

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE
INCLUSÃO DE 2-HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA CONTENDO
6CN10**

GIOVANNA RODRIGUES DE ARAÚJO ELEAMEN

João Pessoa
2013

GIOVANNA RODRIGUES DE ARAÚJO ELEAMEN

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE
INCLUSÃO DE 2-HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA CONTENDO
6CN10**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

CO-ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Elisângela Afonso de Moura Mendonça

João Pessoa
2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

E38p Eleamen, Giovanna Rodrigues de Araújo.

Preparação e caracterização de complexo de inclusão de 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina contendo 6cn10. [manuscrito] / Giovanna Rodrigues de Araújo Eleamen. – 2013.

78 f.

Digitado

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, 2013.

“Orientação: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira, Departamento de Matemática.”

1. Atividade antifúngica. 2. Ciclodextrina. 3. Liofilização. 4. 6CN10.
I. Título.

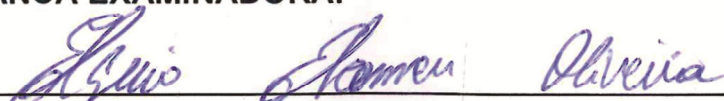
21. ed. CDD 615.1

GIOVANNA RODRIGUES DE ARAÚJO ELEAMEN


**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE
INCLUSÃO DE 2-HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA CONTENDO
6CN10**

Aprovada em 22/04/2013

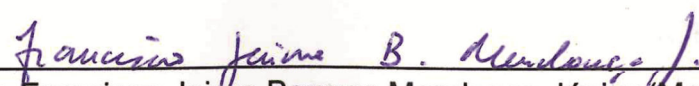
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira (Presidente)



Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares (Membro Externo)



Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior (Membro Interno)

Dedico este trabalho ao meu amado
filho NICOLAS ARAÚJO ELEAMEN

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus

Agradeço a minha família, meus pais e irmãos pelo apoio e incentivo.

Em especial a minha mãe por seu amor incondicional.

Ao meu esposo e orientador pelo amor, a dedicação, paciência, ensinamentos e sobretudo o companheirismo.

À Prof^a. Dr^a. Elisangela Afonso de Moura Mendonça pela disponibilidade conhecimento e atenção.

Ao Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior por ter cedido a molécula objeto desse estudo e auxiliar na caracterização dos sistemas.

Ao Prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura e todos os meus colegas de laboratório do LSVM pelo companheirismo e ajuda nas horas necessárias.

A todos que compõem o Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste-CETENE, em especial ao Gian Carlos por estar sempre disponível para me auxiliar nas análises.

A FACEPE/INCT pela bolsa concedida.

A todos os professores e alunos do PPGCF pelo apoio e dedicação ao longo destes dois anos, em especial aos coordenadores, Prof. Dr. José Alexsandro e Prof. Dr. Bolívar Damasceno.

A Prof^a. Dr^a. Nereide Magalhães e todos que compõem seu laboratório por ter aberto as portas para mim.

Ao doutorando Henrique Marcelino e Prof. Dr. Eryvaldo Egito por ter permitido utilizar sua infraestrutura.

A todos que compõem o Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Emergência e Trauma Senador Humberto Lucena, em especial a Coordenadora, Dra Francisca Moreira Estrela, pelo apoio, pela amizade, por sua compreensão, que foi de suma importância para realização deste trabalho.

RESUMO

O 6CN10 é um novo derivado 2-amino-tiofeno obtido a partir do 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-4*H*-benzo[*b*]tiofeno-3-carbonitrila condensado com 4-nitrobenzaldeído. Este fármaco apresentou boa atividade antifúngica em testes *in vitro*, especialmente contra *Criptococcus sp.* e pode ser considerado como uma molécula promissora para o desenvolvimento de um novo medicamento antifúngico. No entanto, o potencial terapêutico do 6CN10 é limitado por sua baixa solubilidade em água. A formação de complexos de inclusão entre fármacos pouco solúveis em meio aquoso e ciclodextrina tem sido uma das técnicas mais utilizadas para melhorar o perfil de solubilidade de fármacos com baixa solubilidade em meio aquoso. O presente trabalho visou à obtenção de complexos de inclusão entre 6CN10 e 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina e a caracterização desse sistema. O complexo de inclusão de 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) e 6CN10 foi preparado utilizando a técnica de liofilização e caracterizado utilizando o diagrama de solubilidade de fase, análise térmica, espectroscopia de infravermelho e Raman, difratometria de raios-X e microscopia eletrônica de varredura. Os estudos de solubilidade de fases revelaram uma curva do tipo A_L , sugerindo a formação de complexos de inclusão com estequiometria 1:1 com uma constante de estabilidade de $96M^{-1}$. Na presença de 0,36M de HP- β -CD a solubilidade do 6CN10 (2,4 μ g/mL) aumentou mais de 29 vezes. Análise termogravimétrica mostrou que a estabilidade térmica do 6CN10 no complexo de inclusão foi melhorada devido a interação adicional entre o hospedeiro e a molécula hóspede. A redução da intensidade e posição dos picos nos espectros de FT-IR e Raman e a mudança na cristalinidade no difratograma do complexo 6CN10:HP- β -CD em conjunto com a observação de um produto com características amorfas e de fase única por microscopia eletrônica de varredura confirmaram a formação do complexo de inclusão.

PALAVRAS CHAVE: ciclodextrina, derivados 2-aminotiofeno, complexo de inclusão, solubilidade.

ABSTRACT

The 6CN10 is a 2-amino-thiophene derivative obtained from 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-4*H*-benzo[*b*]thiophene-3-carbonitrile obtained through the reaction of Gewald, followed by condensation with 4-nitrobenzaldehyde. This drug showed good antifungal activity in *in vitro* tests, especially against *Cryptococcus sp.* and can be considered as a promising molecule for the development of a new antifungal drug. However, the therapeutic potential of 6CN10 is limited by its low water solubility. The formation of inclusion complexes between drugs poorly soluble in aqueous media and cyclodextrin has been one of the most used techniques to improve the solubility profile of drugs with low solubility in water. The present work aimed at obtaining inclusion complexes between 6CN10 and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and the characterization of this system. The inclusion complex of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) and 6CN10 was prepared using the technique of lyophilization and characterized using the phase-solubility diagram, thermal analysis, FT-IR and Raman spectroscopy, X-ray diffraction and scanning electron microscopy. The phase solubility studies revealed a curve-type AL, suggesting the formation of inclusion complexes with 1:1 stoichiometry with a constant of stability of 96M^{-1} . The water solubility of 6CN10 ($2.4\mu\text{g/mL}$) increased more than 29 times in the presence of 0.36M of HP- β -CD. Thermogravimetric analysis showed that the thermal stability of 6CN10 in the inclusion complex was improved due to additional interactions between the host and guest molecule. The reduction in the intensity and position of peaks in the spectra of FT-IR and Raman and the change in the crystallinity pattern of the complex 6CN10:HP- β -CD together with the observation of a product with features of a new amorphous single phase by scanning electron microscopy confirmed the formation of the inclusion complex.

KEY-WORDS: cyclodextrin, 2-aminothiophene derivative, inclusion complex, solubility

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1: Estrutura química do 6CN10	22
Figura 2: Estrutura das ciclodextrinas	24
Figura 3: Representação esquemática da estrutura funcional das ciclodextrinas ...	26
Figura 4: Perfis de solubilidade segundo a teoria de Higushi e Connors	32

CAPÍTULO II

Fig 1 Chemical structure of 6CN10 ($M_w = 311$)	44
Fig 2 Phase solubility diagram of 6CN10 as a function of HP- β -CD concentrations in water at 25°C (n=3)	48
Fig 3 XRD spectra of a) 6CN10, b) HP- β -CD, c) physical mixture and d)6CN10:HP- β -CD inclusion complex	50
Fig 4 FT-IR spectra of a) 6CN10, b) HP- β -CD, c) physical mixture and d)6CN10/ HP- β -CD inclusion complex	51
Fig 5 Raman spectra of a) 6CN10, b) HP- β -CD, c) physical mixture and d)6CN10: HP- β -CD inclusion complex	52
Fig 6 Scanning electron microscopy of 6CN10, b) HP- β -CD, c) physical mixture and d) 6CN10:HP- β -CD inclusion complex	53

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Table 1 Solubility data of the 6CN10 free and complexed47

Table 2 Initial temperatures of melting and degradation of 6CN10, physical mixture and inclusion complex49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CADD	Computer-aided drug design
CD	Ciclodextrina
CE	Eficiência de complexação
CGTase	Ciclodextrina- α -glicosiltransferase
DRX	Difratometria de raios-X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise térmica diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
FDA	Food and Drug Administration
FT-IR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
HP- β -CD	2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina
$K_{1:1}$	Constante de estabilidade aparente
LSVM	Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas
SEM	Microscopia eletrônica de varredura
S_{INT}	Solubilidade intrínseca
S_0	Solubilidade aparente
TG	Análise termogravimétrica
UV-Vis	Ultravioleta-visível
UTI	Unidade de terapia intensiva

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1.OBJETIVOS	16
1.1 OBJETIVO GERAL	17
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
CAPÍTULO I	18
2. REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1. Derivados 2-amino tiofenos.....	19
2.2. CICLODEXTRINAS	21
2.2.1. Histórico	22
2.2.2. Estrutura química e modificações das ciclodextrinas	23
2.2.3. Complexo de inclusão	25
2.2.4. Técnicas de caracterização de complexos de inclusão	27
CAPÍTULO II	38
ARTIGO 1	39
CONCLUSÃO	55
PERSPECTIVAS	57
ANEXOS	59
ANEXO A - Normas para submissão de manuscrito à Revista: Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry	60
ANEXO B - Artigo publicado na revista BIOFAR v. 9, n.1, p.1-6, ano 2013	70

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A incidência de infecções fúngicas invasivas causadas por agentes patógenos oportunistas, muitas vezes caracterizada pelas altas taxas de morbidade e mortalidade, vem aumentando nos últimos 20 anos (GU *et al.*, 2004, SORTINO *et al.*, 2007, SORTINO *et al.*, 2008). Doentes imunodeprimidos devido a doenças subjacentes, como a tuberculose, leucemia ou a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), doentes submetidos à quimioterapia ou transplante de órgãos, e pacientes em unidades de terapia intensiva (UTI) são particularmente susceptíveis às infecções fúngicas oportunistas, que muitas vezes se apresentam de maneira fatal (PINTO *et al.*, 2008). Mais de 90% dos pacientes diagnosticados como HIV-positivo contraem infecções fúngicas oportunistas. O aumento da incidência de infecções fúngicas também é observado em pacientes que fazem o uso freqüente de drogas citotóxicas e antibacterianas.

Um motivo de preocupação no tratamento de infecções fúngicas é o número limitado de antifúngicos eficazes. Embora medicamentos como: a anfotericina B, a fluocitosina e os azóis tais como cetoconazol, itraconazol ou fluconazol, tenham sido considerados eficazes para o tratamento de candidíase e outras micoses, a maioria desses medicamentos apresenta grandes inconvenientes devido à elevada toxicidade, produzir reincidências devido ao fato de serem fungistáticos e não fungicida, ou levar ao desenvolvimento de resistências devido em parte ao uso profilático intensivo ou aos longos períodos de administração desses medicamentos (GU *et al.*, 2004, SORTINO *et al.*, 2007, SORTINO *et al.*, 2008, ZAMPIERI *et al.*, 2008), além de apresentarem um limitado espectro de atividade, baixa distribuição tecidual, fraca penetração no sistema nervoso central (SNC), ou custo elevado (NETO *et al.*, 1997, KATRITZKY *et al.*, 2008).

Compostos heterocíclicos constituem a estrutura base da maioria dos fármacos atualmente disponíveis na terapêutica médica. Dentre esses compostos uma classe que tem despertado o interesse de diversos grupos de pesquisa devido ao grande potencial farmacêutico e agroquímico associado, é a dos derivados 2-amino-tiofenos.

O 6CN10 é um derivado 2-amino-tiofeno obtido a partir do 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-4*H*-benzo[*b*]tiofeno-3-carbonitrila, aducto de Gewald, seguida pela condensação com 4-nitrobenzaldeído. Este fármaco apresentou boa atividade antifúngica em testes *in vitro*, especialmente contra *Criptococcus sp.* e pode ser considerado como uma molécula promissora para o desenvolvimento de um novo medicamento antifúngico no mercado. No entanto, o potencial terapêutico do 6CN10 é limitado por sua baixa solubilidade em água (MENDONÇA JUNIOR et al., 2011, SCOTTI et al., 2012).

A formação de complexos de inclusão entre fármacos pouco solúveis em meio aquoso e ciclodextrina tem sido uma das técnicas mais utilizadas para a melhora no perfil de solubilidade de fármacos com baixa solubilidade. Diversos trabalhos demonstram que a formação do complexo de inclusão fármaco/ciclodextrina induz a um aumento significativo da biodisponibilidade, estabilidade e solubilidade dos fármacos complexados (DEL VALLE, 2004, LOFTSSON, 2005).

Nesse contexto, o presente trabalho visou à obtenção de complexos de inclusão entre o 6CN10 e a 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina e a caracterização desse sistema.

OBJETIVOS

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo Geral

Preparar e caracterizar complexos de inclusão de 6CN10 e 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina visando incrementar a solubilidade do fármaco.

1.2. Objetivos Específicos

- Preparar complexo de inclusão 6CN10:HP- β -CD pelo método de liofilização.
- Determinar a estequiometria do complexo utilizando o diagrama de fases e calcular a constante de estabilidade do complexo.
- Caracterizar o complexo formado pelas técnicas de espectroscopia de infravermelho e Raman, difratometria de raio-X, termogravimetria e microscopia eletrônica de varredura.

CAPÍTULO I

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Derivados 2-amino-tiofeno

O tiofeno é um composto heterocíclico aromático de cinco membros onde o heteroátomo é o enxofre. Em 1883, V. Meyer, após uma falha no teste para identificação de benzeno, descobriu esse composto com sua fórmula molecular confirmada como C_4H_4S . Em 1885, C. Paal e J. Volhard realizaram simultaneamente a síntese de derivados de tiofeno (CAMERON, 1949).

Diversos derivados tiofênicos foram sintetizados nas últimas décadas devido a sua grande diversidade de aplicações na indústria farmacêutica, agrícola e alimentícia. Na indústria farmacêutica suas principais aplicações são como agentes antimicrobianos (ISLOOR; KALLURAYA; PAI, 2010), antivirais (RASHAD et al., 2010), antioxidantes (ABU-HANSEN; EL-SHEHRY; BADRIA, 2010), anti-inflamatórios (FAKHR et al., 2009), antinociceptivos (GONCALES et al., 2005), antipsicóticos (CALLIGARO et al., 1997), anticonvulsivantes (GHOGARE et al., 2010) e ansiolíticos (AMR et al., 2010).

Atualmente, estes heterocíclicos altamente substituídos são bastante utilizados como precursores em estruturas de fármacos (PUTEROVÁ; KRUTOŠÍKOVA; VÉGH, 2009). Em especial, os 2-amino-tiofenos substituídos, que podem ser obtidos através da reação de Gewald, que consiste na condensação de multicomponentes de uma cetona ou aldeído acíclico com um composto metilênico

ativo em meio básico e enxofre elementar na presença de uma base (SRIDHAR et al., 2007).

Derivados 2-amino-tiofênicos encontram-se descritos na literatura apresentando atividades antitumorais (NAIR; ABRAHAM, 1993), antivirais (BONINI et al., 2004), antiglaucosomas (DANTANARAYANA; DEAN; MAY, 1997), assim como analgésicas e antiinflamatórias (MATSUO et al., 1996; TALLEY et al., 2006). Destacando-se principalmente as atividades: antibacteriana (ELBE et al., 1998, BERGE et al., 2004), antifúngica e herbicida (RAM; ATUL GOEL; SHUKLA, 1997 ; FERREIRA et al., 2004 ; RYU et al., 2005; BERGE et al., 2004). Puterová e colaboradores, 2009 apresentam uma revisão das aplicações de 2-amino-tiofenos como precursores ou como base para o design de novos fármacos.

Recentemente, o Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas da Universidade Estadual da Paraíba juntamente com o Laboratório de Síntese e Planejamento de Fármacos da Universidade Federal de Pernambuco conseguiram obter sinteticamente uma série de novos derivados 2-amino-tiofênicos, onde foi possível a identificação de compostos com grande potencial para se tornarem uma nova alternativa terapêutica para o tratamento de infecções causadas por agentes antifúngicos (MENDONÇA JUNIOR et al., 2011). Dentre esses compostos, o composto denominado 6CN10, nome químico: (2-[(4-nitrobenzilideno)amino]-4,5,6,7-tetraidro-4H-benzo[b]tiofeno-3-carbonitrila) (**Figura 1**), se mostrou como o mais ativo agente fungicida da série para fungos leveduriformes em espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. tropicalis*) sendo ativo inclusive para cepas de *Candida krusei* que se apresentaram resistentes ao fármaco referência fluconazol. Apresentando também atividade especialmente pronunciada para a espécie *Cryptococcus neoformans* com valores de Concentração Mínima Fungicida (CMF) variando entre 100-200µg/mL, com a característica adicional de apresentar atividade comprovadamente fungicida, e não fungistática. Característica também desejável para o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos (MENDONÇA JUNIOR et al., 2011).

