



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE CASCAVEL  
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS  
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**OBTENÇÃO DE COMPOSTOS DE INCLUSÃO CILOSTAZOL- $\beta$ -CICLODEXTRINA  
VISANDO À MELHORIA DA SOLUBILIDADE**

**DIOHÃNE VANESSA SALVINI**

**CASCAVEL - PR  
2018**

**DIOHÃNE VANESSA SALVINI**

**OBTENÇÃO DE COMPOSTOS DE INCLUSÃO CILOSTAZOL-B-CICLODEXTRINA  
VISANDO À MELHORIA DA SOLUBILIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Oeste do Paraná, *campus* de Cascavel, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas na linha de pesquisa Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Rosa  
Co-Orientador: Prof. Dr. Elcio José Bunhak

**CASCADEL - PR  
2018**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Salvini, Diohãne Vanessa

Obtenção de compostos de inclusão cilostazol- $\beta$ -ciclodextrina visando à melhoria da solubilidade / Diohãne Vanessa Salvini; orientador(a), Prof. Dr. Mauricio Ferreira da Rosa; coorientador(a), Prof. Dr. Elcio José Bunhak, 2018.

50 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2018.

1. Ciclodextrina. 2. Cilostazol. 3. B-CD. 4. Complexação. I. Rosa, Prof. Dr. Mauricio Ferreira da . II. Bunhak, Prof. Dr. Elcio José . III. Título.

## BIOGRAFIA RESUMIDA

Diohãne Vanessa Salvini, natural de Ibema, Paraná, Brasil, nascido no dia 26 de agosto de 1987, formou-se em Ciências Biológicas, no Centro Universitário Assis Gurgacz, campus de Cascavel, em julho de 2009, e formou-se em Farmácia no Centro Universitário Assis Gurgacz campus de Cascavel em julho de 2015. Entre 2009 e 2011 cursou pós-graduação Lato Sensu em Docência do Ensino Superior no Centro Universitário Assis Gurgacz. Ingressou no Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em nível de mestrado em Ciências Farmacêuticas no ano de 2016. Desenvolveu projeto experimental de dissertação junto à linha Fármacos e Medicamentos, orientado pelo Dr. Mauricio Rosa. Em 2009, iniciou na indústria de Medicamentos Prati Donaduzzi, situada em Toledo/PR, no setor de controle de qualidade instrumental em cromatografia líquida como analista; em 2010 iniciou no laboratório Diagnóstico da América, filial Álvaro na cidade de Cascavel no setor de citogenética como técnica especialista, gerente farmacêutica e responsável técnica na Rede de Farmácia Pague Menos, situada em Cascavel/PR.

*“Tudo o que fizerem, façam de todo o coração como para o Senhor, e não para os  
homens.”*

*Colossenses 3:23*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, que ilumina a minha vida, me dá forças para enfrentar os desafios e me faz sempre querer ser uma pessoa melhor.

Em memória, aos meus avós maternos, Maria Salvini e Luiz Salvini, por todo o ensinamento, cuidado e amor, sem eles nada seria possível.

À minha mãe, por ser mãe e pai, que sempre me apoiou e me deu muito amor. Agradeço de coração pela preocupação e amor incondicional.

Ao meu marido, que me incentivou a cursar o mestrado.

Aos meus orientadores, Mauricio e Elcio, que me auxiliaram nesta caminhada. Agradeço pela oportunidade, ensinamentos e paciência.

Aos colegas de turma do mestrado, foi um prazer estudar com vocês.

Às amigadas que fiz em Cascavel, guardo todas no coração.

Aos professores do curso de Farmácia e do Programa de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, obrigada pelo conhecimento cedido.

A todos, muito obrigada!

# **OBTENÇÃO DE COMPOSTOS DE INCLUSÃO CILOSTAZOL-B-CICLODEXTRINA VISANDO À MELHORIA DA SOLUBILIDADE**

## **RESUMO**

As ciclodextrinas são consideradas uma nova classe de excipientes farmacêuticos. A aplicação farmacêutica mais comum das ciclodextrinas CDs são usados para melhorar a solubilidade aquosa de drogas e para melhorar a biodisponibilidade após, por exemplo, na administração oral. São denominadas de  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina e  $\gamma$ -ciclodextrina, constituídas de oligossacáridos cíclicos. Cilostazol é uma droga vasorelaxante e age como um inibidor da agregação plaquetária. Exibe baixa solubilidade aquosa, biodisponibilidade variável. Assim, o principal objetivo do estudo foi investigar a possibilidade de melhorar a solubilidade do Cilostazol via complexação com  $\beta$ -CD. Estudos de solubilidade de fase revelaram a existência de complexo 1:1 entre cilostazol e  $\beta$ -CD. Complexos de inclusão preparados foram caracterizados por UV-vis, apresentando alterações positivas na solubilidade.

## **PALAVRAS CHAVES**

Ciclodextrina, cilostazol,  $\beta$ -CD, complexação.

# **OBTAINING CILOSTAZOL-CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPOUNDS AIMING TO IMPROVE THE SOLUBILITY**

## **ABSTRACT**

Cyclodextrins are considered to be a new class of pharmaceutical excipients. The most common pharmaceutical application of cyclodextrins are used to improve the aqueous solubility of drugs and to improve bioavailability after, for example, oral administration. They are called  $\alpha$ -cyclodextrin,  $\beta$ -cyclodextrin and  $\gamma$ -cyclodextrin, consisting of cyclic oligosaccharides. Cilostazol is a vasorelaxing drug and acts as an inhibitor of platelet aggregation. Displays low aqueous solubility, variable bioavailability. Thus, the main objective of the study was to investigate the possibility of improving the solubility of Cilostazol via  $\beta$ -CD complexation. Phase solubility studies revealed the existence of a 1: 1 complex between cilostazol and  $\beta$ -CD. Inclusion complexes prepared were characterized by UV-vis, exhibiting positive changes in solubility.

## **KEYWORDS**

Cyclodextrin, Cilostazol,  $\beta$ -CD, Complexation

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	13
2.1 OBJETIVO GERAL .....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
3.1 CILOSTAZOL .....	14
3.2 MOLÉCULA .....	15
3.3 SOLUBILIDADE .....	16
3.4 CICLODEXTRINA .....	17
3.5 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS .....	18
3.6 PROPRIEDADES .....	19
3.7 COMPLEXOS DE INCLUSÃO .....	21
3.8 LIBERAÇÃO CONTROLADA .....	25
3.9 CILOSTAZOL–CICLODEXTRINA .....	26
<b>4 CAPÍTULO 1</b> .....	29
<b>Obtenção de compostos de inclusão cilostazol-<math>\beta</math>-ciclodextrina visando melhoria da solubilidade</b> .....	29
INTRODUÇÃO .....	30
MATERIAIS E MÉTODOS .....	31
RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	34
CONCLUSÃO .....	42
AGRADECIMENTOS .....	42
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	43
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	44
6.1 REVISÃO DE LITERATURA .....	44
6.2 ARTIGO CIENTÍFICO .....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Propriedades físico-químicas e toxicológicas das ciclodextrinas naturais..21

## LISTA DE FIGURAS

### Revisão Bibliográfica

Figura 1 Mecanismo intrínseco de ação do cilostazol nas plaquetas e no endotélio	15
Figura 2 Estrutura química do cilostazol .....	16
Figura 3 Estrutura e propriedades de $\alpha$ , $\beta$ e $\gamma$ -CD.....	19
Figura 4 Estrutura tronco-cônica das ciclodextrinas.....	20
Figura 5 Perfis de solubilidade de fase e classificação dos complexos droga/ ciclodextrina de acordo para Higuchi e Connors .....	22
Figura 6 Formação de complexo droga-ciclodextrina (1:1) e auto-montagem de complexos para formação de agregados.....	27

### Artigo Científico

Figura 1 Espectros de absorvância das soluções aquosas contendo CLZ e CLZ com $\beta$ -CD .....	35
Figura 2 Perfil de solubilidade por saturação de cilostazol em inclusão com $\beta$ -CD ..	36
Figura 3 Método de variação contínua (Job Plot)para o complexo CLZ: $\beta$ -CD obtido por espectrofotometria.....	38
Figura 4 Degradação do cilostazol a exposição à luz, na ausência e presença $\beta$ - CD... ..	39
Figura 5 Perfil oxidativo do CLZ em solução aquosa na presença e ausência de $\beta$ - CD após a adição de peróxido de hidrogênio 30% (Peridrol).....	41

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
CD	Ciclodextrina
CZL	Cilostazol
CGTase	Glicosiltransferase
DAOP	Doença arterial obstrutiva periférica
DAP	Doença arterial periférica
HDL	Lipoproteína de alta densidade do colesterol
PDE-3	Fosfodiesterase 3
pH	Potencial de hidrogênio
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
UV-Vis	Ultravioleta-visível
$\alpha$ -CD	Ciclohexaamilose ou ciclomaltohexose
$\beta$ -CD	Cicloheptaamilose ou ciclomaltoheptose/ beta ciclodextrina
$\gamma$ -CD	Ciclooctaamilose ou ciclomaltooctaose

## 1 INTRODUÇÃO

A ciclodextrina é uma nova classe de excipientes cuja inclusão em formas farmacêuticas tornou-se muito popular devido ao melhor desempenho proporcionado às características físico-químicas dos fármacos. Nesse sentido, a inclusão de ciclodextrina (CDs) apresenta como vantagens uma melhora na eficácia terapêutica com diminuição dos efeitos colaterais; mascaramento de odores e sabores desagradáveis; diminuição de interações e incompatibilidades, além de aumentar a solubilidade e estabilidade dos fármacos.

As CDs são oligossacarídeos cíclicos, constituídas por ligações glicosídicas, produzidas a partir da amilose pela ação da enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase), produzida por vários microorganismos como o *Bacillus macerans*.

Há três tipos de CDs que apresentam maior disponibilidade:  $\alpha$ -CD (ciclohexaamilose ou ciclomaltohexose),  $\beta$ -CD (cicloheptaamilose ou ciclomaltoheptose) e  $\gamma$ -CD (ciclooctaamilose ou ciclomaltooctose). São conhecidas como ciclodextrinas nativas (naturais) e constituídas por seis, sete e oito unidades de glicose, respectivamente. A ciclodextrina  $\beta$ -CD recebe destaque por possuir elevado número de grupos hidroxila, entre outras características.

As CDs vêm sendo muito utilizadas em produtos industriais, tecnológicos e em métodos analíticos por formarem complexos do tipo receptor-substrato, servindo como um ambiente único para reações químicas por possuírem a habilidade para formar complexos de inclusão. Como os efeitos tóxicos podem ser eliminados ou reduzidos pela seleção da CD apropriada, as CDs podem ser utilizadas como ingredientes de fármacos, em alimentos ou em cosméticos.

O cilostazol é um derivado quinolinônico classificado como antiagregante plaquetário e antitrombótico com ação vasodilatadora. Seu mecanismo de ação está relacionado com a promoção do aumento dos níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) por produzir inibição potente e seletiva da PDE-3 (fosfodiesterase tipo III), enzima responsável por sua degradação. O tempo de meia-vida é de aproximadamente 10 horas, com administração repetitiva, resultando em uso em até duas vezes ao dia.

O cilostazol é praticamente insolúvel em água. Essa característica dificulta muitos processos na formulação farmacêutica, além de possibilitar uma biodisponibilidade muito variável do fármaco na corrente sanguínea. Pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), o cilostazol encontra-se classificado na

classe II. Drogas desta classe possuem baixa solubilidade, bem como alta permeabilidade, e precisam que o perfil de dissolução seja melhor definido.

A absorção do cilostazol no trato gastrointestinal é lenta, variável e incompleta, o que pode explicar seus efeitos farmacológicos limitados e inconsistentes. Nesse contexto, o objetivo do estudo é avaliar o efeito da complexação cilostazol- $\beta$ -ciclodextrinas sobre sua solubilidade em água, estabilidade química e biodisponibilidade.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo tem como objetivo verificar a solubilidade, a estabilidade química do cilostazol via complexação com  $\beta$ -CD.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar encapsulamento de ciclodextrina com cilostazol por co-solvatação;
- Avaliar a solubilidade do cilostazol com a ciclodextrina.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CILOSTAZOL

O cilostazol é um fármaco muito utilizado em acidentes vasculares devido ao seu efeito antiplaquetário e antitrombótico. O seu mecanismo de ação se baseia na inibição seletiva da enzima fosfodiesterase tipo III (PDE3), responsável hidrolisar o AMPc (monofosfato de adenosina cíclico). O aumento do APMc estabiliza os receptores do complexo glicoproteico (GPIIb/IIIa) nas plaquetas, impedindo que ocorra a agregação plaquetária (ATAHK et al., 2017).

