opera sob um alto vácuo, nas medidas de ESEM, um gás

circula ao redor da amostra durante a aquisição das imagens. Apesar do grande potencial de ESEM para imagens de sistemas coloidais, é surpreendente que pouca literatura científica tem sido reportada utilizando essa metodologia (LIBSTER et al., 2008).

Através de medidas de ESEM é possível observar características morfológicas da superfície de fase hexagonal. O modelo clássico macroscópico de fase hexagonal assume uma estrutura de microdomínios alinhados. Na micrografia da ESEM de fase hexagonal é possível observar um arranjo de polidomínios, refletido por um alinhamento de multicamadas (LIBSTER et al., 2008).

Figura 41 - Micrografias ESEM de MEG1AO1 contendo (a) 70%, (b) 50% e (c) 30% de água. Magnificação de 3000x.



Fonte: Autor.

A Figura 41 mostra as micrografias de MEG1AO1_70, MEG1AO1_50 e MEG1AO1_30. Nesse caso, mudanças na superfície puderam ser visualizadas. Uma estrutura com menor grau de organização (Figura 41-a) evolui a uma estrutura

característica de fase hexagonal (Figura 41-c), observada pela formação de fibras alongadas que seguem um arranjo aleatório. A concentração de supra-anfifílico também parece influenciar nessa morfologia, visto que conforme a quantidade de supra-anfifílico aumenta no sistema, as interações entre eles podem aumentar, ficando mais próximas e causando, portanto, uma compactação na estrutura do sistema.

Tanto as medidas de SAXS, quanto ESEM demonstraram que o conteúdo de água no sistema está relacionado com a característica micro e macroestrutural, o que contribui para a formação da mesofase, nesse caso. Esses resultados são consistentes com os experimentos de reologia oscilatória também, que demonstrou que o conteúdo de água está relacionado com o nível de organização estrutural, a partir da relação entre as propriedades elástica e viscosa do sistema ($G' > G''$).

4.4.8 Bioadesão

A bioadesão refere-se à capacidade de algumas moléculas sintéticas, biológicas ou coloidais em se aderir a superfícies biológicas (CARVALHO et al., 2013).

Um produto designado para aplicação tópica a um substrato biológico, tais como mucosas ou pele, deve preferencialmente, possuir propriedades adesivas, já que essas aumentam o tempo de permanência no sítio de aplicação e assim, aumentam a eficácia clínica (JONES; WOOLFSON, BROWN, 1997).

A bioadesão, entretanto, é um fenômeno complexo e muitas teorias têm sido utilizadas para explicar esse processo. Acredita-se que a bioadesão é um resultado da combinação de diversos mecanismos que envolvem as propriedades físico-químicas do material e da superfície biológica e interações não covalentes entre eles (KHUTORYANSKIY, 2011).

Uma avaliação visual e tátil permitiu observar que os sistemas sintetizados apresentavam certa adesividade e por isso decidiu-se avaliar como os sistemas MEGAO se comportariam quanto à bioadesão. Os parâmetros estudados no teste de bioadesão foram a Força bioadesiva (F_A) e o trabalho de bioadesão (T_A). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5 e foram comparados com o hidrogel de Carbopol a 5% (m/V), utilizado como padrão.

Tabela 5 - Parâmetros de bioadesão *in vitro* (T_A e F_A) dos sistemas MEG1AO1/água e MEG2AO1/água.

Amostras	Parâmetros de bioadesão <i>in vitro</i>	
	T_A (g.s)	F_A (g)
MEG1AO1_70	53,2 ± 9,5	14,2 ± 2,0
MEG1AO1_60	80,1 ± 15,4	13,8 ± 0,4
MEG1AO1_50	102,1 ± 29,8	29,0 ± 2,1
MEG1AO1_40	84,4 ± 25,4	45,3 ± 8,1
MEG1AO1_30	64,6 ± 13,9	53,5 ± 10,1
MEG2AO1_60	10,3 ± 1,7	3,8 ± 0,7
MEG2AO1_50	34,1 ± 14,3	12,6 ± 3,7
MEG2AO1_40	61,6 ± 28,3	33,7 ± 12,8
MEG2AO1_30	71,7 ± 14,5	34,3 ± 4,5
Carbopol 5% ^a	42,6 ± 4,9	8,6 ± 0,4

^aCarvalho *et al.* (2012).

Fonte: Autor.

De acordo com Khutoryanskiy (2011), estudos anteriores costumavam relatar o uso do pico de bioadesão (força máxima necessária para separar uma amostra de um substrato biológico) para descrever o desempenho de materiais bioadesivos. No entanto, sabe-se atualmente que como o destacamento é um processo físico complexo, que não depende só da adesividade mas também das propriedades de deformação e mecânicas tanto de amostra e substrato, pode-se dizer que o parâmetro que resultou em uma descrição mais confiável do desempenho de materiais bioadesivos é o trabalho de adesão, ou seja, a área sob a curva de destacamento.

Pela Tabela 5 observa-se que no geral as amostras avaliadas obtiveram valores de T_A e F_A comparáveis do que o gel de Carbopol a 5% utilizado como padrão (CARVALHO *et al.*, 2012). No geral observa-se também que os valores de bioadesão para os sistemas derivados de MEG2AO1 foram menores do que os de MEG1AO1. Provavelmente esses sistemas são mais coesos. A coesão é a interação que as moléculas da amostra possuem entre si, assim quanto mais coesos maiores as forças de interação entre as moléculas do sistema, menor será a interação com a superfície biológica e menor os valores de bioadesão. Para MEG1AO1, o trabalho de bioadesão

aumenta gradualmente com o aumento do supra-anfifílico e portanto, com a diminuição de água no sistema, até 50%. Após isso observa-se uma redução no trabalho de adesão, apesar da força de adesão aumentar proporcionalmente ao aumento de MEG1AO1 no sistema. No caso de MEG2AO1 observa-se um aumento no trabalho de adesão à medida que a concentração desse supra-anfifílico aumenta e o conteúdo de água conseqüentemente diminui. Essa variação na bioadesão pode estar relacionada também com a água ligada no sistema. Em ambos os sistemas, conforme o conteúdo de água ligada aumenta, os valores de bioadesão também aumentam. No caso de MEG1AO1 esse aumento ocorre até 50% de água no sistema e após isso os valores tendem a diminuir.

4.5 Ensaio de citotoxicidade dos supra-anfifílicos MEG-AO em células SV-80

A fim de vislumbrar uma possível utilização desses anfifílicos no âmbito farmacêutico, o teste de citotoxicidade do material foi realizado. Ensaio de toxicidade dos supra-anfifílicos MEG-AO foram avaliados por meio da adição desses sistemas a culturas celulares de SV-80 e comparadas com a meglumina e o ácido oleico.

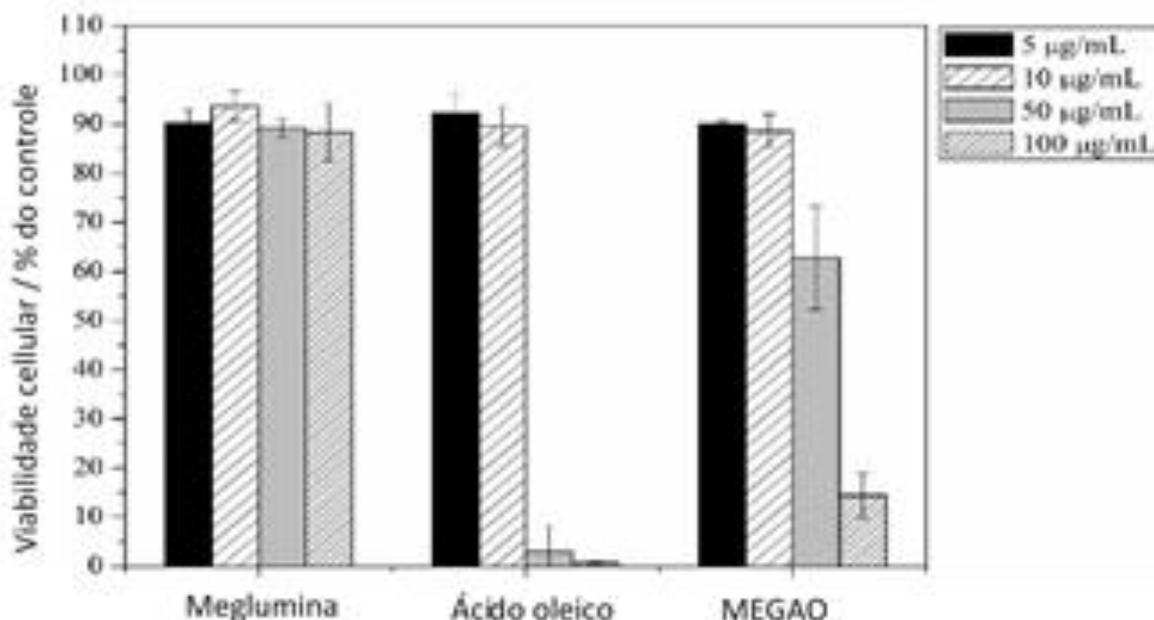
Um material precisa ser submetido à análises de toxicidade que se resumem em três etapas. A citotoxicidade *in vitro*, que é o contato dos produtos diretamente com culturas celulares, mimetizando o sistema biológico. O objetivo dessa etapa é avaliar o comportamento celular em um meio controlado e menos complexo que o organismo em si. Após essa análise preliminar pode-se proceder à experimentos com animais, embora a tendência hoje, em determinadas aplicações seja procurar alternativas à essas análises e por fim, a experimentação em humanos (Martins et al., 2009).