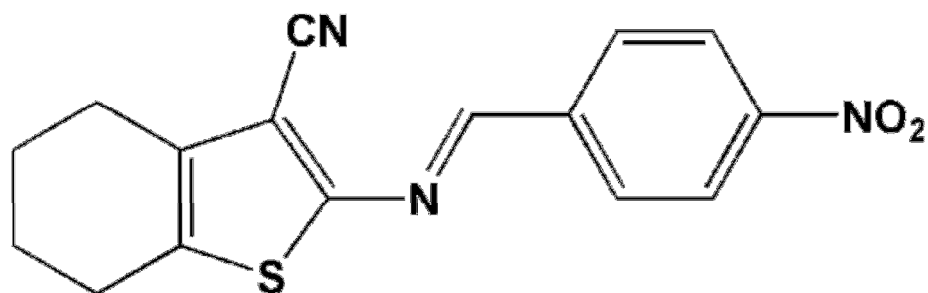


Figura 1: Estrutura química do 6CN10

Além dos resultados promissores de atividade antifúngica, esse derivado apresenta outras características desejáveis para um novo fármaco, que são seu baixo custo de obtenção e sua relativa facilidade sintética e de purificação, o que permite a obtenção de quantidades multigramas (10-50gramas) em escala de bancada em grau de pureza farmacêutica (superior a 99%), podendo facilmente ser realizado processo de *scale-up* visando uma futura produção em escala industrial (MENDONÇA JUNIOR et al., 2011).

Entretanto, apesar de todas essas características esse princípio ativo apresenta propriedades indesejáveis para um bom fármaco, devido a sua baixa solubilidade em água, o que se apresenta como uma grande barreira farmacocinética, que dificulta a realização dos ensaios biológicos e inviabiliza até certo ponto a realização de ensaios *in vivo*, devido a sua provável baixa absorção.

Estudos de modelagem molecular através de metodologias de CADD (computer-aided drug design) concluíram que a solubilidade em água destes compostos é um fator determinante para a ação antifúngica, ou seja, apesar dos compostos apresentarem atividade antifúngica, os impedimentos farmacocinéticos limitam sua atividade. Sendo assim, é de fundamental importância o desenvolvimento de um sistema de liberação controlada que permita o aumento da solubilidade aparente deste composto e por consequência uma maior absorção do 6CN10 (SCOTTI et al., 2012).

2.2. CICLODEXTRINAS

As ciclodextrinas (CDs) têm sido bastante utilizadas no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, particularmente devido às suas propriedades complexantes, as quais proporcionam incremento de solubilidade e conseqüente aumento da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis, estabilidade, redução de irritações (gástrica, dérmica ou ocular) bem como diminuição ou eliminação de odores ou sabores desagradáveis em formulações líquidas (GUEDES et al., 2008, LYRA et al., 2010).

As CDs são oligossacarídeos cíclicos, constituídos por um número variável de unidades de glicose, com estrutura semelhante a um cone truncado (SZEJTLI, 1998). As CDs naturais mais comuns apresentam seis, sete ou oito unidades de D(+)-glicopiranosose unidas por ligações $\alpha(1-4)$ e denominam-se α -, β - e γ -ciclodextrinas, respectivamente (Figura 2) (GAVANI et al., 2011).

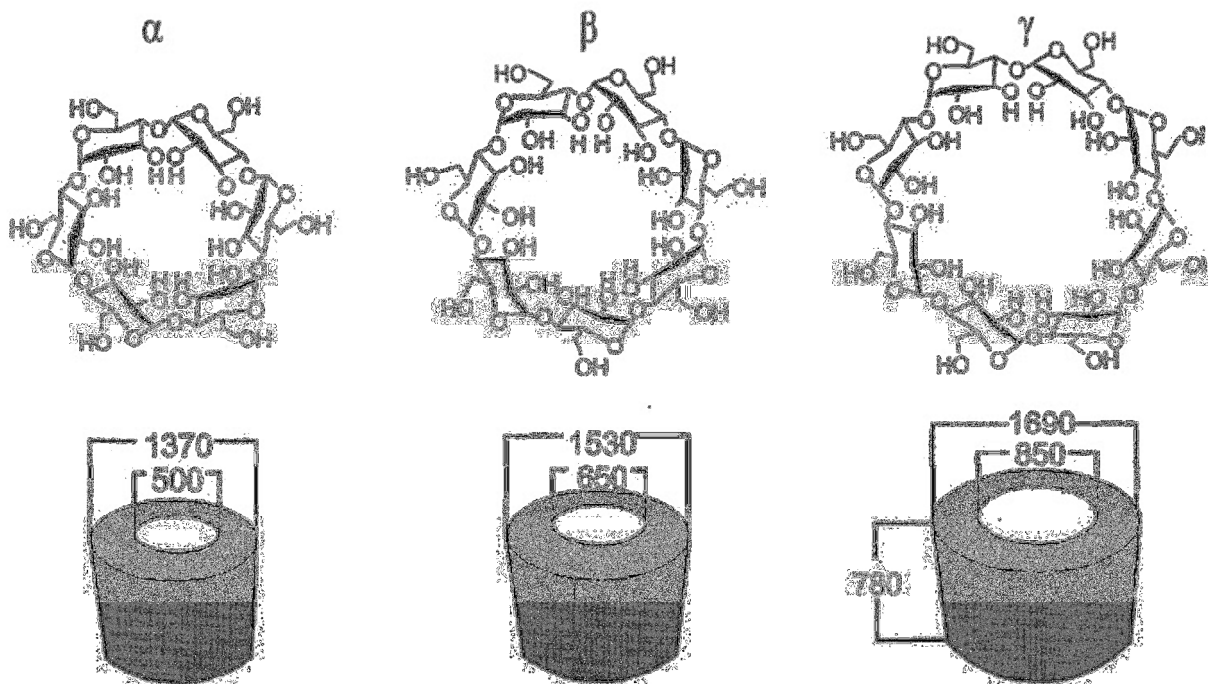


Figura 2: Estrutura das ciclodextrinas (Fonte: DEL VALLE, 2004)

2.2.1. Histórico

A primeira referência sobre CDs foi publicada em 1881 pelo cientista francês A. Villiers, onde ele descreveu a obtenção de uma substância cristalina obtida a partir da digestão do amido com o *Bacillus amylobacter*, o qual denominou de celulosina (SZEJTLI, 1998, LOFTSSON; DUCHENE, 2007). Em 1903, Franz Schardinger identificou as α -ciclodextrina e β -ciclodextrinas como produtos resultantes da degradação do amido pela ação da enzima amilase ciclodextrina glicosil transferase (CGTase), produzida pelo micro-organismo *Bacillus macerans*, capaz de romper um segmento da hélice do amido e unir as duas porções terminais deste fragmento em uma única molécula cíclica (CONNORS, 1997). Em 1935 Freudenberg e Jacobi descobriram a γ -ciclodextrina. Neste mesmo ano, Freudenberg, Cramer e Plieninger depositaram a primeira patente sobre o uso de ciclodextrina para formação de complexo de inclusão intitulada “Métodos de preparação de compostos de inclusão de compostos orgânicos fisiologicamente ativos”. Nos anos posteriores Freudenberg, Cramer e French ampliaram os conhecimentos das CDs quanto à sua caracterização, produção enzimática, fracionamento e estrutura (CONNORS, 1997).

Cramer, Saenger e outros enfatizaram os estudos na formação de complexos de inclusão entre as CDs e moléculas hóspedes (CONNORS, 1997, LOFTSSON; DUCHENE, 2007).

No início dos anos 1970 diversos estudos sobre a aplicação industrial das CDs começaram a ser realizados e em 1976 o primeiro produto farmacêutico contendo ciclodextrina foi lançado no Japão pela empresa Ono Pharmaceutical Co, tratava-se de uma formulação a base de prostaglandina E2 e β -ciclodextrina (Prostarmon E). Na década seguinte as ciclodextrinas foram definitivamente introduzidas como uma matéria prima para a indústria, principalmente na área de alimentos e cosméticos (HASHIMOTO, 2003, LOFTSSON; DUCHENE, 2007). Atualmente, mais de 35 medicamentos contendo ciclodextrina se encontram disponíveis no mercado mundial, em sua grande maioria com a função de melhorar a solubilidade do princípio ativo, mas também como estabilizante e redutor de toxicidade e irritação local (CARRIER; MILLER; AHMED, 2007, HWANG et al., 2012).

2.2.2. Estrutura química e modificações das ciclodextrinas

A estrutura descrita para as CDs apresenta dois grupos hidroxílicos: os grupos hidroxílicos –OH secundários, que se encontram localizados na extremidade mais larga, estando ligados aos átomos de carbono C2 e C3, ao passo que os grupos hidroxílicos –OH primários se encontram na extremidade mais estreita e ligado aos carbonos C6. Essa característica é devido à livre rotação dos grupos hidroxílicos primários que reduz o diâmetro efetivo da cavidade na respectiva face, enquanto o grupo de hidroxilas secundárias constitui uma cadeia relativamente rígida, por isso esta cavidade da CD é mais larga (BEKERS; UITENDAAL; BEIJNEN, 1991).

A presença de grupos hidroxilas nas extremidades favorece a solubilidade das ciclodextrinas em água. O interior da cavidade é delineado pelos átomos de hidrogênio (H3 e H5) e pelas pontes de oxigênio glicosídicas. Os pares de elétrons não-ligantes do oxigênio estão voltados para o interior da cavidade, produzindo alta densidade eletrônica e resultando num ambiente com características de base de Lewis e um caráter extremamente hidrofóbico (BUDAL, 2003; CALDERINI 2006). Já a disposição dos hidrogênios H1, H2 e H4 bem como dos grupos hidroxilas, voltados para o exterior da CD, torna a superfície externa hidrofílica (**Figura 3**) (VEIGA; PECORELLI; RIBEIRO, 2006, KUBOTA, 2010).

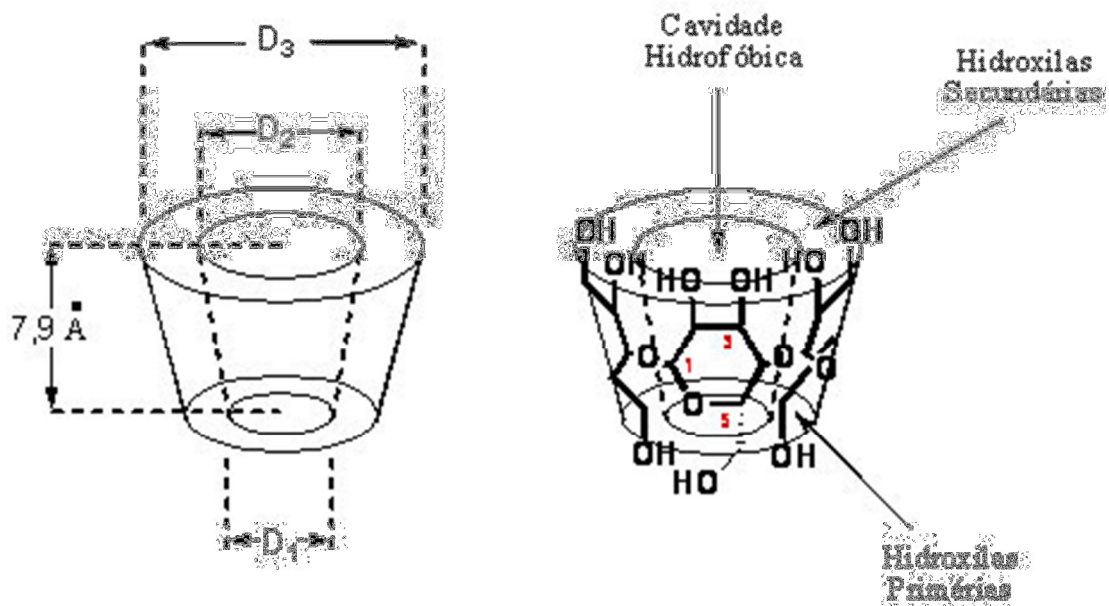


Figura 3: Representação esquemática da estrutura funcional das ciclodextrinas

Fonte: http://www.portaldosfarmacos.ccs.ufrj.br/resenhas_ciclodextrinas.html

A solubilidade em água das CDs naturais é muito menor que a de dextrinas lineares, isto por vezes pode reduzir a eficiência das CD em produzir um incremento na solubilidade do fármaco, além disto, γ -ciclodextrina e β -ciclodextrina são descritas na literatura como nefrotóxicas quando aplicadas pela via parenteral. (GOULD; SCOTT, 2005)

A fim de se melhorar a solubilidade das CDs naturais e reduzir sua toxicidade, vários derivados semi-sintéticos foram produzidos pela substituição dos grupos hidroxil da CD. Dentre estes derivados, a 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina, merece destaque. Essa CD derivada é obtida pelo tratamento de β -ciclodextrina com óxido de propileno e possui uma solubilidade em água superior a 600mg/mL e é relatada na literatura como segura para administração oral e parenteral, além de ser descrita nos compêndios oficiais da Farmacopéia Americana e Européia e ser citada na lista de excipientes farmacêuticos considerados inativos pelo FDA (GOULD; SCOTT, 2005, GUEDES et al., 2008, LOFTSSON; HREINSDOTTIR, 2007, STELLA; RAJEWSKI, 1997)

2.2.3. Complexo de inclusão

A capacidade de uma ciclodextrina em formar complexos de inclusão com uma molécula hóspede se dá em função de dois fatores fundamentais. O primeiro é estérico e depende do tamanho relativo da ciclodextrina para o tamanho da molécula hóspede ou dos principais grupos funcionais dentro do convidado. Se a molécula hóspede é do tamanho inadequado, não vai caber corretamente na cavidade da ciclodextrina. O segundo fator crítico é das interações termodinâmicas entre os diferentes componentes do sistema (ciclodextrina, molécula hóspede, solvente). Para um complexo se formar, deve haver uma força motriz de energia favorável que introduza a molécula hóspede para a cavidade da ciclodextrina (DEL VALLE, 2004).

As extremidades da cavidade da CD isolada são abertas de tal forma que o substrato pode entrar no anel da CD por ambos os lados. Em solução aquosa, a cavidade levemente apolar é ocupada por moléculas de água que são energeticamente desfavoráveis, dada a natureza da interação polar-apolar e, portanto, podem ser facilmente substituídas por um substrato que seja menos polar que a água. Considera-se que a força motriz para a complexação seja a substituição das moléculas de água de alta entalpia pela molécula hóspede. (SZEJTLI, 1998)

Os complexos são formados a partir de forças de Van der Waals, pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas, entre outras, mas a principal força propulsora da formação de complexos é a saída de moléculas de água de alta entalpia do interior da cavidade deslocadas pela molécula hóspede de menor polaridade presente na solução, resultando num estado de menor energia, portanto, termodinamicamente favorável (SZEJTLI, 1998).

Diversas técnicas são utilizadas na obtenção dos complexos de inclusão, geralmente são metodologias simples e o que irá determinar a escolha de uma delas será a natureza da molécula hóspede. Os métodos mais utilizados na preparação dos complexos são descritos a seguir (CUNHA FILHO; SÁ-BARRETO, 2007, DEL VALLE, 2004, PANDYA; MANSURI; PATEL, 2008, PATEL; PATEL; SHAH, 2010, WANG et al., 2011).

Empastagem

Uma pasta de CD é preparada com uma pequena quantidade de água, para que a molécula hospede seja adicionada sem um solvente ou em uma pequena quantidade de etanol, depois se evapora o solvente e forma-se o complexo em pó.

Moagem

Os complexos de inclusão são preparados a partir da moagem entre a CD e a molécula hóspede, costuma ser um processo muito lento e o grau de complexação é baixo.

Co-precipitação

Consiste na adição de uma solução da molécula hóspede a uma solução de CD, com condições próximas a saturação, utilizando para isso mudanças bruscas de temperatura ou adição de solventes orgânicos, obtendo o complexo de inclusão na forma precipitada, onde este pode ser recolhido por decantação, centrifugação ou filtração.

Spray- drying/Secagem por pulverização

Uma solução monofásica da molécula hóspede e CD é preparada utilizando um solvente adequado. A solução é então agitada para atingir o equilíbrio, a seguir o solvente é removido por secagem por pulverização. A precipitação deve ser controlada a fim de evitar que as partículas se tornem grandes bloqueando o atomizador ou bico de pulverização. Com produtos voláteis a otimização das condições de secagem é necessária a fim de reduzir as perdas. Esta técnica não é indicada para compostos altamente voláteis e termicamente lábeis.

Liofilização

Consiste na eliminação de solvente dos sistemas em solução, através de um prévio congelamento e posterior secagem a pressões reduzidas. Esta técnica permite a obtenção de complexos de inclusão com elevado rendimento e um baixo estresse térmico. O processo de liofilização é tido como uns dos mais eficientes, podendo proteger contra a decomposição química, minimizar perda de atividade

devido às temperaturas de processamento baixas e levar a redução do teor de umidade à níveis muito baixos.

