

Isabel Malta Carvalho

Ciclodextrinas: novas aplicações

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Porto, 2013

Isabel Malta Carvalho

Ciclodextrinas: novas aplicações

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Porto, 2013

Isabel Malta Carvalho

Ciclodextrinas: novas aplicações

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.

SUMÁRIO

O grande investimento científico na área farmacêutica, biotecnológica, médica, alimentar e ambiental observado nas últimas décadas, resultou no surgimento de novas moléculas com potencial terapêutico. No entanto a maior parte destas moléculas apresenta sérias limitações que dificultam a sua aplicabilidade, como baixa solubilidade aquosa, instabilidade, baixa biodisponibilidade, efeitos adversos graves ou até características organolépticas indesejáveis. Com o objetivo de ultrapassar estes obstáculos, as ciclodextrinas começaram a ganhar protagonismo, pois devido à sua natureza anfifílica são capazes de complexar moléculas hidrófobas ou partes destas, bem como moléculas hidrófilas. Adicionalmente, fornecem um microambiente protetor à molécula complexada, evitando deste modo a sua degradação, e melhorando as suas características organolépticas, e através de derivatização é possível modificar a velocidade de libertação e local de libertação de fármacos, sendo deste modo bastante úteis no tratamento de diversas doenças. Para além das vantagens como excipientes, as ciclodextrinas apresentam potencialidades como moléculas terapêuticas, tais como o tratamento da doença Niemann Pick tipo C e reversão do bloqueio neuromuscular após cirurgia. Estas descobertas abrem o caminho para aplicações futuras. A presente dissertação apresenta uma visão geral sobre os vários aspetos físico-químicos das ciclodextrinas, as suas aplicações atuais nos ramos da farmácia e cosmética, e as suas aplicações novas e especializadas.

ABSTRACT

The great scientific investment in the pharmaceutical, biotechnological, medicinal, dietetic and environmental areas experienced in the last decades has led to the arise of new molecules with therapeutic potential. However, most of these molecules present serious limitations that hinder their applicability, such as low aqueous solubility, instability, low bioavailability, instability, severe side effects and even undesirable organoleptic characteristics. In order to overcome these setbacks, cyclodextrins have gained relevance. Due to their amphiphilic nature, they are able to form complexes with hydrophobic molecules or their hydrophobic parts, as well as hydrophilic molecules. In addition, they provide the complexed molecule with a protective nanoenvironment which prevents its degradation and improves its organoleptic characteristics. Furthermore, through derivatization it is possible to modify the drug delivery rate and target, which makes cyclodextrins useful tools for the treatment of various diseases. In addition to their advantages as excipients, cyclodextrins are potential therapeutic molecules in the treatment of the Niemann Pick type C disease, and the reversal of neuromuscular blockade after surgery. These findings set the grounds for the discovery of future applications. The present dissertation presents a general view on the various physicochemical aspects of cyclodextrins, their current applications in the pharmaceutical and cosmetic fields, and their novel and specialized applications.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Fernando Pessoa e respetivos Professores pela excelente formação, apoio e pelas muitas palavras amigas que fazem toda a diferença.

À minha orientadora Professora Doutora Rita Oliveira pela ajuda imprescindível não só para a realização desta tese como também ao longo do meu curso.

Aos meus Pais que são o maior alicerce da minha vida, por investirem tanta na minha educação que é o nosso maior legado, e por nunca desistirem de me acompanhar em todos os passos da minha vida.

À minha grande e maravilhosa família por nos bons e maus momentos me darem tanta força.

A todos os meus amigos que são a minha segunda família, em especial: ao Fábio que sempre acreditou em mim mesmo quando eu não o fazia, ao Tiago por me acompanhar e apoiar mesmo nos maus momentos, à Mariana por perceber telepaticamente as minhas alegrias e tristezas e à Mónica por ser uma luz constante na minha vida.

ÍNDICE

I. Introdução	1
II. Ciclodextrinas: origem, propriedades físico-químicas e potencialidades.....	4
2.1. Contextualização histórica.....	4
2.2. Síntese de ciclodextrinas.....	5
2.3. Propriedades físico-químicas.....	7
2.4. Formação de complexos com substratos.....	11
2.5. Efeito das ciclodextrinas nas propriedades dos compostos de inclusão.....	13
2.5.1. Solubilidade e dissolução	13
2.5.2. Estabilidade	14
2.5.3. Biodisponibilidade.....	14
2.5.4. Características organolépticas	17
III. Aplicações das ciclodextrinas.....	18
3.1. Uso na indústria farmacêutica.....	18
3.1.1. Administração oral	21
3.1.1.1. Propriedades da ciclodextrina selecionada.....	21
3.1.1.2. Propriedades do fármaco a complexar.....	23
3.1.1.3. Propriedades do complexo formado.....	23
3.1.1.4. Modificação do perfil de liberação do fármaco.....	24
3.1.2. Administração parentérica.....	26
3.1.3. Administração oftálmica.....	26
3.2. Aplicações dermatológicas e cosméticas.....	28
3.2.1. Ciclodextrinas e a pele.....	28
3.2.2. Aplicações das ciclodextrinas nas formulações cosméticas	28
3.2.2.1. Aplicações das ciclodextrinas como complexos de inclusão.....	28
3.2.2.2. Aplicações das ciclodextrinas vazias.....	31
IV. Aplicações novas e especializadas das ciclodextrinas.....	32

4.1.	Sugammadex: aplicação clínica e introdução no mercado.....	32
4.1.1.	Emergência do sugammadex	32
4.1.2.	Estrutura e mecanismo de ação	33
4.1.3.	Estudos pré-clínicos.....	34
4.1.4.	Estudos clínicos em humanos.....	35
4.1.5.	Sugammadex na prática clínica	37
4.2.	Tratamento da doença Niemann-Pick tipo C.....	38
4.2.1.	Doença de Niemann-Pick tipo C	38
4.2.2.	Estratégias terapêuticas.....	40
4.2.3.	Uso de HP- β -CD para o tratamento de NPC.....	41
4.2.3.1.	Mecanismo de ação da HP- β -CD.....	43
4.2.3.2.	Ensaio clínicos em humanos.....	43
4.3.	Ciclodextrinas alvo-específicas.....	46
4.3.1.	Especificidade para recetores tumorais	46
4.3.1.1.	Recetor tumoral do ácido fólico.....	46
4.3.1.2.	Recetor tumoral da transferrina.....	48
4.3.2.	Especificidade gastrointestinal	49
4.4.	Aplicação de ciclodextrinas na terapia fotodinâmica.....	50
4.4.1.	Terapia fotodinâmica.....	50
4.4.2.	Aplicação das ciclodextrinas	51
4.4.2.1.	Terapia tumoral fotodinâmica.....	53
4.4.2.2.	Terapia antibacteriana fotodinâmica.....	54
V.	Conclusão.....	56
VI.	Bibliografia.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição das publicações (incluindo patentes) pelas áreas de aplicação das ciclodextrinas no ano 2012.....	2
Figura 2 - Processo com solvente para a produção e purificação de ciclodextrinas	6
Figura 3 - Processo sem solvente para a produção e purificação de ciclodextrinas.....	6
Figura 4 - Estrutura química das três ciclodextrinas naturais: α -, β -, e γ -ciclodextrinas respectivamente	8
Figura 5 - Formação de um complexo de inclusão de um fármaco com uma ciclodextrina 1:1	11
Figura 6 - Formação de um complexo de inclusão de uma porção hidrófoba de um fármaco com uma ciclodextrina 1:1.....	12
Figura 7 - Formação de um complexo de não-inclusão entre um fármaco e a parte externa de uma ciclodextrina 1:1	12
Figura 8 - Formação de um complexo de inclusão de uma porção hidrófoba de um fármaco com uma ciclodextrina 1:2.....	12
Figura 9 - Formação de um complexo de inclusão e um complexo de não-inclusão entre um fármaco e uma ciclodextrina 2:1.....	12
Figura 10 - Sistema de classificação Biofarmacêutica dos fármacos.....	16
Figura 11 - Esquema ilustrativo da absorção gastrointestinal de um fármaco (F) em complexo com uma CD, na presença de uma substância competitiva (C)	17
Figura 12 - Correlação entre a dose de um fármaco a ser administrado, quantidade de complexo F-CD a ser formulado e o peso molecular do fármaco, para uma estequiometria de 1:1	23
Figura 13 - Estrutura química do Sugammadex.....	33
Figura 14 - Estrutura química do Rocurônio.....	34

Figura 15 - Probabilidades de transmissão genética de uma doença autossômica recessiva.....	39
Figura 16 - Estrutura do bioconjugado de ácido fólico com ciclodextrina 1:1 com um espaçador de PEG (AF-PEG-CD).....	47
Figura 17 - Mecanismo de formação e estrutura do bioconjugado de 5-FU com ciclodextrina 1:9 com um espaçador de PEG (AF-PEG-CD).....	48
Figura 18 - Mecanismo de ação da terapia tumoral fotodinâmica	50
Figura 19 - Utilização de ciclodextrinas para o aumento da solubilidade das SF	52
Figura 20 - Conjugação de complexos CD-SF com substâncias terapêuticas coadjuvantes (anticancerígenos e antimicrobianos)	53

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas que ocorrem naturalmente: α -, β -, e γ -ciclodextrina.....	8
Tabela 2 - Principais derivados da β -CD.....	10
Tabela 3 - Efeito das ciclodextrinas na solubilidade de diversos fármacos	13
Tabela 4 - Produtos contendo ciclodextrinas aprovados e comercialmente disponíveis	19
Tabela 5 - Avaliação da segurança das ciclodextrinas para uso como aditivos alimentares em humanos	22
Tabela 6 - Efeitos das ciclodextrinas na sensibilidade e eficácia de substâncias usadas em cosméticos	29
Tabela 7 - Tempo (min) de recuperação neuromuscular total com Sugammadex, 3 a 5 minutos após administração de Rocurônio	36
Tabela 8 - Ensaio clínico <i>in vivo</i> em modelos animais para estudo da eficácia HP- β - CD no tratamento de Niemann Pick tipo C	42

LISTA DE ABREVIATURAS

5-FU – 5- Fluorouracilo

AF-PEG-CD – Bioconjugado Ácido fólico-PEG-Ciclodextrina

AINE – Anti-inflamatório não esteroide

ASM – Enzima esfingomielinase ácida, do inglês *Acid sphingomyelinase enzyme*

BCS – Sistema de Classificação Biofarmacêutica, do inglês *Biopharmaceutic Classification System*

BHE – Barreira hematoencefálica

BNM – Bloqueador neuromuscular

CD – Ciclodextrina(s)

CGTases – Ciclodextrina glicosiltransferase

DNA – Ácido desoxirribonucleico, do inglês *Deoxyribonucleic acid*

EMA – Agência Europeia de medicamentos, do inglês *European Medicines Agency*

EROs – Espécies reativas de oxigênio

FAO – Organização das Nações Unidas para a alimentação e agricultura, do inglês *Food and Agriculture Organisation*

FDA – Órgão governamental dos Estados Unidos da América de administração de alimentos e fármacos, do inglês *Food and Drug Administration*

gpP – Glicoproteína P

GRAS – Geralmente considerados como seguros, do inglês *Generally Regarded As Safe*

GSL – Glicosfingolipidos

HP- β -CD – Hidroxipropil- β -ciclodextrina

IDA – Ingestão diária aceitável

JECFA – Comité misto (FAO/WHO) experiente em aditivos alimentares, do inglês *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*

Kc – Constante de complexação/afinidade

MDR – Resistência múltipla a fármacos, do inglês *Multi-Drug Resistance*

MRSA – *Staphylococcus aureus* Meticilino-resistente, do inglês *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

NIH – Instituto nacional de saúde, do inglês *National Institutes of Health*

NPC – Doença Niemann Pick tipo C

Npc1 – Gene mutado na NPC

Npc2 – Gene mutado na NPC

ROS – Espécies reativas de oxigênio, do inglês *Reactive oxygen species*

SF – Substância fotossensibilizante

SMPD1 – Fosfodiesterase da esfingomielina 1, do inglês *Sphingomyelin phosphodiesterase 1*

SNC – Sistema nervoso central

TF – Terapia fotodinâmica

Tf-PEG-CD – Bioconjugado Transferrina-PEG-Ciclodextrina

WHO – Organização mundial de saúde (OMS), do inglês *World Health Organisation*

I. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a aposta no desenvolvimento científico, nomeadamente nas áreas da medicina, farmácia, biotecnologia, química, alimentar, agricultura e ambiental, tem resultado no surgimento de novas moléculas terapêuticas, substâncias com potencial para uso cosmético e aditivos alimentares (ex.: proteínas, hormonas peptídicas, produtos biológicos, fitocosméticos, entre outros) (Junghans e Muller, 2008). Muitas destas moléculas no entanto, apesar de apresentarem um enorme potencial nas suas áreas de aplicação, possuem determinadas características que dificultam a sua atividade. Nomeadamente baixa solubilidade aquosa, instabilidade perante as condições externas e fisiológicas, baixa especificidade de ação, baixa capacidade de permeação de membranas biológicas ou mesmo características organoléticas indesejáveis. No sentido de contornar estas limitações, várias estratégias foram desenvolvidas e aplicadas com sucesso. Como por exemplo a produção de derivados dessas moléculas mais solúveis, estáveis e específicas, ou o uso de excipientes nas formulações farmacêuticas como co-solventes para aumentar a solubilidade de moléculas terapêuticas, e antioxidantes e conservantes para aumentar a sua estabilidade (Brewster e Loftsson, 2007). No entanto, com o aparecimento da nanotecnologia, surgiram sistemas com potencial para contornar todas estas limitações, sem necessidade de recorrer a processos de modificação química das moléculas, ou mesmo a utilização de excipientes com potencial tóxico, como é o caso das ciclodextrinas.