Comercializado como comprimidos orais com uma dose recomendada de 50 ou 100 mg duas vezes ao dia, foi lançado no Japão, e em outros países asiáticos em 1988 e aprovado nos Estados Unidos da América em 1999, para tratamento clínico da claudicação intermitente por doença arterial obstrutiva periférica (DAOP) (ROSA; BARONI; PORTAL, 2009).

Cilostazol apresentou eficácia na prevenção secundária de todos os tipos de acidentes vasculares cerebrais, especialmente acidente vascular cerebral hemorrágico secundário, também podendo reduzir a recorrência de acidente vascular cerebral, de pós-falência e hemorragia extracraniana. Além disso, apresentou efeitos benéficos sobre o desfecho de pacientes com infarto de miocárdio (TABAGI; HARA, 2016).

Possui ação vasodilatadora e atividade antiplaquetária significativamente mais potente do que a aspirina. O cilostazol tem propriedades antiproliferativas e aumenta os efeitos da prostaciclina, o endógeno antiagregante plaquetário da parede do vaso que atua como substância vasodilatadora (MONEY et al., 1998).

Esquema de aspirina e cilostazol é tolerável e superior à monoterapia com aspirina na prevenção de a progressão de estenose arterial intracraniana aterosclerótica sintomática (IAS). O efeito benéfico do cilostazol pode estar relacionado com o seu efeito antiaterogênico e antiproliferativo, além dos efeitos antiplaquetários. Pelo fato de o cilostazol também possuir um efeito antiplaquetário, a combinação desta droga com aspirina pode aumentar o risco de sangramento (KWON et al., 2005).

O cilostazol possui vantagem ao sangramento, em relação à de outros antiplaquetários (como ticlopidina, triflusal ou sarpogrelato) (GALYFOS; SIANOU, 2017).

Por antagonizar a enzima PDE3, aumenta a concentração do AMPc e inibe a atividade da fosfolipase e da cicloxigenase, reduzindo a concentração do tromboxano A2 e agregação plaquetária. Adicionalmente, suprime a expressão da proteína armazenada em grânulos na plaqueta, em sua fase inativada, o aumento da concentração celular (endotélio e plaquetas) do AMPc, o que leva à inibição da ação do cálcio nesses locais (Figura 1) (ZHAO et al., 2007).

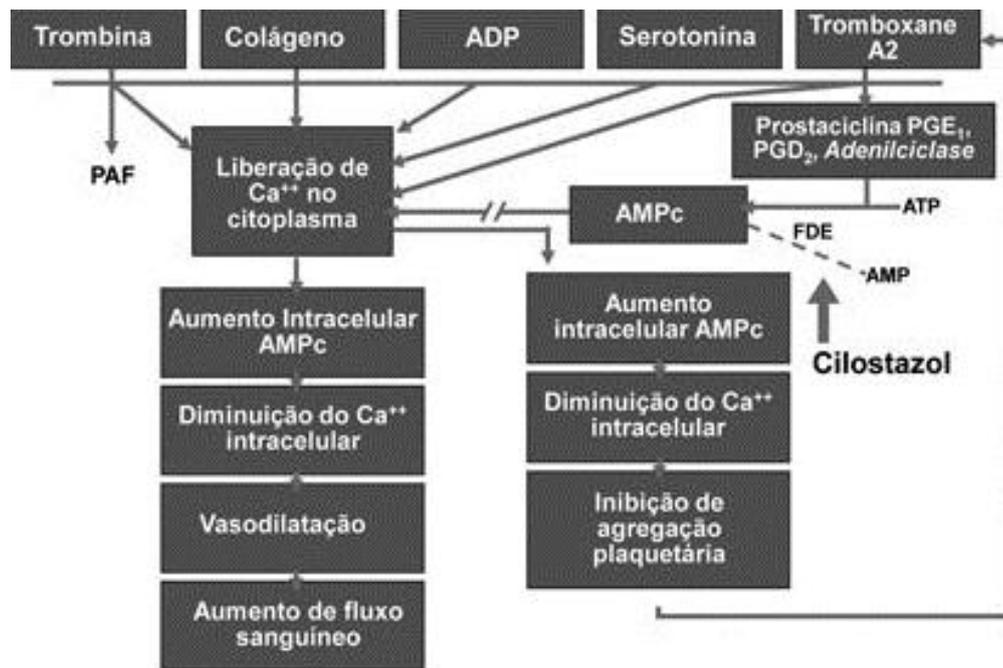


Figura 1 Mecanismo intrínseco de ação do cilostazol nas plaquetas e no endotélio

Fonte: Adaptado de Zhao et al., 2007.

### 3.2 MOLÉCULA

O cilostazol, (6-[4-(1-ciclohexil-5-il]-3,4-diidro-2(1H)-quinolinona) (Figura 2), conhecido como OPC-13013, possui peso molecular de  $369,47 \text{ g mol}^{-1}$ . É uma molécula de caráter básico ( $\text{pKa}$ , 11,8), ligeiramente solúvel em metanol, etanol e praticamente insolúvel em água (SEO et al., 2015). Possui três metabólitos ativos no plasma humano: OPC-13015, OPC-13213 e OPC-1321 (ROSA; BARONI; PORTAL, 2009).

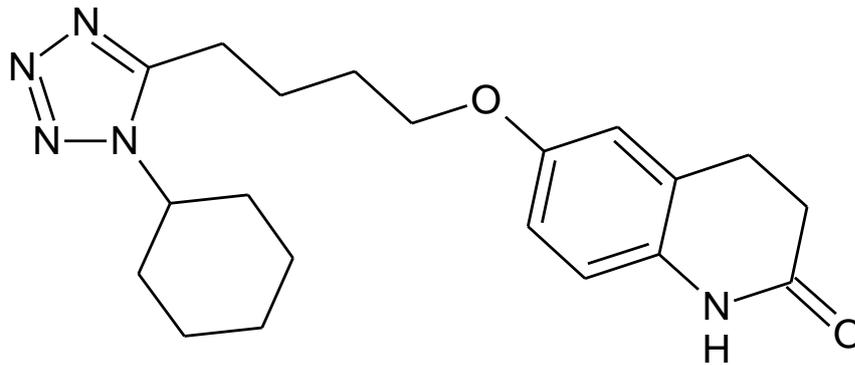


Figura 2 Estrutura química do cilostazol  
Fonte: Seo et al. (2015).

### 3.3 SOLUBILIDADE

Por definição, solubilidade é a medida que uma molécula de um sólido é removida de sua superfície por um solvente sendo um fator determinante para a absorção e biodisponibilidade de compostos ativos. Uma droga é considerada altamente solúvel quando a mais alta dose administrada como uma formulação de liberação imediata é solúvel em 250 mL ou menos de meio aquoso com pH numa faixa de 1,2 a 6,8 a  $37 \pm 1$  °C (LOFTSSON, 2017).

Conforme o Sistema de Classificação Biofarmacêutico, a absorção de cilostazol no trato gastrointestinal é lenta, variável e incompleta, o que pode explicar seus efeitos farmacológicos limitados e inconsistentes do cilostazol. Sua absorção oral, definida pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica, é de classe II, podendo ser melhorada aumentando-se a sua solubilidade e dissolução (SEO et al., 2015).

Drogas desta classe possuem baixa solubilidade e alta permeabilidade. As drogas nesta classe podem ter uma variável que pode afetar o perfil de dissolução. Os meios de dissolução e os métodos que refletem o processo de controle in vivo são particularmente importantes neste caso, se boas correlações in vitro in vivo forem obtidas (AMIDON et al., 1995)

A biodisponibilidade absoluta do cilostazol (CLZ) não é conhecida e a biodisponibilidade relativa é imprevisível. Isso limita sua eficácia clínica, devido a isso, sua dosagem diária se repete várias vezes ao dia. Assim, abre novos caminhos, fórmulas farmacêuticas a serem superadas, questões de solubilidade e biovariabilidade com técnicas distintas de aprimoramento, como a complexação de inclusão de ciclodextrina para aumentar a solubilidade, a molhabilidade e a dissolução in vitro do cilostazol (DESAI; PRABHAKAR, 2015).

A solubilidade é um dos parâmetros mais importantes para atingir a concentração ideal da droga na circulação sistêmica, assim, para obter a resposta farmacológica necessária, as drogas hidrofóbicas frequentemente requerem altas doses. A baixa solubilidade aquosa é o principal problema encontrado com a preparação e o desenvolvimento de novos fármacos, para medicamentos administrados oralmente (VIMALSON et al., 2016).

### 3.4 CICLODEXTRINA

Apesar de serem consideradas como uma nova classe de excipientes farmacêuticos, as CDs foram primeiramente identificadas por Villiers em 1891 (VEIGA; MARTINS, 2002). Schardinger, em 1903, foi o responsável pela primeira descrição detalhada da reparação e isolamento destes oligossacarídeos cíclicos. A primeira patente foi registrada em 1953 por Freudenberg e já inferia sobre sua possível utilização em medicamentos baseada na sua capacidade de incrementar a solubilidade e a estabilidade de fármacos (SÁ-BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008).

Excipientes farmacêuticos estão sendo utilizados para melhorar a estabilidade química dos fármacos e melhorar a vida útil dos produtos. Em soluções aquosas, a complexação da ciclodextrina tem sido usada para impedir a hidrólise, a oxidação, a fotodegradação e a degradação catalisada por enzimas dos fármacos dissolvidas (POPIELEC; LOFTSSON, 2017).

As CDs oferecem melhor solubilidade, maior estabilidade aquosa e aumento da biodisponibilidade e menos efeitos colaterais indesejáveis para diversos fármacos (PATEL; RAJPUT, 2009).

Odores e sabores desagradáveis podem ser mascarados pela complexação dos compostos com CDs. As moléculas ou grupos funcionais responsáveis pelos caracteres organolépticos desagradáveis podem ser afastadas dos receptores sensoriais quando encapsuladas no interior da cavidade das CDs, o complexo resultante apresenta ausência ou redução de odor e sabor, tornando-se mais aceitável para o paciente (OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009).

A absorção das ciclodextrinas pelas membranas celulares é insignificante, devido ao seu elevado tamanho e superfície hidrofílica, a metabolização ocorre no cólon, especialmente as CDs naturais, são absorvidos tais como os produtos resultantes da degradação do amido e excretados sob forma de dióxido de carbono e água. As CDs quimicamente modificadas (derivadas) possuem maior resistência à

hidrólise enzimática, sendo excretadas nas fezes, principalmente, na sua forma intacta, não metabolizada (GUEDES et al., 2008).

A permeação das drogas ocorre por membranas biológicas, sendo principalmente transportadas através de barreiras destas membranas, onde o gradiente de concentração do fármaco na membrana é a principal força motriz. As CDs são capazes de solubilizar drogas pouco solúveis no exterior aquoso e entregar essas moléculas na membrana lipofílica e, assim, aumentar a concentração do gradiente do fármaco (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018).

As moléculas de CD são capazes de proteger os fármacos dos meios fisiológicos, podendo desestabilizar as membranas biológicas para aumentar a permeabilidade do fármaco, possui a capacidade de modular a taxa e local de liberação do fármaco, são “geralmente reconhecidos como seguros”. Esta classificação de segurança reduz ou elimina completamente os efeitos adversos ou hipersensibilidades relacionados e observados em alguns fármacos (ADEOYE; MARQUES, 2017).

Os medicamentos de via oral encapsulados nas CDs aumentaram a concentração do fármaco atingindo a circulação sistêmica ou local-alvo, a partir dos sistemas gastrointestinais, isso levou a um efeito positivo sobre a atividade farmacológica e eventual resultados do tratamento (ADEOYE; MARQUES 2017).

### 3.5 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS

Esses oligossacáridos cíclicos são constituídos por um número variável de unidades de glicose, que se obtêm por ação da enzima ciclodextrina- $\alpha$ -glicosiltransferase (CGTase) sobre o amido (VEIGA; SALTÃO, 2001).