As células SV-80 utilizadas nesse experimento são células de fibroblastos de pulmão humano. Os fibroblastos são células importantes na regeneração dos tecidos e dentre outras funções, estão envolvidos na produção de fatores de crescimento que controlam o crescimento e diferenciação celular. Assim sendo, esse ensaio mostra-se relevante para avaliar o efeito citotóxico e viabilidade celular dos sistemas propostos nesse trabalho, em diferentes concentrações.

A Figura 42 representa os resultados de viabilidade celular obtidos para as células SV-80. De acordo com essa figura, pode-se observar que o ácido oleico pode

apresentar certa toxicidade, o que é dependente da dose. Nesse experimento, em concentrações de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ele apresenta elevada toxicidade, reduzindo a viabilidade celular a $\leq 10\%$.

Figura 42 - Viabilidade celular (% do controle) de células SV-80 após 24 h de exposição. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (n = 4).



Fonte: Autor.

A meglumina, por sua vez, não reduziu a viabilidade celular em nenhuma concentração e sob nenhum tempo de exposição.

O supra-anfifílico MEG1AO1 também reduziu a viabilidade celular, de acordo com a dose, sendo essa diminuição mais pronunciada na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, o que se deve, possivelmente, à toxicidade inerente de seu ácido graxo precursor.

Apesar de objetivos diferentes, outros autores já relataram que o ácido oleico quando conjugado, como por exemplo com α -lactalbumina (HAMLET) e α -lactalbumina bovina (BAMLET) teve sua toxicidade reduzida (HO et al., 2013; DELGADO et al., 2015; HOQUE et al., 2013).

Esse é, no entanto, um teste preliminar e outros testes complementares precisam ser realizados a fim de determinar a toxicidade do material na concentração

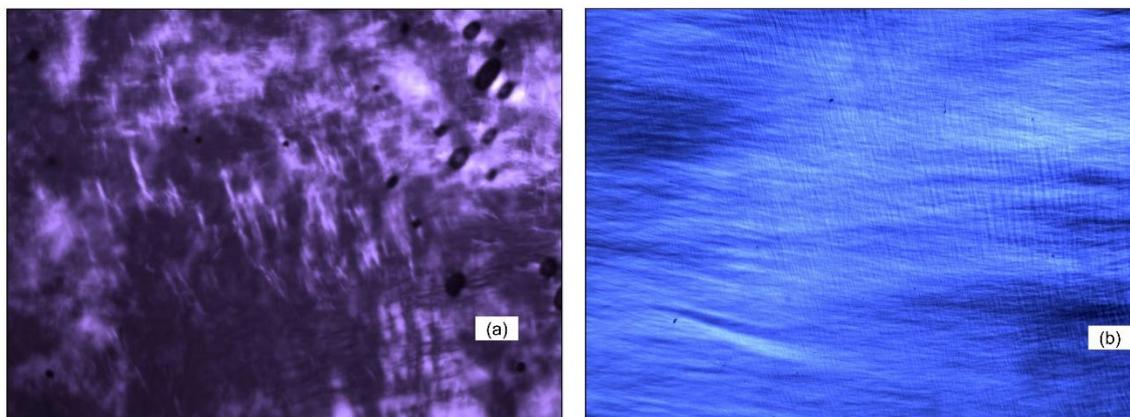
e finalidade a que se deseja desenvolvê-lo. Apesar da citotoxicidade observada em fibroblastos, outros resultados do nosso grupo de pesquisa, ainda não publicados, avaliaram supra-anfifílicos à base de meglumina e ácido oleico quanto à irritabilidade dérmica *in vivo*. Os resultados demonstraram que esses supra-anfifílicos quando em fase aquosa são atóxicos na administração tópica, obedecendo, contudo, um limite na relação supra-anfifílico/água. Os cristais líquidos avaliados nesse caso, em concentrações semelhantes às estudados aqui, apresentaram tolerabilidade local e nenhum sinal de edema ou eritema foi observado nas peles dos coelhos tanto no teste primário quanto no teste cumulativo.

4.6 Caracterização estrutural dos sistemas supra-anfifílicos com a incorporação de um fármaco modelo

A fim de verificar mudanças estruturais no sistema após a adição de um fármaco, a dexametasona, um fármaco modelo foi incorporado nos sistemas e os mesmos foram avaliados por PLM e SAXS.

Sistemas com organizações estruturais diferentes podem levar a diferentes perfis de liberação de fármaco e assim influenciar na sua performance. Para essas análises foi escolhido um sistema de cada grupo, com conteúdo de água e anfifílico igual a 50%. A Figura 43 apresenta as fotomicrografias dos sistemas onde incorporou-se 10,0 mg g⁻¹ do fármaco.

Figura 43 - Fotomicrografia a 25 °C das amostras a) MEG1AO1_50 F; e b) MEG2AO1_50 F.

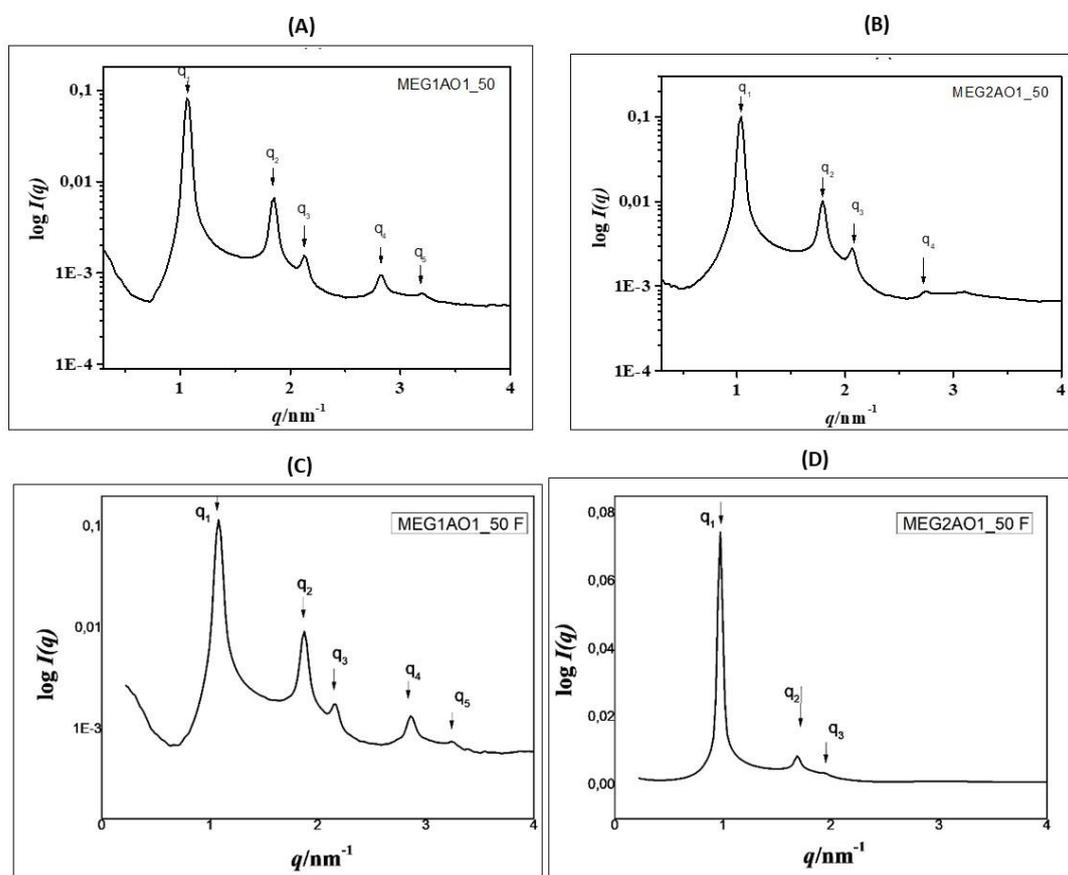


Fonte: Autor.

Observa-se que a quantidade de fármaco incorporada no sistema não interferiu no arranjo estrutural dos sistemas caracterizados antes da adição. Para ambos os sistemas a característica anisotrópica evidenciada por microscopia de luz polarizada inicialmente foi mantida, já que pode-se visualizar estrias características de fases hexagonais nessas amostras.

Curvas de SAXS também foram avaliadas (Figura 44), a fim de corroborar com os dados inicialmente obtidos por PLM.

Figura 44 - Perfis de SAXS para os sistemas antes da incorporação do fármaco (A) MEG1AO1_50 e (B) MEG2AO1_50 e após a incorporação do fármaco em (C) MEG1AO1_50 F e (D) MEG2AO1_50 F a 25 °C.



Fonte: Autor.

Os perfis de SAXS obtidos para ambas as amostras são semelhantes aos obtidos para os mesmos sistemas antes da incorporação do fármaco, sugerindo assim que não houve mudança estrutural desse sistema, com a adição da dexametasona e confirmando os resultados mostrados pela microscopia.

A adição de fármacos ou aditivos em arranjos líquido-cristalinos pode modificar a estrutura de fase ou as propriedades do sistema, o que pode influenciar no perfil de liberação do fármaco. A influência do fármaco na estrutura do sistema vai depender de onde ele se encontra no sistema líquido-cristalino, ou seja, nos domínios lipídicos ou aquosos (ESTRACANHOLLI et al., 2014).

Sistemas líquido cristalinos em que não houve mudanças na estrutura após a adição de um fármaco foi reportado por Estracanholti e co-autores (2014) ao avaliarem um cristal líquido a base de monoleína e água. Os autores evidenciaram que a presença de um fármaco, o celecoxibe não influenciou na estrutura do sistema, o que indicou que tais sistemas poderiam ser utilizados como veículo para administração desse fármaco.