As ciclodextrinas são moléculas verdadeiramente excepcionais e multifacetadas. Devido à sua estrutura em forma de anel com um interior hidrófobo e exterior hidrófilo, são capazes de formar complexos de inclusão com moléculas de tamanho adequado ao seu núcleo interno, ou com partes hidrófobas dessas moléculas. Possuem ainda a possibilidade de formar complexos de não-inclusão com moléculas hidrófilas. Deste modo exercem efeitos positivos sobre as características de diversas moléculas, nomeadamente: i) aumento da solubilidade aquosa (Alexanian *et al.*, 2008; Brewster *et al.*, 1991; Loftsson *et al.*, 2004), ii) aumento da estabilidade (Loftsson e Brewster, 1996; Swarbrick, 2007), iii) aumento da biodisponibilidade (Hillery *et al.*, 2001; Irie *et al.*, 1992) iv) redução das reações de hipersensibilidade e adversas (Swarbrick, 2007), v)

libertação de substâncias nos locais específicos de ação (Caliceti *et al.*, 2003; Kosaraju, 2005), vi) libertação prolongada de fármacos e aromas (Ciobanu *et al.*, 2013 (a); Ciobanu *et al.*, 2013 (b)), vii) melhoria das características organoléticas (Gomes *et al.*, 2013; Young *et al.*, 2012), entre muitos outros. Em adição, devido à sua origem natural e natureza sacarídica (cadeia cíclica de 6 a 8 monómeros de glucopirranose), são consideradas excipientes bastante seguros, sendo classificados como GRAS (geralmente considerados como seguros) pela FDA (US Food and Drug Administration, 2013 (a); US Food and Drug Administration, 2013 (b); US Food and Drug Administration, 2013 (c)).

Possuem deste modo aplicação nas mais diversas áreas: farmacêutica, alimentar, química, ambiental e na agricultura, sendo que a indústria farmacêutica, biotecnologia e formação de complexos são as áreas de maior aposta atual das ciclodextrinas como é possível observar pela figura 1.

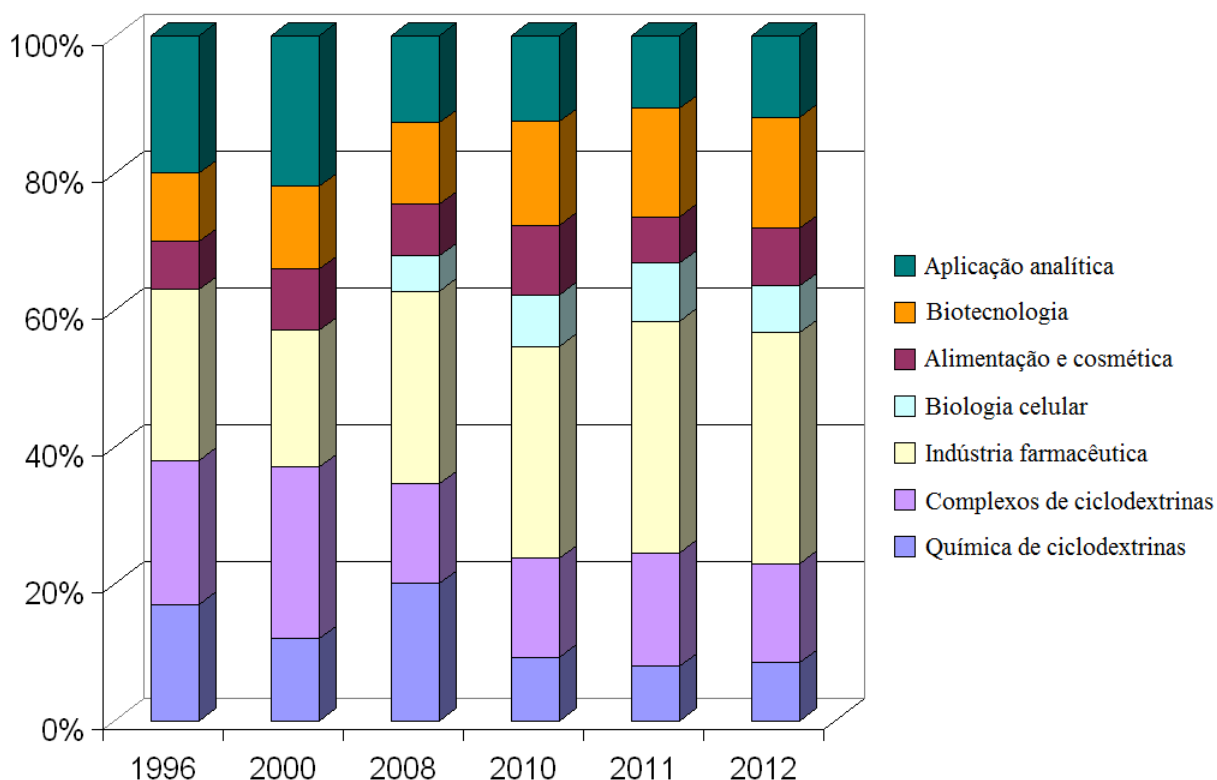


Figura 1 - Distribuição das publicações (incluindo patentes) pelas áreas de aplicação das ciclodextrinas no ano 2012 (Balogh e Fenyvesi, 2013).

Existem já diversos fármacos associados a ciclodextrinas aprovados e disponíveis no mercado. A estes juntam-se ainda produtos cosméticos como protetores solares, cremes e loções hidratantes, cremes anti-idade, dentífricos, e produtos nutracêuticos que possuem ciclodextrinas para melhorar diversas propriedades dos intervenientes da formulação e da formulação em si (Balogh e Fenyvesi, 2013).

É ainda de salientar a aplicação das ciclodextrinas na terapia tumoral e antibacteriana fotodinâmica, na qual proporcionam um aumento da eficácia da terapêutica e uma simultânea redução dos efeitos adversos associadas à terapia antineoplásica (Aggelidou *et al.*, 2013; Hanakova *et al.*, 2013). São ainda aplicadas como carregadores alvo-específicos de fármacos, não só para a libertação de agentes anti tumorais nos seus locais específicos de atuação (Caliceti *et al.*, 2003) como também para a libertação de fármacos no intestino delgado ou no cólon (Yano *et al.*, 2000).

As ciclodextrinas são universalmente reconhecidas pelas suas vantagens em diversas áreas como auxiliares na formulação de variadas moléculas. No entanto, recentemente estas têm ganho protagonismo como moléculas terapêuticas e não apenas como excipientes. Nomeadamente, o reconhecimento de um derivado de ciclodextrina (HP- β -CD) como possível tratamento para a doença de Niemann Pick tipo C, que se baseia na capacidade das ciclodextrinas de formarem complexos estáveis com o colesterol (Rosenbaum *et al.*, 2010), e o uso de um derivado sulfatado de ciclodextrina, o Sugammadex, para reversão do bloqueio neuromuscular residual após o uso de bloqueadores neuromusculares (Booji, 2009).

O presente trabalho de revisão da literatura tem o principal objetivo de fornecer uma visão geral sobre o passado, presente e futuro das ciclodextrinas. Assim sendo, a primeira parte do trabalho centra-se na origem, síntese e definição das ciclodextrinas e os seus derivados bem como as características responsáveis pelas suas vantagens em diversas áreas. A segunda parte visa reunir as principais aplicações atuais das ciclodextrinas, dando ênfase à área da indústria farmacêutica e cosmética, e a terceira parte sobre o estado de arte das ciclodextrinas, reunindo deste modo as aplicações novas e especializadas destas.

II. CICLODEXTRINAS: ORIGEM, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E POTENCIALIDADES

2.1. CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA

Em 1891 um cientista Francês, Villiers reportou a formação de uma substância cristalina durante a fermentação de amido, a qual designou de ‘cellulosine’ (Smith e Charter, 2010). No entanto, foi apenas em 1903 que o Microbiologista Austríaco, Franz Schardinger, efetivamente isolou duas substâncias, as quais denominou de α -ciclodextrina e β -ciclodextrina, de um meio de crescimento contendo amido (Loftsson e Brewster, 2010).

A partir desta data, foram muitos os progressos observados nesta área, incluindo caracterização estrutural, física e química das ciclodextrinas, identificação da enzima responsável pela sua produção através de conversão enzimática do amido (*Bacillus macerans amilase*), propriedades físico-químicas e fisiológicas e capacidade para formar complexos (Swarbrick, 2007). No entanto, apesar de a sua produção ser possível, a exploração industrial foi limitada pelo facto de apenas pequenas quantidades impuras poderem ser produzidas e a um elevado custo (Brewster e Loftsson, 2007). Foi em meados dos anos 70, durante a revolução da Biotecnologia que, através da produção de enzimas específicas foi possível a síntese de grandes quantidades de α , β e γ -ciclodextrina, tornando-as excipientes industriais emergentes (Oguma e Kawamoto, 2003).

Consequentemente, as ciclodextrinas têm sido intensivamente utilizadas em diferentes indústrias, como a química, farmacêutica, biotecnológica, ambiental e cosmética, e o número total de contribuições científicas anual sobre ciclodextrinas é em média de 1500 a 2000 (Biber *et al.*, 2002).

2.2. SÍNTESE DE CICLODEXTRINAS

As ciclodextrinas são obtidas através da conversão enzimática do amido, utilizando enzimas extraídas de vários microrganismos (Biwier *et al.*, 2002).

O método de produção pode incluir o uso de um solvente ou não, como demonstrado nas figuras 2 e 3 respetivamente. O primeiro método utiliza um agente complexante que se liga especificamente à ciclodextrina que se pretende isolar. Em comparação com o segundo método, a purificação é mais fácil e mais eficaz. Para além disso, o método de síntese sem solvente inclui um passo de cristalização pouco eficaz, necessita de mais energia e origina muitos produtos secundários sem interesse (Biwier *et al.*, 2002).

Os microrganismos mais comumente utilizados para obtenção de CGTases (ciclodextrina glicosiltransferases) são as bactérias, principalmente pertencentes ao género *Bacillus* (Tonkova, 1998), como por exemplo *B. macerans* e *B. circulans*, no entanto estas enzimas foram também encontradas no Reino das Archaeobacteria, e alguns microrganismos podem ser geneticamente modificados para as sintetizarem.

É essencial a escolha do microrganismo mais adequado para cada caso, já que a enzima utilizada influencia o tipo e proporção de ciclodextrinas produzidas. É ainda possível otimizar as condições de reação de modo a obter o máximo rendimento com o mínimo de impurezas. As condições que podemos controlar são: temperatura, tipo e concentração de substrato, pH e tipo de enzima utilizada (Zhekova e Stanchev, 2011). A nível industrial é preferencialmente utilizado o amido da batata em vez do arroz ou milho, pois este possui uma maior proporção de amilopectina, levando deste modo a uma menor produção de impurezas (Biwier *et al.*, 2002). O tempo é também essencial, visto que as CGTases têm também capacidade de hidrolisar as ciclodextrinas possivelmente através de reação com outros componentes de reação (Rendleman, 1999). A extensão do tempo de reação pode deste modo levar a uma diminuição da quantidade de ciclodextrinas extraídas, para além de a nível industrial não ser economicamente vantajoso prolongar o tempo de produção.

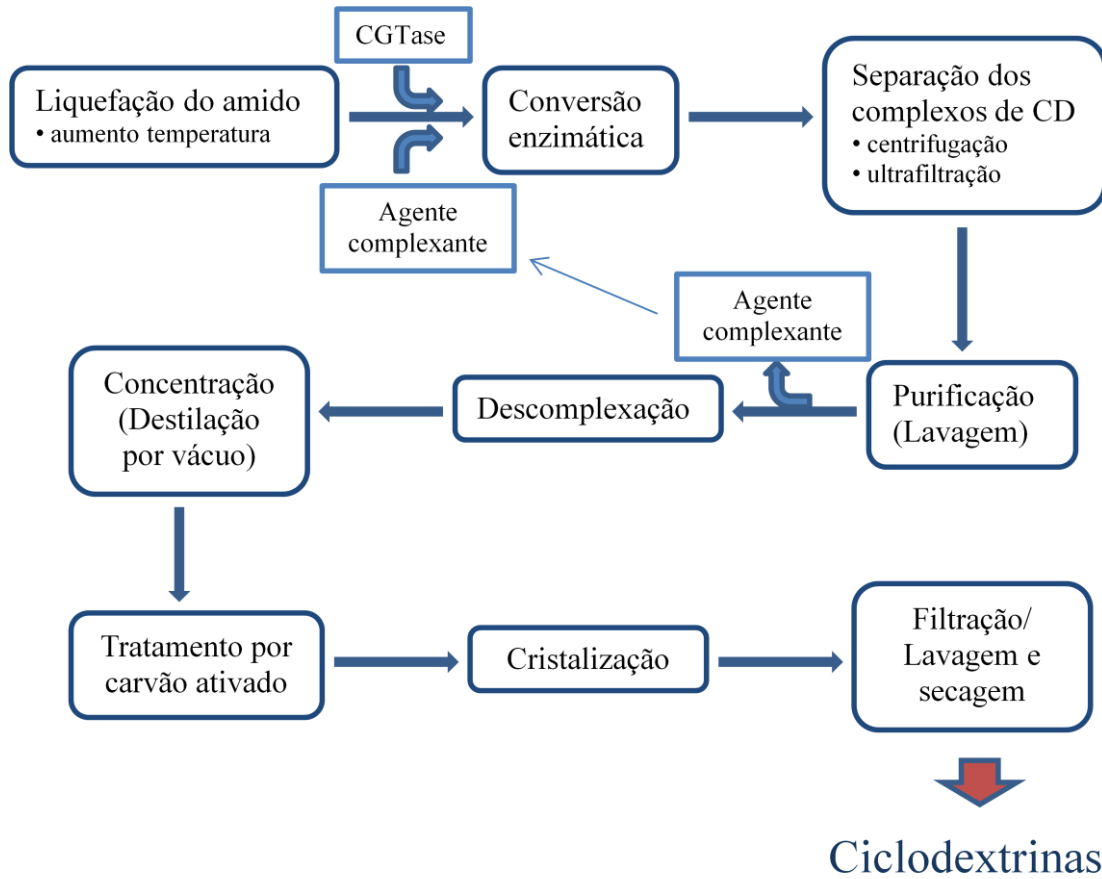


Figura 2 - Processo com solvente para a produção e purificação de ciclodextrinas. Adaptado de Schmid (1996).