2.2.4. Técnicas de caracterização de complexos de Inclusão

Difratometria de raios -x

A difratometria de raios-X (DRX) determina a natureza cristalina de sólidos e é uma das melhores técnicas para caracterização de complexos de inclusão (VEIGA; PECORELLI; RIBEIRO 2006). Dependendo da forma cristalina da molécula hóspede, haverá formação de picos característicos no difratograma. Assim, a complexação será avaliada por alterações nos picos característicos da molécula hóspede e da ciclodextrina com o complexo. A obtenção de um difratograma com características de um material amorfo, ou seja, sem picos bem definidos, pode ser um indicativo de ocorrência de complexação (CORTI et al., 2007). Do mesmo modo, é possível avaliar a formação de complexos de inclusão pela comparação do tamanho dos picos característicos da molécula hóspede com o tamanho que aparece no complexo. A diminuição dos picos pode representar uma complexação parcial, uma vez que o material complexado não permanece na forma cristalina (PATEL et al.,2007). Por outro lado, o padrão de difração da mistura física é, em geral, a sobreposição da molécula hóspede e da ciclodextrina com picos de menor intensidade, porém quando comparados aos picos dos complexos, apresentam maior cristalinidade (MURA et al.,2005).

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

As técnicas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) são bastante utilizadas na caracterização de complexos de inclusão com ciclodextrina, por serem determinações rápidas e precisas, ainda que a informação conseguida por este ensaio apresente limitações. Esta técnica permite detectar grupos funcionais, cuja presença pode ser difícil através de outros métodos. Quando se forma o complexo, pequenos deslocamentos das bandas das ciclodextrinas

poderão mascarar a molécula hóspede, se esta última estiver presente em pequenas quantidades.

No entanto, se a molécula hóspede apresentar grupos funcionais característicos, como no caso do grupo carbonila, a banda será significativamente encoberta e algumas vezes, pode ser deslocada após a complexação com ciclodextrina. A débil natureza dos fenômenos envolvidos na complexação torna os desvios e mudanças de intensidade das bandas correspondentes aos grupos químicos do fármaco ou da CD bastante sutis, requerendo uma cuidadosa interpretação dos dados, (CUNHA FILHO; SÁ-BARRETO, 2007, LYRA et al., 2010, SZETJTLI, 1988)

Raman

A técnica de Raman é uma espectroscopia molecular vibracional que deriva de um processo de espalhamento de luz. É principalmente aplicada para vibrações simétricas, grupos não polares e bandas homoatômicas, tais como S=S, S-S, N=N, C=C e O=O, enquanto que a espectroscopia de infravermelho é aplicada para vibrações assimétricas, grupos polares e bandas heteroatômicas, como C=O, O-H e H-Cl (ARRAIS; SAVARINO, 2009, LU et al., 2009, LYRA et AL 2010).

Esta técnica apresenta uma clara vantagem em comparação com os espectros análogos de infravermelho devido ao silêncio relativo da molécula de CD no espectro de Raman, que não mostram qualquer sobreposição relevantes dos padrões espectrais, permitindo uma melhor comparação entre a molécula livre e a complexada. Portanto, estes dois tipos de espectroscopia são complementares para caracterizar a formação de complexos de inclusão (ARRAIS; SAVARINO, 2009, LU et al., 2009).

Análise térmica

Análise térmica é uma técnica de confiança que permite de maneira rápida e simples avaliar a complexação entre a molécula hóspede e a CD através da mudança das propriedades térmicas originais da molécula hóspede complexada. Quando as moléculas hóspedes são embutidas na cavidade da CD, o seu ponto de fusão, pontos de ebulição ou degradação deslocam a uma temperatura diferente ou

desaparecem. (HE et al., 2011, MARQUES et al., 1990, MENDONCA et al., 2012, NOVAK et al., 2006).

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) permite avaliar as variações de entalpia que ocorrem com uma dada substância e um material de referência em função da temperatura, enquanto essas são submetidas a uma programação controlada de temperatura. Estas variações de calor resultam das alterações que se produzem num composto e que desaparecem quando está incluído numa ciclodextrina (IONASHIRO, 2005).

A termogravimetria (TG) é um método basicamente quantitativo, uma vez que a variação de massa pode ser exatamente determinada. Entretanto, o intervalo de temperatura onde essa variação de massa ocorre, é qualitativo, tendo em vista que esse parâmetro depende de fatores instrumentais e características da amostra (IONASHIRO, 2005).

Ao utilizar TG, a maneira mais comum de se detectar a formação de um complexo de inclusão é comparando a temperatura de início de degradação da molécula hospede sozinha com a do complexo investigado. Considera-se que, havendo complexação, a degradação da molécula hóspede se dará em temperaturas mais elevadas, em virtude de sua proteção pela CD (ARAUJO et al., 2007).

Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura (SEM) é utilizada em várias áreas do conhecimento, sendo amplamente utilizada para estudar os aspectos de superfície dos materiais. O uso desta técnica vem se tornando mais frequente por fornecer informações detalhadas do estado de cristalização de produtos obtidos por diferentes técnicas de complexação ou dispersão com polímeros (LYRA et al., 2010).

Diagrama de solubilidade de fases

O diagrama de solubilidade é um dos métodos clássicos para verificação da formação do complexo de inclusão, a partir da constante de estabilidade e sua estequiometria. A técnica desenvolvida e interpretada por Higuchi e Connors

permite avaliar os diferentes comportamentos dos fármacos adicionados em excesso a volumes fixos de soluções de ciclodextrinas em concentrações crescentes, podendo ser classificados em dois tipos: A e B (**Figura 4**) (LYRA et al., 2010).

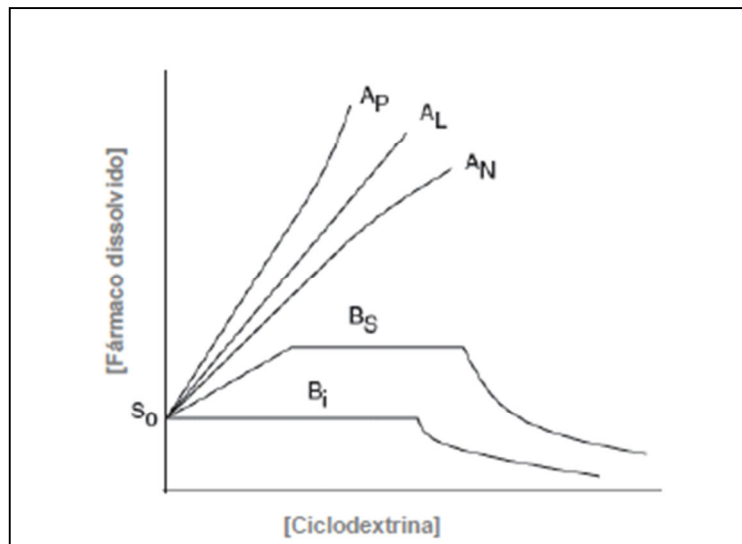


Figura 4: Perfis de solubilidade segundo a teoria de Higushi e Connors. Sendo S_0 a solubilidade intrínseca do Fármaco. Fonte: Cunha-Filho 2007.

No sistema A, ocorre um aumento gradual da solubilidade em função da concentração de CD, com subtipos A_L , A_P e A_N , assim classificados conforme a inclinação da reta. Complexos do tipo A_L têm estequiometria 1:1 e tem a solubilidade aumentada linearmente em função do aumento das concentrações de CD. Complexos A_P e A_N possuem estequiometria maior e menor que 1, respectivamente, haja visto que as suas retas sofrem desvios, caracterizando a maior ou menor solubilidade do complexo em relação ao fármaco livre (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; LYRA et al., 2010).

Enquanto o sistema B representa os complexos cuja solubilidade aquosa é limitada, dividindo-se ainda em sistemas B_S e B_I . O complexo do tipo B_S tem um incremento inicial de solubilidade, seguido por um equilíbrio e, ao atingir o limite de solubilidade, precipita-se. O outro complexo, B_I , não possui solubilidade diferente do fármaco livre, mantendo o equilíbrio até que inicie a precipitação do complexo formado (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; LYRA et al., 2010).

Referências

ABU-HASHEM, A.A.; EL-SHEHRY, M.F.; BADRIA, F.A.E. Design and synthesis of novel thiophenecarbohydrazide, thienopyrazole and thienopyrimidine derivatives as antioxidant and antitumor agents. **Acta Pharmaceutica**, v. 60, p. 311-323, 2010.

AMR, A.E-G.E.; SHERIF, M.H.; ASSY, M.G.; AL-OMAR, M.A.; RAGAB, I. Antiarrhythmic, serotonin antagonist and antianxiety activities of novel substituted thiophene derivatives synthesized from 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-N-phenylbenzol[b]thiophene-3-carbozamide. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.45, p. 5935-5942, 2010.

ARAUJO, M.V.G.; VIEIRA, E.K.B.; LAZARO, G.S.; CONOGERO, L.S.; FERREIRA, O.P.; ALMEIDA, L.E.; BARRETO, L.S.; COSTA-JR, N.B.; GIMENEZ, I.F. Inclusion complexes of pyrimethamine in 2-hydroxypropyl- β -ciclodextrin: Characterization,

phase solubility and molecular modeling. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 15, p.5752-5759, 2007.

ARRAIS, A.; SAVARINO, P. Raman spectroscopy is a convenient technique for the efficient evaluation of cyclodextrin inclusion molecular complexes of azo-dye colorants and largely polarisable guest molecules. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**. v. 64, n.1-2, p. 73-81, 2009.

BEKERS, O.; UIJTENDAAL, E.V.; BEIJNEN, J.H.; BULT, A.; UNDERBERG, J.M. Cyclodextrins in the pharmaceutical Field. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 17, p. 1503-1549, 1991.

BERGE, J.; JARVEST, R.; FRYDRYCH, C.S.V.; GUILLES, J.; QIU, J.; TARASOW, M.T.; BONINI, C.; CHIUMMIENTO, L.; DE BONIS, M.; FUNICELLO, M. LUPATTELLI, P.; COTTRELL, D.M.; CAPERS, J.; SALEM, M.M.; DELUCA-FRADLEY, K.; CROFT, S.L.; WERBOVETZ, K.A. Antikinetoplastid activity of 3-aryl-5-thiocyanatomethyl-1,2,4-oxadiazoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 12, n. 11, p. 2815-2824, 2004.

BONINI, C.; CHIUMMIENTO, L.; DE BONIS, M.; FUNICELLO, M.; LUPATTELLI, P. Synthesis of a first thiophene containing analog of the HIV protease inhibitor nelfinavir. **Tetrahedron Letters**, v. 45, p. 2797-2799, 2004.

BREWSTER, M, E; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 59, p. 645-666, 2007.

BUDAL, R, M. Estudos de formação de complexos de inclusão em ciclodextrinas. Santa Catarina, 2003. Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Federal de Santa Catarina.

CALDERINI, A. Encapsulação e caracterização físico-química do fármaco vasodilatador minoxidil em ciclodextrinas. Campinas, 2006. Dissertação de mestrado. Instituto de Química, UNICAMP.

CALLIGARO, D.O.; FAIRHURST, J.; HOTTEN, T.M.; MOORE, N.A.; TUPPER, D.E. The synthesis and biological activity of some known and putative metabolites of the atypical antipsychotic agent olanzapine (LY170053). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 7, n. 1, p. 25-30, 1997.

CARRIER, R.L.; MILLER, L.A.; AHMED, I. The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. **Journal of Controlled Release**. v. 123, n. 2, p. 78-99, 2007.

CAMERON, M.D. Victor Meyer and the thiophene compounds. **Journal of Chemical Education**, v. 26, n. 10, p. 521-524, 1949.

CONNORS, K. A. The stability of cyclodextrin complexes in solution. **Chemical Reviews**. v. 97, p. 1325-57, 1997.

CORTI, G.; CAPASSO, G.; MAESTRELLI, F.; CIRRI, M.; MURA, P. Physical-chemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl-

b.cyclodextrin. **Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis**. v. 45, p. 480-486, 2007.

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

DANTANARAYANA, A.P.; DEAN, T.R.; MAY, J.A. Thiophene sulfonamides useful as carbonic anhydrase inhibitors. **US Patent** n° 5,646,142; 8 de julho de 1997.

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

ELBE, H.D.; ASSMANN, L.; TIEMANN, R.; ECKER, U.; HÄNSSLER, G.; DEHNE, H.W. Microbicidal compositions based on dibromo-thiophene-carboxylic acid derivatives **US Patent** n° 5,789,437; 4 agosto de 1998.

FAKHR, I.M.; RADWAN, W.A.; EL-BATRAN, A.; ABD EL-SALAM, O.M.; EL-SHENAWY S.M. Synthesis and pharmacological evaluation of 2-substituted benzo[b]thiophenes as anti-inflammatory and analgesic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 44, n. 4, p. 1718-1725, 2009.

FERREIRA, I.C.F.R.; CALHELHA, R.C.; ESTEVINHO, L.M.; QUEIROZ, M.J.R.P. Screening of antimicrobial activity of diarylamines in the 2,3,5-trimethylbenzo[b]thiophene series: a structure–activity evaluation study. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 5831–5833, 2004.

GAVINI E.; SPADA G.; RASSU G.; CERRI G.; BRUNDU A.; COSSU M.; SORRENTI M.; GIUNCHEDI P. Development of solid nanoparticles based on hydroxypropyl- β -cyclodextrin aimed for the colonic transmucosal delivery of diclofenac sodium. **Journal Pharmaceutical and Pharmacology**. v. 63, n. 4, p. 472-482, 2011.

GHOHARE, J.G.; BHANDARI, S.V.; BOTHARA, K.G.; MADGULKAR, A.R.; PARASHAR, G.A.; SONAWANE, B.G.; INAMDAR, P.R. Design, synthesis and pharmacological screening of potential anticonvulsant agents using hybrid approach. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 857-863, 2010.

GONCALES, C.E.P.; ARALDI, D.; PANATIERI, R.B.; ROCHA, J.B.T.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C.W. Antinociceptive properties of acetylenic thiophene and furan derivatives: evidence for the mechanism of action. **Life Sciences**. v. 76, p. 2221-2234, 2005.

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

GU, Y.G.; FLORJANCIC, A.S.; CLARK, R.F.; ZHANG, T.; COOPER, C.S.; ANDERSON, D.D.; LERNER, C.G.; MCCALL, J.O.; CAI, Y.; BLACK-SCHAEFER, C.L.; STAMPER, G.F.; HAJDUK, P.J.; BEUTEL, B.A. Structure–activity relationships of novel potent MurF inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 14, p. 267–270, 2004.

GUEDES, F.L.; ALVES, G.M.C.; SANTOS, F.L.A.; LIMA, L.F.; ROLIM, L.A.; ROLIM NETO, P.J. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 89, n.3, p. 220-225, 2008.

HASHIMOTO, H. Present status of industrial application of cyclodextrins in Japan. **Journal Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry**. v. 44, p. 57–62, 2003.

HE, Z.X.; WANG, Z.H.; ZHANG, H.H.; PAN, X.; SU, W.R.; LIANG, D.; WU, C.B. Doxycycline and hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex in poloxamer thermal sensitive hydrogel for ophthalmic delivery. **Acta Pharmaceutica Sinica B**. v. 1, n. 4, p. 254-260, 2011.

HWANG, Y.Y.; SHIN, D.C.; NAM, Y.S.; CHO, B.K. Characterization, stability, and pharmacokinetics of sibutramine/ β -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**. v. 18, n. 4, p. 1412-1417, 2012.

IONASHIRO, M. Fundamentos da Termogravimetria. Análise Térmica Diferencial. Calorimetria Exploratória Diferencial. São Paulo: Giz, 2005.

ISLOR, A.M.; KALLURAYA, B.; PAI, K.S. Synthesis, characterization and biological activities of some new benzo[b]thiophene derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 45, p. 825-830. 2010.

KATRITZKY A.R.; SLAVOV, S.H.; DOBCHEV, D.A.; KARELSON, M. QSAR modeling of the antifungal activity against *Candida albicans* for a diverse set of organic compounds. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 16, p. 7055–7069, 2008.

LYRA, M.A.M.; ALVES, L.D.S.; FONTES, D.A.F.; SOARES SOBRINHO J.L.; ROLIM NETO P.J. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.31, p.117-124, 2010.

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

LOFTSSON, T.; HREINSDOTTIR, D.; MASSON, M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 302, p. 18-28, 2005.

LOFTSSON, T.; HREINSDOTTIR, D.; MASSON, M. The complexation efficiency. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**. v. 57, n. 1-4, p. 545-552, 2007.

MARQUES, H.M.C., HADGRAFT, J., KELLAWAY, I.W. Studies of cyclodextrin inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 63, n.3, p. 259-266, 1990.

MATSUO, M.; TSUJI, K.; KONISHI, N.; NAKAMURA, K. Thiophene derivatives, **US Patent** n° 5,571,810; 5 de novembro de 1996.

MENDONCA JUNIOR, F.J.B.; LIMA-NETO, R.G.; DE OLIVEIRA, T.B.; DE LIMA, M.D.A.; PITTA, I.R.; GALDINO, S.L.; DA CRUZ, R.M.D.; DE ARAUJO, R.S.A.; NEVES, R.P. Synthesis and Evaluation of the Antifungal Activity of 2-(Substituted-Amino)-4,5-Dialkyl-Thiophene-3-Carbonitrile Derivatives. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 30, p. 1492-1499, 2011.

MENDONCA, E.A.M.; LIRA, M.C.B.; RABELLO, M.M.; CAVALCANTI, I.M.F.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LIMA, M.D.C.A.; PITTA, M.G.R.; HERNANDES, M.Z.; SANTOS-MAGALHAES, N.S. Enhanced Antiproliferative Activity of the New Anticancer Candidate LPSF/AC04 in Cyclodextrin Inclusion Complexes Encapsulated into Liposomes. **AAPS Pharmscitech**. v. 13, n.14, p. 1355-1366, 2012.