5. CONCLUSÃO

Sistemas anfifílicos a partir de meglumina e ácido oleico podem ser formados através de uma síntese supramolecular simples e pouco complexa. A força direcional capaz de guiar a formação desses supra-anfifílicos é a interação eletrostática pela formação do par iônico entre o carboxilato e o cátion amônio da meglumina.

Em fase aquosa esses sistemas mantêm-se unidos por interações secundárias, tais como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas.

Evidenciou-se também a formação de estruturas características de sistemas líquido-cristalinos quando em água e os resultados das caracterizações por MLP e SAXS mostraram que os sistemas supra-anfifílicos sintetizados formavam sistemas isotrópicos, quando em maiores conteúdos de água ou sistemas anisotrópicos, caracterizados por um arranjo de mesofase hexagonal, em menores concentrações de água e maiores concentrações de anfifílico.

As caracterizações do estado da água no sistema permitiram observar que esta encontra-se em diferentes estados, tais como água livre, ligada congelável e ligada não congelável, de acordo com a concentração, podendo até mesmo coexistir em mais de um estado no mesmo sistema.

Os sistemas supra-anfifílicos sintetizados em condições não-equimolares foram capazes de reter mais água em sua estrutura do que os anfifílicos correspondentes sintetizados em condições equimolares.

A avaliação do sistema supra-anfifílico quanto à citotoxicidade *in vitro* permitiu observar que estes podem ser tóxicos de um modo dose-dependente, no entanto, há evidências experimentais de testes *in vivo* realizadas em nosso grupo de pesquisa que mostraram que esses sistemas em fase aquosa, nas concentrações avaliadas nesse trabalho, não apresentaram toxicidade dérmica.

Os sistemas supra-anfifílicos também apresentaram ser bastante bioadesivos, mostrando propriedades adequadas para potencial utilização como sistemas de liberação para aplicação tópica.

A incorporação de um fármaco modelo no sistema foi ainda avaliado por MLP e SAXS e demonstraram que não houve mudança estrutural no sistema com a adição do fármaco, já que os mesmos arranjos líquido-cristalinos de fase hexagonal foram também observados nesses sistemas.

6 ESTUDO REALIZADO DURANTE O DOUTORADO SANDUÍCHE PDSE-CAPEs

Esta seção apresenta o principal trabalho desenvolvido durante o estágio PDSE-Capes realizado na Case Western Reserve University, em Cleveland, nos Estados Unidos, sob supervisão do Prof. Hatsuo Ishida. Esse trabalho foi baseado no desenvolvimento de uma resina benzoxazina de cadeias ricas em hidrogênio com baixa temperatura de polimerização para proteção contra raios cósmicos galácticos de ultra-alta energia.

1 Introdução

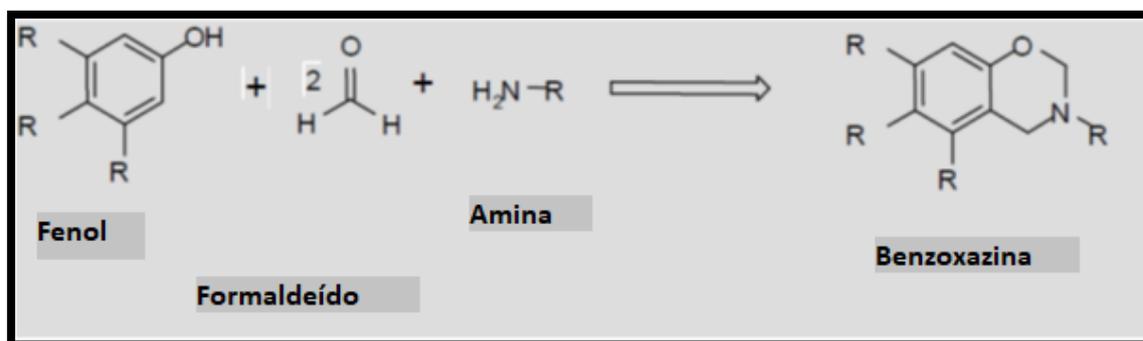
1.1 Introdução sobre as benzoxazinas

O laboratório do Prof. Dr. Ishida desenvolve pesquisas principalmente na área de materiais poliméricos, tais como o processamento de polímeros e compósitos, análises estruturais de superfícies e interfaces e caracterizações térmicas e espectroscópicas de polímeros. A principal classe de materiais de interesse desse grupo são as benzoxazinas, que são desenvolvidas para diversas finalidades, seja para aplicações em balística, mecânica, indústria automotiva, eletrônica e aeroespacial. O Prof. Dr. Hatsuo Ishida tem atuado nas pesquisas envolvendo benzoxazinas desde que esse polímero foi adotado pela indústria de compósitos, no início dos anos 1990.

Apesar da síntese de benzoxazinas terem sido reportadas nos anos 1940, seu potencial só tem sido reconhecido recentemente. Genericamente, as benzoxazinas são o produto das reações entre amina, fenol e formaldeído (Figura 45) (TSOTRA; SETIABUDI; WEIDMANN, s.n.t). A purificação dos monômeros da benzoxazina é bastante difícil e depende da substituição do fenol, da amina e do meio de reação. A polibenzoxazina, como é conhecido o polímero formado a partir dos monômeros benzoxazina, é preparado pela abertura do anel desse monômero benzoxazina tanto por meio térmico ou catiônico. Na síntese das polibenzoxazinas em geral, um processo em duas etapas é utilizado. O primeiro passo consiste na abertura do anel benzoxazina devido ao ataque catiônico que pode ser tanto no $-O-$ ou no $-N-$ do anel

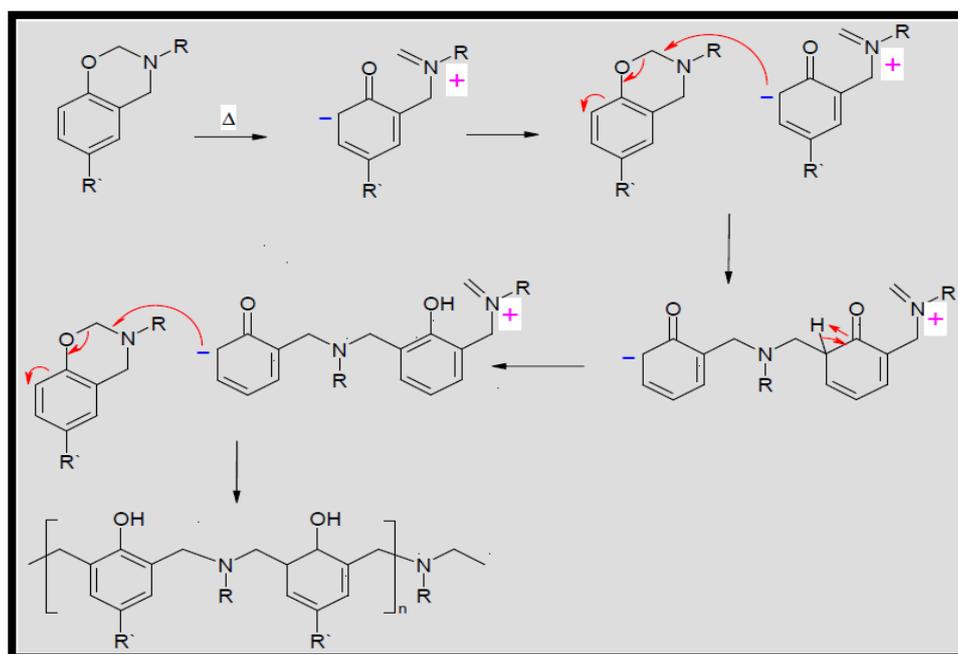
oxazina seguido da formação do íon imino. A segunda etapa é uma substituição eletrofílica do íon imino tanto na posição -orto ou -para do fenol (Figura 46) (RAJASEKAR; HARI, 2016).

Figura 45 - Exemplo de um esquema de síntese da benzoxazina.



Fonte: Adaptado de Tsotra; Setiabudi; Weidmann. (s.n.t).

Figura 46 - Exemplo do mecanismo de cura da benzoxazina.



Fonte: Tsotra; Setiabudi; Weidmann. (s.n.t).

Os monômeros benzoxazina *para*-substituídos levam à formação de polímeros lineares com estrutura fenólica. O comportamento durante a abertura do anel oxazina depende principalmente da eletronegatividade do anel e diversas benzoxazinas têm sido sintetizadas a partir de fenóis *para*-substituídos e aminas primárias a fim de estudar os efeitos da eletronegatividade na polimerização térmica, o que tem

conduzido ao entendimento de que anéis BZX com substituintes altamente eletronegativos podem se abrir em baixas temperaturas (RAJASEKAR; HARI, 2016).

Nos anos recentes, as benzoxazinas tem recebido bastante atenção por parte dos pesquisadores principalmente devido às suas vantagens significativas comparadas a outras resinas termofixas, como excelentes propriedades térmicas e mecânicas, flexibilidade molecular, alto rendimento e energias de superfície mais baixas do que o politetrafluoroetileno (OHASHI, et al., 2015).

1.2 Materiais para radiação galáctica

A radiação ionizante é uma preocupação para com os ocupantes e equipamentos de aeronaves e veículos espaciais. Os nêutrons são gerados quando partículas de alta energia interagem com a matéria e como as fontes de radiação para as aeronaves incluem as partículas geradas na atmosfera acima da aeronave, então mais nêutrons existem nessa situação do que no ambiente da aeronave espacial. Os nêutrons na radiação em altas altitudes aparecem principalmente em duas regiões energéticas: uma baixa região de energia entre 0,1 e 10 MeV e uma outra de maior energia entre 50 e 1000 MeV (SINGLETERRY; THIBEAULT, 2000).