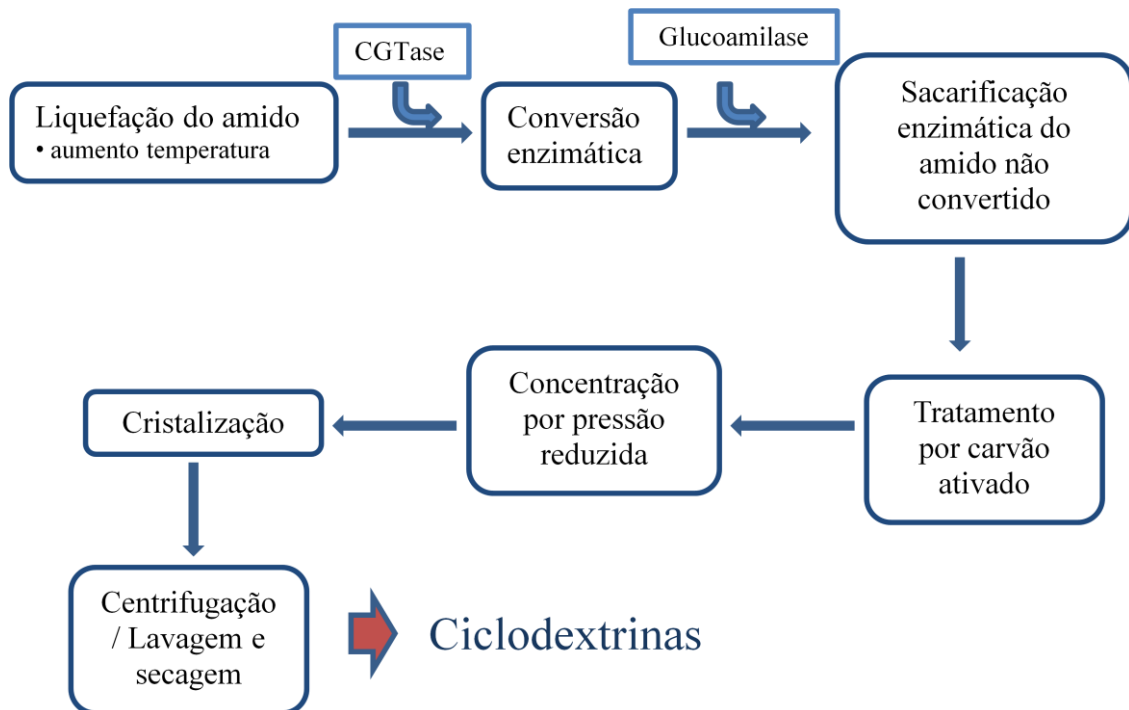


Figura 3 - Processo sem solvente para a produção e purificação de ciclodextrinas. Adaptado de Schmid (1996).

2.3. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

As ciclodextrinas (CD), também conhecidas por ciclomaltose, cicloamilose ou dextrinas de Schardinger (Ellouze *et al.*, 2011), consistem numa família de oligosacarídeos cíclicos de unidades de α -D-glucopiranosose com ligações do tipo α -1,4.

Dependendo das condições de reação entre o amido e CGTases, três principais CD naturais podem ser obtidas: α , β e γ -ciclodextrina (Tabela 1). As CD são moléculas cíclicas de forma toroidal (ou em cone) e não cilíndrica devido à falta de rotação ao nível das ligações entre as unidades de glucose (Rathbone *et al.*, 2003). Os grupos hidroxilo primários e os secundários das subunidades de glucose orientam-se para o exterior da CD, respetivamente na região mais estreita e mais larga, enquanto que a estrutura carbonada se orienta para o interior. Esta conformação leva à ocorrência de uma superfície hidrófila e um núcleo hidrófobo com solubilidade semelhante a uma solução etanólica (Arun *et al.*, 2008).

Devido às suas características anfífilas, o núcleo das CD pode incorporar moléculas hidrófobas ou porções hidrófobas de moléculas maiores em soluções aquosas através de ligações de Van der Waals, pontes de hidrogénio ou por transferência de carga (Brewster e Loftsson, 2007). Estas ligações são não-covalentes (reversíveis) podendo-se deste modo estabelecer um equilíbrio dinâmico entre a molécula complexada e a sua forma livre. Consequentemente são alteradas as propriedades físico-químicas da molécula complexada, nomeadamente ocorre um aumento da sua solubilidade aparente.

As três principais CD naturais (α , β e γ -ciclodextrina) possuem respetivamente 6, 7 e 8 unidades de glucopiranosose (Figura 4). Devido a fatores estéricos e tensão no anel, CD com menos de 6 unidades não existem. CD com mais do que 8 unidades foram também descritas, no entanto devido à sua conformação helicoidal são rapidamente degradadas (Muller e Brauns, 1986).

As CD naturais possuem no entanto uma solubilidade baixa comparativamente às estruturas carbonadas acíclicas devido à ocorrência de ligações intramoleculares fortes que tornam a estrutura mais rígida. Em adição, a β -CD é de todas a que possui menor

solubilidade devido ao número ímpar de unidades de glucopiranosose que leva à formação de ligações hidrogênio intramoleculares entre os grupos hidroxilo, tornando-os indisponíveis para reagir com moléculas de água circundantes (Loftsson e Brewster, 2010).

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas que ocorrem naturalmente: α -, β -, e γ -ciclodextrina. Adaptado de Brewster e Loftsson (2007).

Propriedade	α -ciclodextrina	β -ciclodextrina	γ -ciclodextrina
Nº de unidades glucopiranosídicas	6	7	8
Peso Molecular do composto anidro (mg/mol)	972,84	1134,98	1297,12
% de água	10,2	13,0-15,0	8,0-18,0
Dimensões aproximadas (nm)			
Altura (A)	0,78	0,78	0,78
Diâmetro interno (DI)	0,5	0,62	0,8
Diâmetro externo (DE)	1,46	1,54	1,75
Solubilidade aquosa a 25°C (mg/ml)	129,5±0,7	18,4±0,2	249,2±0,2
Log (Ko/w) calculado a 25°	-7,8	-10,7	-12

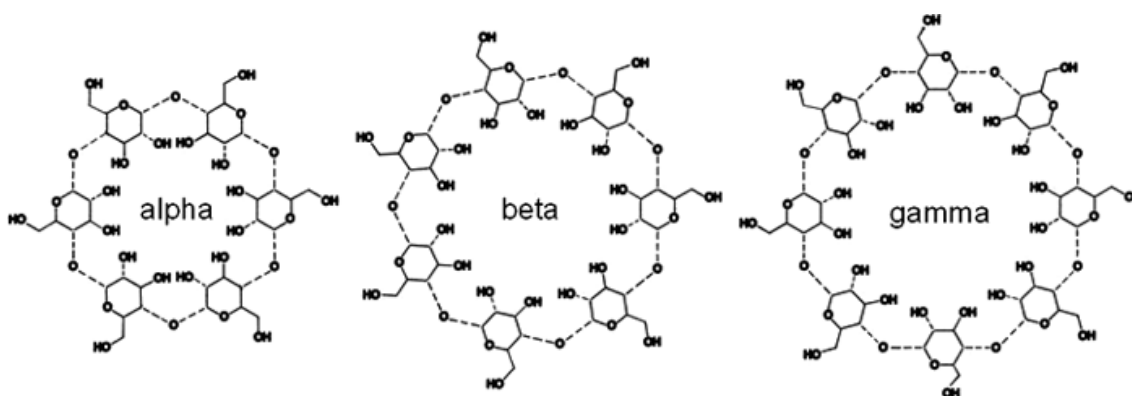


Figura 4 - Estrutura química das três ciclodextrinas naturais: α -, β -, e γ -ciclodextrinas respetivamente. (Booij, 2009).

A baixa solubilidade das CD naturais limita grandemente a sua utilização, deste modo foram produzidos três principais grupos derivados: CD metiladas, hidroxipropiladas e sulfobutiladas (carga negativa). Devido ao estabelecimento de ligações hidrogênio intramoleculares, qualquer substituição num grupo –OH, mesmo por moléculas hidrófobas, aumenta drasticamente a solubilidade da CD (superior a 500 mg/ml), por aumento do número de grupos hidroxilo disponíveis para reagir com moléculas de água circundantes.

Em teoria, a metilação de CD pode ocorrer em dois ou três grupos hidroxilo por unidade de glucopiranoose. No primeiro caso (DM-CD), a metilação ocorre em todos os grupos hidroxilo primários, e todos os grupos hidroxilo secundários na posição C2. No segundo caso (TM-CD), a metilação também ocorre nos grupos hidroxilo secundários na posição C3.

O cenário mais comum no caso da β -CD, é uma metilação aleatória com um grau de substituição média por unidade de glucopiranoose de 1,8 (ex: Randomly methylated β -CD – RAMEB). Também existe uma β -CD com uma substituição de 0,5 – Crysmeb.

A derivação com grupos hidroxipropilo ocorre de uma forma puramente aleatória nos grupos hidroxilo primários ou secundários, originando uma mistura amorfa. No caso da β -CD, é o 2-HP- β -CD que é mais utilizado. Devido à existência de diversos produtores, o grau de substituição deve ser mencionado.

Existe apenas uma CD sulfobutilada, o SBE₇- β -CD com um grau de substituição de aproximadamente 6,8. Esta CD possui aproximadamente 7 grupos carregados negativamente, contrabalançados com iões sódio, que contribuem para um aumento da sua solubilidade (Zia *et al.*, 2001).

Os derivados das CD podem ainda ser classificados quanto à sua solubilidade e carga, como representado na tabela 2.

Tabela 2 - Principais derivados da B-CD. Adaptado de Uekama *et al.* (1998).

Compostos	Abreviatura
Derivados hidrófilos	
β -CDs metiladas	
2,6-di-O-metil-β-CD	DM- β -CD
2,3,6-tri-O-metil-β-CD	TM- β -CD
Metil-β-CD randomizada	RM- β -CD
β -CDs hidroxialquiladas	
2-hidroxi-etil-β-CD	HE- β -CD
2-hidroxi-propil-β-CD	HP- β -CD
3-hidroxi-propil-β-CD	3-HP- β -CD
2,3-dihidroxi-propil-β-CD	D-HP- β -CD
β -CDs ramificadas	
6-O-glicosil-β-CD	G ₁ - β -CD
6-O-maltosil-β-CD	G ₂ - β -CD
6-O-dimaltosil-β-CD	(G ₂) ₂ - β -CD
Derivados hidrófobos	
β -CDs etiladas	
2,6-di-O-etil-β-CD	DE- β -CD
2,3,6-tri-O-etil-β-CD	TE- β -CD
β -CDs aciladas	
2,3,6-tri-O-acetil-β-CD	TA- β -CD
2,3,6-tri-O-propanoil-β-CD	TP- β -CD
2,3,6-tri-O-butanoil-β-CD	TB- β -CD
2,3,6-tri-O-hexanoil-β-CD	TH- β -CD
Derivados ionizáveis	
β -CDs aniónicas	
6-O-(carboximetil)-O-etil-β-CD	CME- β -CD
Sulfobutil-eter-β-CD	SBE ₇ - β -CD
β-CDs sulfatadas	S- β -CDs

2.4. FORMAÇÃO DE COMPLEXOS COM SUBSTRATOS

Devido ao carácter hidrófobo da cavidade interna das CD, estas possuem a capacidade de formar complexos reversíveis com moléculas ou parte destas, de tamanho adequado, que resulta do estabelecimento de um equilíbrio entre a molécula isolada e complexada (Loftsson e Brewster, 1996).

A formação e dissociação do complexo são governadas por uma constante de afinidade ou de complexação (K_c) que depende da dimensão da cavidade da CD e da molécula a incorporar. Regra geral, quanto maior for a complementaridade química (tipo e força de ligações estabelecidas) e física (tamanho) entre as duas, maior será a constante de afinidade. No caso da formação de um complexo de inclusão simples F-CD 1:1, o valor de K_c é determinado pela seguinte equação: $K_c = \frac{[F.CD]}{[F].[CD]}$. Sendo que $[F] = S_0$ (solubilidade do fármaco no ponto de saturação), a eficácia de complexação é determinada pela seguinte equação: $E_c = K_c.S_0$ (Loftsson *et al.*, 2007).

No caso das CD os complexos de inclusão resultam de uma molécula (Figura 5) ou parte dela (Figura 6) no interior da cavidade da CD. No entanto, esta pode também complexar com uma parte externa da CD, formando deste modo um complexo de não-inclusão (Figura 7). Para além disso, dependendo da conformação e tamanho de ambos os intervenientes, a molécula a complexar pode interagir com uma ou duas CD (Figura 8) (complexo 1:1 e 1:2), ou a mesma CD pode interagir com uma ou duas moléculas (complexo 1:1 e 2:1) (Figura 9).



Figura 5 - Formação de um complexo de inclusão de um fármaco com uma ciclodextrina 1:1. Adaptado de Brochsztain e Politi. (1999).

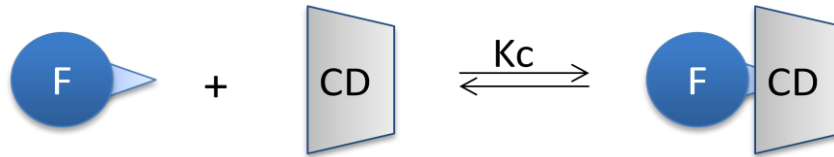


Figura 6 - Formação de um complexo de inclusão de uma porção hidrófoba de um fármaco com uma ciclodextrina 1:1. Adaptado de Brochsztain e Politi. (1999).