MURA, P.; BETTINETTI, G.P.; CIRRI, M.; MAESTRELI, F.; SORRENTI, M.; CARENACCI, L. Solid-state characterization and dissolution properties of Naproxen-Arginine-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin ternary system. **Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.59, p. 99-106, 2005.

NAIR, M.G.; ABRAHAM, A. Thiophene substitutes antitumorantifolates, **US Patent** n° 5,260,296; 9 de novembro de 1993.

NETO, M. M.; COSTA, R. S.; REIS, M. A.; GARCIA, T. M. P.; FERRAZ, A. S.; SABER, L. T. S.; BATISTA, M. E. P. N.; MUGLIA, V.; FIGUEIREDO, J. F. C. Candidíase em pacientes transplantados renais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 30, n.6, p. 485-491, 1997.

NOVAK, C.; EHEN, Z.; FODOR, M.; JICSINSZKY, L.; ORGOVANYI, J. Application of combined thermoanalytical techniques in the investigation of cyclodextrin inclusion complexes. **Journal Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 84, n. 3, p. 693-701, 2006.

PANDYA S.J.; MANSURI J.S.; PATEL P. Compatible Polymer used as complexes in various drug delivery systems: β -Cyclodextrin. **Pharmainfo.net**. v. 6, n. 2, 2008.

PATEL, H.M.; SUHAGIA, B.N.; SHAH, S.A.; RATHOD, I.S.; PARMAR, V.K. Preparation and characterization of etoricoxib- β -cyclodextrin complexes prepared by the kneading method. **Acta Pharm**. v. 57, p. 351-359, 2007.

PATEL, R.; PATEL, M.; SHAH, D. Applications of cyclodextrin in drug delivery. **International Journal of Pharma World Research**. v.1, n. 2, p. 1-22, 2010.

PINTO, E.; QUEIROZ, M.R.P.; VALE-SILVA, L.A.; OLIVEIRA, J.F.; BEGOUIN, A.; BEGOUIN, J.M.; KIRSCH, G. Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[*b*]thiophene moiety. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 16, n. 17, p. 8172-8187, 2008.

PUTEROVA, Z.; KRUTOSIKOVA, A.; VEGH, D. Gewald reaction: synthesis, properties and applications of substituted 2-aminothiophenes. **Arkivoc**. p. 209-246, 2010.

RAM, V. J.; ATUL GOEL, P. K.; SHUKLA, A. K. Synthesis of thiophenes and thieno[3,2-c]pyran-4-ones as antileishmanial and antifungal agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 7, n. 24, p. 3101-3106, 1997.

RASHAD, A.E.; SHAMROUKH, A.H.; ABDEL-MEGEID, R.E.; MOSTAFA, A.; EL-SHESHENY, R.; KANDEIL, A.; ALI, M.A.; BANERT, K. Synthesis and screening of some novel fused thiophene and thienopyrimidine derivatives for anti-avian influenza virus (H5N1) activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 5251-5257, 2010.

RYU, C.K.; LEE, S.K.; HAN, J.Y.; JUNG, O.J.; LEE, J.Y.; JEONG, S.H. Synthesis and antifungal activity of 5-arylamino-4,7-dioxobenzo[b]thiophenes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 2617–2620, 2005.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; LIMA, E.D.O.; DA SILVA, M.S.; ALVES DE LIMA, M.D.C.; PITTA, I.D.R.; DE MOURA, R.O.; BATISTA DE OLIVEIRA, J.G.; DUARTE DA CRUZ, R.M.; MENDONCA JUNIOR, F.J.B. Experimental Methodologies and Evaluations of Computer-Aided Drug Design Methodologies Applied to a Series of 2-Aminothiophene Derivatives with Antifungal Activities. **Molecules**. v. 17, p. 2298-2315, 2012.

SORTINO, M.; DELGADO, P.; JUÁREZ, S.; QUIROGA, J.; ABONÍA, R.; INSUASTY, B.; NOGUERAS, M.; RODERO, L.; GARIBOTTO, F. M.; ENRIZE, R. D.; ZACCHINO, S. A. Synthesis and antifungal activity of (Z)-5-arylidenerhodanines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 15, p. 484–494, 2007.

SORTINO, M.; FILHO, V. C.; CORRÊA, R.; ZACCHINO, S. N-Phenyl and N-phenylalkyl-maleimides acting against *Candida* spp.: Time-to-kill, stability, interaction with maleamic acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 16, p. 560–568, 2008.

SRIDHAR, M. *et al.* Microwave accelerated Gewald reaction: synthesis of 2-aminothiophenes. **Tetrahedron Letters**, v. 48, p. 3171-2, 2007.

STELLA V.J., RAJEWSKI R.A. Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. **Pharmaceutical Research**. v. 14, p. 556-567, 1997.

SZEJTLI, J. Cyclodextrin inclusion complexes. **Cyclodextrin Technology**, p. 79, 1988.

SZEJTLI, J. Cyclodextrins. In: FRÖMMING, K., SZEJTLI, J., eds. *Cyclodextrins in Pharmacy*. London: Kluwer Academic Publishers, 1994. v. 5, p. 1-18.

SZEJTLI, J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical Reviews**. v. 98, p.1743–53, 1998.

TALLEY, J.J.; BERTENSHAW, S.R.; COLLINS, P.W.; PENNING, T.D.; REITZ, D.B.; ROGERS, R.S. 3,4-Diaryl thiophenes and analogs thereof having use as anti-inflammatory agents. **US Patent** n° 7,030,153 B2; 18 de abril de 2006.

VEIGA, F. PECORELLI, C. RIBEIRO, L. *As ciclodextrinas na tecnologia farmacêutica*. Minerva Coimbra Editora, 2006

WANG, J.; CAO, Y.; SUN, B.; WANG, C. Characterisation of inclusion complex of trans-ferulic acid and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Food Chemistry**. v. 124, n. 3, p. 1069-1075, 2011.

ZAMPIERI, D.; MAMOLO, M. G.; LAURINI, E.; SCIALINO, G.; BANFIB, E.; VIOA, L. Antifungal and antimycobacterial activity of 1-(3,5-diaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)-1H-imidazole derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 16, p. 4516–4522, 2008

CAPÍTULO II

ARTIGO I

Artigo a ser submetido ao Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry

Autor: Giovanna Rodrigues de Araújo Eleamen

Orientador: Elquio Eleamen Oliveira

Co-Orientador: Elisângela Afonso de Moura Mendonça

Colaboradores: Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior

Larissa A. Rolim

Pedro J. Rolim Neto

Ricardo Olimpio de Moura

Solubility enhancement of a new antifungal drug by complexation with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin

Giovanna R. A. Eleamen · Elisângela A. M. Mendonça · Larissa A. Rolim · Pedro J. Rolim-Neto · Ricardo O. Moura · Francisco J. B. Mendonça-Junior · Elquio E. Oliveira

G. R. A. Eleamen

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande, PB, Brazil.

Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), Recife, PE, Brazil

E. A. M. Mendonça · R. O. Moura · F. J. B. Mendonça-Junior · E. E. Oliveira

Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM), Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), João Pessoa, PB, Brazil

L. A. Rolim · P. J. Rolim-Neto

Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

Corresponding Author

Elquio Eleamen Oliveira

E-mail address: elquioeleamen@yahoo.com.br

Address: Universidade Estadual da Paraíba, Rua Horácio Trajano, s/n, Cristo Redentor, CEP 58070-450, João Pessoa, PB, Brazil.

Telephone: +55 83 9984 4448/ +55 83 9173 9882

Fax Number: +55 83 3223 1128

Abstract

2- hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex and 6CN10, a 2-aminothiophene derivative with antifungal activity, was prepared using the freeze-drying technique and characterized by the phase solubility study, thermal analysis, Infrared/Raman spectroscopy, X-ray diffraction and scanning electron microscopy. The phase solubility assay in water at 25°C showed an A_L-type curve, suggesting the formation of inclusion complexes with 1:1 stoichiometry with an apparent stability constant of 96M⁻¹ and a complexation efficiency of 0.059. Thermogravimetric analysis shows that the thermal stabilities of the inclusion complex have been improved due

to an additional interaction between the host and guest molecules. The reduction in the intensity and position in the peaks in the FT-IR and RAMAN spectra and the change in the cristalinity of the 6CN10:HP- β -CD inclusion complex in the XRD patterns together with the observation of a new single phase by SEM confirmed the formation of a drug inclusion complex.

Keywords Inclusion Complex · 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin · 2-aminothiophene derivative · Phase solubility study

Introduction

2-aminothiophene derivatives are an important class of heterocycles found in several biologically active compounds[1]. This class of heterocycles had attracted a great interest of the researchers due their great versatility as precursors of molecules with pharmacological properties[2]. 6CN10 is a 2-aminothiophene derivative synthesized via two-step reaction, starting by the obtainment of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-4*H*-benzo[*b*]thiophene-3-carbonitrile through the Gewald reaction, followed by the condensation with 4-nitrobenzaldehyde to produce 2-[(4-nitrobenzylidene)amino]-4,5,6,7-tetrahydro-4*H*-benzo[*b*]thiophene-3-

carbonitrile, called 6CN10 (Fig. 1), according to previous work [3]. This lipophilic drug showed a good antifungal activity, especially against *Cryptococcus* and could be considered a promising compound for the development of new antimycotic drug in the market [3]. However, the therapeutic potential of 6CN10 is limited by its very poor water solubility[4].

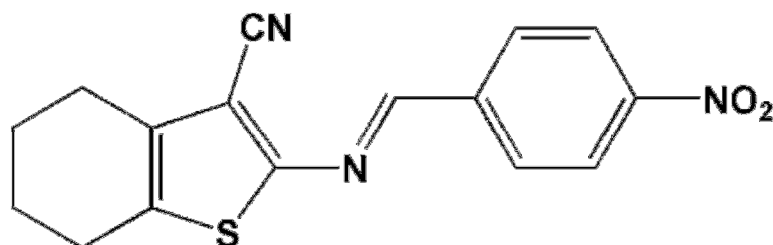


Fig 1 Chemical structure of 6CN10 ($M_w = 311$)

Cyclodextrins (CD) have been extensively used as complexing agent to improve the solubility and stability of a variety of poorly soluble and unstable drugs [5-7]. CD structure provides a hydrophilic outer surface and hydrophobic interior hollow. The inner part of CD molecules is apolar due to the presence glycosidic oxygens and methanetriyl protons, while its external surface is polar due to the presence of hydroxyl groups, which allows complexation with hydrophobic compounds and improves its solubility [8,9]. Currently, more than 35 different drugs are marketed as solid or solution-based CD complex formulations, including alprostadil, meloxicam, nicotine, omeprazole, itraconazole, aripiprazole, and insulin [10,11]. Natural CDs have limited water solubility that negatively influences water solubility of the formed complex [5,12]. To overcome this problem several modified CD were introduced. 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD), a hydroxyalkyl derivative, is an alternative to natural CDs, with improved water solubility properties. Besides, there are toxicological studies pointing out that HP- β -CD is well tolerated in animal models and humans by either oral or intravenous administration [13,7,9].

The aim of this work was to investigate the formation of 6CN10:HP- β -CD inclusion complex and characterize this system by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), Raman spectroscopy, thermogravimetry analysis (TGA), X-ray diffractometry (XRD), and scanning electron microscopy (SEM).

Materials and methods

Materials

The 6CN10 was synthesized in our laboratory according previously procedure [3]. The 2-hydroxypropil- β -cyclodextrin (HP- β -CD) was purchased from Sigma Aldrich (Brazil). Other reagents, solvents and chemicals were of analytical reagent grade and were used without further purification.

Phase solubility studies of 6CN10 in 2-hydroxypropil- β -cyclodextrin

Phase solubility studies were carried out according the method described by Higuchi and Connors (1965) [14]. An excess amount of 6CN10 (3mg) was add to a series of water solutions containing different amounts of HP- β -CD, range from zero to its solubility limit. The suspensions were shaken at $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ until solubility equilibrium was reached (72h). Then the samples were filtered through hydrophilic membrane filters (0.22 μm). The concentration of 6CN10 in the filtrate was determined at 280nm by UV-Vis spectrophotometer (Genesys 10S, Thermo Scientific, USA). Solubility data were fitted using linear regression. Assuming the formation of a complex with 1:1 stoichiometric ratio, the apparent stability constant ($k_{1:1}$) of 6CN10 was calculated from the linear relationship between the molar concentration of 6CN10 in the solution medium as a function of the HP- β -CD molar concentration according to Eq. 1[14], where the S_0 is the solubility of the 6CN10 in the absence of HP- β -CD.

$$K_{1:1} = \text{Slope}/S_0 \times (1 - \text{slope}) \quad (\text{Eq. 1})$$

The complexation efficiency (CE) of 6CN10 was determined from data of the phase solubility curve according to Eq. 2 [15].

$$\text{CE} = \text{slope}/(1 - \text{slope}) \quad (\text{Eq. 2})$$

The 6CN10:HP- β -CD ratio was calculated according to the Eq. 3[16].

$$6\text{CN10:HP-}\beta\text{-CD} = 1/(1 + 1/\text{CE}) \quad (\text{Eq. 3})$$

Preparation of 6CN10:HP- β -CD inclusion complex

6CN10:HP- β -CD inclusion complexes were prepared using freeze-drying technique according to Mendonça et al., 2012[17]. 6CN10 and HP- β -CD were weighted accurately in a 1:1 molar ratio and dissolved in distilled water under agitation for 72h at 25°C . The solution was frozen in liquid nitrogen and then lyophilized for 24 h.

The total recovery was calculated according to the following equation:

$$\text{Total Recovery (\%)} = \text{Recovered powder}/\text{Initial (6CN10 + HP-}\beta\text{-CD)} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

Preparation of physical mixture

Stoichiometric amounts of 6CN10 and the HP- β -CD was weighted and mixing until obtained a simply solid physical mixture.

Thermal analysis

The termogravimetric analysis was performed with a Shimadzu, model TGA Q60. Approximately 3 mg of the samples (6CN10, HP- β -CD, physical mixture and 6CN10:HP- β -CD inclusion complex) were placed in alumina pan and heated from 25 °C to 600 °C at a rate of 10°C·min⁻¹ under a nitrogen flow of 50mL·min⁻¹.

X-ray diffractometry

The x-ray powder diffraction patterns were obtained at room temperature with a diffractometer (model D8 Advance, Bruker) using a Ni-filtered Cu-K radiation, a voltage of 30kV and a current of 30 mA. The scanning rate was employed for 2°/min over a diffraction angle of 2 θ ranging from 5° to 80°.

Fourier transform infrared and Raman spectroscopy

The FT-IR and Raman spectroscopy was carried with a spectrophotometer (Vertex 70 RAM II, Bruker). The FT-IR spectra of the samples were obtained in the range between 4000 and 400 cm⁻¹ using the technique of KBr. FT-Raman spectra were recorded in the range between 3500 and 70 cm⁻¹ at a spectral resolution of 4cm⁻¹.

Scanning electron microscopy

The surface morphology of the samples was evaluated by a scanning electron microscope (XL 30 ESEM, Philips) set at 20Kv. Prior the examination, the samples were sputter coated with gold-palladium under argon atmosphere

Results and discussion

Phase solubility studies

Phase solubility diagram is the most used method to evaluate the effect of cyclodextrin aqueous solubility of a drug [14]. The phase solubility profile of 6CN10 in aqueous solutions of HP- β -CD is presented in Fig 2. The solubility of 6CN10 linearly enhanced with increasing HP- β -CD concentration, indicating an A_L -type phase solubility diagram. Considering that the slope value was less than 1 (Table 1), the apparent stability constant of the 6CN10:HP- β -CD complex was calculated from the solubility diagram assuming a 1:1 complex stoichiometry. The value of $K_{1:1}$ was $94M^{-1}$. The apparent solubility of 6CN10 with 0.36M of HP- β -CD was increased in more than 29-fold, confirming the ability of the HP- β -CD in improve the apparent solubility of the 6CN10 and is a sign that occur the formation of inclusion complex between the two molecules.

Table 1 Solubility data of the 6CN10 free and complexed

Samples	Maximal Solubility (mM)	Improved times*	Slope
6CN10 free	0.74	-	-
6CN10:HP- β -CD inclusion complex	21.99	29	0.056

*ratio between drug solubility in the presence of 0.36M of HP- β -CD and drug free in water at 25°C

For poorly soluble drugs, like 6CN10, S_0 is in general much larger than S_{int} , which result in non-linearity of otherwise linear (A_L -type) phase-solubility diagram. This can lead to erroneous $K_{1:1}$ -values. According to Loftsson and Hreinsdóttir (2007) a more accurate method for determination of the solubilizing efficiency of cyclodextrins with poorly soluble drugs is by determining their complexation efficiency due the independence of both S_0 and S_{int} in the calculation [16]. The CE of 6CN10 in HP- β -CD solution, calculated according to Eq. 2, was 0.059. This value indicate that the molar ratio of [6CN10]:[HP- β -CD] was 1:18, which imply that the host will be responsible for a great increase in formulation bulk.

The obtained inclusion complex presented like a yellow powder with a recovery efficiency of 86%.