Estas moléculas possuem forma semelhante à de um cone truncado com uma cavidade de 7,9 Å de profundidade. As CDs obtidas com maior rendimento são conhecidas como naturais, possuem os diâmetros superior e inferior em sua cavidade, contêm seis, sete e oito unidades de glicose, sendo denominadas de  $\alpha$ -ciclodextrina ( $\alpha$ CD),  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ CD) e  $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ CD), respectivamente (Figura 3) (VENTURINI et al., 2008).

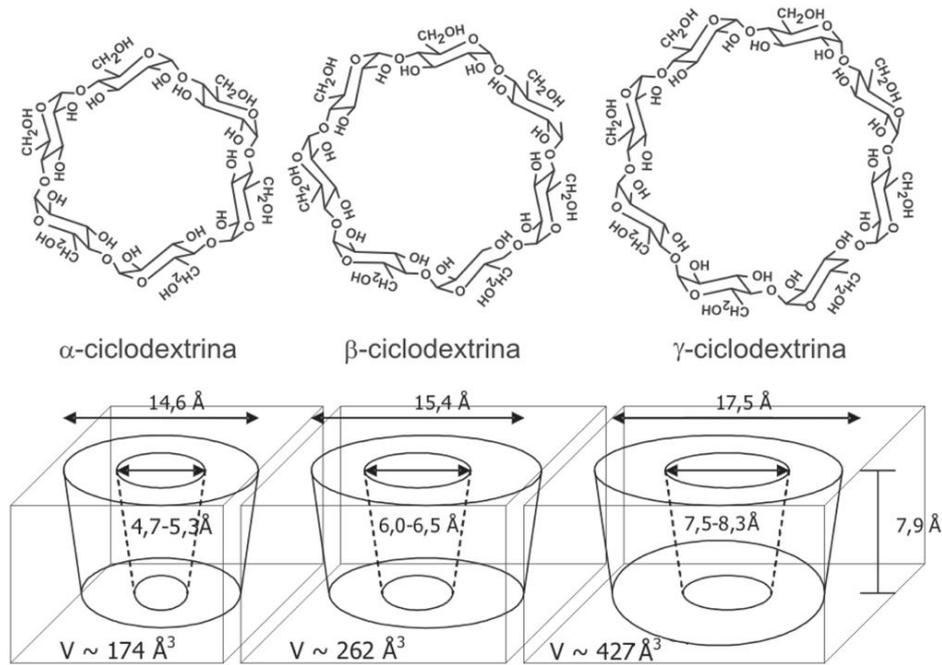


Figura 3 Estrutura e propriedades de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD

Fonte: Venturini et al. (2008).

### 3.6 PROPRIEDADES

As CDs foram identificadas como produtos resultantes da degradação do amido pela ação da enzima amilase ciclodextrina glicosil transferase (CGTase), produzida pelo microorganismo *Bacillus macerans*, capaz de romper um segmento da hélice do amido e unir as duas porções terminais deste fragmento numa única molécula cíclica (ANSOLIN et al., 2014).

A obtenção das ciclodextrinas naturais ocorre por meio do cultivo do microrganismo produtor da CGTase, separação e purificação da enzima, degradação enzimática do amido em mistura de dextrinas separação, purificação e cristalização das ciclodextrinas. Dos numerosos microrganismos que produzem CGTase, as espécies mais usadas são o *Bacillus macerans*, *Bacillus circulans* e também *Klebsiella pneumoniae* (VEIGA; SALTÃO, 2001).

Como consequência da conformação do carbono 1 (C1) das unidades de glicose (em forma de cadeia), os grupos hidroxila secundários (ligados ao carbono 2 (C2) e carbono 3 (C3) das unidades de glicose) estão localizados no topo do lado mais largo da estrutura, enquanto que os grupos hidroxila primários (ligados a C6) estão posicionados do outro lado (VEIGA; MARTINS, 2002). Assim, as CDs apresentam uma parte externa polar, enquanto a parte interna é lipofílica (Figura 4) (VENTURINI et al., 2008).

Em soluções aquosas, as CDs são suscetíveis à hidrólise ácida em pH baixo, resultando na abertura do anel e formação de vários oligossacarídeos lineares e unidades de glicose, mas estes são estáveis sob condições alcalinas, os grupos hidroxila ligados ao aro começam a desprotonar em pH de aproximadamente 12 (SAOKHAM et al., 2018).

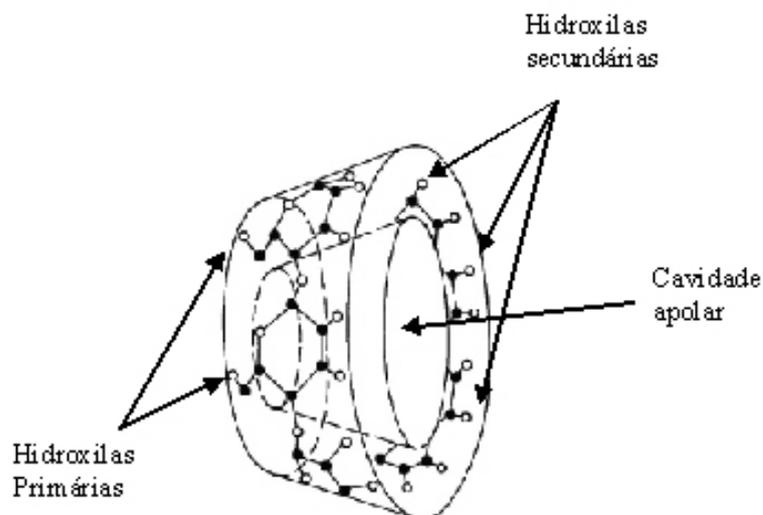


Figura 4 Estrutura tronco-cônica das ciclodextrinas

Fonte: Sá-Barreto e Cunha-Filho (2008).

A solubilidade em água, a capacidade de interagir com substâncias hidrófilas em solução com a mudança das propriedades farmacológicas das drogas, as propriedades que as CDs apresentam (OLIVEIRA, 2007). Algumas propriedades das CDs são resumidas na Tabela 1 (SÁ-BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008).

Pela camada externa da molécula de CD ser hidrofílica ou polar, este composto pode incluir uma molécula de fármaco não polar dentro da sua cavidade interna. A capacidade da CD para incluir a molécula de um fármaco, depende do tamanho da sua cavidade interna e do tamanho da molécula de fármaco (PAMUDJI; MAULUDIN; NURHABABAH, 2014).

Tabela 1 Propriedades físico-químicas e toxicológicas das ciclodextrinas naturais

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Unidades de glicose	6	7	8
Peso Molecular	972 daltons	1135 daltons	1297 daltons
Solubilidade aquosa (25°C)	14,5%	1,85%	23,2%
Diâmetro da cavidade	4,7-5,3 Å	6,0-6,5Å	7,5-8,3Å
Volume da cavidade	174 Å <sup>3</sup>	262 Å <sup>3</sup>	427 Å <sup>3</sup>
Forma cristalina	Hexagonal	Monoclínica	Quadrada
Temperatura de fusão	250-260 °C	255-265 °C	240-245 °C
Toxicidade	Não existem restrições de uso	Tóxica por via parenteral	Não existem restrições de uso

Fonte: Adaptado de Veiga e Saltão (2001).

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutico (BCS), CDs efetivamente aumentam a solubilidade do BCS dos fármacos classe II (alta permeabilidade e baixa solubilidade) e, às vezes, drogas de classe IV (baixa permeabilidade e baixa solubilidade), movendo, assim, os fármacos de sua classe para BCS Classe I (alta permeabilidade e alta solubilidade) (MUANKAEW; LOFTSSON, 2018).

### 3.7 COMPLEXOS DE INCLUSÃO

Higuchi e Connors, em 1965, desenvolveram uma teoria para complexos de inclusão em solução, a qual se baseia na complexação da solubilidade do substrato, originando a seguinte classificação: perfil do tipo A, quando a solubilidade do substrato aumenta com o incremento da concentração de CD, perfil tipo A<sub>L</sub> é obtido, se o complexo formado é de primeira ordem em relação ao fármaco, mas de segunda ou superior ordem em relação à CD, o perfil de solubilidade obtido possui um desvio positivo da linearidade, sendo classificado como diagramas do tipo A<sub>P</sub> (GUEDES et al., 2008).

Perfis do tipo A<sub>N</sub> possuem interpretação mais complexa devido à multiplicidade de fenômenos que podem ocorrer. Perfis do tipo B são obtidos com a formação de complexos de baixa solubilidade aquosa (Figura 5), em alguns casos, inclusive inferior à da molécula hospedeira e que precipitam à medida que há encapsulação (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007)

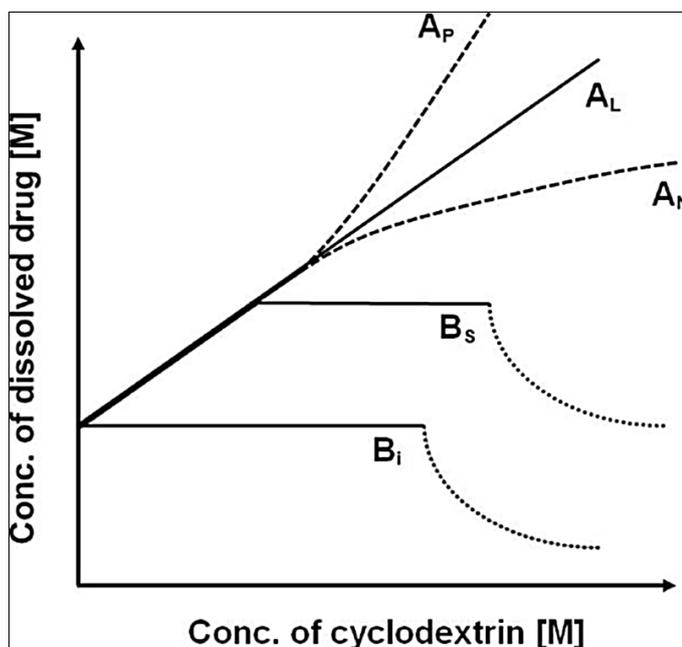


Figura 5 Perfis de solubilidade de fase e classificação dos complexos droga / ciclodextrina

Fonte: Guedes et al. (2008).

Devido ao caráter hidrofílico da superfície exterior, as CDs são solúveis em água, disponibilizam uma cavidade apolar capaz de formar complexos de inclusão com várias moléculas hóspedes, em solução aquosa, a cavidade apolar das ciclodextrinas contém moléculas de água que se organizam num agregado, tais moléculas podem ser substituídas por outras que sejam menos polares e com tamanho adequado. Assim, as CD podem atuar como moléculas hospedeiras (VEIGA; MARTINS, 2002).

Alta especificidade e reversibilidade da complexação de CDs com os hóspedes hidrofóbicos fazem das interações uma das ferramentas mais poderosas para construir sistemas organizados de inclusões. Além disso, a presença de CDs na estrutura destas drogas resulta em propriedades tão atraentes como a biocompatibilidade, havendo a oportunidade de incluir numerosos fármacos hidrofóbicos em cavidades livres de CD, melhorando seus perfis de solubilidade e biodisponibilidade (ANTONIUK; AMIEL, 2016).

CDs podem acomodar uma ampla gama de moléculas de drogas, em sua cavidade central. As principais forças envolvidas na formação de complexo são interações não iônicas fracas, forças de van der Waals, ligação hidrofóbica e ligação de hidrogênio entre a cavidade da CD e as moléculas do fármaco. A formação deste complexo é um equilíbrio dinâmico, por meio do qual as moléculas do fármaco se

associam e dissociam continuamente da cavidade da CD (MUANKAEW; LOFTSSON, 2018).

A inclusão molecular tem como objetivo estabilizar compostos voláteis, diminuir aromas fortes de fármacos e alimentos, proteger princípios ativos contra oxidação e fotodegradação, aumentar a solubilidade de medicamentos insolúveis em água, mascarar gostos amargos de alimentos e fármacos, entre outros (PRADO et al., 2014).

A formação de complexos de inclusão altera significativamente as características do substrato. Essas alterações incluem modificações na reatividade química, fixação de substâncias muito voláteis, melhoria na solubilidade de compostos, estabilização de substâncias sensíveis à luz, calor e oxidação, proteção da degradação de substâncias por microorganismos, mascaramento de corantes ou pigmentos e atividade catalítica com os substratos (VENTURINI et al., 2008).