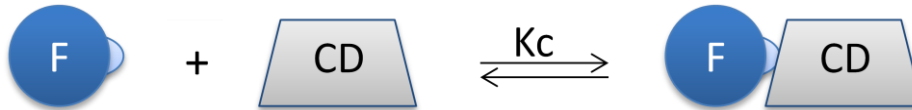


Figura 7 - Formação de um complexo de não-inclusão entre um fármaco e a parte externa de uma ciclodextrina 1:1. Adaptado de Brochsztain e Politi. (1999).

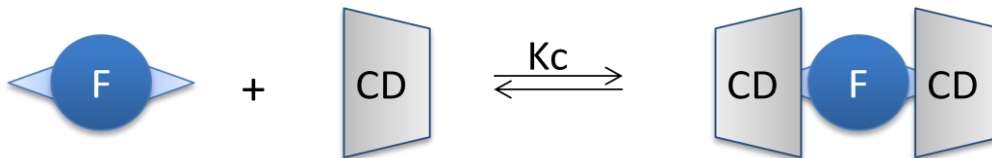


Figura 8 - Formação de um complexo de inclusão de uma porção hidrófoba de um fármaco com uma ciclodextrina 1:2. Adaptado de Brochsztain e Politi. (1999).

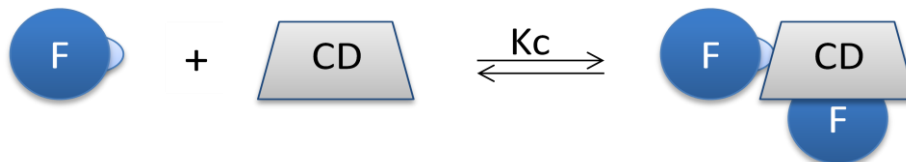


Figura 9 - Formação de um complexo de inclusão e um complexo de não-inclusão entre um fármaco e uma ciclodextrina 2:1. Adaptado de Brochsztain e Politi. (1999).

Gabelica *et al.* (2002) demonstraram que α -CD forma em simultâneo complexos de inclusão e não-inclusão com ácidos dicarboxílicos, e Brochsztain e Politi (1999) demonstraram ainda a formação de complexos 1:1 e 1:2 entre naftalimidaz e α -CD.

Para estes fármacos, o objetivo é formar um complexo de inclusão cuja constante de dissociação (K_d) seja suficientemente baixa de modo a garantir a estabilidade do complexo e um ratio F/CD elevado, mas superior à concentração plasmática eficaz, de modo a garantir a sua dissociação e atuação. Para este propósito, o valor de K_d é geralmente 10^{-4} M (Donati, 2011).

2.5. EFEITO DAS CICLODEXTRINAS NAS PROPRIEDADES DOS COMPOSTOS DE INCLUSÃO

2.5.1. SOLUBILIDADE E DISSOLUÇÃO

Graças à capacidade das CD de formar complexos de inclusão não-covalentes estáveis com inúmeras moléculas orgânicas e inorgânicas, uma das suas principais aplicações consiste no aumento da solubilidade aparente destas moléculas (Tabela 3). Para além disso, as CD e os seus complexos formam agregados hidrossolúveis em soluções aquosas capazes de incorporar moléculas lipídicas através da formação de estruturas tipo micelares (Loftsson *et al.*, 2004).

Tabela 3 - Efeito das ciclodextrinas na solubilidade de diversos fármacos.

Fármaco	Tipo de CD utilizada	Efeito na solubilidade	Referência
Irbersartan	β -CD	Aumento da solubilidade e dissolução	Hirlekar e Kadam, 2009
Acetato de Cortisona	2HP- β -CD	Solubilidade aumentou de 0,039g/l para 7,382g/l	Kalogeropoulos <i>et al.</i> , 2009
Nimesulida	β -CD HP- β -CD e Metil- β -CD	Estas β -CD aumentaram a solubilidade de nimesulida na seguinte ordem: Metil- β -CD > β -CD > HP- β -CD	Alexanian <i>et al.</i> , 2008
Vinpocetina	β -CD e SBE-CD	SBE- β -CD exibiu um maior aumento de solubilidade com o fármaco do que β -CD	Ribeiro <i>et al.</i> , 2003
Claritromicina	β -CD	Após complexação a solubilidade aquosa do fármaco aumentou cerca de 700 vezes.	Salem e Duzgunes, 2003
Carbamazepina	γ -CD, β -CD	Aumento da solubilidade e dissolução	Brewster <i>et al.</i> , 1991
Praziquantel	α -CD, β -CD, γ -CD	O aumento de solubilidade respetivamente com α -, β - e γ -CD foi 2,6; 5 e 8 vezes.	Becket <i>et al.</i> , 1999

Este efeito possibilita a formação de soluções para administração oral e intravenosa a partir de moléculas com baixa solubilidade. Em adição, é possível preparar soluções com um menor volume, facilitando a administração nasal e ocular (Hillery *et al.*, 2001).

2.5.2. ESTABILIDADE

Através do estabelecimento de ligações não-covalentes (eletrostáticas, hidrófobas e pontes de hidrogénio) com macromoléculas, as ciclodextrinas aumentam a sua estabilidade, devido à proteção que oferecem contra as condições externas e consequente desidratação, hidrólise, oxidação e fotodecomposição, e contra interações com os componentes da formulação. Contribuem deste modo para um aumento do prazo de validade dos medicamentos (Loftsson e Brewster, 1996). Para além disso, também protegem contra as condições fisiológicas, nomeadamente contra a degradação física, química e enzimática de moléculas suscetíveis como o DNA e proteínas, e bioconversão no local de absorção (Swarbrick, 2007).

2.5.3. BIODISPONIBILIDADE

As ciclodextrinas são uma ferramenta muito útil para aumento da biodisponibilidade, visto que têm a capacidade de encapsular um grande número de moléculas hidrófobas. As mais utilizadas são a β -CD e seus derivados, não só devido ao preço mais acessível mas também devido à melhor acomodação das moléculas no seu núcleo.

O efeito na biodisponibilidade pode ser explicado pelo aumento da solubilidade aparente do fármaco e da sua estabilidade, o que resulta no aumento da percentagem de fármaco que chega ao local de absorção, e pelo facto das CD ajudarem a estabilizar o fármaco à superfície das membranas biológicas (Irie *et al.*, 1992).

Para além disso, alguns autores defendem que o aumento da biodisponibilidade se deve ainda ao facto das CD interagirem com os componentes lipídicos das membranas biológicas, aumentando deste modo reversivelmente a fluidez e permeabilidade membranar (Ventura *et al.*, 2001). Segundo Hillery *et al.* (2001), as CD complexam os ácidos palmítico e oleico, que são componentes *minor* das membranas biológicas, o que

pode explicar este aumento da permeabilidade. Contudo, apesar das CD interagirem com as membranas biológicas, a sua ação não é tão agressiva sobre estas como outros promotores de absorção convencionais, não apresentando deste modo potencial citotóxico (Swarbrick, 2007).

Um estudo realizado por Carrier *et al.* (2007) sugere ainda que algumas CD, como a DM- β -CD, poderão aumentar a biodisponibilidade de fármacos por inibição da bomba de efluxo gpP, metabolismo pela proteína 2 multi-resistente e enzimas proteolíticas.

Em suma, as CD são bastante úteis para o aumento da biodisponibilidade de fármacos com baixa solubilidade e elevada permeabilidade, que segundo o BCS (sistema de classificação biofarmacêutica) (Amidon *et al.*, 1995), pertencem à classe II (Figura 10). Podem ainda aumentar a biodisponibilidade de fármacos de classe IV, devido à sua capacidade de tornar o fármaco disponível nas superfícies de absorção e devido ao aumento da permeabilidade membranar e inibição de mecanismos de resistência, como mencionado anteriormente. Para fármacos de classe I, a complexação com CD provoca uma diminuição da biodisponibilidade, pois a dissociação do complexo Fármaco-Ciclodextrina nunca é completa. Pode no entanto diminuir o $t_{máx}$ do pico de concentração e aumentar a sua estabilidade e tolerância ao longo do trato gastrointestinal, como é o caso dos AINE's (Yazdanian *et al.*, 2004). Para fármacos de classe III, embora ocorra um aumento da permeabilidade membranar, em semelhança com os fármacos de classe I a complexação com CD não aumenta a biodisponibilidade.

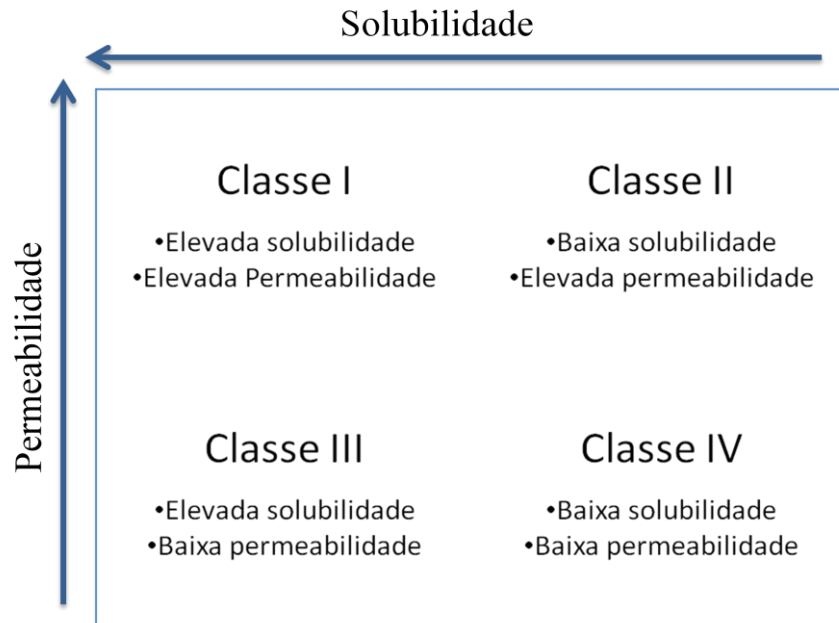


Figura 10 - Sistema de classificação Biofarmacêutica dos fármacos. Adaptado de Amidon *et al.*, (1995).

Apesar de regra geral, os candidatos mais adequados para complexação com CD serem os fármacos pertencentes às classes II e IV, existem no entanto, determinados parâmetros que estes devem cumprir, nomeadamente (Carrier *et al.*, 2007):

- Esqueleto da molécula com pelo menos cinco átomos (C, P, S e N);
- Solubilidade aquosa inferior a 10 mg/ml;
- Temperatura de fusão inferior a 250°C (caso contrário as forças de coesão entre as suas moléculas são muito fortes);
- Possuir menos do que cinco anéis condensados;
- Peso molecular entre 100 e 400 g/mol (fármacos com valores fora deste intervalo não se acomodam corretamente no núcleo da CD);
- LogP > 2,5;
- Produzir uma constante de afinidade elevada com CD (se for baixa a ligação fármaco-CD é insuficiente, mas se for muito elevada não ocorre dissociação e o fármaco não é absorvido).

Finalmente, é essencial ter também em atenção que os excipientes presentes na formulação farmacêutica podem influenciar a biodisponibilidade do fármaco por competição pelo núcleo das CD. Neste caso, a absorção do fármaco é mais rápida e a

sua biodisponibilidade é superior. A substância competitiva poderá também ser uma molécula endógena (Figura 11).

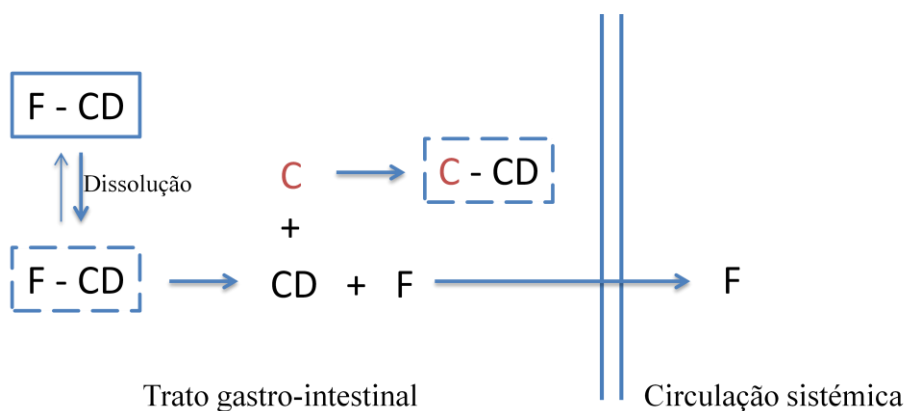


Figura 11 - Esquema ilustrativo da absorção gastrointestinal de um fármaco (F) em complexo com uma CD, na presença de uma substância competitiva (C). Adaptado de Uekama *et al.* (1998).

2.5.4. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉTICAS

Alguns fármacos possuem um sabor ou odor desagradável, o que pode comprometer a adesão à terapêutica. Os complexos com ciclodextrinas possuem a vantagem de mascarar estas características, devido à diminuição do contacto direto entre o fármaco e os recetores sensoriais, tornando deste modo o fármaco mais apelativo (Swarbrick, 2007).

Para além das aplicações no medicamento, as ciclodextrinas possuem um grande interesse para melhoria das características organoléticas de produtos alimentares. Como por exemplo a remoção do mau sabor típico do leite de cabra e produtos derivados através de complexação do ácido 4-metiloctanoico com β - e α -CD, e outros ácidos gordos associados ao mau sabor e odor deste leite (Young *et al.*, 2012). As CD podem ainda ser utilizadas para estabilizar a coloração de diversos produtos alimentares, como a utilização de β -CD para estabilizar o pigmento vermelho do pimento em iogurtes (Gomes *et al.*, 2013).