Diversos materiais têm sido testados por análises de simulação quanto à suas propriedades como materiais para proteção contra a radiação galáctica. Esses materiais como por exemplo as ligas de alumínio, é uma liga padrão que vem sendo usada na estrutura de diversas aeronaves e naves espaciais. Além disso, as ligas de alumínio e titânio têm sido consideradas como o futuro das aeronaves para altas altitudes. Os outros materiais representam derivados poliméricos como compósitos epóxi reforçados com fibra de carbono e materiais à base de polietileno aditivados. Os compósitos à base de polímeros têm sido estudados por diversas razões, uma vez que são mais leves e, portanto, menos combustível é gasto para levar esses materiais a altas altitudes e órbitas. Além disso esses materiais criam menos partículas de fragmentação do que os elementos pesados das ligas metálicas (SINGLETERRY; THIBEAULT, 2000).

O grupo do Prof. Dr. Ishida vem trabalhando em um projeto de desenvolvimento de novas benzoxazinas para fins aeronáuticos há mais de dez anos, em parceria com a Administração Nacional da Aeronáutica e do Espaço, a NASA, e devido a questões

de confidencialidade previstas no contrato, as estruturas químicas das espécies sintetizadas, bem como os reagentes precursores serão omitidos nesse trabalho.

Um estudo sistemático vem sendo então desenvolvido como um esforço para desenvolver um material com propriedades significativas de proteção à radiação. A pesquisa então é focada no desenvolvimento de benzoxazinas de cadeias altamente hidrogenadas, capaz de transformar a energia cinética dos raios cósmicos galácticos em energia térmica, que é inofensiva. A nova benzoxazina desenvolvida satisfaz as condições requeridas para o processamento das fibras de polietileno de ultra-alta massa molecular (UHMWPE), que é a polimerização da resina a 120 °C em tempo menor que 2 h.

2 Seção experimental

Foi sintetizada uma benzoxazina, a partir de um fenol, um derivado amina e formaldeído, nas razões de 4:3:12 (fenol: amina: formaldeído). Essa é uma síntese “*one pot*” e nesse caso, os reagentes foram adicionados a um frasco de fundo redondo, adicionado clorofórmio em quantidade suficiente e a solução foi aquecida até por volta de 60 °C, sob agitação constante. A solução após esse período foi resfriada e mantida sob refrigeração, até a próxima etapa ou as caracterizações pertinentes. O material formado possuía características de um gel viscoso e transparente.

A nova benzoxazina sintetizada foi funcionalizada com éster cianato. Para isso, foi adicionado em um balão a benzoxazina, brometo de cianogênio e acetona anidra. A solução foi resfriada e mantida em temperaturas entre -5 e -10 °C, enquanto trietilamina foi adicionada lentamente. Após esse período a reação foi mantida sob agitação, nessa temperatura, por 2 h.

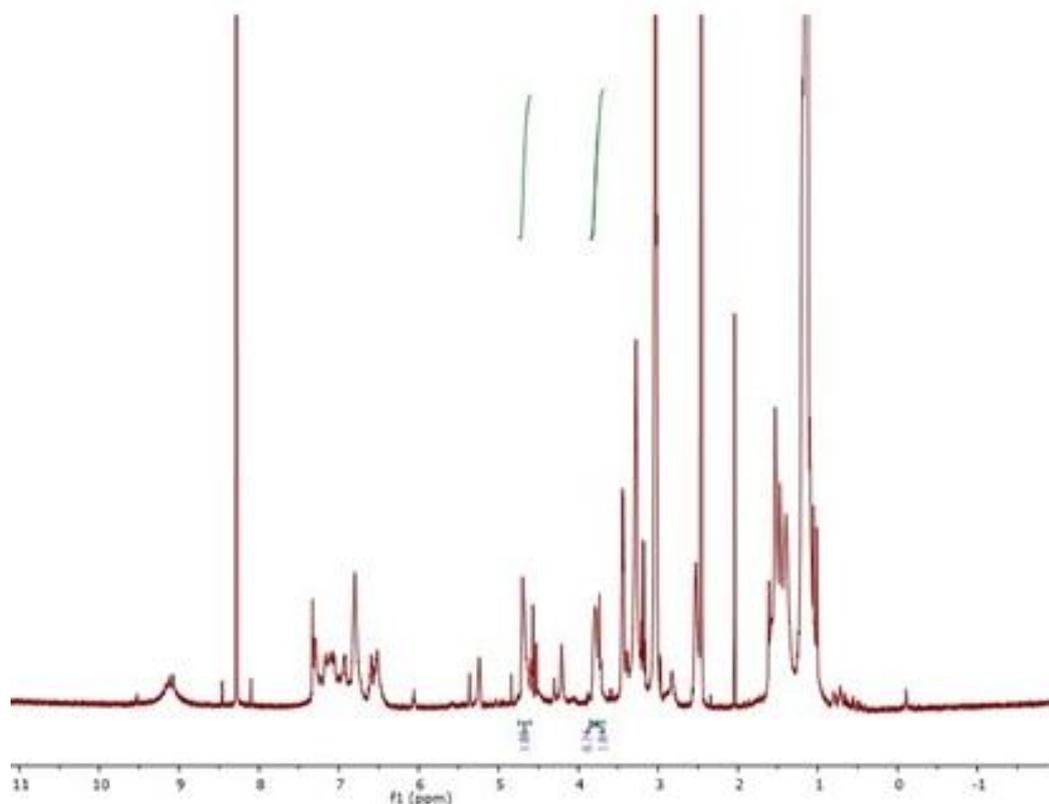
O material sintetizado foi caracterizado por ^1H RMN, FTIR e DSC. As análises de ^1H RMN foram conduzidas em DMSO ($\text{DMSO}-d_6$), usando tetrametilsilano como padrão interno, em um equipamento Varian Oxford AS300 na frequência de 300 MHz. A espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR) foi conduzida em um espectrômetro Bomem Michaelson MB 110, equipado com um detector de sulfato de triglicina deuterado. Foram coletadas 64 varreduras, a resolução de 4 cm^{-1} , após o espectrômetro ser purgado com ar sintético. As amostras foram medidas pela solubilização em clorofórmio e um filme foi disposto sobre placas de KBr. Na

caracterização térmica, um DSC, TA Instruments 2920 foi utilizado, na razão de 10 °C min⁻¹, sob fluxo de N₂ (60 mL min⁻¹), em cadinho de alumínio selado.

3 Resultados e Discussão

Análises de ¹H RMN foram conduzidas a fim de confirmar a síntese da nova benzoxazina funcionalizada com éster cianato. Várias tentativas de síntese, usando diferentes precursores e solventes foram realizadas até que a benzoxazina pudesse ser sintetizada. Inicialmente o tempo de reação utilizado foi de 12 horas, no entanto, após a secagem do material, este formava um gel seco e duro e nenhum solvente era capaz de dissolvê-lo, com isso, as caracterizações ou qualquer procedimento de manipulação da amostra era impossibilitado. Devido a isso, decidiu-se avaliar o tempo de reação por ¹H RMN, acompanhando a formação da benzoxazina, de hora em hora até 12 h. Verificou-se que a partir de 4 h os picos de ressonância característicos da benzoxazina começavam a se formar. Pensando então na formação do produto e nas condições de manipulação após a síntese, optou-se por um tempo de 7 h de reação. O espectro de ¹H RMN após esse período (Figura 47) confirma a formação do grupo benzoxazina, devido a duas ressonâncias características e assinaladas no espectro, em 3,79 e 4,70 ppm, as quais são assinaladas para os prótons Ar-CH₂*-N- e -O-CH₂*-N-.

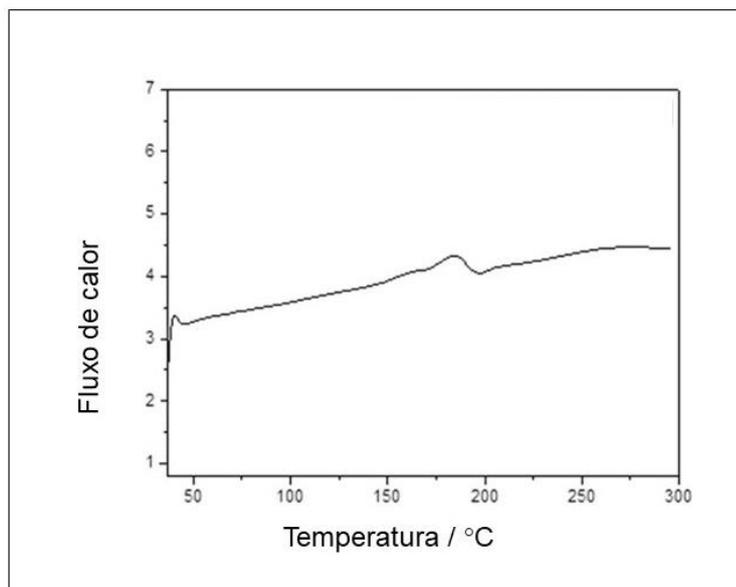
Figura 47 - Espectro de ^1H RMN de BZXOCN após 7 h de reação.



Fonte: Autor.