Devido ao seu diâmetro  $\beta$ -CD, consegue formar complexos de inclusão, o fármaco pode vir a interagir com ambas as paredes da CD o que leva a um número maior de ligações de hidrogênio, resultando em um aumento na energia de ligação dos sistemas. Os sistemas interagem via adsorção física, o que é muito importante para um sistema de carregamento de drogas, não há mudanças estruturais nas moléculas que, em princípio, poderiam modificar o princípio ativo dessas (FIGUEIREDO et al., 2013).

A ciclodextrina natural mais usada para complexos de inclusão é a  $\beta$ -CD, devido ao seu elevado número de grupos hidroxila, sete primárias e quatorze secundárias, são potenciais pontos de reação que permitem a produção de modificações estruturais funcionalizando o anel macrocíclico, assim, surgindo uma grande variedade de estruturas adaptadas ao desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos (VEIGA; SALTÃO, 2001). Entre as ciclodextrinas, a  $\beta$ -CD é o composto mais amplamente estudado na complexação de drogas (GAWALI et al., 2009).

Princípios ativos de baixa polaridade podem migrar para o interior da cavidade interna das CDs, fenômeno conhecido como complexação, formando complexos de inclusão dinâmicos em solução ou no estado sólido, devido a uma variedade de forças não covalentes, como forças de Van der Waals e interações hidrofóbicas. Assim, a natureza das ligações envolvidas, bem como o complexo ciclodextrina e fármaco, está continuamente sendo formado (CAMPOS, 2012).

O requisito mínimo para que se forme o complexo é a compatibilidade de tamanhos e geometrias entre a cavidade da CD e o hóspede. Esta compatibilidade

de tamanhos pode não corresponder na totalidade de molécula a incluir. Há casos em que apenas uma parte da estrutura do hóspede fica incluída na cavidade. A polaridade desse segmento é um fator condicionante da formação do complexo (VEIGA; SALTÃO, 2001).

As CDs solubilizam uma grande variedade estrutural de moléculas de drogas distintas, neutras e ionizadas. Os complexos sólidos de fármaco-CD também podem ser isolados por liofilização. Formulações parenterais de fármaco-CD podem ser reconstituídas antes de formulações orais e do uso contendo drogas ciclodextrina sólidas, portanto, os complexos se tornam possíveis, tais formulações, podem ter taxas de dissolução *in vitro* desse complexo com aumentos significativos de solubilidade (HYWEL et al., 2013).

Por formar complexos de inclusão com muitas drogas lipofílicas, podem ocorrer a alteração de suas propriedades físico-químicas e propriedades biofarmacêuticas (GAWALI et al., 2009).

Nas soluções aquosas, as ciclodextrinas, ao formar complexos com drogas pouco solúveis em água, poderão ocorrer interações de uma porção lipofílica da molécula da droga com a cavidade central hidrofóbica da ciclodextrina (LOFTSSON; BREWSTER, 2012).

Em sistema aquoso, a formação do complexo de inclusão com a CD pode ser facilmente detectada por meio de análise por RMN, dicroísmo circular ou ainda por meio de espectrofotometria de UV-Vis e de fluorescência (VENTURINI et al., 2008).

As formulações farmacêuticas contendo CD podem aumentar ou diminuir a capacidade da CD para solubilizar tais drogas envolvidas, dependendo da natureza e propriedades físico-químicas da droga. Assim, a quantidade exata de CD necessária em uma determinada formulação deve ser determinada por estudos (por exemplo, estudos de solubilidade de fase) em um meio cuja composição é próxima da formulação final (SAOKHAM et al., 2018).

A formação de complexos de inclusão foi estudada por diversos métodos físico-químicos, em estudos de solubilidade em soluções aquosas por Higuchi e Connors, 1965, métodos espectroscópicos tais como espectroscopia UV/VIS, espectroscopia de fluorescência, nuclear espectroscopia de ressonância magnética (RMN), são usados para detectar a formação de complexos de droga@CD. Outras técnicas como potenciômetro de pH, titulação, microcalorimetria e tensão superficial são mais raramente usados (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018).

### 3.8 LIBERAÇÃO CONTROLADA

Os complexos de inclusão envolvendo as CD's são considerados como um dos sistemas de liberação controlada de maior eficiência devido ao ajuste molecular entre o princípio ativo e as CD's (ZANETTI; TOMÉ, 2005). A absorção das substâncias ligadas a elas aumentam, apresentando maior aplicabilidade, constituindo novos carreadores em liberação controlada para drogas pouco solúveis em água, incluindo peptídeos e fármacos com estrutura protéica. O uso combinado de CD's e princípios ativos podem aperfeiçoar as propriedades do fármaco e sua eficácia terapêutica (TEIXEIRA, 2008).

Esta liberação controlada passa pela alteração da farmacocinética e biodisponibilidade de princípios ativos que, ainda por terem boa ação farmacológica, são ainda limitados aos seus efeitos farmacológicos e à sua estabilidade, sendo assim, a forma de complexo de inclusão pode atingir o seu local de ação sem a inativação do fármaco e irritação das mucosas, ou absorção limitada, tendo a possibilidade de uma via de administração mais cômoda (TORRES, 2014).

A utilização das CDs em nanosistemas permite ampliar as opções de fármacos para esta abordagem, além de serem peças chaves na elaboração de biosensores proteicos capazes de um reconhecimento tecidual ou celular que permite ativar os mecanismos de liberação do fármaco somente no sítio de ação (SÁ-BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008).

CDs são consideradas ideais transportadoras de drogas para preencher as lacunas atuais, na entrega de medicamentos por via oral (ADEOYE; MARQUES, 2017).

O desenvolvimento de materiais biocompatíveis com uso de sistemas específicos para a administração de medicamentos tem sido foco de pesquisa médica nos últimos anos, especialmente para o tratamento do câncer e de doenças do sistema vascular, tendo como objetivo o direcionamento do fármaco, o transporte da quantidade desejada e necessária para o alvo e disponibilizá-la a uma taxa controlada, uma vez que os sistemas nanoencapsulados têm potencial para reduzir a frequência de aplicação e diminuir a incidência de efeitos secundários sistêmicos, quando comparadas com o fármaco na sua forma livre (FIGUEIREDO et al., 2013).

### 3.9 CILOSTAZOL–CICLODEXTRINA

A aplicação das CDs em formas farmacêuticas sólidas promove o aumento da velocidade e extensão de dissolução dos fármacos, um aumento da solubilidade, molhabilidade e alteração no estado cristalino, a complexação diminui a irritação local proveniente de alguns fármacos e modifica o tempo de liberação durante o trânsito gastrointestinal (GUEDES et al., 2008).

A taxa de dissolução do fármaco, em sua forma sólida sendo cercado por uma camada difusa, e a redução do tamanho da partícula, produzirá um aumento de área da superfície sugerindo um aumento da velocidade de dissolução, um aumento da biodisponibilidade para medicamentos em que a exposição, após a administração oral, é limitada pela sua taxa de dissolução, levando a uma melhora na biodisponibilidade oral de muitas drogas pouco solúveis em água, incluindo cilostazol (HYWEL et al., 2013).

A solubilidade aquosa do cilostazol tende a aumentar linearmente devido à formação do complexo de inclusão com  $\beta$ -CD (GAWALI et al., 2009). A complexação do fármaco cilostazol com as ciclodextrinas pode fazer com que as propriedades físico-químicas deste mudem, aumentando sua solubilidade em água, estabilidade química e até mesmo sua biodisponibilidade, essa complexação ocorre devido às características que as ciclodextrinas possuem (MELO et al., 2007).

Os métodos mais comuns para a preparação de complexos sólidos droga-ciclodextrina em escala de laboratório são liofilização ou secagem por atomização de soluções complexas de ciclodextrina. Complexos solúveis podem também ser preparados pelo método de coprecipitação ou o método de neutralização, em que as mudanças em pH médio são usadas para aumentar a solubilidade aquosa de um complexo droga-ciclodextrina (LOFTSSON; BREWSTER, 2012).

Uma, duas ou três moléculas de ciclodextrina contêm uma ou mais moléculas hóspedes. Com mais frequência, a proporção de complexo de inclusão é 1:1 (isto é, uma molécula de fármaco forma um complexo com uma molécula de ciclodextrina) (Figura 6) (MUANKAEW; LOFTSSON, 2018). Essa, então, é a essência do “encapsulamento molecular”, no entanto, 2:1, 1:2, 2:2, ou associações mais complicadas, e equilíbrios de ordem superior existem, quase sempre simultaneamente. Estes complexos de inclusão formados podem ser isolados como substâncias amorfas ou microcristalinas estáveis. A associação das moléculas

ciclodextrina e fármaco, e a dissociação do complexo ciclodextrina e fármaco formado, é governada por um equilíbrio termodinâmico (SZEJTLI, 2004).

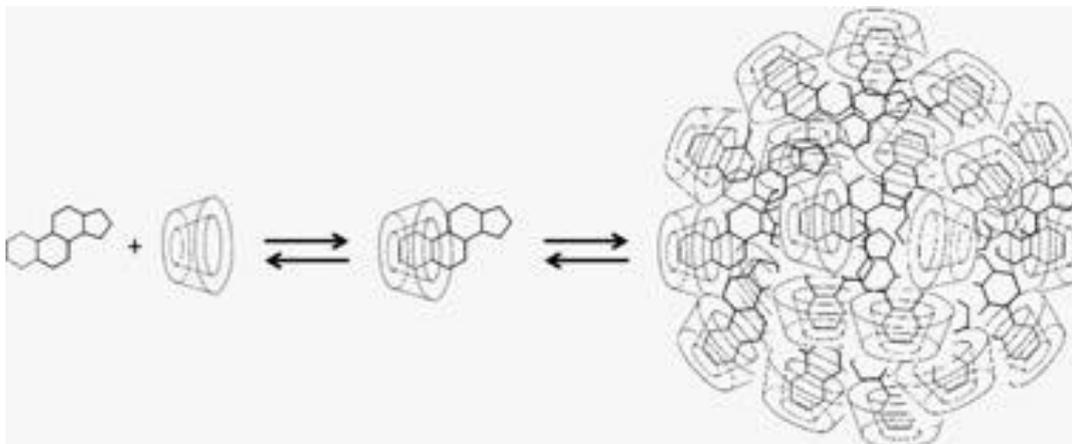


Figura 6 Formação de complexo droga-ciclodextrina (1:1) e auto-montagem de complexos para formação de agregados

Fonte: Loftsson e Brewster (2012).

Sabe-se que em soluções aquosas as CDs nativas têm tendência a se automontar, formando agregados que são mantidos por ligações de hidrogênio intermoleculares. Sua tendência a formar agregados é promovida pela formação de complexos de inclusão e sua propensão de agregação é proporcional à concentração do complexo de inclusão. A formação de agregados de CD é dependente da concentração em que tanto a agregação quanto o tamanho dos agregados formados aumentam com o crescimento da concentração de CD (SÁ COUTO; RYZHAKOV; LOFTSSON, 2018).

A solubilidade aquosa do cilostazol aumentou linearmente com inclinação 0.9269 ( $r^2 = 0,9921$ ), em função da concentração de  $\beta$ -CD. Seu diagrama de solubilidade de fase pode ser classificada como tipo A, de acordo com Higuchi e Connors. O aumento na solubilidade observado foi devido à formação de um complexo de inclusão 1:1 (GAWALI et al., 2009).

Houve um aumento linear na solubilidade de CLZ com um aumento na concentração de  $\beta$ -CD, uma força de ligação do complexo foi determinada usando valores constantes de estabilidade ( $K_s$ ) 1:1, com  $892,13 \text{ Mol L}^{-1}$ , maior valor de  $K_s$  indica boa complexação de cilostazol com  $\beta$ -CD. Geralmente, observa-se que drogas pouco solúveis têm tendência não linear no diagrama de solubilidade de fase (DESAI; PRABHAKAR, 2015).

Estudos sugerem que o complexo de inclusão cilostazol@ $\beta$ -CD é 1:3, preparado por método de coprecipitação pode ter maior utilidade nas formas de dosagem oral, melhorando sua biodisponibilidade (PATEL; RAJPUT, 2009).