III. APLICAÇÕES DAS CICLODEXTRINAS

3.1. USO NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Com os grandes avanços científicos observados nas últimas décadas, particularmente na área da biotecnologia, ocorreu um aumento na produção de peptídeos e proteínas com potencial terapêutico. No entanto, a sua utilização prática levanta consideráveis obstáculos como a instabilidade química e enzimática dos fármacos com natureza proteica, bem como fraca permeação das membranas biológicas, clearance plasmática rápida, curvas dose-resposta peculiares e imunogenicidade. Simultaneamente, entre 30% a 50% das novas substâncias ativas descobertas possuem uma baixa solubilidade aquosa (Loftsson e Brewster, 2010). O grande desafio da indústria farmacêutica é deste modo aumentar a solubilidade destas moléculas através das várias ferramentas já disponíveis levando a um consequente aumento da biodisponibilidade. O aumento da biodisponibilidade reduz a variabilidade dos níveis sistémicos de fármaco, e consequentemente os seus efeitos biológicos, possibilitando ainda um maior aproveitamento do fármaco e o fabrico de apresentações farmacêuticas mais pequenas e de fácil administração.

Uma das possibilidades para contornar a natureza hidrofóbica destas moléculas consiste na utilização de ciclodextrinas, visto que estes fármacos são classificados como classe II e IV e, como mencionado anteriormente, estes são os candidatos ideais para o uso de ciclodextrinas. Este método tem vindo a ser cada vez mais utilizado na indústria farmacêutica como é possível comprovar pela tabela 4. No entanto, de todos estes produtos, apenas o clorocil®, o sporanox®, o Abilify®, e o meifact® são atualmente comercializados em Portugal. O coordinax® supositórios, prepulsid® supositórios e nicorette® comprimidos sublinguais foram retirados do mercado (Infarmed, 2013).

Tabela 4 - Produtos contendo ciclodextrinas aprovados e comercialmente disponíveis. Adaptado de Mosher e Thompson (2002) e Szejtli (2005).

Fármaco	Nome comercial	Forma Farmacêutica	Laboratório/País
α -CD			
Alprostadil	Rigidur®	Solução IM	Otsuka Pharm. Co. /Japão
Cefotrima-Hexetil	Pansporin T®	Comprimido	Takeda/Japão
PGE1	Prostavasin®	Infusão IV	Ono/Japão
	Edex®	Injeção intracavernosa	Schwarz/Alemanha
	Prostandin 500®	Infusão IV	Ono/Japão
β -CD			
Ácido Tiaprofénico	Surgamyl®	Comprimido	Roussel-Maestrelli/Itália
Benexate	Ulgut®	Cápsula	Teikoku/Japão
	Lonmiel®		Shionogi/Japão
Cefalosporina (ME 1207)	Meiact®	Comprimido	Meiji Seika/Japão
Cetirizina	Ceterizin®	Comprimido mastigável	LosanPharma/Alemanha
Clordiazepóxido	Transillium®	Comprimido	Godor/Argentina
Dexametasona	Glymesason®	Pomada	Fujinaga/Japão
Dextrometorfano	Rynathisol®	Xarope	Synthelabo/Itália
Difenidramina	Stada-Travel®	Comprimido mastigável	Stada/Alemanha
Iodo	Mena-Gargle®	Solução	Kyushin/Japão
Nicotina	Nicorette®	Comprimido orodispersível	Pharmacia/Suécia
	Nicogum®	Pastilha elástica	Pierre Fabre/França
Nimesulida	Nimedex®	Comprimido	Novartis/Itália
	Mesulid Fast®	Granulado oral	
Nitroglicerina	Nitropen®	Comprimido sublingual	Nippon Kayaku/Japão
Óleo Gárlico	Xund®/Tegra®/Allidex®	Drageias	Bipharm, Hermes/Alemanha
	Garlessence®		Pharmafontana/EUA

Ciclodextrinas: novas aplicações

Omeprazol		Comprimido	Betafarm/Alemanha
PGE2	Prostarmon E®	Comprimido sublingual	Ono/Japão
Piroxicam	Brexin®	Comprimido	Chiesi/Itália
	Flogene®	Supositório	Ono/Japão
	Cicladol®	Solução	Ache/Vários
γ -CD			
OP-1206	Opalman®	Comprimido	Ono/Japão
HP- β -CD			
Cisaprida	Coordinax®	Supositório	Janssen/Bélgica
	Prepulsid®		
Hydrocortisona	Dexocorl®	Solução	Actavis/Islândia
Indometacina	Indocid®	Solução oftálmica	Chauvin/França
Itraconazol	Sporanox®	Solução oral ou IV	Janssen/Bélgica
Mitomomicina	MitoExtra®	Infusão IV	Novartis/Suíça
SBE- β -CD			
Aripiprazole	Abilify®	Solução intramuscular	Bristol-Myers Squibb/EUA
Voriconazol	Vfend®	Solução IV	Pfizer/EUA
Ziprasidona	Zeldox®	Solução IM	Pfizer/EUA e Europa
	Geodon®		
RM- β -CD			
Cloranfenicol	Clorocil®	Solução oftálmica	Oftalder/Portugal
17B-estradiol	Aerodiol®	Spray Nasal	Servier/França
HP- γ -CD			
Diclofenac	Voltaren Ophtalmic®	Solução oftálmica	Novartis/Suíça
Tc- Teoboroxima	Cardiotec®	Solução IV	Bracco/EUA

3.1.1. ADMINISTRAÇÃO ORAL

Qualquer forma farmacêutica oral de libertação imediata tem necessariamente que passar por uma série de etapas: desintegração da formulação e dissolução do fármaco, passagem do fármaco dos fluidos gastrointestinais para uma camada de difusão aquosa imediatamente adjacente à mucosa intestinal, seguido de permeação através da mucosa até à circulação sistémica. Alguns fármacos no entanto, devido a baixa solubilidade e/ou baixa permeabilidade necessitam de algum adjuvante para contornar estas limitações e levar a um aumento da biodisponibilidade e eficácia terapêutica.

Pelas várias razões mencionadas nos capítulos anteriores, as CD representam uma alternativa bastante apelativa para contornar as limitações da administração oral de vários fármacos. Para além destas vantagens, as CD podem ainda ser utilizadas como diluentes para dar volume a formulações nas quais a quantidade de fármaco necessária é muito baixa, como por exemplo anticoncepcionais orais, e como desintegrantes com CD expansíveis que incham em contato com a água e auxiliam a libertação do fármaco (Szejtli, 1984). Em adição, as CD apresentam uma elevada resistência a enzimas digestivas, sendo apenas levemente suscetíveis a degradação por α -amilases produzidas pela microflora intestinal pela seguinte ordem: γ -CD > β -CD > α -CD devido a diferenças de tamanho e flexibilidade (Martin Del Valle, 2004).

De modo a avaliar a possibilidade de utilização de CD em formulações farmacêuticas orais, os seguintes fatores devem ser considerados: propriedades da CD selecionada, do fármaco e do complexo formado.

3.1.1.1. Propriedades da ciclodextrina selecionada

Devido ao elevado peso molecular das CD e hidrofília, estas são praticamente não absorvidas pelas membranas biológicas e mucosas do trato gastrointestinal. No entanto, algumas CD hidrófobas como as alquiladas e metiladas podem ser absorvidas em alguma extensão, o que explica a sua toxicidade após administração oral (Loftsson *et al.*, 2004). Deste modo, pela via oral são geralmente utilizadas outras ciclodextrinas, com ênfase nas ciclodextrinas naturais devido à sua classificação como seguras para uso

humano pela JECFA (FAO/WHO), visto que a α - e γ -CD não possuem IDA (ingestão diária aceitável) e a β -CD possui um IDA de até 350 mg/dia para um adulto de 70kg (Tabela 5). Para além disso, as CD não-absorvíveis são degradadas pela microflora intestinal e absorvidas sob a forma de glucose, que é inócua, ou eliminadas intactas (Martin Del Valle, 2004).

Tabela 5 - Avaliação da segurança das ciclodextrinas para uso como aditivos alimentares em humanos (FAO, 2013).

Ciclodextrina	Avaliação JECFA
α -CD	Sem IDA
β -CD	IDA (0-5mg/kg/dia)
γ -CD	Sem IDA
Derivados ramificados	Não avaliado

Um dos requisitos mais importantes da formulação final é a sua massa total, a qual idealmente não deve exceder 500 mg para não dificultar a administração (Figura 12). Os fármacos candidatos a complexação com CD possuem geralmente um peso molecular entre 100 a 400 g/mol, e as CD possuem um peso molecular entre mais ou menos 1000 e 2000 g/mol, o que significa que numa reação 1:1, 100 mg de complexo têm apenas entre 5 a 25 mg de fármaco. Se a estequiometria for de 1:2 ou superior, a contribuição da CD para a massa total da formulação é ainda maior. Szejtli *et al.* (1983), determinaram que a vitamina K3 forma um complexo de inclusão com β -CD 1:3, estequiometria esta desfavorável devido à elevada contribuição da CD para a massa final.

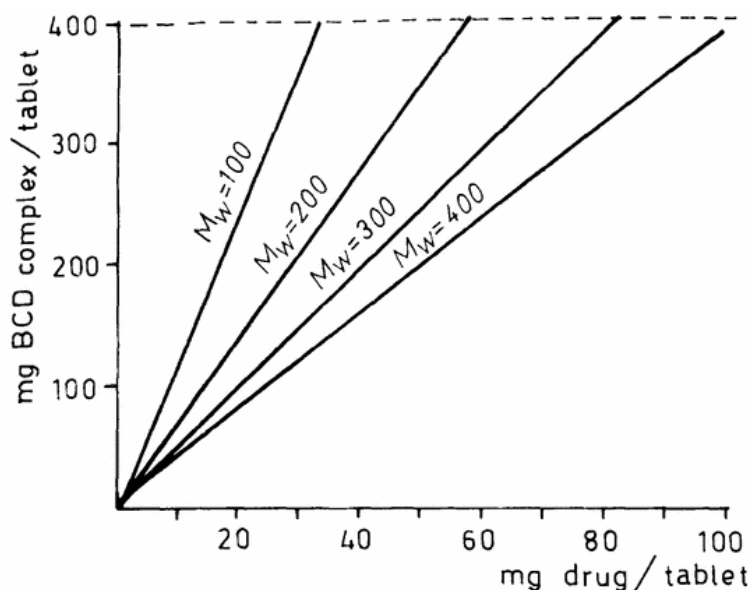


Figura 12 - Correlação entre a dose de um fármaco a ser administrado, quantidade de complexo F-CD a ser formulado e o peso molecular do fármaco, para uma estequiometria de 1:1 (Szejtli, 1984).

3.1.1.2. *Propriedades do fármaco a complexar*

Nem todos os fármacos são candidatos viáveis para complexação com ciclodextrinas como discutido no capítulo 2.5.3. No entanto, mesmo cumprindo todos esses requisitos em algumas situações, a utilização de CD não é vantajosa. Por exemplo, se o rácio F-CD for muito baixo, a quantidade de CD necessária para complexar todo o fármaco é bastante elevada, o que resulta numa desvantagem tecnológica devido à elevada massa final da forma farmacêutica (Consultar capítulo 2.5.3).

A utilização de CD é normalmente mais vantajosa quando o preço do fármaco é bastante elevado, pois o uso de CD diminui drasticamente a quantidade de fármaco necessária para o mesmo efeito terapêutico.

3.1.1.3. *Propriedades do complexo formado*

Como já foi discutido anteriormente, a constante de estabilidade do complexo F-CD formado é essencial. Valores muito baixos implicam uma baixa complementaridade entre o fármaco e a CD, o que resulta num rácio F/CD insuficiente para justificar o emprego de uma tecnologia tão cara, para além de a massa do produto final ser

extremamente elevada, não sendo deste modo prática a sua toma. Valores muito elevados significam um elevado rácio F/CD e conseqüentemente um alto rendimento, mas a eficácia do fármaco desce drasticamente, pois este não se dissocia facilmente do complexo não sendo deste modo absorvido.

3.1.1.4. *Modificação do perfil de libertação do fármaco*

Do ponto de vista de otimização farmacoterapêutica, a libertação de um fármaco de uma forma farmacêutica poderá ser modificada de acordo com o objetivo terapêutico pretendido. A grande quantidade de ciclodextrinas que atualmente é possível sintetizar através da derivação das ciclodextrinas naturais, com diferentes características físico-químicas, possibilita a criação de sistemas de libertação de fármacos com modificação da velocidade e/ou tempo de libertação (Uekama *et al.*, 1998).

A libertação imediata de uma substância ativa de uma forma farmacêutica, como um comprimido, é bastante útil em situações em que o efeito terapêutico deve ocorrer o mais rapidamente possível, como é o caso de situações de emergência. No entanto, fármacos pouco hidrófilos têm uma velocidade de dissolução lenta, resultando num pico de concentração $t_{máx}$ elevado. Para esta situação as CD hidrófilas são bastante úteis, pois aumentam a velocidade de dissolução do fármaco, o que não só diminui o $t_{máx}$, como também aumenta a biodisponibilidade e diminui a dose necessária administrar para o efeito pretendido (Martin Del Valle, 2004). Em comparação com solventes orgânicos, as CD são mais vantajosas, não só devido aos efeitos tóxicos que estes podem exercer sobre o organismo uma vez que as CD são bastante seguras, mas também porque os fármacos dissolvidos nos solventes orgânicos sofrem precipitação quando em contato com os fluidos biológicos (Stella e He, 2008). Devido às vantagens da β -CD em relação às restantes CD (preço, acessibilidade e cavidade de dimensões adequadas a várias moléculas), esta seria a mais adequada, no entanto devido à sua baixa solubilidade são utilizados derivados mais hidrófilos como: HP- β -CD, G₂- β -CD, SBE- β -CD e β -CD metiladas com baixo grau de substituição, que aparentam ser as melhores (Stella e He, 2008). Diversos estudos foram realizados para avaliar o efeito das diferentes CDs no perfil de libertação de diversas moléculas. Hirlekar e Kadam (2009) avaliaram o efeito de M- β -CD (Metil- β -ciclodextrina) na velocidade de dissolução de uma molécula com

baixa solubilidade aquosa, o carvedilol, comprovando que este sofreu um grande aumento. Figueiras *et al.* (2007), avaliou o efeito de β -CD e M- β -CD na dissolução do omeprazol num meio de saliva artificial, comprovando que ao fim de 6 minutos apenas aproximadamente 12% do fármaco complexado com β -CD dissolveu, enquanto que com a CD metilada demonstrou uma dissolução de 90%.