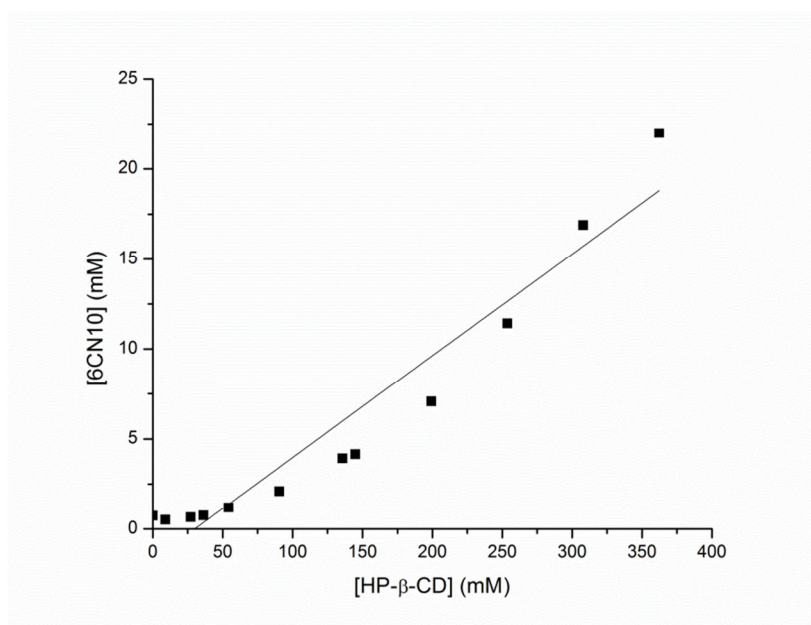


Fig 2 Phase solubility diagram of 6CN10 as a function of HP-β-CD concentrations in water at 25°C (n=3)

Thermogravimetric analysis

Thermal analyses can be used to detect the formation of inclusion complexes. When guest molecules are embedded in CD cavities, their melting, boiling or degradation points generally shift to a different temperature or disappear [6,18,19]. Analyzing the 6CN10 and physical mixture DTA curves can be observed a peak at 186°C with a T_{ONSET} at 183°C, corresponding to the melting point of the drug. However in the inclusion complex this T_{ONSET} changes to 181°C. A reduction on T_{ONSET} in the melting point normally indicates a possible destabilization of the crystal lattice of the compound. This phenomenon indicates an improvement in the drug solubility due the crystalline conformation was changed to an “arrangement” of lower energy. Furthermore, the degradation temperature of the complex, presented in Table 2, shows that the complexation confers stability to 6CN10, since with the complex formation the initial degradation temperature was displaced from 286°C to 321°C. In the physical mixture is also shown a physical delay of the initial degradation temperature, however less effective as compared to inclusion complex.

Table 2 Initial temperatures of melting and degradation of 6CN10, physical mixture and inclusion complex

Samples	T_{ONSET} MELTING POINT	T_{ONSET} DEGRADATION
---------	----------------------------------	--------------------------------

6CN10 free	183.12	286.89
6CN10/HP- β -CD Physical mixture	183.00	314.81
6CN10/HP- β -CD complex	181.33	321.16

X-ray diffraction

Powder X-ray diffractometry is a useful method for the detection of CD complexation in powder or microcrystalline states. The XRD patterns of 6CN10, HP- β -CD, physical mixture and the corresponding inclusion complex are presented in Fig 3. The XRD pattern of pure drug presented several diffraction peaks that prove the crystalline nature of the drug. The HP- β -CD exhibited a typical crystalline diffraction pattern, confirming its amorphous character. The XRD pattern of 6CN10 and HP- β -CD physical mixture with a molar ratio of 1:1 presents the characteristic of the HP- β -CD, whereas some crystallinity peaks of the drug were observed. The sharp peaks of the pattern indicated the retention of the crystalline structure of 6CN10 in the physical mixture. However the XRD pattern of the inclusion complex was evidently different from the XRD patterns of the raw materials, with intense reduction of the sharp peaks, indicating the formation of amorphous material. These results indicate the formation of 6CN10:HP- β -CD inclusion complex

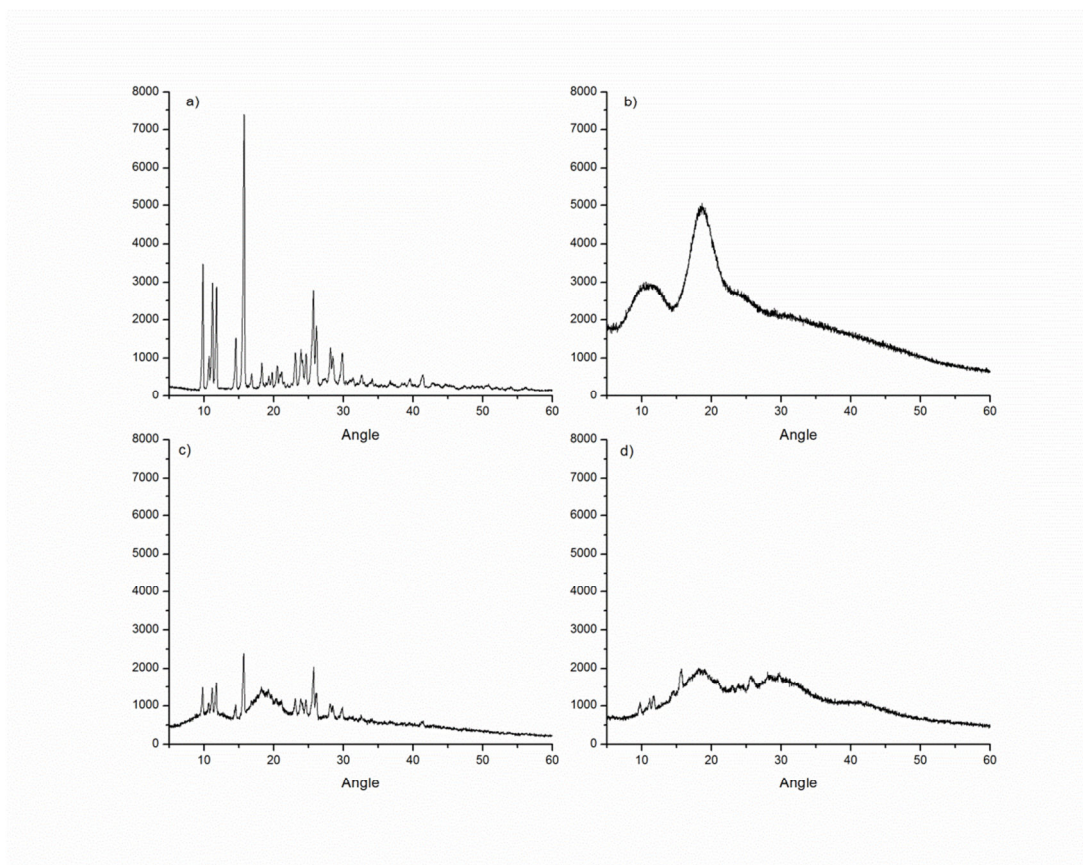


Fig 3 XRD spectra of a) 6CN10, b) HP-β-CD, c) physical mixture and d) 6CN10/ HP-β-CD inclusion complex

Fourier transform infrared and Raman spectroscopy

The FT-IR spectra of 6CN10, HP-β-CD, 6CN10 and HP-β-CD physical mixture and 6CN10:HP-β-CD inclusion complex are presented in Fig 4. The FT-IR spectrum of 6CN10 shows the presence of the main characteristic bands of C-H stretch (aliphatics and aromatics) at 2850-3050 cm^{-1} , the $\text{C}\equiv\text{N}$ stretching at 2221 cm^{-1} and the symmetric and asymmetric stretching vibration of nitro group (NO_2) at 1553 and 1346 cm^{-1} . The most characteristic bands of HP-β-CD appeared at 3402 (O-H - characterizing the presence of intermolecular hydrogen bonds); 2931 (C-H); 1159, 1083 and 1031 (C-H and C-O-C). The results are in agreement with the previous studies [17,20]. The IR spectrum of the physical mixture did not differ significantly from those of the single components and can be interpreted as the linear combination of the corresponding 6CN10 and HP-β-CD spectra. Analyzing the 6CN10:HP-β-CD inclusion complex spectrum is observed a narrowing of the absorption band around 3402 cm^{-1} due the axial deformation of O-H stretch. Alteration in the intensity in this broad peak was previously associated with the formation of inclusion complex [20]. Furthermore, a significantly decrease in

the intensity of all characteristic absorptions bands of 6CN10 was observed, probably owing to a restriction of the vibration related to the complexation process. This phenomenon is better evidenced in the region of the symmetric and asymmetric stretching vibration of the nitro group (bands at 1553 and 1346 cm^{-1}). These changes in FT-IR spectra suggest that the host-guest interaction of the 6CN10 and HP- β -CD must be going through the nitro-phenyl moiety of 6CN10. In addition, no additional peak was detected in the spectrum of complex inclusion, indicating the absence of any chemical reactions between 6CN10 and HP- β -CD.

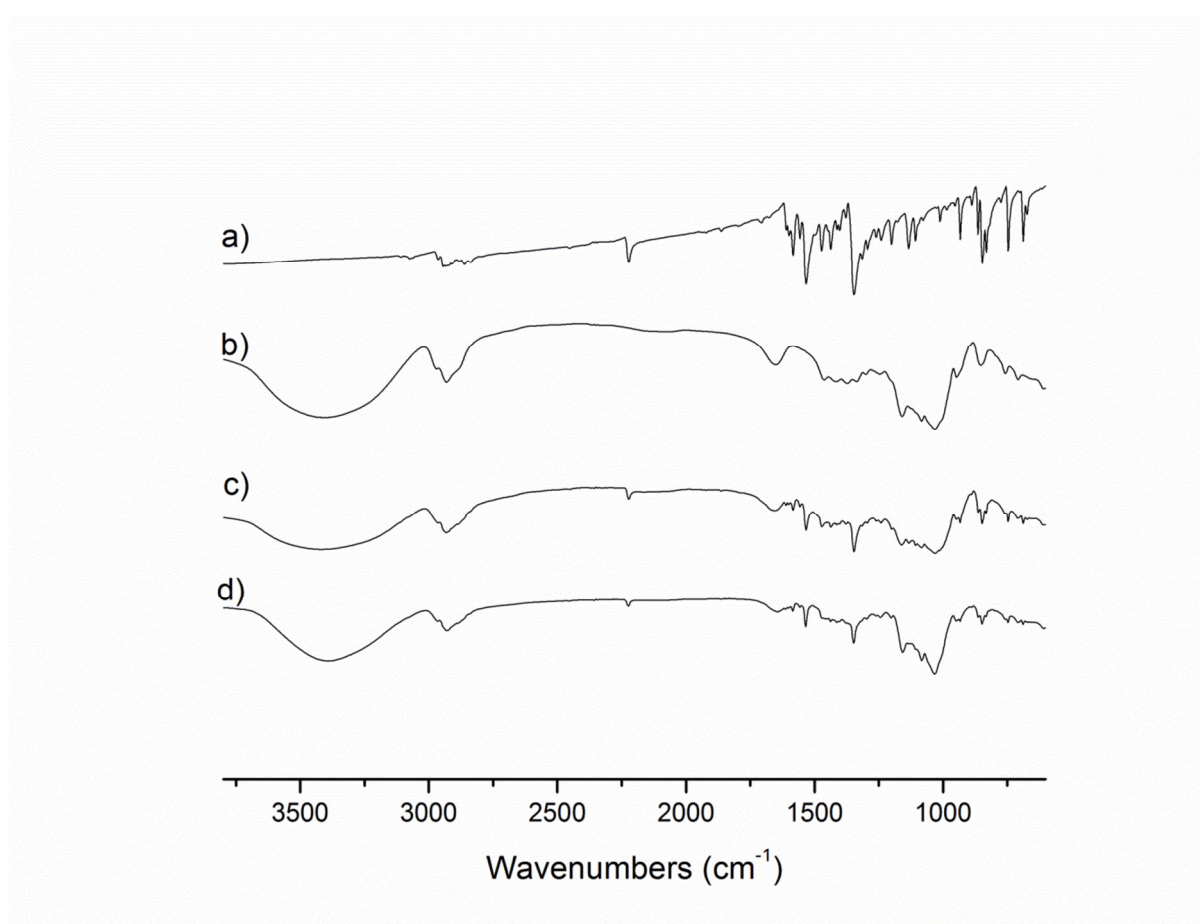


Fig 4 FT-IR spectra of a) 6CN10, b) HP- β -CD, c) physical mixture and d)6CN10:HP- β -CD inclusion complex

Raman spectroscopy has been used as a complementary technique to evaluate inclusion complex [21-24]. This technique presents a clear advantage when compared to the analogous FT-IR spectra due the relative

silence of the cyclodextrin guest in the Raman spectra, which show not any relevant overlap of the spectral patterns, permitting a better comparison between the free and the included molecule [25].

Raman spectra show a decrease in the peaks intensity in the 6CN10:HP- β -CD inclusion complex when compared with the 6CN10 and 6CN10 and HP- β -CD physical mixture spectra (Fig 5). Such attenuation of signal intensity was previously connected to a fall down of electron molecular polarisability within the complex [25,26], probably because the encapsulation of the drug in the CD. Similar to the results obtained in the FT-IR spectra not any spectral difference from the free 6CN10 and 6CN10 in the inclusion complex was observed, reinforce the absence of any chemical reaction between 6CN10 and HP- β -CD

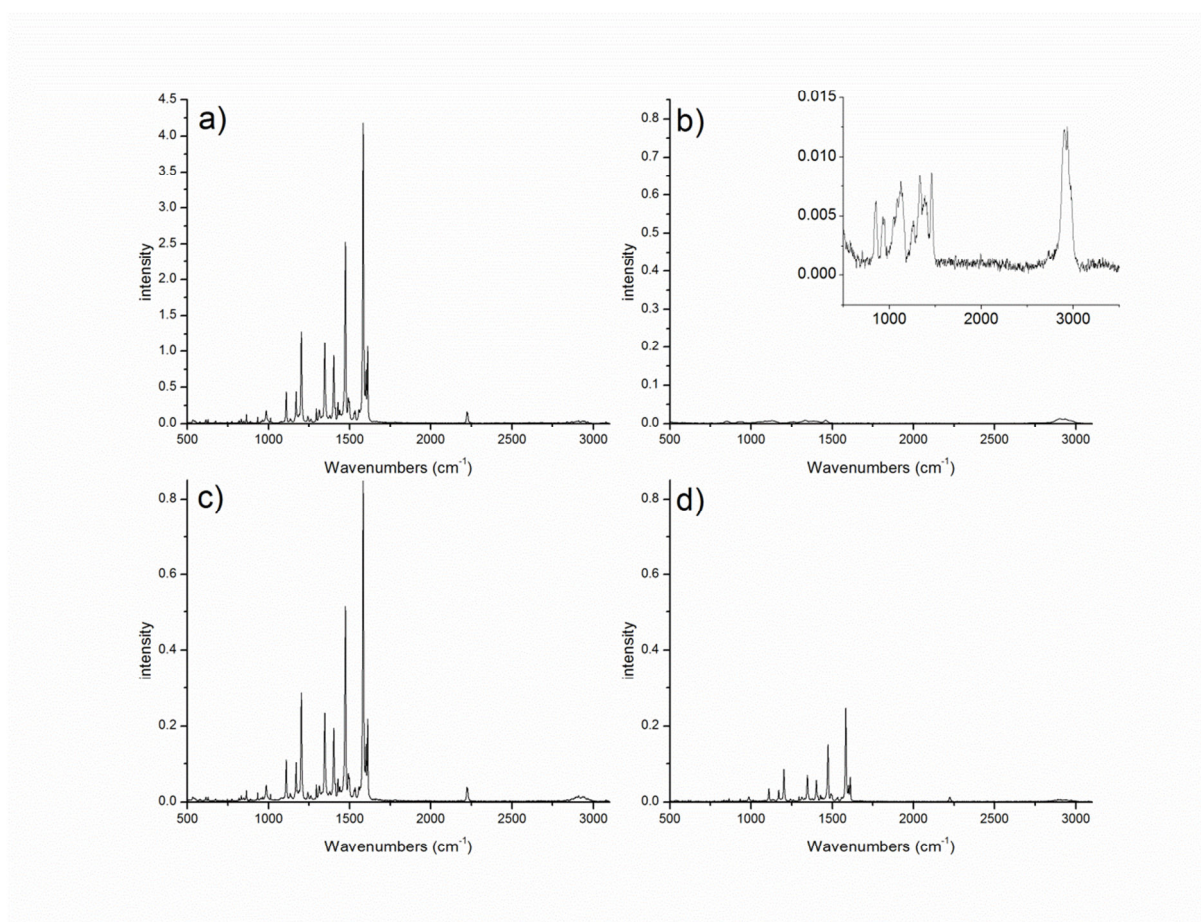


Fig 5 Raman spectra of a) 6CN10, b) HP- β -CD, c) physical mixture and d) 6CN10/ HP- β -CD inclusion complex

Scanning electron microscopy

The SEM photographs of 6CN10, HP- β -CD, 6CN10 and HP- β -CD physical mixture and 6CN10:HP- β -CD inclusion complex are presented in Fig 6. The 6CN10 existed in needle-like crystal, whereas HP- β -CD was observed as amorphous compound. In the 6CN10 and HP- β -CD physical mixture the characteristic of the HP- β -CD and 6CN10 crystal is clearly observed. However, the SEM of the inclusion complex showed that the original morphology of the raw materials disappeared, and it was not possible to differentiate the 6CN10 and HP- β -CD. These changes in the morphologic aspect of the complex samples suggest the existence of a single phase as previous related [27,28]. The comparison of these images suggests the formation of the complex between the 6CN10 and the HP- β -CD.