O uso de CD pode ser uma estratégia eficaz na promoção do aumento da solubilidade aparente do CLZ, melhorando seu perfil de dissolução e, conseqüentemente, a sua ação farmacológica. Além disso, a existência de poucos trabalhos voltados à liberação modificada do CLZ está aliada a vários fatores;

Redução dos efeitos colaterais, principalmente a frequência cardíaca aumentada e as palpitações, visando a uma distribuição mais seletiva e ofertando uma maior segurança na administração;

Aumentar a biodisponibilidade biológica do cilostazol, reduzindo a posologia de duas vezes ao dia para uma vez ao dia, favorecendo a adesão ao tratamento;

Otimizar a atividade antiagregante plaquetária e vasodilatadora do cilostazol.

## 4 CAPÍTULO 1

### Obtenção de compostos de inclusão cilostazol- $\beta$ -ciclodextrina visando à melhoria da solubilidade

Diohãne Vanessa Salvini<sup>1\*</sup>, Elcio José Bunhak<sup>2</sup>, Mauricio Ferreira Rosa<sup>2</sup>

*1 Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Cascavel, Brasil. 2 Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Brasil.*

**Resumo:** As ciclodextrinas são consideradas uma nova classe de excipientes com grande potencial para uso em produtos farmacêuticos. A aplicação farmacêutica mais comum das ciclodextrinas (CDs) consiste no emprego para melhoria da solubilidade aquosa e biodisponibilidade de drogas para administração oral. Há três tipos de CDs:  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD. Dentre elas, a ciclodextrina  $\beta$ -CD recebe destaque por possuir elevado número de grupos hidroxilas que permite uma melhora na solubilidade dos fármacos a ela associados. O cilostazol é uma droga vasorrelaxante que atua como um inibidor de agregação plaquetária com grande aplicação em acidentes vasculares. Porém, apesar da aplicabilidade, esse fármaco exibe baixa solubilidade aquosa e biodisponibilidade variável. Nesse contexto, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos das CDs sobre a solubilidade do Cilostazol devido à complexação formada com  $\beta$ -CD. A razão estequiométrica, determinada por ensaio de saturação de solubilidade, do cilostazol em  $\beta$ -CD, foi 1:1. Foi identificado um tempo mínimo para a formação do complexo, sendo de 48 horas. Complexos de inclusão preparados foram caracterizados por UV-vis, apresentando alterações positivas na solubilidade.

**Palavras-chave:** Cilostazol/Solubilidade.  $\beta$ -CD/Complexos de inclusão. Solução aquosa/Saturação.

**Abstract:** Cyclodextrins are considered a new class of excipients with great potential for use in pharmaceutical products. The most common pharmaceutical application of cyclodextrins (CDs) is the use for improving aqueous solubility and bioavailability of drugs for oral administration. There are three types of CDs:  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD and  $\gamma$ -CD. Among them,  $\beta$ -CD cyclodextrin is highlighted because it has a high number of hydroxyl groups, which allows an improvement in the solubility of the associated drugs. Cilostazol is a vasorelaxant drug that acts as an inhibitor of platelet aggregation with great application in vascular accidents. However, despite its applicability, this drug exhibits low aqueous solubility and variable bioavailability. In this context, the objective of the study was to evaluate the effects of CDs on the solubility of Cilostazol due to the complexation formed with  $\beta$ -CD. The stoichiometric ratio, determined by solubility saturation test, of cilostazol on  $\beta$ -CD was 1: 1. A minimum time for the formation of the complex was identified, being of 48 hours. Inclusion complexes prepared were characterized by UV-vis, exhibiting positive changes in solubility.

**Key words:** Cilostazol/Solubility.  $\beta$ -CD/Inclusion complexes. Aqueous solution/Saturation.

## INTRODUÇÃO

O cilostazol (CLZ) é um derivado quinolinônico classificado como antiagregante plaquetário e antitrombótico com ação vasodilatadora. Seu mecanismo de ação está relacionado com a promoção do aumento dos níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) por produzir inibição potente e seletiva da PDE-3 (fosfodiesterase tipo III), enzima responsável por sua hidrólise (Moreira, 2015). Quimicamente, o cilostazol corresponde ao [6-[4-(1-cicloexil-5-il)-3,4-diidro-2(1H)-quinolinona] (Seo *et al.*, 2015).

O CLZ apresenta ligeira solubilidade em metanol e etanol, porém, é praticamente insolúvel em água, o que dá origem a muitas dificuldades na formulação farmacêutica e pode levar a uma biodisponibilidade muito variável (Jinno *et al.*, 2008). Conforme o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), o CLZ pertence à classe II. Os ativos desta classe possuem baixa solubilidade e alta permeabilidade. A absorção do CLZ no trato gastrointestinal é lenta, variável e incompleta. Isso explica seus efeitos farmacológicos limitados e inconsistentes, prejudicando a concentração ideal da droga na circulação sistêmica, o que requer altas doses para atingir as concentrações plasmáticas após administração (Vimalson *et al.*, 2016).

Esta limitação abre novos caminhos para as formulações farmacêuticas serem superadas. Questões como solubilidade e biovariabilidade com a complexação de inclusão de ciclodextrina podem aumentar a solubilidade, a molhabilidade, a dissolução *in vitro* e a resposta farmacológica necessária do cilostazol (Desai & Prabhakar, 2015).

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos constituídas por um número variável de unidades de glicose obtidas pela ação da enzima ciclodextrina- $\alpha$ -glicosiltransferase (CGTase) sobre o amido (Veiga *et al.*, 2001). Por modificação enzimática, é possível obter a ciclização de seis, sete ou oito unidades de glicose, dando origem à  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD. Estruturalmente as CDs assemelham a um cone truncado (Venturini *et al.*, 2008), o que permite que essas moléculas abriguem, em sua cavidade, outras moléculas, formando complexos de inclusão.

Entre as CDs, a  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) é a estrutura mais amplamente estudada na complexação de ativos. Devido ao elevado número de grupos hidroxila, que possui sete primárias e quatorze secundárias, confere a  $\beta$ -CD um exterior de comportamento hidrofílica ou polar, que torna possível a formação de ligações de

hidrogênio com os solventes polares, em especial a água. O interior da estrutura, por outro lado, por ser um alinhamento dos hidrogênios C(3)-H e C(5)-H e pelo oxigênio da ligação cetálica C(1)-O-C(4) (Saokham *et al.*, 2018), favorece a inclusão de moléculas de baixa polaridade em seu interior.

Na indústria farmacêutica, as CDs são utilizadas para vários fins. A inclusão de um fármaco na CD pode alterar, consideravelmente, suas características, principalmente no campo farmacotécnico, aprimorando a solubilidade e a biodisponibilidade, melhorando a estabilidade das formulações farmacêuticas (Szejtli, 2004).

As CDs formam complexos relativamente não específicos com uma grande variedade de substratos e a principal condição é que o substrato possa se adaptar à cavidade. Quanto à estequiometria do complexo de inclusão, são considerados quatro tipos mais comuns de complexo CD:substrato com 1:1, 1:2, 2:1 e 2:2, dependendo do tamanho e aspecto estrutural do substrato em relação à cavidade da CD (Jinno *et al.*, 2008).

Complexos de inclusão de CDs com os hóspedes hidrofóbicos, como o CLZ, fazem dessas interações baseadas em CD uma das ferramentas mais poderosas para construir melhores resultados farmacológicos (Loftsson, 2017).

A presença de CDs na estrutura de drogas hidrofóbicas tem resultado em propriedades tão atraentes, como a biocompatibilidade, havendo a oportunidade de incluir numerosos fármacos hidrofóbicos em cavidades livres de CD, resultando no melhoramento de seus perfis de solubilidade e biodisponibilidade, absorção no trato gastrointestinal, concentrações ideais da droga na circulação sistêmica, o que requer o uso de baixas doses para atingir as concentrações plasmáticas após administração, sendo mais tolerável aos pacientes (Antoniuk & Amiel, 2016).

O objetivo do presente estudo foi estabelecer as condições para se obter o complexo de inclusão do CLZ com  $\beta$ -CD para ter uma formulação que fornecesse um uso mais adaptável do CLZ, melhorando sua biodisponibilidade e solubilidade em água .

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O cilostazol (CLZ) foi uma doação da Prati-Donaduzzi Medicamentos Genéricos Ltda. A  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) foi adquirida junto a Aldrich. Todos os

reagentes foram de grau analítico. A água destilada foi usada durante todo o estudo para todos os procedimentos experimentais.

### **Solubilidade em função do Tempo**

A influência do tempo de agitação na solubilidade do CLZ na presença e na ausência de  $\beta$ -CD foi investigada para se determinar qual o tempo mínimo necessário para o processo de encapsulamento. Assim, foi preparada uma solução estoque de CLZ solubilizando-se 3,0 g do ativo em 100 mL de clorofórmio ( $[\text{CLZ}] = 8,12 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ). Em seguida, foram transferidas quatro alíquotas de 1 mL desta solução estoque para quatro balões volumétricos de 10 mL. Após a evaporação total do solvente foram adicionados 5 mL da solução estoque de  $\alpha$ -CD em água ( $[\alpha\text{-CD}] = 2,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) em dois balões e o volume completado com água destilada. Nos balões remanescentes foi adicionada apenas água destilada. Os balões foram submetidos ao banho ultrassônico por 10 min (Lavadora Ultrassônica L200 Schuster) e mantidos sob agitação mecânica (Lab Line 3545 Microprocessor Shaker Water Bath), por 24 e 48 h. As amostras foram transferidas diretamente para a cubeta de quartzo por filtração em filtro seringa de PVDF de 13 mm de diâmetro e 22  $\mu\text{m}$  de diâmetro do poro.

Os espectros de absorção foram obtidos em um espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu UV-1800) na faixa de 200 a 500 nm, empregando como brancos uma solução aquosa contendo a mesma concentração de  $\alpha$ -CD em água destilada e outra somente com água destilada.

### **Estudos de Solubilidade por Saturação**

Em 10 balões volumétricos foram adicionados 100 mg de CLZ. Em seguida, foram adicionados, a cada um dos balões de 10mL, volumes crescentes de uma solução estoque de  $\beta$ -CD em água ( $[\beta\text{-CD}] = 1,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) e os volumes finais foram ajustados pela adição de água destilada. Os frascos foram agitados durante 24h em um agitador orbital (Lab Line 3545 Microprocessor Shaker Water Bath) à temperatura ambiente ( $28 \pm 5^\circ\text{C}$ ). Os experimentos foram realizados em triplicata.

De cada um dos balões foi retirada uma alíquota que foi transferida, sob filtração em filtro seringa de PVDF de 13 mm de diâmetro e 22  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro, diretamente para a cubeta. Os espectros de absorção foram obtidos em um espectrofotômetro de UV-vis (Shimadzu UV-1800), na faixa de 200 a 500 nm, empregando-se como brancos diferentes soluções aquosas de  $\beta$ -CD cuja

concentração correspondia à concentração analisada. A análise gráfica foi feita construindo-se um gráfico, em planilha eletrônica, do máximo de absorção em 257 nm ( $\lambda_{\max}$ ) em função da concentração de  $\beta$ -CD.

A constante de estabilidade aparente foi calculada a partir do gráfico da absorbância do cilostazol vs concentração de  $\beta$ -CD, de acordo com a expressão (1).

$$K_c = \frac{\text{coef angular}}{S_0(1-\text{coef angular})} \quad (1)$$

Onde  $S_0$  é a solubilidade intrínseca do cilostazol, ou seja, a solubilidade em água na ausência de bCD.

### Job Plot

O método da variação contínua (Job plot) foi realizado para se determinar a estequiometria do complexo (Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2005). Assim, foram preparadas soluções estoque de CLZ em metanol ( $[\text{CLZ}] = 4,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) e de  $\beta$ -CD em água destilada ( $[\beta\text{-CD}] = 4,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). Estas foram submetidas a banho ultrassônico por 15 min, quantidades variáveis de CLZ e  $\beta$ -CD foram misturadas para balões volumétricos de 10 mL, a soma das concentrações de ambos os componentes foi mantida constante ( $[\text{CLZ}] + [\beta\text{-CD}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) e a fração molar de CLZ ( $r = [\text{CLZ}] / ([\text{CLZ}] + [\beta\text{-CD}])$ ) variou de 0,0 a 1,0 (0; 0,01; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 1,0), submetidos ao ultrassom por 10 min, mantidos sob agitação mecânica por 24h. Em seguida, foram retiradas alíquotas de 5 mL e filtradas em filtro seringa de PVDF 13 mm de diâmetro e 22  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro. As amostras foram analisadas espectrofotometricamente na região do UV-vis (Shimadzu UV-1800) na faixa de 200 a 500 nm contra um branco preparado usando a mesma concentração de  $\beta$ -CD em água destilada. A avaliação do processo de encapsulamento foi realizada construindo-se um gráfico da absorbância no  $\lambda_{\max}$  (257 nm) contra a fração molar de CLZ no meio. Análise em triplicata. Em ordem para calcular a estequiometria, a intensidade de emissão (abs) do CLZ foram plotadas versus a fração molar (F).