A libertação prolongada de um fármaco é bastante útil quando este apresenta um tempo de semi-vida curto, pois é eliminado rapidamente da corrente sanguínea. Para além disso, também possibilita a diminuição da frequência de administração, o que aumenta a adesão à terapêutica, e manutenção de valores dentro da margem terapêutica, o que impede a ocorrência de picos tóxicos ou valores sub-terapêuticos. Para este efeito, podem ser utilizadas ciclodextrinas hidrófobas como as etiladas: DE- β -CD e TE- β -CD, que devido à sua baixa afinidade para os fluidos biológicos, vão dissolvendo lentamente, libertando deste modo o fármaco também lentamente. É possível então variar a solubilidade do derivado de ciclodextrina de acordo com o perfil de libertação prolongada pretendido, como comprovado em diversos estudos (Corti *et al.*, 2007; Filipovic-Grcic *et al.*, 1996; Quaglia *et al.*, 2001). Entre estes é de realçar o estudo realizado por Lemesle-Lamache *et al.* (1996), no qual estes avaliaram o efeito de várias CD (Etil- β -ciclodextrinas com vários graus de substituição), na velocidade de dissolução de salbutamol. A dissolução dos complexos de salbutamol com os derivados etilados de ciclodextrinas foi mais lenta do que com β -CD, para a qual a libertação foi quase imediata.

A libertação retardada é útil para fármacos sensíveis às condições dos fluidos do trato gastrointestinal como por exemplo pH ácido. Neste caso podem ser utilizadas CD preferencialmente solúveis em pH neutro e alcalino, que começam a dissolver e consequentemente a libertar o fármaco apenas no trato intestinal, como é o caso da CM- β -CD. Uekama *et al.* (1993), avaliaram o perfil de libertação de diltiazem em complexo com CM- β -CD em meios de pH ácido e alcalino, comprovando que a dissolução do fármaco só se inicia significativamente a pH neutro. Isto pode ser explicado pelo facto de a CM- β -CD apresentar um grupo hidroxilo que apenas a pH neutro ou alcalino se encontra ionizado, que é a fração solúvel.

A liberação modificada de fármacos é possível através da combinação de ciclodextrinas hidrófilas (libertação imediata) e hidrófobas (libertação prolongada), e é bastante útil para liberação prolongada e constante de fármaco com um início de tratamento imediato. Fernandes *et al.* (2003) avaliaram o perfil de dissolução e liberação da nicardipina (NC) através da combinação do complexo NC/HP- β -CD de liberação imediata, com o complexo NC/TA- β -CD. A modificação da proporção molar dos dois complexos permite a modulação do perfil de liberação do fármaco (Uekama, 2004).

3.1.2. ADMINISTRAÇÃO PARENTÉRICA

O uso de ciclodextrinas para administração parentérica permite ultrapassar várias limitações, como baixa solubilidade de fármacos hidrófobos, instabilidade em meio aquoso e irritação no local de administração. No entanto, apesar do grande potencial da β -CD para ultrapassar esses problemas, a sua solubilidade aquosa não é suficientemente elevada, e o seu uso está associado a hemólise e nefrotoxicidade (Brewster *et al.*, 1989; Uekama *et al.*, 1998). A HP- β -CD é uma das ciclodextrinas mais adequadas a ser usada como excipiente nesta via devido a possibilitar um aumento da solubilidade e estabilidade de vários fármacos, ser praticamente atóxico, e não cristalizar durante o processo de esterilização por aquecimento (Brewster *et al.*, 1989).

Num estudo recente, Ogawa *et al.* (2013) demonstraram que apesar de a β -CD não ser uma boa candidata como excipiente para administração parenteral da quetiapina, um fármaco antipsicótico, os seus derivados como G₁- β -CD, G₂- β -CD, HP- β -CD, DM- β -CD, e TM- β -CD promoveram um grande aumento da solubilidade da substância ativa, bem como um aumento da sua estabilidade.

3.1.3. ADMINISTRAÇÃO OFTÁLMICA

As ciclodextrinas possuem o potencial de aumentar a solubilidade e estabilidade de diversos fármacos hidrófobos, bem como diminuir a irritação local, e apesar de não possuírem uma atuação direta como promotores de permeação, tornam o fármaco disponível à superfície da córnea, promovendo deste modo a sua absorção (Aktas *et al.*, 2003; Badhani *et al.*, 2012; Bozkir *et al.*, 2012). Os melhores candidatos são deste modo

fármacos hidrófobos como por exemplo os corticosteroides cujo uso oftálmico é bastante relevante. Quando complexada com 2HP- β -CD, a dexametasona exhibe um elevado aumento de solubilidade aquosa e estabilidade, o que resulta num aumento da absorção e eficácia pela via ocular (Loftsson e Stefánsson, 2003).

Existem no entanto considerações que devem ser feitas, nomeadamente o facto de o tempo de contacto do complexo com a superfície ocular ser baixa, restringindo deste modo o uso de CD para fármacos muito hidrófobos. Para além disso não devem ser utilizados conservantes hidrófobos, pois estes podem competir com o fármaco pela CD e não só perdem a sua eficácia como podem levar à precipitação do fármaco (Rajewski e Stella, 1996).

3.2. APLICAÇÕES DERMATOLÓGICAS E COSMÉTICAS

A característica mais importante das ciclodextrinas consiste na sua capacidade para formar complexos com moléculas hidrófobas ou parte destas, aumentando deste modo a sua solubilidade e biodisponibilidade, oferecendo ainda proteção contra os efeitos degradantes da luz, calor e componentes incompatíveis da formulação e promovendo uma libertação controlada de fármacos e substâncias com fragrância e odor. Estas características fazem com que as ciclodextrinas tenham um grande potencial para uso em formulações para aplicação dérmica.

3.2.1. CICLODEXTRINAS E A PELE

Apesar do grande potencial da administração de fármacos por via dérmica devido à grande extensão da pele, a presença do estrato córneo que é uma camada da epiderme bastante compacta e impermeável, dificulta o seu uso, limitando deste modo a absorção a moléculas com um peso molecular inferior a 300 g/mol.

Um dos métodos conhecidos para aumentar a permeabilidade transdérmica de moléculas consiste no uso de ciclodextrinas como promotoras de permeação percutânea, que ao contrário de outros promotores de permeação como álcoois e ácidos gordos, não danificam as membranas celulares (Loftsson, 2001), podendo no entanto provocar alguma irritação cutânea devido à complexação de alguns componentes celulares lipídicos (Ventura *et al.*, 2001).

3.2.2. APLICAÇÕES DAS CICLODEXTRINAS NAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

3.2.2.1. Aplicações das ciclodextrinas como complexos de inclusão

- Aumento da estabilidade física e química das moléculas;

A maior parte das substâncias cosmeticamente ativas aplicadas na pele possuem algum grau de instabilidade em determinadas condições físicas e químicas, devido por exemplo à sua natureza antioxidante (facilmente oxidáveis) ou proteica (sofrem

desnaturação), podendo deste modo perder eficácia ou mesmo formar compostos irritantes para a pele. A complexação com ciclodextrinas oferece um micro-ambiente protetor à molécula, levando deste modo não só a uma diminuição da irritação da pele, como a um aumento da eficácia, pois uma maior porção da substância está disponível para atuar, como demonstrado na tabela 6.

Tabela 6 - Efeitos das ciclodextrinas na sensibilidade e eficácia de substâncias usadas em cosméticos.

Substância	Uso	Sensibilidade	Efeito das CD	Referência bibliográfica
Resveratrol	Antioxidante (estrutura fenólica)	Temperatura elevada e enzimas oxidativas	Aumento da estabilidade e biodisponibilidade com β -CD	Lucas-Abellán <i>et al.</i> , 2007
Hidroquinona	Despigmentante	pH ácido extremo ou alcalino e luz	Aumento da estabilidade e eficácia com β -CD	Tsomi, 1991
Ácido Kójico	Despigmentante	Temperatura elevada e luz	Aumento da eficácia, solubilidade e estabilidade com β -CD	Hatae e Nakashima, 1987
Ácido Linoleico	Emoliente e nutritivo	Substâncias e condições oxidantes	Aumento da estabilidade com α -CD	Regiert, 2007
Retinol	Ação rejuvenescente da pele e anti-rugas	Radiação UV e oxigênio - formação de compostos tóxicos	Aumento da fotoestabilidade e eficácia com 2HP- β -CD	Lin <i>et al.</i> , 2000
EH-DMAB	Filtro solar	Radiação UV	Aumento da fotoestabilidade e solubilidade com HP- β -CD	Citernesì, 2001

- Aumento ou diminuição da permeação cutânea de diversas substâncias;

Dependendo do nível de atuação na pele pretendido, pode ser necessário aumentar ou diminuir a absorção transdérmica. Por exemplo os filtros solares devem permanecer à superfície da pele o máximo de tempo possível sem serem absorvidos, bem como os desodorizantes e antitranspirantes. O filtro solar BZ-3 (Benzofenona-3) tem um elevado

poder de absorção de radiação UV-A e UV-B, no entanto devido à sua absorção para camadas inferiores da pele pode provocar irritação e uma diminuição da eficácia. A sua complexação com HP- β -CD diminui drasticamente a absorção cutânea levando a uma diminuição da irritação e aumento da eficácia (Berbicz *et al.*, 2011).

Por outro lado, produtos anti-envelhecimento (substâncias cosmeticamente ativas) devem penetrar as camadas celulares inferiores de modo a exercer a sua ação (Duchêne *et al.*, 1999).

- Diminuição da irritação cutânea;

Em comparação com agentes tensioativos habitualmente utilizados em formulações cosméticas, as CD apresentam a vantagem de não serem tóxicas ou alergénicas resultando deste modo numa diminuição da irritação cutânea (Amann e Deressnandt, 1993). Para além disso, diminuem o contacto de substâncias irritativas com a pele.

A tretinoína é um composto com bastante utilidade no tratamento tópico de pele danificada pela radiação solar, entre outras aplicações. No entanto pode provocar eritema, irritação e descamação da pele em tratamentos prolongados. Através da veiculação em ciclodextrinas (2-HP- β -CD), a tretinoína demonstrou igual eficácia com uma diminuição drástica na irritação cutânea (Miura *et al.*, 2012).

- Libertação controlada de substâncias cosmeticamente ativas e fragrâncias na pele (Ciobanu *et al.*, 2013 (a); Ciobanu *et al.*, 2013 (b));
- Melhoria no processo de preparação da formulação: i) Utilização de menores quantidades de surfactantes (menor produção de espuma); ii) Aumento da estabilidade de emulsões (Shimada *et al.*, 1991) e suspensões (Laurent *et al.*, 1999); iii) Conversão de substâncias gordurosas ou líquidas em pó (melhor manuseamento) (Holland *et al.*, 1999); iv) Redução da higroscopicidade das substâncias encapsuladas (Duchêne *et al.*, 1999); v) Utilização de menores quantidades de conservantes (as CD não proporcionam um ambiente nutritivo para o desenvolvimento de microorganismos) (Duchêne *et al.*, 1999).

3.2.2.2. *Aplicações das ciclodextrinas vazias*

- Aprisionamento de maus odores;

As ciclodextrinas têm capacidade de formar complexos com compostos voláteis com mau odor libertados nas secreções corporais e como resultado da atividade microbiana. Deste modo impedem a volatilização dos maus odores da superfície da pele (Loftsson, 2001). Para além disso, as CD também possuem alguma atividade antimicrobiana, impedindo deste modo a formação de maus odores (Duchêne *et al.*, 1999).

Existem várias patentes de produtos preparados com CD para este propósito: mau odor da boca (Cho *et al.*, 1987), mau odor corporal (Trinh *et al.*, 1999) e mau odor dos pés (Matsuda e Ito, 1991 (a)).

CD em pó com partículas inferiores a 12 mm são também adicionadas a fraldas, pensos higiénicos e papel higiénico de modo a controlar os maus odores, possuindo ainda a vantagem de exibirem atividade antimicrobiana (Woo *et al.*, 1998).

- Absorção de compostos lipídicos;

Devido ao seu interior hidrófobo, as CD possuem a capacidade de incorporar substâncias gordurosas como o sebo produzido em excesso nas peles com tendência acneica. Deste modo, estas podem ser utilizadas juntamente com outros compostos desengordurantes em formulações de limpeza da pele sem causar irritação (Matsuda e Ito, 1991 (b)).

A Klorane® possui champôs secos que permitem a limpeza capilar (remoção do sebo em excesso) sem necessidade de aplicação de água, sendo deste modo bastante práticos para uso diário em indivíduos com pouco tempo ou para indivíduos acamados por exemplo. A elevada capacidade desengordurante destes champôs deve-se em parte à presença de ciclodextrinas em forma de pó, que formam complexos com a gordura em excesso, removendo-a com facilidade (Klorane, 2013).

IV. APLICAÇÕES NOVAS E ESPECIALIZADAS DAS CICLODEXTRINAS

4.1. SUGAMMADEX: APLICAÇÃO CLÍNICA E INTRODUÇÃO NO MERCADO

Desde a sua descoberta, as ciclodextrinas têm vindo a ser intensivamente estudadas com o objetivo de melhorar as características de diversos fármacos com sérias limitações que impedem o seu uso prático: instabilidade química e física, baixa solubilidade, baixa permeação das barreiras biológicas, entre muitos outros como discutido em capítulos anteriores. No entanto, cada vez mais as ciclodextrinas estão a ganhar protagonismo como substâncias ativas e não apenas como excipientes para melhorar as características de outras moléculas, como é o caso do Sugammadex.