O processo de cross-link foi avaliado por DSC como mostra a Figura 48. Pode-se visualizar um evento endotérmico em $183,8\text{ }^\circ\text{C}$, com T_{onset} por volta de $160\text{ }^\circ\text{C}$. esse evento é característico da abertura do anel e polimerização da benzoxazina. Esse evento aparece em temperaturas mais baixas do que as blendas BZN/cianato reportadas na literatura (OHASHI et al., 2015). A redução na temperatura de polimerização ocorre muito provavelmente devido ao fato de que as reações com o éster cianato promovem a abertura do anel oxazina e a polimerização da benzoxazina de maneira mais eficiente quando ele é parte da molécula de benzoxazina (OHASHI et al., 2015).

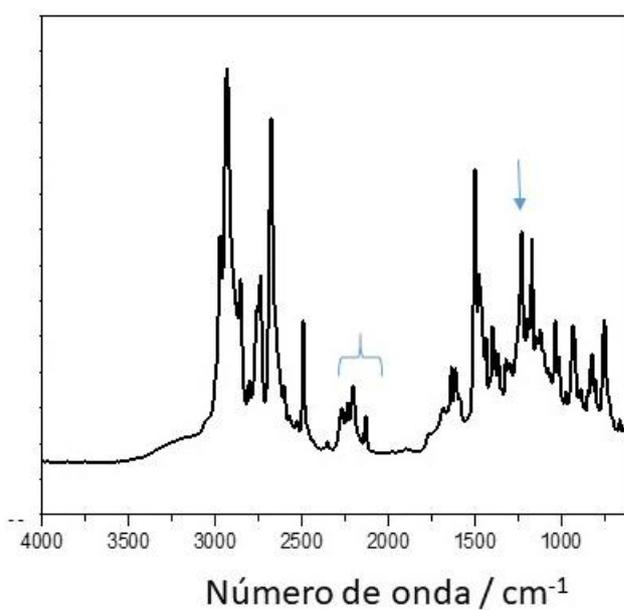
Figura 48 - Curva DSC de BZXOCN em atmosfera de N₂.



Fonte: Autor.

A estrutura molecular foi também confirmada por FTIR (Figura 49). As bandas em 2205 e 2132 são típicas do estiramento OCN. A banda em 1231 cm⁻¹ corresponde à vibração assimétrica C–O–C do anel benzoxazina (regiões assinaladas no espectro).

Figura 49 - Espectro FTIR do monômero de BZXOCN.



Fonte: Autor.

4 Conclusões

Foi evidenciado a síntese de uma nova benzoxazina com cadeia rica em hidrogênio. A incorporação de um grupo funcional éster cianato reduziu ainda a temperatura de polimerização sem nenhum iniciador ou catalisador. A temperatura de polimerização foi significativamente menor que as resinas benzoxazinas comuns e as descritas na literatura para as blendas com éster cianato. Assim, devido a essas propriedades esse material parece ser altamente atrativo para propósitos industriais.

REFERÊNCIAS

- AKAY, G.; HASSAN-RAEISI, A.; TUNCABOYLU, D. C.; ORAKDOGEN, N.; ABDURRAHMANOGLU, S.; OPPERMAN, W.; OKAY, O. Self-healing hydrogels formed in cationic surfactant solutions. **Soft Matter**, v. 9, n. 7, p. 2254-2261, 2013.
- AMABILINO, D. B.; SMITH, D. K.; STEED, J. W. Supramolecular materials. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 9, p. 2404-2420, 2017.
- AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION (United States). S. Motola; A. R. Branfman; G. R. Agisim; D. J. Quirk. **Acid addition salt of ibuprofen and meglumine**. US 5028625 A, 20 jun. 1989, 2 jul. 1991.
- AN, J. G.; HINA, S.; YANG, Y.; XUE, M.; LIU, Y. Characterization of liquid crystals: a literature review. **Reviews on Advanced Materials Science**, v. 44, n. 4, p. 398-406, 2016.
- ANSARIAN, H. R.; DERAKHSHAN, M.; TAKAFUJI, M.; IHARA, H. The impact of supramolecular chemistry in medicine: removing the border between infectious and non-infectious diseases. **Medical Hypotheses**, v. 71, n. 6, p. 881-885, 2008.
- ANTUNES, F. E.; COPPOLA, L.; GAUDIO, D.; NICOTERA, I.; OLIVIERO, C. Shear rheology and phase behaviour of sodium oleate/water mixtures. **Colloids and Surfaces A**, v. 297, n. 1/3, p. 95-104, 2007.
- AONO, M.; BANDO, Y.; ARIGA, K. Nanoarchitectonics: pioneering a new paradigm for nanotechnology in materials development. **Advanced Materials**, v. 24, n. 2, p. 150-151, 2012.
- ARIGA, K.; LI, J.; FEI, J.; JI, Q.; HILL, J. P. Nanoarchitectonics for dynamic functional materials from atomic-/molecular-level manipulation to macroscopic action. **Advanced Materials**, v. 28, n. 6, p. 1251-1286, 2016.
- BARON, M. Towards a greener pharmacy by more eco design. **Waste and Biomass Valorization**, v. 3, n. 4, p. 395-407, 2012.
- BASAVARAJ, S.; SIHORKAR, V.; KUMAR, T. R. S.; SUNDARAMURTHI, P.; SRINIVAS, N. R. Bioavailability enhancement of poorly water soluble and weakly acidic new chemical entity with 2-hydroxy propyl- β -cyclodextrin: selection of meglumine, a polyhydroxy base, as a novel ternary component. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 11, n. 4, p. 443-451, 2006.
- BISOY, H. K.; KUMAR, S. Liquid-crystal nanoscience: an emerging avenue of soft self-assembly. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 1, p. 306-319, 2011.
- BORGGRAFE, A.; QUANTMANN, M.; NOLKE, D. Radiation protective structures on the base of a case study for a manned Mars mission. **Acta Astronautica**, v. 65, n. 9, p. 1292-1305, 2009.

BRAVO-NUEVO, A.; MARCY, A.; HUANG, M.; KAPPLER, F.; MULGREW, J.; LAURY-KLEINTOP, L.; REICHMAN, M.; TOBIA, A.; PRENDERGAST, G. C. Meglumine exerts protective effects against features of metabolic syndrome and type II diabetes. **PLoS One**, v. 9, n. 2, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0090031.

CALLENS, C.; CEULEMANS, J.; LUDWIG, A.; FOREMAN, P.; REMON, J. P. Rheological study on mucoadhesivity of some nasal powder formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 55, n. 3, p. 323-328, 2003.

CAMPOS, D. D. P.; CASSU, S. N.; GARCIA, R. B. R.; QUEIROZ, H. A. S.; GONÇALVES, R. F. B.; KAWACHI, E. Y. Avaliação por SAXS e DSC das interações entre H₂O e Renex-100. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 355-359, 2012.

CARVALHO, F. C.; CALIXTO, G.; HATAKEYAMA, I. N.; LUZ, G. M.; GREMIÃO, M. P. D.; CHORILLI, M. Rheological, mechanical, and bioadhesive behavior of hydrogels to optimize skin delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 39, n. 11, p. 1750-1757, 2012.

CASSIMIRO, D. L. **Obtenção e estudo de polímeros supramoleculares derivados de ácidos carboxílicos-meglumina em fase aquosa**. 2015. 96 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.

CASSIMIRO, D. L.; RIBEIRO, C. A.; CAPELA, J. M. V.; CRESPI, M. S.; CAPELA, M. V. Kinetic parameters for thermal decomposition of supramolecular polymers derived from flunixin-meglumine adducts. **Journal of Thermal Analysis Calorimetry**, v. 105, n. 2, p. 405-410, 2011.

CASSIMIRO, D. L.; KOBELNIK, M.; RIBEIRO, C. A.; CRESPI, M. S.; BORALLE, N. Structural aspects, thermal behavior, and stability of a self-assembled supramolecular polymer derived from flunixin-meglumine supramolecular adducts. **Thermochemica Acta**, v. 529, p. 59-67, 2012.

CASSIMIRO, D. L.; FERREIRA, L. M. B.; CAPELA, J. M. V.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A. Kinetic parameters for thermal decomposition of supramolecular polymers derived from diclofenac-meglumine supramolecular adducts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 73, p. 24-28, 2013.

CHEN, Y.; MA, P.; GUI, S. Cubic and hexagonal liquid crystals as drug delivery systems. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014. doi:10.1155/2014/815981.

CHI, X.; JI, X.; XIA, D.; HUANG, F. A dual-responsive supra-amphiphilic polypseudorotaxane constructed from a water-soluble pillar[7]arene and a azobenzene-containing random copolymer. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 4, p. 1440-1443, 2015.

CLARIANT GMBH (United States). A. Gallas; J. F. Hanauer; H. Seitz; F. Weinelt. **Process for the preparation of N-alkypolyhydroxyalkylamines from monoalkylamine and reducing sugar**. US 6365778 B1, 9 Mar. 2000, 2 Abr. 2002.

CODONI, D.; BELTON, P.; QI, S. Nanostructural analysis of water distribution in hydrated multicomponent gels using thermal analysis and NMR relaxometry. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 6, p. 2068-2079, 2015.

COMELLES, F.; SÁNCHEZ-LEAL, GONZÁLES, J. J. Lamellar liquid crystals made of anionic surfactant, oleic acid, diethyleneglycol monoethyl ether and water. **Colloid Polymer Science**, v. 283, n. 8, p. 925-931, 2005.

CREW, M. Bioavailability enhancement – out of the shadows: excipients take the spotlight. **Drug Development & Delivery**, v. 13, n. 6, p. 24-29, 2013.

D'ANTONA, P.; PARKER, W. O.; ZANIRATO, M. C.; ESPOSITO, E.; NASTRUZZI, C. Rheologic and NMR characterization of monoglyceride-based formulations. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 52, n. 1, p. 40-52, 2000.