### Fotoestabilidade

Para o estudo da fotoestabilidade foi preparada uma solução estoque de CLZ em metanol ( $[\text{CLZ}] = 9,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ). Desta solução foram retiradas duas

alíquotas de 1 mL que foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL. Em um dos balões, o volume foi completado com água e o outro com solução aquosa de  $\beta$ -CD ( $[\beta\text{-CD}] = 2,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ).

As amostras foram transferidas para cubetas de fluorescência com tampa, e estas foram posicionadas no centro geométrico de um fotorreator Rayonet RPR-100 equipado com 8 lâmpadas com máximo de emissão em 254 nm e irradiadas por 3 h. As amostras foram analisadas no espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800) na região do UV-vis varrendo-se a faixa de 200 a 500 nm em intervalos de trinta minutos. O branco foi preparado usando uma solução de  $\beta$ -CD da mesma concentração das amostras. Os experimentos foram realizados em triplicata.

### **Estresse Oxidativo**

Transferiram-se três alíquotas 1 mL da solução estoque de CLZ em metanol ( $[\text{CLZ}] = 9,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) para três balões volumétricos de 10 mL, completando-se o volume com água destilada. Homogeneizou-se um destes balões contendo apenas CLZ retirou-se uma alíquota de 5 mL e completou com a solução estoque de  $\beta$ -CD ( $[\beta\text{-CD}] = 2,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) para balão volumétrico de 10 mL. As amostras foram submetidas ao ultrassom por 15 min. Essas amostras foram analisadas no espectrofotômetro na região do UV-vis, varrendo-se a faixa de 200 a 500 nm. Em seguida, acrescentou-se 1 gota de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30%, nas amostras contendo CLZ-água e CLZ- $\beta$ -CD, mantendo-as sob agitação por 10min, foram analisados espectroscopicamente na região do UV-vis varrendo-se a faixa de 200 a 500 nm por 20 min em intervalos de tempo de 5 min. Como branco foram preparadas as mesmas soluções, porém sem a adição do CLZ.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **Solubilidade em função do tempo de agitação**

O estudo da solubilidade em função do tempo de agitação foi realizado para determinar o tempo mínimo necessário para a formação de complexos de inclusão, e também verificar se o tempo de agitação influenciaria neste processo.

Na Figura 1 observa-se um aumento da absorbância das amostras contendo  $\beta$ -CD frente àquelas que não possuem este excipiente, uma indicação de que houve aumento da concentração de CLZ disperso no meio, o que pode ser explicado pela formação do complexo de inclusão CLZ@  $\beta$ -CD.

Em relação aos diferentes tempos de agitação, observa-se que o aumento do tempo de agitação de 24 para 48 h acarretou o aumento da absorbância da amostra contendo  $\beta$ -CD, porém, este aumento foi somente de 8% em relação à amostra que permaneceu por 24 h. Este aumento foi considerado pouco significativo. Assim, o tempo de agitação para os demais experimentos foi padronizado em 24 h para a formação de complexos de inclusão.

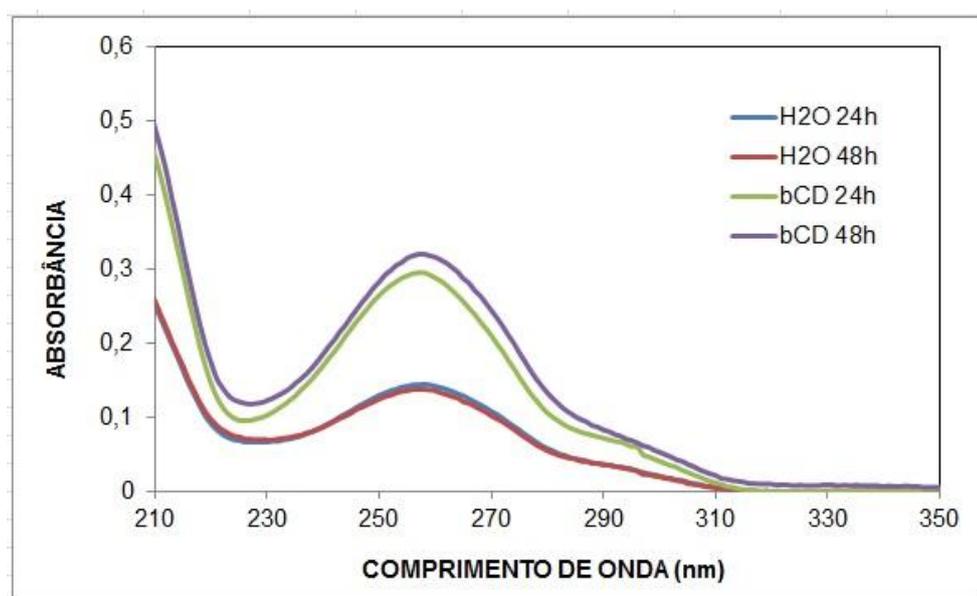


Figura 1 Espectros de absorbância das soluções aquosas contendo CLZ e CLZ com  $\beta$ -CD

A formação de complexos de CD é um processo de equilíbrio em que moléculas livres dos hóspedes estão em equilíbrio com as moléculas de  $\beta$ -CD para a formação do complexo (Loftsson, 2017). O aumento da solubilidade do hóspede pode ocorrer por ionização, formação de sal, formação de complexos metálicos e adição de co-solventes orgânicos aos meios de complexação aquosos. Se as condições são corretas, levam a uma maior eficiência de complexação em CD nas soluções aquosa saturadas com o hóspede (Loftsson & Duchêne, 2007).

### Estudos de Solubilidade por Saturação

Os dados de solubilidade de saturação para fármaco e complexos CLZ@ $\beta$ -CD são apresentados na Figura 2.

O valor calculado de  $K_c$  foi de  $1009,9 \text{ L mol}^{-1}$ , indicando a formação do complexo. É muito interessante ressaltar que não foram encontradas diferenças maiores do que o tempo 0 h, em relação à formação do complexo CLZ@ $\beta$ -CD com o

tempo de 24 h. Este fato pode ser provavelmente atribuído à solubilidade de moléculas lipofílicas de CLZ, na estrutura do complexo devido à formação de ligações de hidrogênio intermoleculares fortes (Gharibzahedi, Razavi & Mousavi, 2014).

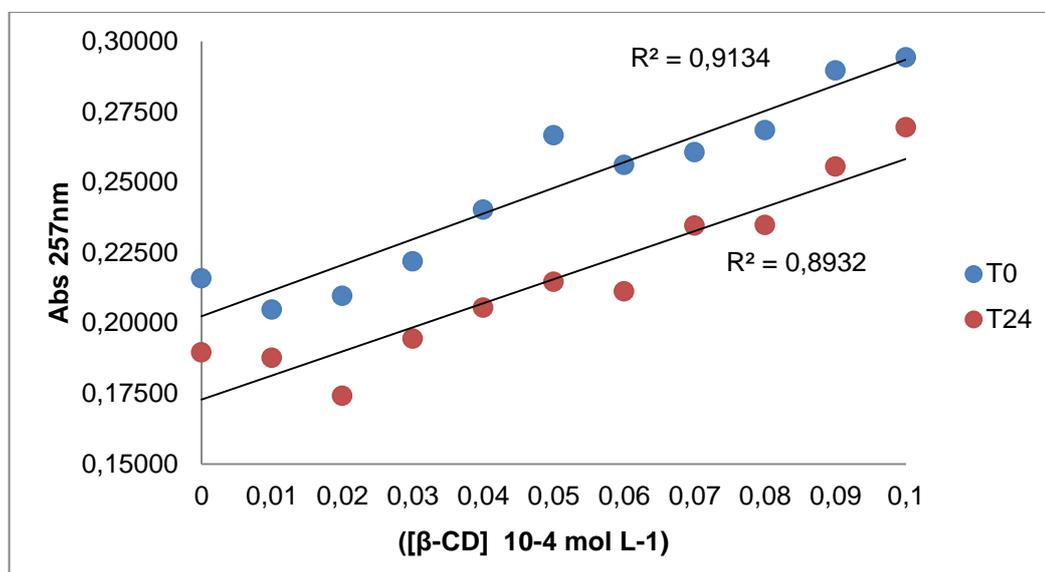


Figura 2 Perfil de solubilidade por saturação de cilostazol em inclusão com  $\beta$ -CD

Em soluções aquosas saturadas hóspedes/ciclodextrina consistem frequentemente de uma mistura de complexos de inclusão e não inclusão, isso poderia explicar por que o valor da constante de equilíbrio para a formação do complexo é, às vezes, dependente da concentração  $\beta$ -CD (Loftsson & Duchêne, 2007).

O diagrama de solubilidade de fases em estudo da cantaxantina natural com  $\beta$ -CD a 25°C mostrou que a solubilidade aquosa de cantaxantina aumentou linearmente como uma função da concentração de  $\beta$ -CD, características de complexos do tipo  $A_L$ , mostrando a formação de um complexo hidrossolúvel, indicativos de estequiometria 1: 1, o valor do coeficiente de correlação ( $r^2$ ) para a curva de solubilidade foi de 0,987 (Gharibzahedi, Razavi & Mousavi, 2013).

A solubilidade aquosa do cilostazol aumentou linearmente com inclinação 0,9269 ( $r^2 = 0,9921$ ), em função da concentração de  $\beta$ -CD. Seu diagrama de solubilidade de fase pode ser classificada como tipo A de acordo com Higuchi e Connors. O aumento na solubilidade observado foi devido à formação de um complexo de inclusão 1:1 (Gawali *et al.*, 2009).

Houve um aumento linear na solubilidade de CLZ com um aumento na concentração de  $\beta$ -CD, uma força de ligação do complexo foi determinada usando valores constantes de estabilidade 1:1, o  $K_s$  foi encontrado  $892,13 \text{ M}^{-1}$ , maior valor de  $K_s$  indica boa complexação de cilostazol com  $\beta$ -CD. Geralmente, observa-se que drogas pouco solúveis têm tendência não linear no diagrama de solubilidade de fase (Desai & Prablakar, 2015).

Em estudo realizado por Gawali *et al.* (2009) relatou que o complexo preparado como 1:1, por meio do método de liofilização, mostrou uma melhora no comportamento da dissolução do complexo cilostazol e  $\beta$ -CD, indicando uma solubilidade melhorada e confirmando a estabilidade do fármaco. Sendo que a solubilidade mostrou um aumento acentuado de  $10,2 \text{ mg mL}^{-1}$  para  $21,88 \text{ mg mL}^{-1}$ .

Em complexo de nifedipino na presença de  $\beta$ -CD, observou-se um aumento linear da solubilidade do nifedipino com um aumento na concentração de  $\beta$ -CD na água. O diagrama da solubilidade de fase obtido com  $\beta$ -CD pode ser definido como tipo  $A_L$  o que indica a formação do complexo inclusão em 1:1 de fármaco: $\beta$ -CD formado em solução (Jagdale *et al.*, 2012).

### **Job Plot**

A estequiometria para a complexação da CLZ em  $\beta$ -CD foi obtida a partir do método de variação contínua, onde se mediu a variação da intensidade máxima de absorvância do fármaco em solução em presença e ausência de CD.

Na Figura 3 observa-se que o máximo encontrado foi na fração molar (F) CLZ igual a 0,8, o que indica que a complexação entre a molécula de CLZ e  $\beta$ -CD possui estequiometria de 2:1, ou seja, duas moléculas de  $\beta$ -CD para cada molécula de CLZ.