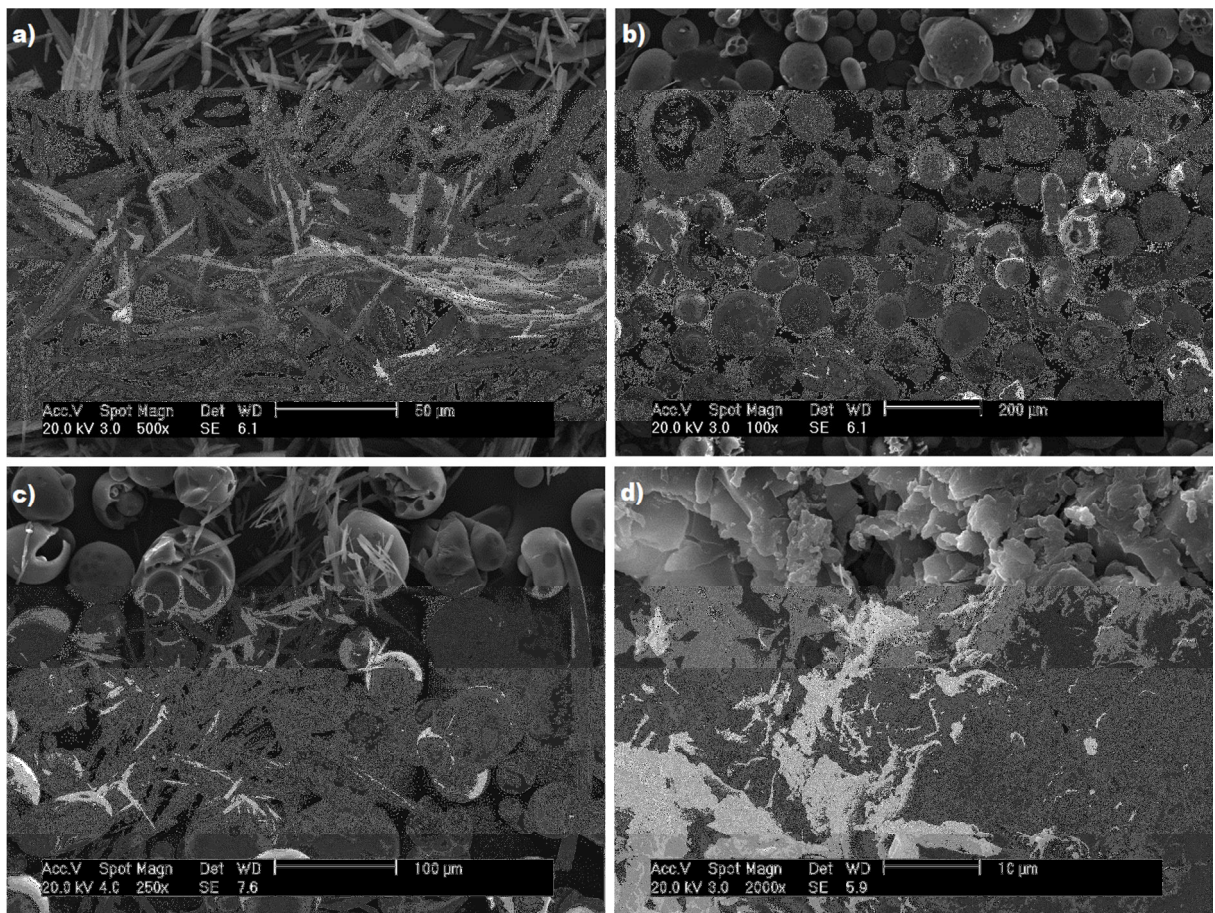


Fig 6 Scanning electron microscopy of 6CN10, b) HP- β -CD, c) physical mixture and d) 6CN10:HP- β -CD inclusion complex

Conclusions

6CN10:HP- β -CD inclusion complex was successfully prepared by freeze-drying method and provides an alternative means of overcoming the low aqueous solubility of the 6CN10. The phase solubility study demonstrated an A_L -type solubility diagram with a stability constant ($K_{1:1}$) of 96 M^{-1} . A 29-fold enhancement of 6CN10 solubility could be achieved in the presence of 0.36M of HP- β -CD when compared to 6N10 alone. Besides, the complexation was able to enhance the apparent solubility and thermal stability of the drug. The results of TG/DTA investigation show that the starting decomposition temperature of 6CN10 was improved about 34°C in the inclusion complex. Furthermore, FT-IR, Raman, TG/DTA, XRD and SEM confirm that the 6CN10:HP- β -CD inclusion complex can lead to modifications on the physicochemical characteristics of the drug. The considerable increase in 6CN10 solubility may potentially increase the *in vivo* antifungal efficacy of 6CN10, allowing the introduction of a new antifungal molecule in the treatment of mycotic diseases.

Acknowledgments

The authors are grateful to PROPESQ-UEPB for the financial support, CTPETRO-INFRA I and FINEP/LIEM for the SEM analysis and for FACEPE/CETENE for the research grant and the DRX and FT-IR/RAMAN analyses.

References

1. Puterova, Z., Krutosikova, A., Vegh, D.: Gewalt reaction: synthesis, properties and applications of substituted 2-aminothiophenes. *Arkivoc*, 209-246 (2010).
2. Souza, B.C.C., De Oliveira, T.B., Aquino, T.M., de Lima, M.C.A., Pitta, I.R., Galdino, S.L., Lima, E.O., Goncalves-Silva, T., Militao, G.C.G., Scotti, L., Scotti, M.T., Mendonca, F.J.B., Jr.: Preliminary antifungal and cytotoxic evaluation of synthetic cycloalkyl b thiophene derivatives with PLS-DA analysis. *Acta Pharmaceutica* **62**(2), 221-236 (2012). doi:10.2478/v10007-012-0017-y
3. Mendonca, F.J.B., Lima-Neto, R.G., de Oliveira, T.B., de Lima, M.D.A., Pitta, I.R., Galdino, S.L., da Cruz, R.M.D., de Araujo, R.S.A., Neves, R.P.: Synthesis and Evaluation of the Antifungal Activity of 2-(Substituted-Amino)-4,5-Dialkyl-Thiophene-3-Carbonitrile Derivatives. *Latin American Journal of Pharmacy* **30**(8), 1492-1499 (2011).
4. Scotti, L., Scotti, M.T., Lima, E.d.O., da Silva, M.S., Alves de Lima, M.d.C., Pitta, I.d.R., de Moura, R.O., Batista de Oliveira, J.G., Duarte da Cruz, R.M., Bezerra Mendonca Junior, F.J.: Experimental Methodologies and Evaluations of Computer-Aided Drug Design Methodologies Applied to a Series of 2-Aminothiophene Derivatives with Antifungal Activities. *Molecules* **17**(3), 2298-2315 (2012). doi:10.3390/molecules17032298
5. Figueiras, A., Ribeiro, L., Vieira, M.T., Veiga, F.: Preparation and physicochemical characterization of omeprazole : methyl-beta-cyclodextrin inclusion complex in solid state. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **57**(1-4), 173-177 (2007). doi:10.1007/s10847-006-9200-4
6. He, Z.-x., Wang, Z.-h., Zhang, H.-h., Pan, X., Su, W.-r., Liang, D., Wu, C.-b.: Doxycycline and hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex in poloxamer thermal sensitive hydrogel for ophthalmic delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **1**(4), 254-260 (2011). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsb.2011.10.004>

7. Hu, L., Zhang, H., Song, W., Gu, D., Hu, Q.: Investigation of inclusion complex of cilnidipine with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers* **90**(4), 1719-1724 (2012). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.057>
8. Del Valle, E.M.M.: Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry* **39**(9), 1033-1046 (2004). doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
9. Wu, H., Liang, H., Yuan, Q., Wang, T., Yan, X.: Preparation and stability investigation of the inclusion complex of sulforaphane with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers* **82**(3), 613-617 (2010). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.020>
10. Carrier, R.L., Miller, L.A., Ahmed, I.: The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. *Journal of Controlled Release* **123**(2), 78-99 (2007). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.07.018>
11. Hwang, Y.Y., Shin, D.C., Nam, Y.S., Cho, B.-K.: Characterization, stability, and pharmacokinetics of sibutramine/ β -cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **18**(4), 1412-1417 (2012). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2012.01.046>
12. Lyra, M.A.M., Soares-Sobrinho, J.L., Figueiredo, R., Sandes, J.M., Lima, A.A.N., Tenorio, R.P., Fontes, D.A.F., Santos, F.L.A., Rolim, L.A., Rolim-Neto, P.J.: Study of benzimidazole-cyclodextrin inclusion complexes, cytotoxicity and trypanocidal activity. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **73**(1-4), 397-404 (2012). doi:10.1007/s10847-011-0077-5
13. Gould, S., Scott, R.C.: 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): A toxicology review. *Food and Chemical Toxicology* **43**(10), 1451-1459 (2005). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2005.03.007>
14. Higuchi, T., Connors, K.A.: Phase-solubility techniques. *Adv. Anal. Chem. Instrum.* **4**, 117-212 (1965).
15. Loftsson, T., Hreinsdóttir, D., Másson, M.: Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. *International Journal of Pharmaceutics* **302**(1-2), 18-28 (2005). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.05.042>
16. Loftsson, T., Hreinsdóttir, D., Masson, M.: The complexation efficiency. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **57**(1-4), 545-552 (2007). doi:10.1007/s10847-006-9247-2
17. Mendonca, E.A.M., Lira, M.C.B., Rabello, M.M., Cavalcanti, I.M.F., Galdino, S.L., Pitta, I.R., Lima, M.d.C.A., Pitta, M.G.R., Hernandez, M.Z., Santos-Magalhaes, N.S.: Enhanced Antiproliferative Activity of the New Anticancer Candidate LPSF/AC04 in Cyclodextrin Inclusion Complexes Encapsulated into Liposomes. *Aaps Pharmscitech* **13**(4), 1355-1366 (2012). doi:10.1208/s12249-012-9853-9
18. Marques, H.M.C., Hadgraft, J., Kellaway, I.W.: Studies of cyclodextrin inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. *International Journal of Pharmaceutics* **63**(3), 259-266 (1990). doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173\(90\)90132-N](http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173(90)90132-N)
19. Shen, C., Yang, X., Wang, Y., Zhou, J., Chen, C.: Complexation of capsaicin with beta-cyclodextrins to improve pesticide formulations: effect on aqueous solubility, dissolution rate, stability and soil adsorption. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **72**(3-4), 263-274 (2012). doi:10.1007/s10847-011-9971-0
20. Wang, J., Cao, Y., Sun, B., Wang, C.: Characterisation of inclusion complex of trans-ferulic acid and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Food Chemistry* **124**(3), 1069-1075 (2011). doi:10.1016/j.foodchem.2010.07.080
21. Heise, H.M., Kuckuk, R., Bereck, A., Riegel, D.: Infrared spectroscopy and Raman spectroscopy of cyclodextrin derivatives and their ferrocene inclusion complexes. *Vibrational Spectroscopy* **53**(1), 19-23 (2010). doi:10.1016/j.vibspec.2010.01.012
22. Iliescu, T., Baia, M., Mioclaus, V.: A Raman spectroscopic study of the diclofenac sodium-beta-cyclodextrin interaction. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **22**(5), 487-495 (2004). doi:10.1016/j.ejps.2004.05.003
23. Li, W., Lu, B., Chen, F., Yang, F., Wang, Z.: Host-guest complex of cypermethrin with beta-cyclodextrin: A spectroscopy and theoretical investigation. *Journal of Molecular Structure* **990**(1-3), 244-252 (2011). doi:10.1016/j.molstruc.2011.01.053
24. Mohan, P.R.K., Sreelakshmi, G., Muraleedharan, C.V., Joseph, R.: Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy* **62**, 77-84 (2012). doi:10.1016/j.vibspec.2012.05.002
25. Arrais, A., Savarino, P.: Raman spectroscopy is a convenient technique for the efficient evaluation of cyclodextrin inclusion molecular complexes of azo-dye colorants and largely polarisable guest molecules. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **64**(1-2), 73-81 (2009). doi:10.1007/s10847-009-9538-5
26. Wubbenhorst, M., van Turnhout, J., Klap, G., Jansen, J.C., Quintel, A., Hulliger, J.: Spontaneous polarization and orientational dynamics of polar rod-like molecules in host/guest materials. *Ieee Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation* **7**(4), 523-530 (2000). doi:10.1109/94.868072

27. Haiyee, Z.A., Saim, N., Said, M., Illias, R.M., Mustapha, W.A.W., Hassan, O.: Characterization of cyclodextrin complexes with turmeric oleoresin. *Food Chemistry* **114**(2), 459-465 (2009).
doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.072
28. Reddy, M.N., Rehana, T., Ramakrishna, S., Chowdary, K.P.R., Diwan, P.V.: beta-cyclodextrin complexes of celecoxib: Molecular-modeling, characterization, and dissolution studies. *AAPS Pharmsci* **6**(1) (2004).
doi:7

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

O complexo de inclusão 6CN10:HP- β -CD foi preparado com êxito pelo método de liofilização, proporcionando um meio alternativo de superar a baixa solubilidade aquosa do 6CN10. A complexação foi capaz de aumentar a solubilidade e estabilidade térmica aparente do fármaco. Os resultados de TG/DTA mostraram que a temperatura inicial de decomposição do 6CN10 foi estendida a cerca de 34°C no complexo de inclusão. Além disso, FT-IR, Raman, TG/DTA, XRD e SEM confirmaram que o complexo de inclusão 6CN10:HP- β -CD pode conduzir a alterações nas características físico-químicas do fármaco. O aumento considerável da solubilidade do 6CN10 pode aumentar potencialmente a eficácia deste fármaco, permitindo a realização de estudos *in vivo* da atividade antifúngica desta molécula para uma avaliação de seu potencial como uma nova molécula de ação antifúngica para ser introduzida no mercado no tratamento de doenças micóticas.

PERSPECTIVAS

PERSPECTIVAS

Este trabalho é parte de um projeto em parceria entre o LSVM/UEPB e o CETENE, financiado pela FACEPE/INCT, intitulado “preparação e caracterização de nanopartículas contendo 6CN10 e complexos de inclusão 6CN10:2-hidroxipropil- β -ciclodextrina”. Como perspectiva futura, pretendemos dar continuidade a este projeto e terminar a caracterização por RMN dos complexos e avaliar a atividade antifúngica *in vitro* dos sistemas obtidos. Também pretendemos caracterizar as nanopartículas obtidas com PCL e o complexo de inclusão e ver se este sistema apresenta vantagens frente às nanopartículas contendo o fármaco livre (dados não apresentados nesta dissertação).

ANEXOS

ANEXO A

Normas para submissão de manuscrito à Revista: Journal of Inclusion Phenomena and Macrocylic Chemistry.



www.springer.com

Química- Organic Chemistry | Journal of Inclusion Phenomena and Macrocylic Chemistry - Incl. option to publish open access



Journal of Inclusion Phenomena and Macrocylic Chemistry

ISSN: 0923-0750 (print version)
ISSN: 1573-1111 (electronic version)
Journal no. 10847

Instructions for Authors

Instructions for Authors

MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink "Submit online" on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

TITLE PAGE

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

TEXT

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- ☞ Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- ☞ Use italics for emphasis.
- ☞ Use the automatic page numbering function to number the pages.
- ☞ Do not use field functions.
- ☞ Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- ☞ Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- ☞ Use the equation editor or MathType for equations.
- ☞ Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

LaTeX macro package (zip, 182 kB)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

SCIENTIFIC STYLE

Please always use internationally accepted signs and symbols for units, SI units.

SCIENTIFIC STYLE

Please use the standard mathematical notation for formulae, symbols etc.:

- Italic for single letters that denote mathematical constants, variables, and unknown quantities
- Roman/upright for numerals, operators, and punctuation, and commonly defined functions or abbreviations, e.g., cos, det, e or exp, lim, log, max, min, sin, tan, d (for derivative)
- Bold for vectors, tensors, and matrices.

REFERENCES

Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].
2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

The entries in the list should be numbered consecutively.