DELGADO, Y.; MORALES-CRUZ, M.; FIGUEROA, C. M.; HERNANDEZ-ROMAN, J.; HERNANDEZ, G.; GRIEBENOW, K. The cytotoxicity of BAMLET complexes is due to oleic acid and independent of the α -lactalbumin component. **FEBS Open Bio**, v. 5, n. 1, p. 397-404, 2015.

DICK, I. P.; SCOTT, R. C. Pig ear skin as an in vitro model for human skin permeability. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 44, n. 8, p. 640-645, 1992.

DONG, H.; LI, Y.; CAI, S.; ZHUO, R.; ZHANG, X.; LIU, L. A facile one-pot construction of supramolecular polymer micelles from α -cyclodextrin and poly(ϵ -caprolactone). **Supramolecular Chemistry**, v. 47, n. 30, p. 5573-5576, 2008.

EELKEMA, R. Photo-responsive doped cholesteric liquid crystals. **Journal of Liquid Crystals**, v. 38, n. 11/12, p. 1641-1652, 2011.

ESCH, J. H. V.; FERINGA, B. L. New functional materials based on self-assembling organogels: from serendipity towards design. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 39, n. 13, p. 2263-2266, 2000.

ESPOSITO, E.; EBLOVI, N.; RASI, S.; DRECHSLER, M.; DI GREGORIO, G. M. Lipid-based supramolecular systems for topical application: a preformulatory study. **Pharmaceutical Science**, v. 5, n. 4, p. 62-76, 2003.

FANUN, M. A study of the properties of mixed nonionic surfactants microemulsions by NMR, SAXS, viscosity and conductivity. **Journal of Molecular Liquids**, v. 142, n. 1/3, p. 103-110, 2008.

FÉHER, A. **Formulation and Investigation of in situ gelling lyotropic liquid crystalline systems**. 2006. 60 f. Thesis - Faculty of Pharmacy, University of Szeged, Szeged, 2006.

FERREIRA, L. M. B.; KUROKAWA, S. S. S.; ALONSO, J. D.; CASSIMIRO, D. L.; SOUZA, A. L. R.; FONSECA, M.; SARMENTO, V. H. V.; REGASINI, L. O.; RIBEIRO, C. A. Structural and thermal behavior of meglumine-based supra-amphiphiles in bulk and assembled in water. **Langmuir**, v. 32, n. 45, p. 11878-11887, 2016.

FONG, W. K.; NEGRINI, R.; VALOORAN, J. J.; MEZZENGA, R.; BOYD, B. J. Responsive self-assembled nanostructured lipid systems for drug delivery and diagnostics. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 484, p. 320-339, 2016.

FONSECA-SANTOS, B.; SANTOS, A. M.; RODERO, C. F.; GREMIÃO, M. P. D.; CHORILLI, M. Design, characterization, and biological evaluation of curcumin-loaded surfactant-based systems for topical drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, n. 1, p. 4553-4562, 2016.

FORMARIZ, T. P.; URBAN, M. C. C.; SILVA JÚNIOR, A. A.; GREMIÃO, M. P. D.; OLIVEIRA, A. G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 3, p. 301-313, 2005.

FRÉZARD, F.; MARTINS, P. C.; BARBOSA, M. C.; PIMENTA, A. M.; FERREIRA, W. A.; MELO, J. E. de; MANGRUN, J. B.; DEMICHELI, C. New insights into the chemical structure and composition of the pentavalent antimonial drugs, meglumine antimonate and sodium stibogluconate. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, n. 4, p. 656-665, 2008.

FUJITA, M.; UEDA, T.; HANDA, T. Generation of formaldehyde by pharmaceutical excipients and its absorption by meglumine. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 10, p. 1096-1099, 2009.

GALE, P. A. Supramolecular chemistry: from complexes to complexity. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical & Engineering Sciences**, v. 358, n. 1766, p. 431-453, 2000.

GIERSCHNER, J.; CORNIL, J.; EGELHAAF, H. J. Optical bandgaps of π -conjugated organic materials at the polymer limit: experiment and theory. **Advanced Materials**, v. 19, n. 2, p. 173-191, 2007.

GOHY, J. F.; LOHMEIJER, B. G. G.; SCHUBERT, U. S. Metallo-supramolecular block copolymer micelles. **Macromolecules**, v. 35, n. 12, p. 4560-4563, 2002.

GOODENOUGH, J. B.; KIM, Y. Challenges for rechargeable Li batteries. **Chemistry of Materials**, v. 22, n. 3, p. 587-603, 2010.

GOUDRIAAN, P. E.; VAN LEEUWEN, P. W. N. M.; BIRKHOLZ, M. N.; REEK, J. N. H. Libraries of bidentate phosphorus ligands; synthesis, strategies and application in catalysis. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2008, n. 19, p. 2939-2958, 2008.

GRATIERI, T. **Sistemas de liberação ocular contendo fluconazol**: obtenção, caracterização e liberação passiva e iontoforética in vitro e in vivo. 2010. 171 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. J. **The lipid handbook**. New York: CRC Press, 2007. 808 p.

GUO, D. S.; LIU, Y. Calixarene-based supramolecular polymerization in solution. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 18 p. 5907-5921, 2012.

HANACK, M.; LANG, M. Conducting stacked metallophthalocyanines and related compounds. **Advanced Materials**, v. 6, n. 11, p. 819-833, 1994.

HARADA, A.; KOBAYASHI, R.; TAKASHIMA, Y.; HASHIDZUME, A.; YAMAGUCHI, H. Macroscopic self-assembly through molecular recognition. **Nature Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 34-37, 2011.

HIRST, A. R.; SMITH, D. K.; FREITERS, M. C.; GEURTS, H. P. M.; WRIGHT, A. C. Two-component dendritic gels: easily tunable materials. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 30, p. 9010-9011, 2003.

HIRST, A. R.; ESCUDER, B.; MIRAVET, J. F.; SMITH, D. K. High-tech applications of self-assembling supramolecular nanostructured gel-phase materials: from regenerative medicine to electronic devices. **Angewandte Chemie**, v. 47, n. 42, p. 8002-8018, 2008.

HO, J. C.; STORM, P.; HYDSTROM, A.; BOWEN, B.; ALSIN, F.; SULLIVAN, L.; AMBITE, I.; MOK, K. H.; NORTHEN, T.; SVANBORG, C. Lipids as tumoricidal components of human α -lactalbumin made lethal to tumor cells (HAMLET): unique and shared effects on signaling and death. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 24, p. 17460 - 17471, 2013.

HOLLAMBY, M. J.; KARNY, M.; BOMANS, P. H. H.; SOMMERDIJK, N. A. J. M.; SAEKI, A.; SEKI, S.; MINAMIKAWA, H.; GRILLO, I.; PAUW, B. R.; BROWN, P.; EASTOE, J.; MOHWALD, H.; NAKANISHI, T. Directed assembly of optoelectronically active alkyl- π -conjugated molecules by adding n-alkanes or π -conjugated species. **Nature Chemistry**, v. 6, n. 8, p. 690-696, 2014.

HOQUE, M.; SANDEEP, D.; PAWAN, G.; MOHAMMED, S. Oleic acid may be the key contributor in the BAMLET-Induced erythrocyte hemolysis and tumoricidal action. **PLoS One**, v. 8, n. 9, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0068390.

HOWORKA, S. DNA Nanoarchitectonics: assembled DNA at interfaces. **Langmuir**, v. 29, n. 24, p. 7344-7353, 2013.

HUANG, F.; ANSLYN, E. V. Introduction: supramolecular chemistry. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 15, p. 6999-7000, 2015.

HUNTER, C. A. Quantifying intermolecular interactions: guideline for the molecular recognition toolbox. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 43, n. 40, p. 5310-5324, 2004.

HYDE, S. T. Identification of lyotropic liquid crystalline mesophases. In: HOLMBERG, K. (Ed.). **Handbook of applied surface and colloidal chemistry**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2002. v. 2, chap. 5, p. 299-332.

ISHIGUCHI, T.; TAKAHASHI, S. Safety of gadoterate meglumine (Gd-DOTA) as a contrast agent for magnetic resonance imaging. **Drugs in R&D**, v. 10, n. 3, p. 133-145, 2010.

JAIN, A.; GEORGE, S. J. New directions in supramolecular electronics. **Materials Today**, v. 18, n. 4, p. 206-214, 2015.

JASPRICA, I.; MRSIC, N.; DRAGIC, T.; CETINA-CIZMEK, B. Determination of meglumine in pharmaceutical formulations using high performance liquid chromatography. **Pharmazie**, v. 66, n. 12, p. 916-919, 2011.

JONES, D. S.; BROWN, A. F.; WOOLFSON, D. Rheological characterization of bioadhesive, antimicrobial, semisolids designed for the treatment of periodontal diseases: transient and dynamic viscoelastic and continuous shear analysis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 12, p. 1978-1990, 2001.

KALEPU, S.; NEKKANTI, V. Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 5, n. 5, p. 442-453, 2015.

KANG, Y.; LIU, K.; ZHANG, X. Supra-amphiphiles: a new bridge between colloidal science and supramolecular chemistry. **Langmuir**, v. 30, n. 21, p. 5989-6001, 2014.

KANG, Y.; WANG, C.; LIU, K.; WANG, Z.; ZHANG, X. Enzyme-responsive polymeric supra-amphiphiles formed by the complexation of chitosan and ATP. **Langmuir**, v. 28, n. 41, p. 14562-14566, 2012.