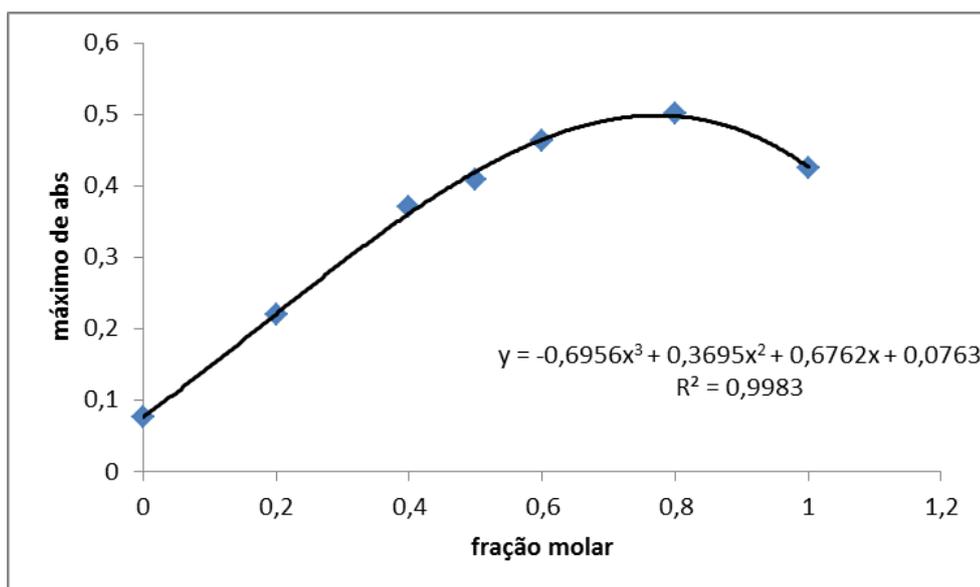


Figura 3 Método de variação contínua (Job Plot) para o complexo CLZ:β-CD obtido por espectrofotometria

Job plot é preferido ao longo de estudos da solubilidade para determinação da estequiometria de droga:complexos de ciclodextrina. De acordo com a variação contínua do método de Job, a mudança na absorvância é diretamente relacionada à concentração do complexo, e pode ser medida para um conjunto de amostras com variação contínua à fração molar dos componentes. A absorvância máxima em estudos com CLZ@β-CD foi observado para  $F = 0,7$  o que indica que houve a formação do complexo para inclusão 2:1 (Desai & Prabhakar, 2015).

Resultado obtido pelo método de variação contínua (Job plot) para ropivacaína@β-CD, a posição de máximo no “Job plot” é a de 0,66 para a ropivacaína@β-CD, o que indica que a complexação possui estequiometria de 2:1, ou seja, 2 moléculas de β-CD para cada molécula de ropivacaína (Fraceto *et al.*, 2007).

A máxima absorvância de trazodona-β-CD foi observada para  $F = 0,5$ , o que indica que a estequiometria principal é de 1: 1 (Misiuk & Zalewska, 2009).

### Fotoestabilidade

A fotoestabilidade do CLZ é ilustrada na Figura 4. O ativo demonstrou ser estável mesmo com a presença de β-CD. A presença de β-CD no meio não causou uma proteção significativa na fotodecomposição do fármaco. Isto ocorre, pois existe um equilíbrio entre moléculas livres e inseridas na cavidade da ciclodextrina, o que faz com que um menor número de moléculas estejam livres para serem fotodecompostas, podendo, assim, alterar a cinética de decomposição do CLZ. O

efeito mais comum da fotodegradação em um medicamento resulta na perda ou redução de atividade farmacológica, em alguns casos acompanhada de formação de subprodutos tóxicos (Popielec & Loftsson, 2017).

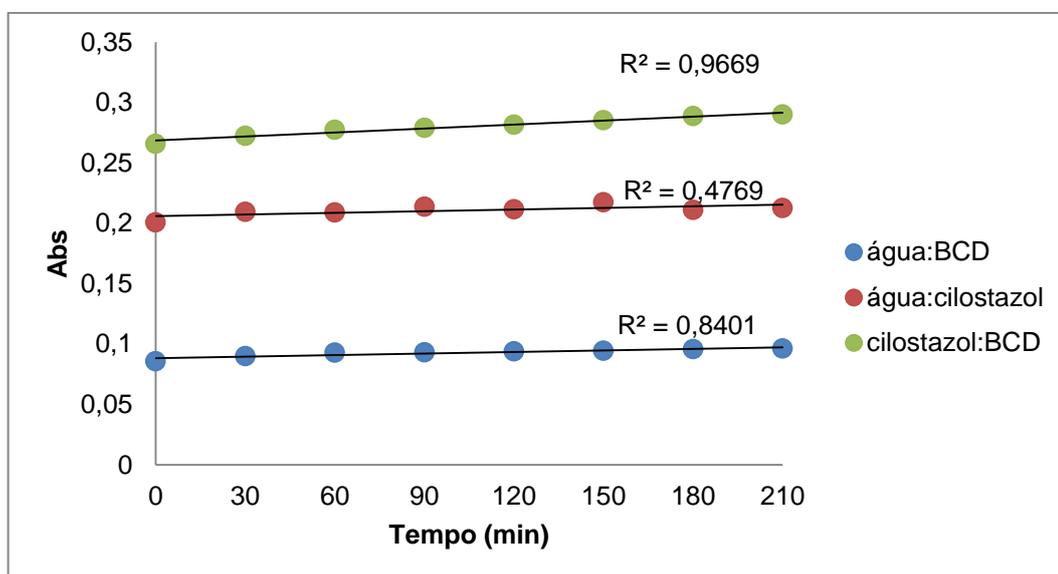


Figura 4 Degradação do cilostazol a exposição à luz, na ausência e presença  $\beta$ -CD

Amostras de nifedipino foram expostas à radiação UV por uma lâmpada Fluotest, modelo NN 15/30, 254nm de uma distância de 30 cm, a taxa de degradação no complexo nifedipino@ $\beta$ -CD foi 200 vezes mais lento do que para o fármaco sozinho (Ioele *et al.*, 2017).

O fármaco que se encontra livre da cavidade da CD apresenta uma liberação rápida enquanto que aquele que está associado à cavidade da CD apresenta uma liberação mais lenta. Resultados semelhantes foram descritos em estudos com nitrofurazona, em que se observou que a concentração de nitrofurazona permaneceu constante em uma taxa de decomposição para o fármaco em ausência de  $\beta$ -CD (Melo *et al.*, 2007).

Porém, com a liberação da molécula do fármaco em função do tempo por meio da membrana, a proporção de CD:fármaco no compartimento doador vai aumentando. Este aumento na proporção CD:fármaco causa um deslocamento no equilíbrio em função da formação de complexo, o que faz com que a liberação do cilostazol seja mais lenta em função do tempo, ou seja, modificada devido à complexação. Este mesmo comportamento foi descrito na literatura para complexos entre nitrofurazona e ciclodextrinas (Melo *et al.*, 2007).

A fotoestabilidade das drogas tornou-se um tópico muito importante no campo da pesquisa farmacêutica nas últimas décadas. Um número muito limitado de artigos sobre este argumento tem sido publicado antes dos anos 70. Alguns anos depois, foram introduzidas recomendações antecipadas em direção à proteção contra luz nas drogas, sugerindo o uso de recipientes de blindagem de luz como um expediente preventivo (Loele *et al.*, 2017).

A complexação de  $\beta$ -CD com tretinoína diminui a sua fotodegradação após a exposição à luz UV. Quando exposto à luz, após aplicação tópica, cerca de 20% da tretinoína degradou após duas horas e cerca de 40% depois de quatro horas, a complexação  $\beta$ -CD@tretinoína protegeu a droga contra UV e luz fluorescente. Ácido oxolínico, um agente antibacteriano, é suscetível à fotodegradação. Complexação de  $\beta$ -CD@ácido oxolínico retarda sua fotodegradação. Taxa de degradação da droga foi de 16,8 vezes mais lento na presença de  $\beta$ -CD do que nas mesmas condições quando  $\beta$ -CD não estava presente (Popielec & Loftsson, 2017).

A fim de se obter maiores informações sobre a inserção e o comportamento do CLZ na cavidade da  $\beta$ -CD, foi determinada a estequiometria de complexação e estudos com estresse oxidativo. A complexação com a cavidade das ciclodextrinas depende principalmente da polaridade e do tamanho da molécula que se tem interesse em formar complexo de inclusão. Dessa forma, quando da inserção da molécula, modificações nas propriedades desta são observadas, como exemplo variações na intensidade máxima de absorbância.

### **Estresse Oxidativo**

A Figura 8 apresenta os resultados obtidos na análise das amostras submetidas ao estresse oxidativo pela adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30%. Os espectros foram obtidos em intervalos regulares de tempo (5 min), de forma a se comparar a cinética de decaimento da absorbância do CLZ.

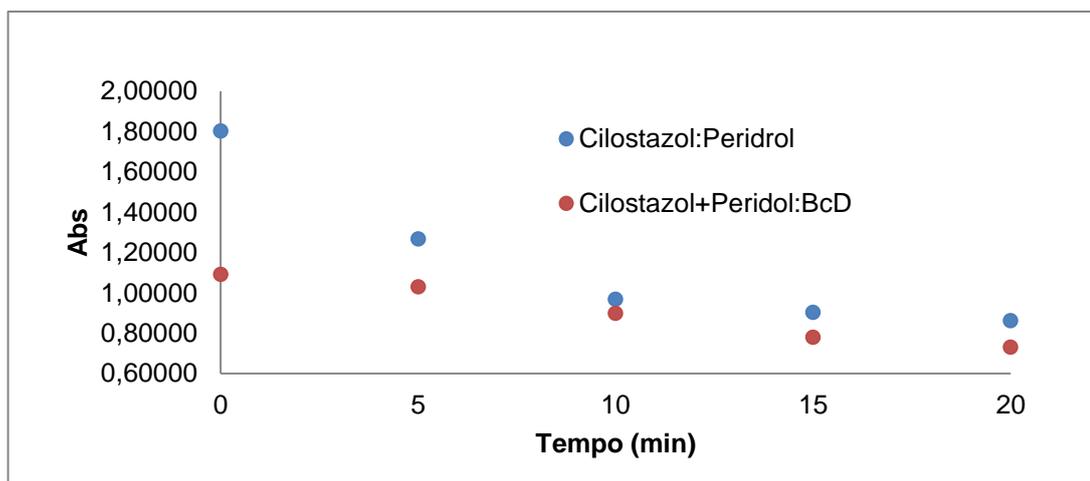


Figura 5 Perfil oxidativo do CLZ em solução aquosa na presença e ausência de  $\beta$ -CD após a adição de peróxido de hidrogênio 30% (Peridrol)

Observa-se experimentalmente que ambas as amostras, CLZ e CLZ@ $\beta$ -CD sofrem degradação oxidativa ao longo do tempo, porém, a principal diferença entre ambos os processos é como ocorre esse decaimento. Na amostra com a presença de  $\beta$ -CD este decaimento ocorre de forma linear com ajuste igual a  $y = -0,0194x + 1,1003$  e  $R^2 = 0,9789$ . Para a amostra sem a presença de  $\beta$ -CD, este processo ocorre de forma não linear e a diminuição da absorvância se dá de forma muito mais rápida, especialmente nos primeiros 10 min.

A complexação de ciclodextrina pode retardar e, às vezes, acelerar a decomposição de drogas. Devido à cinética de saturação foi observada constante de taxa de primeira ordem para uma reação assintoticamente se aproxima de um valor mínimo para efeito estabilizador (inibição) ou um valor máximo para efeito desestabilizador (catálise) com aumento da concentração de  $\beta$ -CD, a diferença na complexação pode ser devido ao ajuste e posição da molécula de cilostazol dentro da cavidade  $\beta$ -CD (Loftsson & Brewster, 2010).

O estudo da degradação do fármaco comprovou que, em condição drástica de indução oxidativa ( $H_2O_2$  30%), a degradação é dependente da formação de complexo de inclusão.

As CDs também são conhecidas por estabilizar drogas que sofrem degradação. Uma mistura de trimetoprim e sulfametoxazol são suscetíveis à degradação oxidativa. Sob estresse oxidativo com peróxido de hidrogênio, a formação de complexos droga@  $\beta$ -CD aumentou a meia-vida do sulfametoxazol e trimetoprim, devido à formação do complexo (Popielec & Loftsson, 2017).