Journal article

Hamburger, C.: Quasimonotonicity, regularity and duality for nonlinear systems of partial differential equations. *Ann. Mat. Pura Appl.* 169, 321–354 (1995)

Article by DOI

Sajti, C.L., Georgio, S., Khodorkovsky, V., Marine, W.: New nanohybrid materials for biophotonics. *Appl. Phys. A* (2007). doi:10.1007/s00339-007-4137-z

Book

Geddes, K.O., Czapor, S.R., Labahn, G.: *Algorithms for Computer Algebra*. Kluwer, Boston (1992)

➤ Book chapter

Broy, M.: Software engineering — from auxiliary to key technologies. In: Broy, M., Denert, E. (eds.) *Software Pioneers*, pp. 10–13. Springer, Heidelberg (2002)

➤ Online document

Cartwright, J.: Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1> (2007). Accessed 26 June 2007

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

EndNote style (zip, 2 kB)

TABLES

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

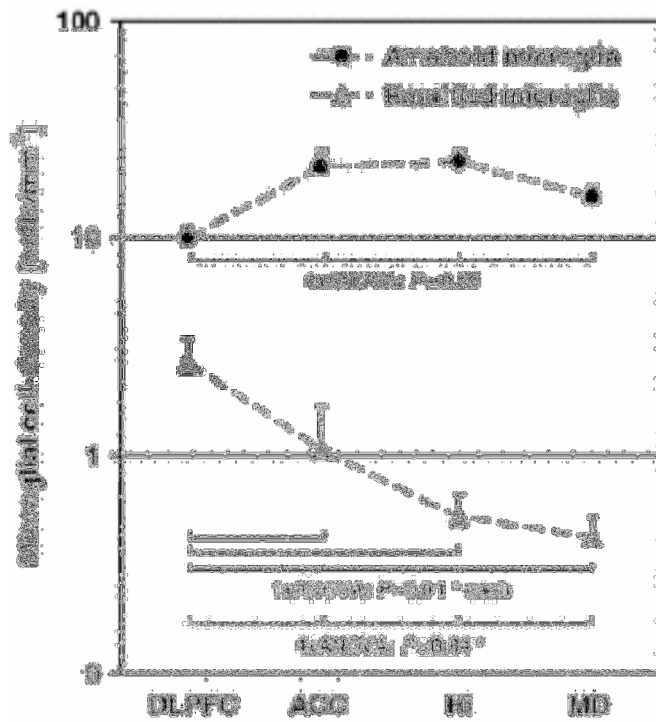
ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

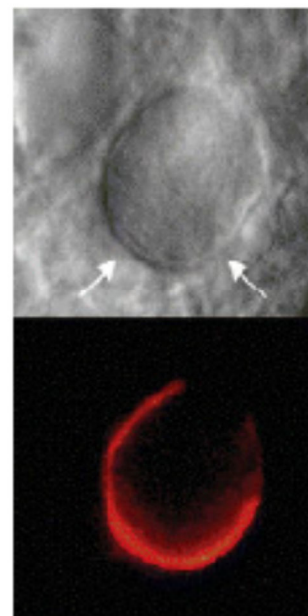
Line Art



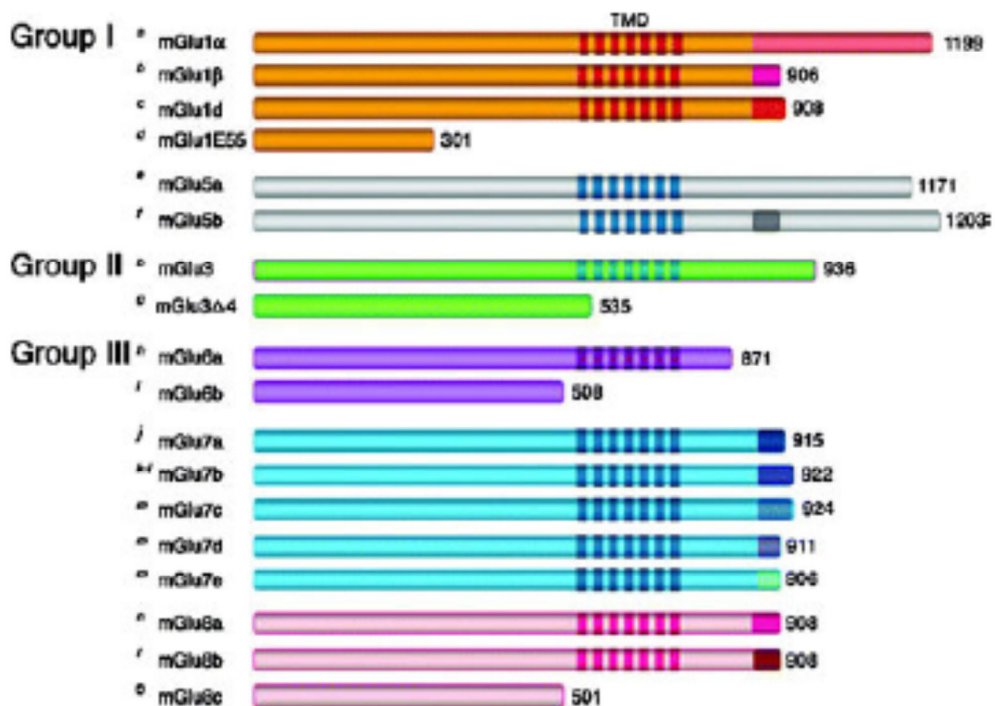
- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.



Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

- Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .vrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".
- Name the files consecutively, e.g. "ESM_3.mpg", "ESM_4.pdf".

Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

- Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

DOES SPRINGER PROVIDE ENGLISH LANGUAGE SUPPORT?

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process.

The following editing service provides language editing for scientific articles in all areas Springer publishes in.

Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.

Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

For Authors from China

文章在投稿前进行专业的语言润色将对作者的投稿进程有所帮助。作者可自愿选择使用Springer推荐的编辑服务，使用与否并不作为判断文章是否被录用的依据。提高文章的语言质量将有助于审稿人理解文章的内容，通过对学术内容的判断来决定文章的取舍，而不会因为语言问题导致直接退稿。作者需自行联系Springer推荐的编辑服务公司，协商编辑事宜。

理文编辑

For Authors from Japan

ジャーナルに論文を投稿する前に、ネイティブ・スピーカーによる英文校閲を希望されている方には、Edanz社をご紹介します。サービス内容、料金および申込方法など、日本語による詳しい説明はエダンググループジャパン株式会社の下記サイトをご覧ください。

エダンググループジャパン

For Authors from Korea

영어 논문 투고에 앞서 영어인에게 영문 교정을 받고자 하시는 분들께 Edanz 회사를 소개해 드립니다. 서비스 내용, 가격 및

신청 방법 등에 대한 자세한 사항은 저희 Edanz Editing Global 웹사이트를 참조해 주시면 감사하겠습니다.

Edanz Editing Global

AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

Springer Open Choice

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

ANEXO B

Artigo publicado na revista BIOFAR v. 9, n.1, p.1-6, ano 2013.

NANOTECNOLOGIA E MEIO AMBIENTE: UMA ANÁLISE SOBRE OS RISCOS E BENEFÍCIOS DESSA TECNOLOGIA EM UM CONTEXTO ATUAL.

¹*Edinete Maria de Faria;* ²*Giovanna Rodrigues de Araújo Eleamen;* ³*Acarília Eduardo Silva;* ⁴*Elisângela Afonso de Moura Mendonça;* ⁵*Elquio Eleamen Oliveira*

RESUMO: A nanotecnologia é uma ciência promissora, multidisciplinar, que se dedica a sintetizar e estudar materiais em escala nanométrica (10^{-9} m). Apesar dos grandes avanços conseguidos com a nanotecnologia para a melhoria do meio ambiente, não se deve subestimar o potencial dano tóxico ambiental dessa nova ciência e tecnologia. As aplicações desses sistemas nos mais diversos setores principalmente, ambiental, embora tragam evidentes benefícios, podem ser indesejáveis quando seus resíduos são liberados de forma descontrolada no ambiente aquático ou terrestre, provocando sérios riscos ambientais. Este artigo se dedica a abordar uma breve visão sobre os benefícios e os possíveis perigos da nanotecnologia em um contexto ambiental.

Unitermos: Nanobiotecnologia, Risco ambiental, Nanotoxicologia.

NANOTECHNOLOGY AND ENVIROMENT: A STUDY ABOUT THE RISKS AND BENEFITS OF THIS TECHNOLGOY IN THE CURRENT CONTEXT

ABSTRACT: Nanotechnology is a very promising multidisciplinary science that is dedicated to the synthesis and investigation of nanosized matters. Despite the great advances in the nanotechnology field for the quality of the environment, the toxic potential of this new science and technology must not be disregarded. Although several applications of the nanosystems, especially in the environment, provide evident benefits, they may also be harmful when their residues are rejected and put in contact with water and soil in an unmanageable way, yielding serious environmental and biological risks. This paper is addressed to the benefits and possible danger of nanotechnology towards the environment.

Uniterms: Nanobiotecnology, Environmental risk, Nanotoxicology.

INTRODUÇÃO

O prefixo nano é derivado da palavra grega Vávoc <nános> que significa “anão”. Nano é um termo técnico usado em qualquer medida, significando um bilionésimo dessa unidade, por exemplo, um nanômetro equivale a um bilionésimo de um metro ($1 \text{ nm} = 1/1.000.000.000 \text{ m}$) ou aproximadamente a distância ocupada por cerca de 5 a 10 átomos, dispostos de maneira a formar uma linha. Dessa forma, nanotecnologia significa a habilidade de manipular átomo por átomo na escala compreendida entre 0,1 e 100 nm para criar estruturas maiores fundamentalmente com nova organização estrutural e, normalmente, para fins comerciais. É uma ciência multidisciplinar que inclui conhecimentos da biologia, física,

química, engenharia, matemática, computação e de outros ramos da ciência (Duran; Mattoso; Morais, 2006).

Segundo Fortunato (2005), a nanotecnologia investiga e desenvolve novos materiais e processos com propriedades funcionais diferentes dos materiais comuns. Essas alterações estruturais podem afetar características físicas, químicas, mecânicas e biológicas que poderão levar à criação de materiais com características incomparáveis (Cadioli & Salla, 2006). Na verdade, a alteração das propriedades de um material ao atingir a escala nanométrica se deve à combinação de dois fatores. Enquanto, por um lado, é em objetos com essas dimensões que os efeitos quânticos se manifestam de maneira mais evidente, por outro, se observa que quanto menor for o tamanho da partícula, mais importantes se tornam os efeitos de superfície, pelo aumento da proporção entre sua área e seu volume (Melo & Pimenta, 2004). O tamanho da partícula é de suma importância porque muda a natureza das interações das forças entre as moléculas do material e assim, muda o comportamento que estes processos ou produtos nanotecnológicos tem, junto ao meio ambiente, à saúde humana e à sociedade como um todo (Martins, 2009).

Existem dois procedimentos gerais para se obter materiais na escala nanométrica. Uma primeira abordagem, o chamado procedimento *bottom up* (“de baixo para cima”) consiste em tentar construir o material a partir de seus componentes básicos (ou seja, seus átomos e moléculas), da mesma forma que uma criança monta uma estrutura ao conectar as peças de um Lego. Por outro lado, é também possível fabricar um objeto nanométrico pela eliminação do excesso de material existente em uma amostra maior do material, à semelhança da maneira como um artista trabalha os pequenos detalhes em uma escultura, fazendo o cuidadoso desbaste do supérfluo ou excedente de um grande bloco de pedra ou madeira. Este procedimento *top down* (“de cima para baixo”) normalmente se vale das chamadas técnicas de litografia, que correspondem a uma série de etapas de corrosão química seletiva e extremamente precisa para a preparação final do objeto nanométrico a partir de um bloco macroscópico do material (Melo & Pimenta, 2004).

Os estudos referentes à nanotecnologia, desde a sua descoberta, vem sendo cada vez mais aprofundados levando à construção de diversos sistemas de utilidade humana e ambiental. No entanto, esta tecnologia tem uma vasta aplicação que vai além da área ambiental, promovendo desse modo, avanços na área médica, eletrônica e biotecnológica (Flores & Engelmann, 2009).

Algumas de suas aplicações atuais envolvem, por exemplo, a criação de tecidos resistentes a manchas e que não amassam; raquetes e bolas de tênis com maior durabilidade; utensílios domésticos com características antimicrobianas; biossensores; aditivos nutracêuticos; sistemas de filtros para ar e água, cosméticos, microprocessadores e equipamentos eletrônicos com melhor desempenho (Marcolino, 2008).

Porém, estudos desenfiados com a disposição de vários produtos no mercado podem provocar conseqüências, ainda imensuráveis, devido à falta de conhecimento específico sobre a causa/efeitos destes. Por estes motivos, torna-se imprescindível a construção de estudos relacionados aos possíveis efeitos, ou até mesmo, aos danos causados ao meio ambiente e ao ser humano. Com o grande número de trabalhos na área de nanotecnologia e nanomateriais, faz-se necessário um levantamento sobre a segurança e toxicidade destes produtos e procedimentos de investigação e segurança, principalmente quando da manipulação dos nanossistemas para veiculação *in vivo* (Jain, 2005). Vários trabalhos vêm sendo publicados levando em consideração os riscos para saúde humana e ambiental advindos desta nova tecnologia (Dulley, 2007).

Neste contexto, a nanotecnologia vem a cada dia se tornando parte da nossa realidade. À medida que a nanotecnologia avança, toda a sociedade passa a se envolver com este assunto, seja direta ou indiretamente, especialmente na medida em que novos produtos

contendo materiais nanoestruturados chegam ao mercado consumidor (Silva, 2008). A avaliação das significações éticas, das implicações tecnológicas, políticas e sociais subjacentes à introdução das nanotecnologias no Brasil e de seus desafios na legislação, na política e na ética, bem como a análise de suas oportunidades e possibilidades requerem a superação de obstáculos amparados no dogma da diferença epistemológica e metodológica entre as ciências humanas e naturais (Da Silva, 2003).

Uma preocupação com relação à toxicidade das nanopartículas reside principalmente no fato delas não terem sido produzidas e utilizadas em produtos comerciais em tão larga escala como atualmente. Logo, o risco de alcançarem os diferentes compartimentos ambientais (atmosfera, águas e solo) e se tornarem disponíveis é muito grande. Além disso, muitos sistemas nanoparticulados que estão atualmente em uso são produzidos com metais de transição, silício, carbono e óxidos metálicos, sendo altamente tóxicos. (Dreher, 2004).

Mesmo na sociedade de riscos, na qual as necessidades do homem obrigam que se recorra aos avanços tecnológicos que, por sua vez, geram riscos, as pessoas precisam estar informadas para decidirem se querem correr estes riscos. Embora o desenvolvimento tecnológico e, conseqüentemente econômico seja necessário e desejável, ele não pode vir desacompanhado das preocupações éticas, sociais e jurídicas. Observar o equilíbrio ambiental e o bem-estar da sociedade é essencial para progredir (Sebastião, 1998), portanto, a possibilidade de ganho econômico jamais pode servir de argumento para justificar a degradação do meio ambiente e o comprometimento da qualidade de vida das gerações presentes e futuras.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada revisão da literatura nacional e internacional abordando publicações entre os anos de 1998 a 2011, sem critério de escolha. Essa pesquisa foi feita por intermédio de buscas sistemáticas utilizando os bancos de dados eletrônicos: science direct, google e web of science, além do acervo bibliográfico disponível nas bibliotecas da Universidade Estadual da Paraíba e Universidade Federal da Paraíba. Os termos de pesquisa (palavras-chaves e delimitadores) foram utilizados em várias combinações: 1) Nanotecnologia e Meio Ambiente, 2) Riscos e Benefícios da Nanotecnologia, 3) Legislações da Nanotecnologia. A pesquisa foi realizada a fim de revisar e evidenciar os riscos e benefícios da nanotecnologia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

USO DA NANOTECNOLOGIA PARA MELHORIAS NO MEIO AMBIENTE

A nanotecnologia como ciência promove a produção de materiais que são de extrema importância dentro de varias indústrias, como: farmacêutica, cosmética, alimentícia, entre outras. Segundo Martins & Braga (2009) as aplicações desta ciência podem-se dar na medicina e saúde, tecnologia de informação, produção e armazenamento de energia, ciência dos materiais, alimento, água e meio ambiente, instrumentos, fármacos, células-combustível e exploração espacial. Ela oferece a possibilidade de introdução de tecnologias mais eficientes e ambientalmente mais saudáveis do que aquelas usadas atualmente (Elcock, 2007) e um potencial para produzir bens de consumo com rendimento de materiais muito maior, de produção de resíduos muito menor e fontes de poluição química reduzida (Zhang, 2003; Silva, 2007).

A nanotecnologia, além de influenciar na economia também exhibe muitas possibilidades de melhoria na qualidade de vida (Hyder, 2003). Na área de prevenção da poluição ou dos danos indiretos ao meio ambiente, por exemplo, destaca-se o uso de nanomateriais catalíticos, os quais maximizam a eficiência e a seletividade de processos industriais, promovendo um maior aproveitamento de matérias primas, com reduzido dispêndio de energia e menor produção de resíduos indesejáveis. Outra forma de prevenção

ao meio ambiente é através do tratamento ou remediação da poluição com a utilização de nanopartículas, isso porque a grande área superficial dessas partículas lhes confere, em muitos casos, excelentes propriedades de adsorção de metais e substâncias orgânicas (Batista et al., 2009). A etapa subsequente de coleta das partículas e remoção de poluentes pode ser facilitada pelo uso, por exemplo, de nanopartículas magnéticas (Ye et al., 2006).

As propriedades redox ou de semicondutor das nanopartículas podem ser aproveitadas em processos de tratamento de efluentes industriais e de águas e solos contaminados baseados na degradação química ou fotoquímica de poluentes orgânicos (Quina, 2004). As nanopartículas magnéticas tem um potencial enorme para aplicações em diversas vertentes tecnológicas. Vários métodos tem sido propostos nestes últimos anos para a separação de metais de águas residuais usando nanopartículas magnéticas (Ngomsik et al., 2005). As nanopartículas superparamagnéticas lipofílicas, por possuírem uma cadeia carbônica longa, podem interagir com substâncias hidrofóbicas. Esta interação é de grande importância ambiental por conseguirmos retirar poluentes do meio utilizando um campo magnético, facilitando assim a remediação ambiental (Netto et al., 2004).