4.1.1. EMERGÊNCIA DO SUGAMMADEX

Os bloqueadores neuromusculares (BNM) são compostos que bloqueiam a transmissão dos impulsos nervosos na junção neuromuscular esquelética através da ligação aos recetores colinérgicos, sendo deste modo utilizados como adjuvantes anestésicos em cirurgias (Sokol-Kobielska, 2013). Devido ao seu caráter hidrófilo, estes compostos não atravessam a BHE (barreira hemato-encefálica) (Donati, 2000). Dentro dos BNM disponíveis no mercado, os mais utilizados em anestesia são o Rocurónio e o Vecurónio devido à ausência de efeitos cardiovasculares seguidos da sua utilização. O Rocurónio produz um início de ação mais rápido que o Vecurónio, sendo deste modo preferencialmente usado (Sokol-Kobielska, 2013).

No entanto, o uso dos BNM representa um grande risco, não só devido a possíveis reações de hipersensibilidade, mas também devido a um bloqueio neuromuscular residual após interrompida a sua administração. Os efeitos deste bloqueio incluem: obstrução das vias aéreas, aspiração de saliva e conteúdo gástrico e falha respiratória que pode levar à morte (Sokol-Kobielska, 2013). Foram já feitos diversos esforços no sentido de encontrar alternativas com menor tempo de ação, no entanto mesmo estes demonstraram um tempo de ação muito longo com a agravante de provocarem efeitos cardiovasculares graves como é o caso do Mivacurio (Donati, 2000). Existem ainda os

inibidores da acetilcolinesterase, que impedem a degradação da acetilcolina nas junções neuromusculares, revertendo deste modo em parte o bloqueio neuromuscular. No entanto, a sua atuação não é suficiente para reverter completamente o bloqueio por parte dos BNM.

No final da década de 90, após várias tentativas falhadas na procura de um BNM com menor tempo de ação mas com efeito de início rápido e sem efeitos cardiovasculares, Anton Bom, um químico na empresa Organon produtora do Rocurónio optou por um caminho diferente. Este estudou a afinidade de diversos derivados de ciclodextrinas para o Rocurónio, chegando à conclusão, que devido ao seu tamanho, este BNM podia ser complexado com γ -CD. Foi então desenvolvido o Org 25969 mais tarde designado Sugammadex (Booij, 2009).

4.1.2. ESTRUTURA E MECANISMO DE AÇÃO

O Sugammadex (Figura 13) consiste numa γ -CD (8 unidades de glucopirranose) com 8 cadeias laterais de grupos carboxílicos tioéter na posição C6. A cavidade interna deste acomoda a porção hidrofóbica (esqueleto esteroide) do Rocurónio (Figura 14), enquanto que as cadeias laterais carregadas negativamente interagem com a porção da molécula carregada positivamente com um amónio quaternário (Booij, 2009). Deste modo, o complexo formado é bastante coeso, o que é comprovado pela constante de dissociação de $0,04\mu\text{M}$ (Bom *et al.*, 2009).

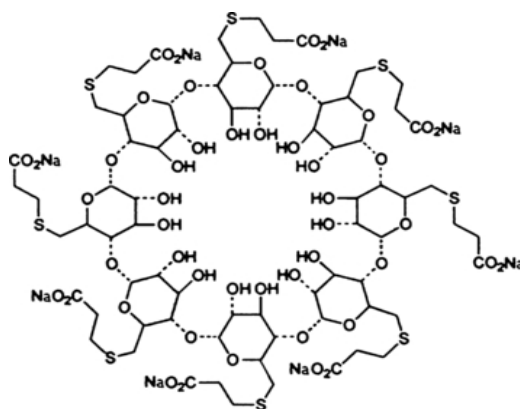


Figura 13 - Estrutura química do Sugammadex (Booij, 2009).

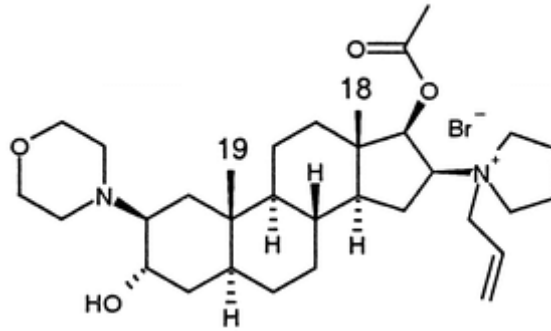


Figura 14 - Estrutura química do Rocurónio (Kameron et al., 2002).

Após ligação ao Rocurónio, o complexo formado com elevada estabilidade, desloca-se das junções neuromusculares, onde já não consegue atuar, para o plasma, seguindo-se a excreção renal (Booji, 2009). A diminuição da concentração de Rocurónio no plasma devido à formação do complexo de inclusão, cria um gradiente de concentração entre o tecido extravascular e o plasma, o que contribui para um aumento da sua excreção (Staals *et al.*, 2010).

A complexação do Vecurónio ocorre da mesma maneira, no entanto o Sugammadex tem menor afinidade para este BNM (possui um K_d de $0,1\mu\text{M}$) (Bom *et al.*, 2009). Deste modo, seria de prever que a quantidade de Sugammadex necessária para complexar este composto fosse superior, no entanto, visto que este é cerca de 6 vezes mais potente que o Rocurónio (Donati, 2000), o que leva ao uso de uma menor quantidade para o mesmo efeito anestésico, a quantidade de Sugammadex utilizada é semelhante.

4.1.3. ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS

O efeito do Sugammadex na reversão da ação anestésica do Rocurónio e Vecurónio foi primeiro testado no hemidiafragma com nervos frénicos de ratinhos ICR (Bom e Thomson, 2006). A recuperação total da resposta muscular com Sugammadex após exposição com Rocurónio ocorreu antes de ser atingida uma equivalência molar entre este e o Sugammadex. Este facto deve-se provavelmente à necessidade de uma dose de BNM mínima nas junções neuromusculares de modo a ocorrer bloqueio neuromuscular. A recuperação total da resposta neuromuscular após exposição com Vecurónio ocorreu

após ser atingida a equivalência molar entre este e o Sugammadex, o que é explicado pela menor afinidade deste para o Sugammadex.

Foram ainda realizados estudos *in vitro* no músculo liso bronquial de ratos Wistar (Yoshioka *et al.*, 2012), em células do músculo cardíaco e do músculo do diafragma de ratos Sprague-Dawley (Kalkan *et al.*, 2012) e em células de pele de doentes com alergia ao Rocurónio (Leysen *et al.*, 2011).

Estudos *in vivo* efetuados em porquinhos da Índia (Epemolu *et al.*, 2002; Epemolu *et al.*, 2003), cães (Mosing *et al.*, 2012), gatos (Staals *et al.*, 2011 (a)), macacos (deBoer *et al.*, 2006 (a); deBoer *et al.*, 2006 (b); deBoer *et al.*, 2006 (c); Staals *et al.*, 2011 (b)), e pôneis (Mosing *et al.*, 2010), permitiram principalmente a compreensão do mecanismo de ação do Sugammadex na reversão do bloqueio neuromuscular produzido pelo Rocurónio e Vecurónio, visto que após a sua administração a concentração plasmática destes BNM aumentou, o que sugere a criação de um movimento dos BNM das junções neuromusculares para fora destas, seguido de eliminação.

No entanto, os valores obtidos através da maioria destes estudos possuem baixo significado prático, visto que existem elevadas discrepâncias de sensibilidade aos BNM entre espécies. Deste modo é essencial a realização de testes em humanos para determinar as doses certas de Sugammadex a utilizar em cada situação.

4.1.4. ESTUDOS CLÍNICOS EM HUMANOS

Vários estudos clínicos foram efetuados em humanos, o que permitiu avaliar as características farmacocinéticas, eficácia e toxicidade do uso de Sugammadex.

Sparr *et al.* (2007) determinaram num estudo realizado em humanos que o perfil farmacocinético do Sugammadex é linear com o aumento da dose, e o seu volume de distribuição é entre 10 a 12 L, o que é consistente com a distribuição pelos fluidos extracelulares onde este atua. Staals *et al.* (2010) determinaram ainda que o tempo de semivida de excreção (pelo rim) do Sugammadex é de aproximadamente 2h. No entanto

em indivíduos com insuficiência renal o tempo de semivida de excreção pode chegar às 35h.

A eficácia do Sugammadex pode ser avaliada através da medição do tempo necessário para recuperação total do bloqueio neuromuscular, após administração de diferentes doses de BNM (Tabela 7).

Tabela 7 - Tempo (min) de recuperação neuromuscular total com Sugammadex, 3 a 5 minutos após administração de Rocuronium.

Sem Sugammadex	Dose de Sugammadex					Referências
	1mg/Kg	2 mg/Kg	4 mg/Kg	8 mg/Kg	16 mg/Kg	
Rocurônio (0,6mg/Kg)						
52,4	25	6,9	4,3	1,6	-	Sparr <i>et al.</i> , 2007
Rocurônio (1,2 mg/Kg)						
122,1	-	56,5	15,8	2,8	1,9	deBoer <i>et al.</i> , 2007
-	-	-	-	-	3,2	Lee <i>et al.</i> , 2009

Vários estudos toxicológicos foram realizados em humanos, e os principais efeitos adversos mencionados incluem dor ligeira no local de injeção e alteração do palato. Em doses extremas de 32 mg/Kg (as doses habituais são entre 2 a 4 mg/Kg), um voluntário exibiu reação de hipersensibilidade, que no entanto normalizou após descontinuação da administração, e foram ainda reportados seis casos de voluntários que possivelmente exibiram uma reação de hipersensibilidade (Naguib e Brull, 2009). É necessário ter em atenção no entanto, que devido à anestesia que também é induzida nestes pacientes, certos efeitos adversos poderão ser mascarados, sendo deste modo necessário efetuar mais testes para confirmar os efeitos toxicológicos desta molécula.

4.1.5. SUGAMMADEX NA PRÁTICA CLÍNICA

O medicamento Bridion®, que consiste numa solução injetável de 100 mg/ml de Sugammadex foi autorizada pela EMEA para comercialização na União Europeia a 25 de Julho de 2008 (European Medicines Agency, 2013). Nos EUA, apesar das intensas tentativas da empresa Merck de conseguir a aprovação da FDA para a comercialização do Bridion®, este ainda não está disponível no mercado (Carrol e McBride, 2013).

Nos países em que este medicamento é comercializado, o seu custo é demasiado elevado e superior ao custo combinado de todos os anestésicos utilizados num caso típico. Um frasco de 200 ml (quantidade estimada necessária) para reversão de um bloqueio neuromuscular moderado, custa aproximadamente 70€, o que sem dúvida contribui para uma menor utilização deste do que seria de esperar (Donati, 2011). É no entanto de extrema importância em casos de emergência.

4.2. TRATAMENTO DA DOENÇA NIEMANN-PICK TIPO C

4.2.1. DOENÇA DE NIEMANN-PICK TIPO C

A doença de Niemann-Pick é uma doença genética autossômica recessiva que resulta num metabolismo celular lipídico anormal. Pode resultar de uma mutação no gene SMPD1 (sphingomyelin phosphodiesterase 1) que codifica a enzima ASM (acid sphingomyelinase enzyme), dando origem aos tipos A e B da doença, ou de uma mutação dos genes Npc1 ou Npc2, dando origem ao tipo C da doença.

Nos tipos A e B da doença, a mutação do gene SMPD1 resulta numa deficiente produção de ASM (mais acentuada no tipo A), enzima esta responsável pela hidrólise de esfingomielina nos lisossomas (Ledesma *et al.*, 2011). A sua acumulação nos lisossomas leva à formação de organelos de esfingomielina por toda a célula, o que acaba por provocar morte celular, resultando em manifestações neurológicas e hepáticas graves e fatais, como ascite, edema pulmonar e icterícia no recém-nascido; hepatoesplenomegalia, distonia, cataplexia, ataxia e deficiente desenvolvimento cerebral e motor na criança e problemas neurológicos no adulto como depressão, doença bipolar e esquizofrenia (Brady *et al.*, 1989). No tipo A em que a enzima ASM encontra-se praticamente inexistente, a criança morre por volta dos 2-3 anos de idade (Ledesma *et al.*, 2011). No tipo B em que a enzima ASM é produzida de uma forma deficiente, as primeiras manifestações clínicas poderão ocorrer apenas na adolescência ou no jovem adulto, levando a uma morte prematura (Thurberg *et al.*, 2012).

No tipo C, a produção das proteínas codificadas pelos genes NPC1 ou NPC2 mutados é deficiente, o que resulta numa acumulação de colesterol não-esterificado nos lisossomas (Vance, 2006), visto que estas proteínas são responsáveis pelo transporte do colesterol dos lisossomas para a membrana celular (Pentchev *et al.*, 1985; Wojtanik e Liscum 2003). A incapacidade dos lisossomas de libertarem colesterol esterificado implica uma contínua captação de colesterol e sua acumulação nas células devido à não ativação de mecanismos de feedback negativo, e consequente morte celular (Liscum e Sturley, 2004; Mukherjee e Maxfield, 2004).

Nas células neuronais, visto que estas não captam colesterol exógeno mas sim o produzem endogenamente (Dietschy e Turley, 2001), todo o colesterol formado fica aprisionado, não contribuindo deste modo para o desenvolvimento cerebral, o que é responsável pela degeneração neurológica e desmielinização (Liu *et al.*, 2007; Vanier, 1999). Este tipo da doença tem um desenvolvimento precoce e acelerado, levando a uma morte prematura, geralmente entre os 5-15 anos (Vance, 2006).