## **CONCLUSÃO**

Os experimentos realizados demonstraram que houve a inclusão da molécula de cilostazol na cavidade interna de  $\beta$ -CD fazendo com que sejam observadas alterações na solubilidade. Estas modificações são importantes do ponto de vista farmacológico, uma vez que potencializam a utilização deste fármaco na forma de complexo de inclusão com ciclodextrina, abrindo perspectivas para a avaliação da atividade biológica do complexo em comparação ao fármaco livre, portanto, uma possível nova alternativa para a utilização do cilostazol no tratamento de doenças.

A ciclodextrina é uma ferramenta importante na formulação farmacêutica para melhorar a solubilidade aparente, estabilidade de fármacos pouco solúveis em água, biodisponibilidade e, conseqüentemente, tornando o fármaco com melhor custo economicamente.

## **AGRADECIMENTOS**

Somos gratos à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, aos laboratórios da GIPeFEA ao espaço cedido, à Prati-Donaduzzi Medicamentos Genéricos Ltda pela doação do fármaco, e a todos os envolvidos que participaram da realização desse projeto.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo evidencia a formação do complexo de inclusão do cilostazol com  $\beta$ -CD, apresentando uma fração molar de solubilidade do cilostazol de 0,8 com estequiometria de 2:1. Sendo visto como uma excelente alternativa para a melhoria da formulação do fármaco cilostazol, em que ele é extremamente insolúvel em água, o que desfavorece sua disponibilidade. Contudo, a sua inclusão com  $\beta$ -CD proporciona uma melhoria em sua disponibilidade, no desenvolvimento de novas formulações, tornando o mais acessível economicamente.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### 6.1 REVISÃO DE LITERATURA

ADEOYE, O.; MARQUES, H. C. Cyclodextrin nanosystems in oral drug delivery: A mini review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 4, p. 10-11, 2017.

AMIDON, G. L. et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ANSOLIN, T. L. et al. The effect of  $\beta$ -cyclodextrin in the photochemical stability of propranolol hydrochloride in aqueous solution. **Acta Scientiarum Technology**, v. 36, n. 2, p. 337-340, 2014.

ANTONIUK, A.; AMIEL, C. Cyclodextrin-Mediated Hierarchical Self-Assembly and Its Potential in Drug Delivery Applications. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, p. 2570-258, 2016.

ATAHK, K. N. G. et al. Cilostazol enhances atorvastatin-induced vasodilation of female rat aorta during aging. **Physiology International**, v.104, n. 3, p. 226-234, 2017.

CAMPOS, T. A. **Complexos de inclusão ácido fumarprotocetrárico: 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina: preparação, caracterização e encapsulamento em lipossomas**. 2012. 90 f. (Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

CUNHA-FILHO, M.S.S.; SÁ-BARRETO, L.C.L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 28, p. 1-9, 2007.

DESAI, C.; PRABHAKAR, B.; Nano-amorphous composites of cilostazol–HP- $\beta$ -CD inclusion complexes: physicochemical characterization, structure elucidation, thermodynamic studies and in vitro evaluation. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 81, p. 175-191, 2015.

FIGUEIREDO, J. et al. Interação da Ciclodextrina com ácido acetilsalicílico: um estudo de primeiros princípios. **Ciências Naturais e Tecnológicas**, v. 14, n. 1, p. 139-147, 2013.

GALYFOS, G.; SIANOU, A. Cilostazol for Secondary Prevention of Stroke: Should the Guidelines Perhaps Be Extended?. **Vascular Specialist International**, v. 33, n. 3, 2017.

GAWALI V.U. et al. Studiess on Cilostazol and  $\beta$ -cyclodextrin Inclusion Complexes. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, n. 4, p. 1073-1078, 2009.

GUEDES, F. L. et al. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 3, p. 220-225, 2008.

HYWEL, D. et al. Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, p. 315-499, 2013.

JANSOOK, P.; OGAWA, N.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical Applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 535, p. 272-284, 2018.

KWON, S. U. et al. Cilostazol Prevents the Progression of the Symptomatic Intracranial Arterial Stenosis. **Journal of the American Heart Association**, v. 36, p. 782-786, 2005.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrins as Functional Excipients: Methods to Enhance Complexation Efficiency. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 9, 2012.

LOFTSSON, T. Drug solubilization by complexation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, p. 276-280, 2017.

MELO, N. F. S. et al. Preparação e caracterização inicial de complexo de inclusão entre nitrofurazona e 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.1, p.35-44, 2007.

MONEY, S. et al. Effect of cilostazol on walking distances in patients with intermittent claudication caused by peripheral vascular disease. **Journal of Vascular Surgery**, v. 27, p. 67-75, 1998.

MUANKAEW, C.; LOFTSSON, T. Cyclodextrin-Based Formulations: A Non-Invasive Platform for Targeted Drug Delivery. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 122, p. 46-55, 2018.

OLIVEIRA, H. F. D. **Nanoagregados baseados em Ciclodextrinas em associação com a Tetraciclina**: caracterização físico-química e avaliação antimicrobiana. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; COELHO, P. Ciclodextrinas: Formação de complexos e sua aplicação farmacêutica. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, v. 6, p. 70-83, 2009.

PAMUDJI, J. S.; MAULUDIN, R.; NURHABABAH, M. Influence of  $\beta$ -Cyclodextrin on Cefixime Stability in Liquid Suspension Dosage Form. **Procedia Chemistry**, v. 13, p. 119-127, 2014.

PATEL, S. G.; RAJPUT, S. J. Enhancement of Oral Bioavailability of Cilostazol by Forming its Inclusion Complexes. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 10, n. 2, p. 660-669, 2009.

PRADO, C. D. et al. Influência do pH na produção de ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) por *Paenibacillus sp.* XX Congresso de Engenharia Química Florianópolis, 20., Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: UFSC, 2014, p. 1-20.

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

ROSA, M. P. S.; BARONI, G. V.; PORTAL, V. L. Effects of cilostazol, a phosphodiesterase type III inhibitor, on postprandial lipemia, inflammatory biomarkers and nitric oxide synthase production metabolismo. **Revista da Associação médica do Rio Grande do Sul**, v. 53, n. 4, p. 427-431, 2009.

SÁ-BARRETO, L.C.L.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 629-36, 2008.

SÁ COUTO, A.; RYZHAKOV, A.; LOFTSSON, T. Self-assemble of  $\alpha$ -cyclodextrin and  $\beta$ -cyclodextrin: Identification and development of analytical techniques. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 8, p. 2208-2215, 2018.

SAOKHAM, P. et al. Solubility of Cyclodextrins and Drug/Cyclodextrin Complexes. **Molecules**, v. 23, p. 1161, 2018.

SEO, J. H. et al. Improved oral absorption of cilostazol via sulfonate salt formation with mesylate and besylate. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 9, p. 3961-3968, 2015.

SZEJTLI, J. Past, present, and future of cyclodextrin Research. **Pure and Applied Chemistry**, v. 76, n. 10, p. 1825-1845, 2004.

TABAGI, T.; HARA H. Protective effects of cilostazol against hemorrhagic stroke: Current and future perspectives. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 131, p. 155-161, 2016.

TEIXEIRA, K. I. R. **Estudo das alterações da membrana celular de microrganismos por compostos de inclusão de Clorexidina: beta-ciclodextrina em diferentes proporções molares usando Microscopia de Força Atômica e Microscopia Eletrônica de Varredura**. 2008, 122 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

TORRES, L. H. **Caracterização físico-químico e testes in vitro do antimalárico primaquina em ciclodextrina**. 2014. 103 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

VEIGA, F.; SALTÃO, R. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, p. 1-17, 2001.

VEIGA, F.; MARTINS, M. R. F. M. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n.1, p. 33-54, 2002.

VENTURINI, C. G. et al. Propriedades e Aplicações Recentes das Ciclodextrinas.

**Quimica Nova**, v. 31, n. 2, p. 360-368, 2008.

VIMALSON, D. C. et al. Techniques to Enhance Solubility of Hydrophobic Drugs. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 67, 2016.

ZANETTI, F.L.P.; TOMÉ, F. M. Estudo teórico da eficiência e vantagens da encapsulação de fármacos em ciclodextrinas. V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, 5., São José dos Campos. **Anais...** São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2005, p. 1-15.

ZHAO, H. et al. Differential effects of phosphodiesterase PDE-3/PDE-4-specific inhibitors on vasoconstriction and cAMP-dependent vasorelaxation following balloon angioplasty. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 292, p. 2973-2981, 2007.

## 6.2 ARTIGO CIENTÍFICO

Antoniuk A, Amiel C. Cyclodextrin-Mediated Hierarchical Self-Assembly and Its Potential in Drug Delivery Applications. *J. Pharm. Sci.* 2016; 105: 2570-258.

Desai C, Prabhakar B. Nano-amorphous composites of cilostazol-HP- $\beta$ -CD inclusion complexes: physicochemical characterization, structure elucidation, thermodynamic studies and in vitro evaluation. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2015; 81: 175-191.

Fraceto LF, Gonçalves MM, Moraes CM, Araújo DR, Zanella L, Paula E, Pertinhez TA. Caracterização do Complexo de Inclusão Ropivacaína: $\beta$ -ciclodextrina. *Quím. Nova*. 2007; 30(5): 1203-1207.

Gawali VU, Patil B, Chede SM, Jagdale SC, Kuchekar BS, Chabukswar AR. Studiess on Cilostazol and  $\beta$ -cyclodextrin Inclusion Complexes. *Int. J. PharmTech Res.* 2009; 1(4): 1073-1078.

Gharibzahedi SMT, Razavi SH, Mousavi M. Characterizing the natural canthaxanthin/2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. *Carbohydr. Polymers*. 2014; 101: 1147-1153.

loele G, Luca M, Garofalo A, Ragno G. Photosensitive drugs: a review on their photoprotection by liposomes and cyclodextrins. *Drug Deliv.* 2017; 24(1): 33-44.

Harris DC. Análise Química Quantitativa. Rio de Janeiro: LTC; 2001.

Jagdale SC, Jadhav VN, Chabukswar AR, Kuchekar K. Solubility enhancement, physicochemical characterization and formulation of fast-dissolving tablet of nifedipine-betacyclodextrin complexes. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2012; 48(1): 131-145.

Jinno JI, Kamada N, Miyake M, Yamada K, Mukai T Odomi M, Toguchi H, Liversidge GG, Higaki K, Kimura T. In vitro-in vivo correlation for wet-milled tablet of poorly water-soluble cilostazol. *J. Control. Release*. 2008; 30: 29-37.

- Loftsson T, Duchêne D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* 2007; 329: 1-11.
- Loftsson T, Brewster ME. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. *J. Pharm. Pharmacol.* 2010; 62: 1607-1621.
- Loftsson T. Drug solubilization by complexation. *Int. J. Pharm.* 2017; 531: 276-280.
- Melo NFS, Grillo R, Moraes CM, Brito CL, Trossini GHG, Menezes CMS, Ferreira EI, Rosa AH, Fraceto LF. Preparação e caracterização inicial de complexo de inclusão entre nitrofurazona e 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 2007; 28(1): 35-44.
- Misiuk M, Zalewska M. Investigation of inclusion complex of trazodone hydrochloride with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Carbohydr. Polymers.* 2009; 77: 482-488.
- Popielec A, Loftsson T. Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. *Int. J. Pharm.* 2017; 531: 532-542.
- Saokham P, Muankaew C, Jansook P, Loftsson T. Solubility of Cyclodextrins and Drug/Cyclodextrin Complexes. *Molecules.* 2018; 23: 1161.
- Seo JH, Park JB, Choi WK, Park S, Sung YJ, Oh E, Bae SK. Improved oral absorption of cilostazol via sulfonate salt formation with mesylate and besylate. *Drug Des. Devel. Ther.* 2015; 9: 3961-3968.
- Skoog TF, West D, Holler FJ, Crouch SR. Fundamentos de Química Analítica. Curitiba: Thomson; 2005.
- Szejtli J. Past, present, and future of cyclodextrin Research. *Pure Appl. Chem.* 2004; 76(10): 1825-1845.
- Venturini CG, Nicoli J, Machado C, Machado VG. Propriedades e Aplicações Recentes das Ciclodextrinas. *Quím. Nova.* 2008; 31(2): 360-368.
- Vimalson DC, Parimalakrishnan S, Jeganathan S, Anbazhagan S. Techniques to Enhance Solubility of Hydrophobic Drugs. *Asian J. Pharm.* 2016; 10(2): 67.