Outro benefício promovido pela nanotecnologia é a fabricação de nanosensores e nanocatalisadores cada vez menores e mais sensíveis (Ramos et al., 2009). Um exemplo prático é a utilização de sensores de gás baseados em nanotecnologia que monitoram a poluição em várias estações terrestres. O sensor é portátil, oferece concentrações de poluição do solo de forma instantânea e precisa, e pode ser facilmente implementado para divulgar dados de poluição em tempo real para um servidor web que fornece uma perspectiva topológica dos locais monitorados (Vaseashta et al., 2007; Sebastião, 1998; Assal et al., 2007).

A aplicação de nanomateriais na descontaminação ambiental é decorrente da alta reatividade química apresentada por estes materiais. O fotocatalisador TiO_2 , principalmente na sua forma anatase, é o nanomaterial mais estudado para a fotodegradação de compostos orgânicos (Paschoalino; Marconi; Jardim, 2010). O ferro em nanoescala zero-valente também foi identificado como sendo um produto de recuperação ambiental de interesse, já que não é tóxico, abundante e menos dispendioso, provando ser útil para reduzir ou transformar vários tipos de compostos orgânicos e inorgânicos que são ambientalmente contaminantes (Joo, 2006). Dentro dessas perspectivas, a nanotecnologia se posiciona de maneira prioritária para a revitalização e reabilitação do meio ambiente. Anteriormente, foram publicadas as dez aplicações mais importantes da nanotecnologia, a saber: 1) Produção, armazenamento e conversão de energia; 2) Aumento da produtividade agrícola; 3) Remediação e tratamento da água; 4) Mapeamento e diagnóstico de doenças; 5) Sistemas para liberação de moléculas ativas; 6) Armazenamento e processamento de alimentos; 7) Controle e remediação dos efeitos da poluição do ar; 8) Construção; 9) Monitoramento da saúde e 10) Detecção e controle de pragas e seus vetores (Toma, 2005).

No que diz respeito às técnicas de produção, a nanotecnologia permite uma melhoria, sem precedentes, na qualidade de fabricação de novos materiais. Assim, é possível fabricar materiais mais compactos, utilizando menos matéria-prima. Porém, se por um lado os novos produtos tecnológicos trazem grandes benefícios, por outro lado podem ocasionar sérios riscos tanto à saúde humana quanto ambiental.

RISCOS DA NANOTECNOLOGIA PARA O MEIO AMBIENTE

Não há dúvida de que a nanotecnologia oferece a perspectiva de grandes avanços que permitem melhorar a qualidade de vida e ajudar a preservar o meio ambiente. Entretanto, como qualquer área da tecnologia que faz uso intensivo de novos materiais, ela traz consigo riscos ao meio ambiente e à saúde humana (Quina, 2004). Esses riscos se devem, principalmente, à grande reatividade apresentada por partículas em escala nanométrica.

De acordo com informe da seguradora Swiss Re, nanopartículas com características coloidais poderiam ser ideais para transporte a longa distância de materiais tóxicos como contaminantes hidrofóbicos e metais pesados. Essas nanopartículas tem como atributo principal a facilidade de dispersão, dificultando sua remoção por técnicas habituais de filtração (Batista et al., 2009). Além disso, o tempo de residência das nanopartículas e seus agregados no ar pode ser diferente de partículas maiores e as taxas de oxidação e dissolução, que são altamente dependentes da área de superfície, podem aumentar drasticamente à medida que diminui o tamanho da partícula (Guzmán; Taylor; Banfield, 2006).

Devido a isso, mesmo com os benefícios provenientes da aplicação de técnicas nanotecnológicas, existe uma preocupação quanto à liberação indiscriminada dessas nanopartículas no meio ambiente, pois em curto prazo, não se pode avaliar com precisão os efeitos indesejáveis que podem ocorrer. Para Paschoalino, Marcone, Jardim (2010) a preocupação com a liberação desses novos produtos também está fortemente relacionada ao fato de apresentarem alto grau de citotoxicidade quando dispostos no ambiente.

Outros nanomateriais que podem apresentar riscos ao meio ambiente são os baseados em carbono, como os fulerenos, os nanotubos de carbono de parede simples ou múltipla e as nanopartículas e nanofibras de carbono. Sabe-se que nanopartículas provenientes da queima de combustível de aeronaves, as quais são constituídas principalmente por nanofibras de carbono, podem ter uma influência direta sobre fenômenos que ocorrem na estratosfera, podendo alterar o clima devido à absorção/reflexão da radiação solar, o ciclo de formação das nuvens e o processo de destruição de ozônio pela inclusão de uma área superficial ativa adicional (Paschoalino; Marcone; Jardim, 2010). Em compartimentos ambientais, os nanotubos de carbono podem ser biodisponíveis aos organismos. Suas propriedades sugerem possível acúmulo na cadeia alimentar e elevado tempo de degradação. Em organismos biológicos, sua absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade dependem de características físicas e químicas influenciadas por condições ambientais externas durante a produção, uso e eliminação dos nanotubos de carbono (Helland et al., 2007). Dessa forma, não é possível negar que essas novas tecnologias ocasionam o aparecimento de novos riscos que influenciam diretamente em sistemas orgânicos e fatores climáticos (Silva, 2007).

Apesar da nanotecnologia estar presente atualmente em quase todos os aspectos da vida contemporânea de uma maneira impossível de recusá-la ou contê-la, resta a sociedade exigir uma indagação mais minuciosa dessas inovações, visando, dessa forma, a proteção do meio ambiente e, conseqüentemente o nosso bem estar. Dados toxicológicos e de biodegradação sobre nanopartículas são escassos, mesmo existindo produtos comerciais no mercado. Os critérios utilizados para determinar a toxicidade das substâncias na escala macro não trazem certezas quando confrontados com a nanotecnologia. Não existem metodologias confiáveis para estabelecer diferença entre as propriedades encontradas na "macroescala" e na "nanoescala". Muitos dos riscos específicos associados com a nanotecnologia podem se confirmar como inexistentes. No entanto, como essa tecnologia emergente interage com o ser humano e o meio ambiente, pode dar origem a conseqüências indesejadas (Mahajan & Roop, 2006).

Esses novos produtos e tecnologia ainda não possuem uma acumulação histórica de informações que assegurem, claramente, em relação ao conhecimento de um determinado tempo as conseqüências que poderão advir de sua liberação no ambiente (Antunes, 2006). É verdade que já existem diversos produtos no mercado, sem que tenha havido uma avaliação profunda de seus riscos. É importante evidenciar que no Brasil ainda não existem leis e dispositivos capazes de prevenir ou até mesmo abordar as peculiaridades dessa nova revolução tecnológica. As normas jurídicas que podem ser utilizadas para, por exemplo, autorizar a comercialização de um determinado produto nanotecnológico para a agricultura não diferem das normas e critérios técnicos para os demais produtos, pois não existe uma

diferenciação pelo Direito entre o tratamento legal da nanotecnologia e de outras tecnologias (Berger Filho, 2009).

Devido ao grande número de sistemas nanoparticulados e nanomateriais, um dos desafios é categorizar e priorizar estes para efeitos de avaliação de risco. Portanto, a legislação existente deve ser modificada para torna-se mais adequada com a nanotecnologia e as metodologias de avaliação de risco também terão que ser adaptadas para introduzir aglomeração, tamanho das partículas, forma e reatividade superficial no critério de avaliação (Dsilva, 2008). Há uma série de leis já existentes, nomeadas Lei de Controle de Substâncias Tóxicas, Lei de Segurança e Saúde Ocupacional e as principais leis ambientais: Lei do Ar Limpo, Lei da Água Limpa e Conservação de Recursos que fornecem uma base legal para a revisão e regulamentação dos materiais nanotecnológicos. No entanto, todas estas leis fornecem uma base pouco consistente para identificar e proteger a população contra os potenciais riscos da nanotecnologia (Davies, 2006).

CONCLUSÕES

O conhecimento referente à nanotecnologia amplia-se cada vez mais a partir do estudo do tema proposto, pois quanto maior o aprofundamento na pesquisa, maior foi a convicção de que se iniciava algo complexo e que de forma alguma teria como exaurir o conteúdo. Ao contrário, novas possibilidades foram visualizadas e, somente o tempo e a persistência no desenvolvimento desse assunto permitirão nivelar limites até hoje desconhecidos, pois a nanotecnologia vem oferecendo oportunidades para o surgimento de novos produtos com funções e características diferentes e muitas vezes superiores aos materiais tradicionais. Trata-se de uma ciência multidisciplinar que necessita, portanto, do conhecimento de outras ciências, interagindo com os sistemas em seu entorno, rompendo, assim, os paradigmas tradicionais, o que levará a formação de áreas do conhecimento totalmente novas, bem como a formação de futuros pesquisadores. A nanotecnologia, no entanto, deve ser imaginada como uma inovação tecnológica que, ao mesmo tempo em que produz efeitos positivos também pode gerar efeitos negativos. Quando se pensa nos impactos da nanotecnologia sobre o meio ambiente, conclui-se que ainda não se pode responder a todos os campos possíveis, pois se sabe que o potencial tecnológico evoluirá cada vez mais e causará mudanças ainda indefinidas e os trabalhos referentes à toxicidade desses novos produtos são escassos e controversos entre si. Em se tratando das melhorias advindas destes novos produtos, não restam dúvidas de que a nanotecnologia traz consigo várias vantagens, desde a capacidade de remover substâncias contaminantes do meio aquoso até benefícios impensáveis, surgindo assim, uma constante tensão entre os benefícios do avanço tecnológico e os riscos desconhecidos dessa nova tecnologia. Dentro de tantas incertezas é possível afirmar que a sociedade nunca se deparou com uma mudança tão drástica, que atinge tantos segmentos com o surgimento em tão larga escala desses novos produtos, sendo por isso, necessário estudá-los profundamente para entender o que seja apoiado pela razão e os potenciais que essa transformação científico-tecnológica pode tornar realidade. Contudo, uma análise mais aprimorada e específica somente será possível com o auxílio de uma criteriosa abordagem da avaliação quanto à exposição e efeitos causados pelos mesmos. A considerável elevação na comercialização desses produtos e o seu aporte principalmente em ecossistemas aquáticos causariam desequilíbrios enormes aos mesmos, e por outro lado também benefícios incalculáveis. O ideal é que surjam novas legislações indicando valores guia para cada produto de base nanométrica, além das novas tecnologias de tratamento para os resíduos resultantes desses produtos, pois o conhecimento dos riscos que os nanomateriais causam ao ambiente será de fundamental importância para que a sua produção, comercialização e descarte sejam feitos de forma adequada e segura, visando, assim, à comercialização de

produtos que obedeçam aos padrões exigidos pela legislação quanto aos aspectos ambientais e de saúde pública.

REFERÊNCIAS

Antunes, P. B. (2006). *Direito Ambiental*. 1. ed. Rio de Janeiro: Lumen Juris

Assal, A.; Py, J.Y.; Corbi, C.; Barlet, V.; Roubinet, F.; De Micco, P. (2007). Future technological evolutions in blood donation qualification. *Transfus Clin Bil*, 14(1):132-141.

Batista, R. S.; Souza, R. R. M.; Silva, L. M.; Silva, C. A.; Prado, H. J. P.; Rôças, G. (2009). Nanotecnologia e ensino de ciências à luz do enfoque CTS: uma viagem a Lilliput. *Ciências&ideias*, 1(1):76-86.

Berger Filho, A. G. (2009). Nanotecnologia e o princípio da precaução na sociedade de risco. *Revista Âmbito Jurídico*, 14(2359):1-8.

Cadioli, I. P.; Salla, I. D. (2006). Nanotecnologia: um estudo sobre seu histórico, definição e principais aplicações desta inovadora tecnologia. *Ciências exatas e tecnologia*, 1(1):98-105.

Da Silva, M. B. (2003). Nanotecnologia: considerações interdisciplinares sobre processos técnicos, sociais, éticos e de investigação. *Impulso*, 14(35):75-93.

Davies, J. C. (2006). *Managing the Effects of Nanotechnology*. 1. ed. Woodrow Wilson.

Dreher, K. L. (2004). Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles. *Toxicological Sciences*, 3:3-5.

Dsilva, J. (2008). Regulating Nanomedicine: A European perspective. *European Environmental Law Review*, 3(3):1-4.

Dulley, R. D. (2007) Biossegurança: muito além da biotecnologia. *Rev. de Economia Agrícola*, 54(2):27-41.

Durán, N.; Mattoso, L. H. C.; Morais, P. C. (2006). *Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação*. 1 ed. São Paulo: Artelier.

Elcock, D. (2007). *Potential Impacts of Nanotechnology on Energy Transmission Applications and Needs*. 1 ed. Oak Ridge: U.S. Department of Energy.

Fortunato, E. (2005). *As metas da nanotecnologia: aplicações e implicações*. 1 ed. Lisboa: FCT

Flores, A. S.; Engelmann, W. (2009). Direitos humanos e nanotecnologias: o fascínio da criatividade em espaços cada vez menores. *Direitos culturais*, 4(7):157-170.

Guzmán, K. A.; Taylor, M. R.; Banfield, J. F. (2006). Environmental risks of nanotechnology: National nanotechnology initiative funding, 2000-2004. *Environ. Sci. Technol.*, 40(5):1401-1407.

Helland, A.; Wick, P.; Koehler, A.; Schmid, K.; Som, C. (2007). Reviewing the environmental and human health knowledge base of carbon nanotubes. *Ciência e Saúde Coletiva*, 13(2):441-452.

Hyder, M. A. H. (2003). *Nanotechnology and environment: potential Applications and Environmental Implications of Nanotechnology*. 221p. (Dissertação de Mestrado) Environmental Engineering Technical University Of Hamburg-Harburg-Alemanha.

Jain, k. K. (2005). The role of nanobiotechnology in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 10(21):37-43.

Joo, S. H. (2006). *Nanotechnology for environmental remediation*. 1 ed. Auburn: Spriner.

Mahajan, E. F.; Roop, L. (2006). Nanotechnology legislation: Contradictory intent? US federal legislation on integrating societal concerns into nanotechnology research and development. *Science And Public Policy*, 33,(1):5-16.

Marcolino, A. (2008). Nanotecnologia: conhecer para enfrentar os desafios. *Nota técnica*, 76:1-10.

Martins, P. (2009). Nanotecnologia e meio ambiente para uma sociedade sustentável. *Estudios Sociales*, 17(34)293-309.

Martins, P. R.; Braga, R. (2007). Nanotecnologia: promessas e dilemas da revolução invisível. *IIEP*, 1:1-10.

MELO, C. P.; PIMENTA, M. Nanociências e nanotecnologia (on line).18: 9-22. - http://seer.cgee.org.br/index.php/parcerias_estrategicas/article/viewFile/130/124. Acesso em novembro/2011.

Netto, C. G. C. M.; Nakamura, M.; Alexiou, A. D. P.; Toma, H. E. (2004). Nanopartículas superparamagnéticas lipofílicas. *29ª Reunião da Sociedade brasileira de química*, Águas de Lindóia-SP, Brasil. p.1-2.

Ngomsik, A. F.; Bee, A.; Draye, M.; Cote, G.; Cabuil, V. (2005). Magnetic nano- and microparticles for metal removal and environmental applications: a review. *Comptes Rendus Chimie*, 8(6-7):963-970.

Paschoalino, P. M., Marcone, S. P. G., Jardim, F. W. (2010). Os nanomateriais e a questão ambiental. *Quím. nova*, 33(2):421-430.

Quina, F. H. (2004). Nanotecnologia e o meio ambiente: perspectivas e riscos. *Quím. Nova*, 27(6):1028-1029.

Ramos, S. F.; Martins, R.; Dulley, R. D.; Assumpção, R.; Nogueira, E. A.; Junior S. N.; Barbosa, M. Z.; Lacerda A. L. S. (2009). Reflexões acerca das nanotecnologias e as novas densidades técnicas-científicas-informacionais na agricultura. *Estudios Sociales*, 14(34):312-324.

Sebastião, J. (1998). A aplicabilidade da teoria dinâmica de distribuição. *Revista jurídica unijus*, 1(1):1-272.

Silva, E. M. P. (2008). A tecnologia, suas estratégias, suas trajetórias. *Ciência e cultura*, 60:13-21.

Silva, T. E. (2007). Efetividade do direito ambiental diante das inovações tecnológicas do século XXI. *Interfaces*, 1(3):1-10.

Toma, E. H. (2005). Interfaces e organização da pesquisa no Brasil: da química à nanotecnologia. *Quím nova*, 28: 548-551.

Vaseashta, A.; Vaclavikova, M.; Vaseashta, S.; Gallios, G.; Roy, P.; Pummakarnchana, O. (2007). Nanostructures in environmental pollution detection, monitoring, and remediation. *Sci. and Technol. of Adv. Mater.*, 8(1-2):47-59.

Zhang, W. X. (2003). Nanoscale iron particles for environmental remediation: an overview. *Journal of Nanoparticle Research*, 5(3-4):323-332.

Ye, X. R.; Dario, C.; Wang, C.; Talbot, J. B.; Jin, S. (2006). Room temperature solvent-free synthesis of monodisperse magnetite nanocrystals. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6:852-856.