KATO, T.; FRÉCHET, J. M. J. Hydrogen bonding and the self-assembly of supramolecular liquid-crystalline materials. **Macromolecular Symposia**, v. 98, n. 1, p. 311-326, 1995.

KELLY, H. M.; DEASY, P. B.; BUSQUET, M.; TORRANCE, A. A. Bioadhesive, rheological, lubricant and other aspects of an oral gel formulation intended for the treatment of xerostomia. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 278, n. 2, p. 391-406, 2004.

KHUTORYANSKIY, V. V. Advances in mucoadhesion and mucoadhesive polymers. **Macromolecular Bioscience**, v. 11, n. 6, p. 748-764, 2011.

KIM, K.; SELVAPALAM, N.; KO, Y. H.; PARK, K. M.; KIM, D.; KIM, J. Functionalized cucurbiturils and their applications. **Chemical Society Reviews**, v. 36, n. 2, p. 267-279, 2007.

KRIEG, E.; RYBTCHINSKI, B. Noncovalent water-based materials: robust yet adaptive. **Chemistry – A European Journal**, v. 17, n. 33, p. 9016-9026, 2011.

KUMAR, S. S.; JOSEPH, J.; PHANI, K. L. Novel method for deposition of gold-prussian blue nanocomposite films induced by electrochemically formed gold nanoparticles: characterization and application to electrocatalysis. **Chemistry of Materials**, v. 19, n. 19, p. 4722-4730, 2007.

LARSON E. M.; DOUGHMAN, D. J.; GREGERSON, D. S.; OBRITSCH, W. F. A new, simple, nonradioactive, nontoxic in vitro assay to monitor corneal endothelial cell viability. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 38, n. 10, p. 1929-1933, 1997.

LARSSON, K. Aqueous dispersions of cubic lipid-water phases. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 5, n. 1/2, p. 64-69, 2000.

LEE, J.; KELLAWAY, I.W. Buccal permeation of [D-Ala², D-Leu⁵]enkephalin from liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 195, n. 1/2, p. 35-38, 2000.

LEHN, J. M. From supramolecular chemistry towards constitutional dynamic chemistry and adaptive chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 36, n. 2, p. 151-160, 2007.

LEHN, J. M. Toward complex matter: supramolecular chemistry and self-organization. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v. 99, n. 8, p. 4763-4768, 2002.

LIAO, H. S.; LIN, J.; LIU, Y.; HUANG, P.; JIN, A.; CHEN, X. Self-assembly mechanisms of nanofibers from peptide amphiphiles in solution and on substrate surfaces. **Nanoscale**, v. 8, n. 31, p. 14814-14820, 2016.

LIBSTER, D.; ISHAI, P. B.; ASERIN, A.; SHOHAM, G.; GARTI, N. From the microscopic to the mesoscopic properties of lyotropic reverse hexagonal liquid crystals. **Langmuir**, v. 24, n. 5, p. 2118-2127, 2008.

LIU, K.; WANG, C.; LI, Z.; ZHANG, X. Superamphiphiles based on directional charge-transfer interactions: from supramolecular engineering to well-defined nanostructures. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 21, p. 4952-4956, 2011.

LIU, K.; YAO, Y.; LIU, Y.; WANG, C.; LI, Z.; ZHANG, X. Self-assembly of supra-amphiphiles based on dual charge-transfer interactions: from nanosheets to nanofibers. **Langmuir**, v. 28, n. 29, p. 10697-10702, 2012.

LIU, Z.; QIAO, J.; TIAN, Y.; WU, M.; NIU, Z.; HUANG, Y. Polymeric supra-amphiphiles based on terminal group electrostatic interactions: fabrication of micelles with modifiable surfaces. **Langmuir**, v. 30, n. 29, p. 8938-8944, 2014.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Physicochemical properties of water and its effect on drug delivery: a commentary. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 354, n. 1/2, p. 248-254, 2008.

LOMBARDO, D.; KISELEV, M. A.; MAGAZÙ, S.; CALANDRA, P. Amphiphiles self-assembly: basic concepts and future perspectives of supramolecular approaches. **Advances in Condensed Matter Physics**, v. 2015, 2015. doi:10.1155/2015/151683.

LOPES, L.B.; LOPES, J. L. C.; OLIVEIRA, D. C. R.; THOMAZINI, J. A.; GARCIA, M. T. J.; FANTINI, M. C. A.; COLLETT, J. H.; BENTLEY, M. V. L. B. Liquid crystalline phases of monoolein and water for topical delivery of cyclosporin A: characterization and study of in vitro and in vivo delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 63, n. 2, p. 146-155, 2006.

LV, Z. P.; CHEN, B.; WANG, H. Y.; WU, Y.; ZUO, J. L. Charge-transfer supra-amphiphiles built by water-soluble tetrathiafulvalenes and viologen-containing amphiphiles: supramolecular nanoassemblies with modifiable dimensions. **Small**, v. 11, n. 5, p. 3597-3605, 2015.

MACHUT, C.; MOURI-BELABDELLI, F.; CAVROT, J. P.; SAYEDE, A.; MONFLIER, E. New supramolecular amphiphiles based on renewable resources. **Green Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 772-775, 2010.

MALMSTEN, M. **Surfactants and polymers in drug delivery**. New York: Marcel Dekker, 2002. 368 p.

MANNA, A. K. Supramolecular chemistry – concepts and applications. **International Journal of Science and Research**, v. 4, n. 4, p. 892-899, 2015.

MARTÍNEZ-FELIPE, A.; IMRIE, C. T. The role of hydrogen bonding in the phase behavior of supramolecular liquid crystal dimers. **Journal of Molecular Structure**, v. 1100, p. 429-437, 2015.

MARTINS, M. D.; MARQUES, M. M.; BUSSADORI, S. K.; MESQUITA-FERRARI, S. A.; PAVESI, V. C. S.; WADT, N. S. FERNANDES, K. P. Citotoxicidade in vitro de extratos de arnica brasileira (*Solidago microglossa*) e arnica paulista (*Porophyllum ruderale*). **ConScientiae Saúde**, v. 8, n. 1, p. 99-104, 2009.

MATTIA, E.; OTTO, S. Supramolecular systems chemistry. **Nature Nanotechnology**, v. 10, n. 2, p. 111-119, 2015.

MAURIN-PASTUREL, G.; LONG, J.; GUARI, Y.; GODIARD, F.; WILLINGER, M. G.; GUERIN, C.; LARIONOVA, J. Nanosized heterostructures of Au@Prussian blue analogs: towards multifunctionality at the nanoscale. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, n. 15, p. 3872-3876, 2014.

MEEUWISSEN, J.; REEK, J. N. H. Supramolecular catalysis beyond enzyme mimics. **Nature Chemistry**, v. 2, n. 8, p. 615-621, 2010.

MEIJER, E. W.; SCHENNING, A. P. Chemistry: marriage materials in electronics. **Nature**, v. 419, n. 6905, p. 353-354, 2002.

MRLÍK, M.; SPÍREK, M.; AL-KHORI, J.; AHMAD, A. A.; MOSNACEK, J.; ALMAADEED, M. A.; KASÁK, P. Mussel-mimicking sulfobetaine-based copolymer with metal tuneable gelation, self-healing and antibacterial capability. **Arabian Journal of Chemistry**, 2017. In press. doi:10.1016/j.arabjc.2017.03.009.

NAKAMUR, K.; MINAGAW, Y.; HATAKEYAM, T.; HATAKEYAMA, H. DSC studies on bound water in carboxymethylcellulose–polylysine complexes. **Thermochimica acta**, v. 416, n. 1/2, p. 135-140, 2004.

NAMBIAR, S.; YEOW, J. T. W. Polymer-composite materials for radiation protection. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 4, n. 11, p. 5717-5726, 2012.

OBERT, E.; BELLOT, M.; BOUTEILLER, L.; ANDRIOLETTI, F.; LEHEN-FERRENBACH, C.; BOUÉ F. Both water- and organo-soluble supramolecular polymer stabilized by hydrogen-bonding and hydrophobic interactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 50, p. 15601-15605, 2007.

O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 17, p. 5421-5426, 2000.

OHASHI, S.; KILBANE, J.; HEYL, T.; ISHIDA, H. Synthesis and characterization of cyanate ester functional benzoxazine and its polymer. **Macromolecules**, v. 48, p. 8412-8417, 2015.

OSHOVSKY, G. V.; REINHOUDT, D. N.; VERBOOM, W. Supramolecular chemistry in water. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 14, p. 2366-2393, 2007.

PALACIO, M. L. B.; BRUSHAN, B. Bioadhesion: a review of concepts and applications. **Philosophical Transactions of The Royal Society A**, v. 370, n. 1967, p. 2321-2347, 2012.

PATZELT, W. J. Principles. In: _____. **Polarized-light microscopy: principles, instruments, applications**. 3rd ed. Wetzlar: Ersnt Leitz GmbH, 1978. Chap. 1, p. 6-18.

PETUKHOV, A. V.; MEIJER, J.; VROEGE, G. J. Particle shape effects in colloidal crystals and colloidal liquid crystals: small-angle X-ray scattering studies with microradian resolution. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 20, n. 4, p. 272-281, 2015.

PLUTH, M. D.; BERGMAN, R. G.; RAYMOND, K. N. Acid catalysis in basic solution: a supramolecular host promotes orthoformate hydrolysis. **Science**, v. 316, n. 5821, p. 85-88, 2007.

PRATIK, S. M.; DATTA, A. Nonequimolar mixture of organic acids and bases: an exception to the rule of thumb for salt or cocrystal. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 120, n. 30, p. 7606-7613, 2016.

RAJASEKAR, S.; HARI, N. Synthesis and polymerization of benzoxazine molecules with electron-withdrawing group substitution and ring-opening polymerization. **High Performance Polymers**, v. 29, n. 3, p. 1-13, 2016.

RAMATHAN, M.; HONG, K.; JI, Q.; YONAMINE, Y.; HILL, J. P.; ARIGA, K. Nanoarchitectonics of molecular aggregates: science and technology. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 390-401, 2014.

RAYNAL, M.; BALLESTER, P.; VIDAL-FERRAN, A.; VAN LEEUWEN, P. W. N. M. Supramolecular catalysis. Part 1: non-covalent interactions as a tool for building and modifying homogeneous catalysis. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 6, p. 1660-1733, 2014.

REN, B.; TONG, Z.; LIU, X.; WANG, C.; ZENG, F. Mesomorphous structure and properties of non-equimolar complexes of poly(ethylenimine) and perfluorooctanoic acid. **Langmuir**, v. 20, n. 24, p. 10737-10743, 2004.

ROBERTS, W. L.; McMURRAY, W. J.; RAINEY, P. M. Characterization of the antimonial antileishmanial agent meglumine antimonate (glucantime). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, n. 5, p. 1076-1082, 1998.

ROWAN, S. J.; CANTRILL, S. J.; COUSINS, G. R. L.; SANDERS, J. K. M.; STODDART, J. F. Dynamic covalent chemistry. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 6, p. 898-952, 2002.

SALIMON, J.; SALIH, N. Oleic acid diesters: synthesis, characterization and low temperature properties. **European Journal of Scientific Research**, v. 32, n. 2, p. 216-222, 2009.

SAXENA, A.; KALOTIB, M.; BOHIDARA, H. B. Rheological properties of binary and ternary protein-polysaccharide co-hydrogels and comparative release kinetics of salbutamol sulphate from their matrices. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 2, p. 263-270, 2011.

SCHENNING, A. P. H. J.; GEORGE, S. J. Self-assembly: phases full of fullerenes. **Nature Chemistry**, v. 6, n. 8, p. 658-659, 2014.

SCHENNING, A. P. H. J.; MEIJER, E. W. Supramolecular electronics; nanowires from self-assembled π -conjugated systems. **Chemical Communications**, n. 26, p. 3245-3258, 2005.

SCHULZ, P. C. DSC analysis of the state of water in surfactant-based microstructures. **Journal of Thermal Analysis**, v. 51, n. 1, p. 135-149, 1998.

SCOTT, R. W. J.; WILSON, O. M.; CROOKS, R. M. Synthesis, characterization and applications of dendrimer-encapsulated nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 109, n. 2, p. 692-704, 2005.

SEGURA, J. L.; MARTIN, N. New concepts in tetrathiafulvalene chemistry. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 8, p. 1372-1409, 2001.
SHRESTHA, L. K.; STRZELCZYK, K. M.; SHRESTHA, R. G.; ICHIKAWA, K.; ARAMAKI, K.; HILL, J. P.; ARIGA, K. Nonionic amphiphile nanoarchitectonics: self-assembly into micelles and lyotropic liquid crystals. **Nanotechnology**, v. 26, n. 20, 2015. doi:10.1088/0957-4484/26/20/204002.

SINGLETERRY, R. C. Jr.; THIBEAULT, S. A. **Materials for low-energy neutron radiation shielding**. Hampton: NASA, 2000. NASA/TP 2000-210281).
SMITH, D. K. A supramolecular approach to medicinal chemistry: medicine beyond the molecule. **Journal of Chemical Education**, v. 82, n. 3, p. 393-400, 2005.

SWAMINATHAN, S.; FOWLEY, C.; McCAUGHAN, B.; CUSIDO, J.; CALLAN, J. F.; RAYMO, F. M. Intracellular guest exchange between dynamic supramolecular hosts. **Journal of The American Chemical Society**, v. 136, n. 22, p. 7907-7913, 2014.

TAMHANE, K. **Formation of lyotropic liquid crystals through the self-assembly of bile acid building blocks**. 2007. 92 f. Thesis (Master of Science) - College of Engineering and Computer Science, University of Central Florida, Orlando, 2007.

TAYLOR, R.; COULOMBE, S.; OTANICAR, T.; PHELAN, P.; GUNAWAN, A.; LV, W.; ROSENGARTEN, G.; PRASHER, R.; TYAGI, H. Small particles, big impacts: a review of the disperse applications of nanofluids. **Journal of Applied Physics**, v. 113, n. 1, p. 11301-11319, 2013.

TEGOS, G. P.; DEMIDOVA, T. N.; ARCILA-LOPEZ, D.; LEE, H.; WHARTON, T.; GALI, H.; HAMBLIN, M. R. Cationic fullerenes are effective and selective antimicrobial photosensitizers. **Chemistry and Biology**, v. 12, n. 10, p. 1127-1135, 2005.

THERAPICON S. R. L (United States). P. A. Veronesi. **Water soluble salts of an NSAID with meglumine/glucamine**. US 4748174 A, 5 Jan. 1987, 31 May. 1988.

TSOTRA, P.; SETIABUDI, F.; WEIDMANN, U. Benzoxazine chemistry: a new material to meet fire retardant challenges of aerospace interior applications. **Proceedings of the 13th European Conference on Composite Materials – EECM13**, 2008, Stockholm, Sweden.

VRINGER, T.; JOOSTEN, J. G. H.; JUNGINGER, H. E. A study of the hydration of polyoxyethylene at low temperatures by differential scanning calorimetry. **Colloid and Polymer Science**, v. 264, n. 7, p. 623-630, 1986.

WANG, C.; GUO, Y.; WANG, Y.; XU, H.; WANG, R.; ZHANG, X. Supramolecular amphiphiles based on a water-soluble charge-transfer complex: fabrication of ultralong nanofibers with tunable straightness. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 47, p. 8962-8965, 2009.

WANG, Y.; MA, N.; WANG, Z.; ZHANG, X. Photocontrolled reversible supramolecular assemblies of an azobenzene-containing surfactant with α -cyclodextrin. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 16, p. 2823-2826, 2007.

WANG, Z.; DIAO, Z.; LIU, F.; LI, G.; ZHANG, G. Microstructure and rheological properties of liquid crystallines formed in Brij 97/water/IPM system. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 297, n. 2, p. 813-818, 2006.

WATERMAN, E.; LOCKWOOD, B. Active components and clinical applications of olive oil. **Alternative Medicine Review**, v. 12, n. 4, p. 331-342, 2007.

WEBBER, M. J.; LANGER, R. Drug delivery by supramolecular design. **Chemical Society Reviews**, 2017. Ahead of print. doi:10.1039/c7cs00391a.

WEISS, R. G. The past, present, and future of molecular gels. What is the status of the field, and where is it going?. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 121, p. 7519-7530, 2014.

WEISSMAN, H.; RYBTCHINSKI, B. Noncovalent self-assembly in aqueous medium: mechanistic insights from time-resolved cryogenic electron microscopy. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 17, n. 6, p. 330-342, 2012.

WHITESIDES, G. M.; GRZYBOWSKI, B. Self-assembly at all scales. **Science**, v. 295, n. 5564, p. 2418-2421, 2002.

YANG, P. P.; ZHAO, X. X.; XU, A. P.; WANG, L.; WANG, H. Reorganization of self-assembled supramolecular materials controlled by hydrogen bonding and hydrophilic-lipophilic balance. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 15, p. 2662-2668, 2016.

YAO, Y.; XUE, M.; CHEN, J.; ZHANG, M.; HUANG, F. An amphiphilic pillar[5]arene: synthesis, controllable self-assembly in water, and application in calcein release and TNT adsorption. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 38, p. 15712-15715, 2012.

YU, G.; YAN, X.; HAN, C.; HUANG, F. Characterization of supramolecular gels. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 16, p. 6697-6722, 2013.

ZAMAN, M. A.; MARTIN, G. P.; REES, G. D.; ROYALL, P. G. The effect of hydration on the thermal behaviour of hydrophilic non-aqueous gels stabilised by Carbopol 974P. **Thermochimica acta**, v. 417, n. 2, p. 251-255, 2004.

ZAYED, J. M.; NOUVEL, N.; RAUWALD, U.; SCHERMAN, O. A. Chemical complexity – supramolecular self-assembly of synthetic and biological building blocks in water. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 8, p. 2806-2816, 2010.

ZHANG, L.; ZHONG, X.; PAVLICA, E.; LI, S.; KLEKACHEV, A.; BRATINA, G.; EBBESEN, T. W.; ORGIU, E.; SAMORI, P. A nanomesh scaffold for supramolecular

nanowire optoelectronic devices. **Nature Nanotechnology**, v. 11, n. 10, p. 900-906, 2016.

ZHANG, X.; WANG, C. Supramolecular amphiphiles. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 1, p. 94-101, 2011.

ZHENG, L.; GUO, Q. H.; FENG, Y.; XU, J. F.; WEI, Y.; LI, Z.; WANG, M. X.; ZHANG, X. Host-guest interaction between corona[*n*]arene and bisquaternary ammonium derivatives for fabricating supra-amphiphile. **Langmuir**, v. 33, n. 23, p. 5829-5834, 2017.

ZOU, H.; SUN, H.; WANG, L.; ZHAO, L.; LI, J.; DONG, Z.; LUO, Q.; XU, J.; LIU, J. Construction of a smart temperature-responsive GPx mimic based on the self-assembly of supra-amphiphiles. **Soft Matter**, v. 12, n. 4, p. 1192-1199, 2016.