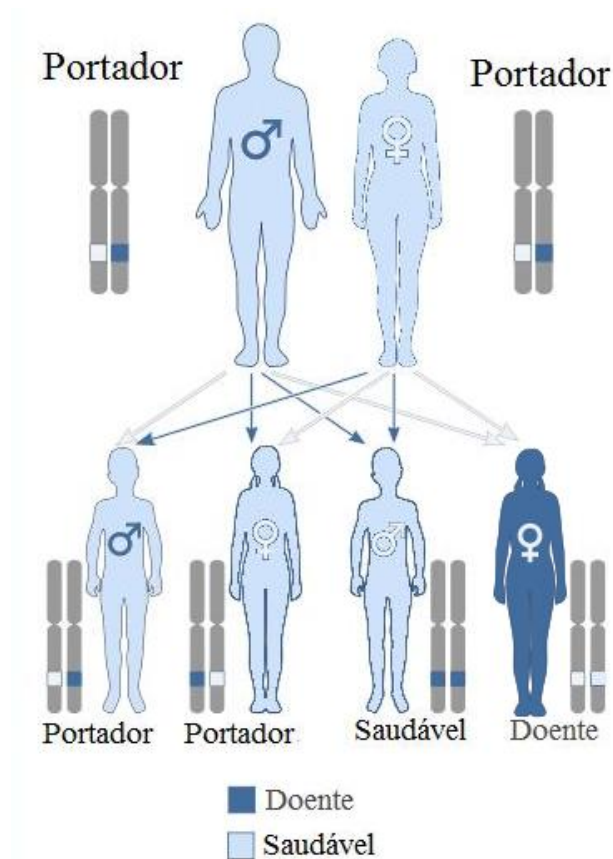


Figura 15 - Probabilidades de transmissão genética de uma doença autossômica recessiva. Adaptado de National Library of Medicine (2013).

A transmissão desta doença implica que ambos os progenitores sejam portadores de um gene mutado, resultando numa probabilidade de 25% de descendência homocigótica para a doença, 50% portadora saudável (heterocigótica) e 25% não-portadora saudável (Figura 15). Geralmente é este o caso observado, visto que os indivíduos afetados raramente atingem a idade reprodutiva (Brady *et al.*, 1989).

4.2.2. ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS

As primeiras estratégias terapêuticas que surgiram baseavam-se no tratamento dos sintomas da doença, como uso de antiepiléticos, antipsicóticos, broncodilatadores e antibióticos para os problemas respiratórios, entre outros. No entanto, estes apenas aumentam em parte a qualidade de vida (Patterson e Platt, 2004). Outra estratégia consiste na diminuição da absorção intestinal de colesterol através do uso de ezetimiba, o que leva a uma diminuição dos danos hepáticos (Patterson e Platt, 2004).

Em 2001, Zervas *et al.* demonstraram que a administração de um inibidor de síntese de GSL (glicosfingolípido) em ratinhos Npc 1 -/- (N-butyldeoxynojirimycin – Miglustat) leva a uma diminuição da acumulação de GSL, atrasa o início das sinais clínicos da doença e provoca um aumento da esperança média de vida das cobaias em 30%. Mais recentemente, um estudo realizado com Miglustat em ratinhos Npc 1 -/- demonstrou uma estabilização dos marcadores clínicos da doença após um tratamento de 12 meses (Patterson *et al.*, 2007). Em 2009 o medicamento Zavesco® cuja substância ativa é o Miglustat foi aprovado pela EMEA para uso no tratamento dos sintomas neurológicos de pacientes com Niemann Pick tipo C (NPC).

Outro estudo realizado em ratos Npc 1 -/- demonstrou que a Aloproganolona (neuroesteróide) em défice na doença NPC, quando administrada diretamente no CNS melhora os sintomas neurológicos (Griffin *et al.*, 2004).

No entanto, nenhum destas alternativas apresenta uma cura eficaz. Deste modo surgiu como alternativa o uso de ciclodextrinas, que como demonstrado anteriormente, possuem uma elevada capacidade de complexação de moléculas lipídicas, sendo deste modo em teoria úteis na remoção do colesterol acumulado na NPC tanto em células neuronais como em células não neuronais como demonstrado em diversos estudos *in vitro* (Bar-On *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2007; Klein *et al.*, 1995; Monnaert *et al.*, 2004; Ohtani *et al.*, 1989).

4.2.3. USO DE HP- β -CD PARA O TRATAMENTO DE NPC

Até à data foram realizados vários estudos para comprovar a eficácia das ciclodextrinas na remoção dos reservatórios lisossomais de colesterol no interior das células. De todas as ciclodextrinas avaliadas, a HP- β -CD é a mais indicada para este efeito, devido à sua elevada capacidade para incluir colesterol e ausência de toxicidade, como mencionado anteriormente. A M- β -CD demonstrou uma maior eficácia na remoção de colesterol na NPC (Rosenbaum *et al.*, 2010), no entanto possui atividade hemolítica que é potenciada pelo elevado volume de distribuição e tempo de semivida (longa permanência e distribuição no organismo), não sendo deste modo adequada para o efeito (Valentino e Quanren, 2008).

O HP- β -CD utilizado para efetuar os estudos pré-clínicos e clínicos é atualmente comercializado pela CTD, Inc. com o nome comercial Trappsol®, mais comumente designado de CYCLO™ (CTD Holdings, Inc., 2013).

Foram realizados deste modo vários estudos *in vivo* em modelos animais (Tabela 8), que comprovam a eficácia do HP- β -CD.

Tabela 8 - Ensaios clínicos *in vivo* em modelos animais para estudo da eficácia HP- β -CD no tratamento de Niemann Pick tipo C.

Modelo animal	Resultados	Referência
Ratinhos Npc1 -/-	Após injeções IP (intraperitoneal) de HP- β -CD aos 7 dias de idade ocorreu: <ul style="list-style-type: none"> • Diminuição do colesterol endógeno 500 mg/Kg após 24h e 900 mg/Kg após 6 semanas; • Diminuição da degeneração hepática e neuronal; Seis semanas após administração os níveis de colesterol permaneceram normais.	Liu <i>et al.</i> , 2009
Ratinhos Npc1 -/- e Npc2 -/-	Injeções IP ou SC (subcutânea) de HP- β -CD ao 7º dia de idade a cada 2 dias durante 2 semanas: <ul style="list-style-type: none"> • Diminuição da acumulação de GSL no córtex cerebral e no fígado (níveis idênticos aos ratinhos Npc1 e Npc2 +/-); • Prevenção da degeneração neuronal e motora. 	Davidson <i>et al.</i> , 2009
Ratinhos Npc1 -/-	Injeções SC de HP- β -CD (188 mg/Kg) normalizaram valores de colesterol citosólico após 24 h; Injeções ICV (intracerebroventricular) de HP- β -CD (0,5 mg/Kg) normalizaram valores de colesterol no córtex cerebral após 24 h.	Aquil <i>et al.</i> , 2011

A utilização de HP- β -CD diminui bruscamente a acumulação de colesterol não esterificado resultando numa diminuição dos efeitos hepáticos da NPC, no entanto exibe baixo efeito terapêutico a nível neurológico, devido à praticamente total incapacidade da HP- β -CD em permear a BHE (Camargo *et al.*, 2001; Pontikis *et al.*, 2013). Consequentemente, a ED₅₀ do HP- β -CD por via endovenosa para prevenção e tratamento dos efeitos hepáticos da doença é de aproximadamente 200 mg/Kg, enquanto que para os efeitos neurológicos é de aproximadamente 100000 mg/Kg (Ramirez *et al.*, 2011). Deste modo é essencial administrar a HP- β -CD diretamente no SNC para conseguir resultados neurológicos favoráveis.

4.2.3.1. *Mecanismo de ação da HP- β -CD*

Apesar de ser universalmente aceite que esta CD é capaz de normalizar os níveis de colesterol celulares e deste modo prevenir a degeneração associada à doença NPC, não existe um consenso em relação ao mecanismo pelo qual este atua.

Inicialmente era defendido que, ainda que a mutação do gene *Npc* originasse um deficiente transporte de colesterol não esterificado para o exterior da célula, é mantido um equilíbrio bidirecional entre os reservatórios lisossômicos de colesterol e a membrana celular, o que significa que após extração de grande parte do colesterol membranar, ocorre um fluxo de colesterol dos lisossomas para a membrana celular, restituindo os níveis membranares normais de colesterol e diminuindo a acumulação deste no interior da célula (Lange *et al.*, 1998). Esta teoria foi experimentalmente comprovada por Lange *et al.* (2002), após ser observada uma migração de colesterol dos reservatórios internos para a membrana celular semelhante à quantidade de colesterol extraída com HP- β -CD.

Outro estudo mais recente sugere que HP- β -CD é internalizado por pinocitose e nos lisossomas extrai o colesterol acumulado, visto que mesmo após remoção da ciclodextrina da cultura celular, continua a ocorrer diminuição dos níveis de colesterol intracelular (Rosenbaum *et al.*, 2010).

Chen *et al.* (2010) sugerem ainda que a diminuição dos níveis de colesterol se deve à capacidade da HP- β -CD de estimular a exocitose lisossomal de um modo cálcio-dependente, pois a extração de colesterol através desta CD é bastante superior quando administrada juntamente com cálcio.

4.2.3.2. *Ensaio clínico em humanos*

A descoberta do uso terapêutico de HP- β -CD na NPC revolucionou o tratamento desta doença rara e geralmente fatal nos primeiros anos de vida. No entanto, apesar de diversos estudos realizados em animais comprovarem a sua eficácia é necessário testar em humanos antes de a sua comercialização ser aprovada.

Em Abril de 2009, a FDA autorizou a administração de HP- β -CD por via endovenosa a duas gêmeas de 3 anos diagnosticadas com NPC que já apresentavam sinais neurológicos de demência e de danos hepáticos como hepatoesplenomegalia.

O tratamento experimental começou com infusões IV de 80 mg/Kg contínuas durante 4 dias seguido de infusões semanais de 160 mg/Kg (por 8h) durante 4 semanas, e nos meses seguintes infusões semanais de 320 mg/Kg durante 8h. Surpreendentemente, após os primeiros 4 dias de infusão as gêmeas apresentaram melhorias na fala, e após cada infusão demonstraram melhorias temporárias de fala, alerta e atenção, bem como diminuição do tamanho do fígado e do baço. Em adição não foram reportados efeitos tóxicos decorrentes do uso de HP- β -CD (Addi&Cassi Fund, 2013).

No entanto, a demência neurológica continuou bastante acentuada devido à incapacidade do HP- β -CD em permear a BHE. Deste modo foi concedida uma nova autorização pela FDA para administração de HP- β -CD por via intratecal em Setembro de 2011 (Addi&Cassi Fund, 2013).

Foi realizado ainda outro estudo por Matsuo *et al.* (2013) em duas crianças do sexo feminino de 4 e 14 anos diagnosticadas com NPC, baseado no mesmo protocolo de tratamento que o usado no caso anterior. Ocorreram algumas melhorias neurológicas e hepáticas principalmente nos primeiros 6 meses, no entanto após este tempo as condições neurológicas começaram a deteriorar, o que sugere a necessidade de complementar o tratamento com administrações diretamente no SNC.

Em 17 de Maio de 2010, a pedido dos pais das gêmeas, a FDA atribui a designação de medicamento órfão a HP- β -CD e classificou-o como promissor para tratamento de NPC, e em 20 de Setembro de 2011, a EMEA também atribui a designação de medicamento órfão (NPD Foundation, 2013).

Em Janeiro de 2013, sob a direção do Dr. Ory MD e o Dr Porter PhD, MD, o plano do ensaio clínico para avaliar a segurança e eficácia do HP- β -CD administrado diretamente no fluido cerebrospinal em pacientes diagnosticados com NPC foi aceite pelo NIH

(National Institute of Health), e começou a inscrição dos pacientes (Balogh e Fenyvesi, 2013). A administração é efetuada através de um reservatório de Ommaya (sistema intraventricular) implantado no cérebro dos pacientes. Até ao momento foram já reunidas importantes informações farmacocinéticas acerca do HP- β -CD, e os biomarcadores neurológicos apresentam melhorias promissoras. Foram no entanto encontrados alguns problemas que levaram à interrupção temporária do estudo em Maio do mesmo ano pela FDA. O principal problema decorreu de uma infeção comum na maioria dos pacientes no reservatório de Ommaya pelo *Propionibacterium acnes*, o que torna necessária a procura de um novo modo de administração, como administração intratecal (Conferência Internacional NIH/TRND, 2013).

Em Agosto de 2013 a FDA levantou a ordem de interrupção do ensaio clínico, e a equipa médica e investigadores encontram-se já a trabalhar no sentido de cumprir as alterações exigidas pela FDA. O Dr. Porter indicou ainda numa conferência científica que a equipa espera poder retomar o estudo em Setembro deste ano (NPD Foundation, 2013).

4.3. CICLODEXTRINAS ALVO-ESPECÍFICAS

A possibilidade de direcionar o efeito de uma substância ativa diretamente para o seu local de ação específico, sempre foi considerada a situação ideal para o tratamento de qualquer doença. As principais vantagens desta situação são: maior eficácia terapêutica, menos efeitos adversos, e diminuição da dose necessária visto que a disponibilidade do fármaco no local de ação é superior. Assim sendo, a principal área de aplicação é na terapia oncológica em que são experienciados intensos efeitos adversos derivados da não total especificidade do fármaco para as células tumorais.

Os avanços no desenvolvimento de estratégias químicas para produção de CD derivatizadas, abriu caminho para a sua utilização como transportadoras específicas de fármacos hidrófobos e não apenas como excipientes funcionais simples.

4.3.1. ESPECIFICIDADE PARA RECETORES TUMORAIS

Através do estudo das características moleculares únicas das células tumorais, é possível produzir ciclodextrinas complexadas com ligandos que reconhecem especificamente determinados recetores tumorais, não atuando deste modo em alvos celulares que não reconhecem.

4.3.1.1. *Recetor tumoral do ácido fólico*

O ácido fólico (Vitamina B9) é essencial para o desenvolvimento celular, visto que contribui para a formação de purinas e pirimidinas que constituem o material genético celular (Antony, 1992). O transportador transmembranar desta vitamina nas células normais apenas é capaz de reconhecer folatos reduzidos e não conjugados, ao passo que nas células tumorais, devido às maiores necessidades de ácido fólico (desenvolvimento celular acelerado), estes reconhecem folatos reduzidos e folatos conjugados na sua forma oxidada (ácido fólico) (Turek *et al.*, 1993). Estes recetores possuem uma grande afinidade para os derivados de folatos e são expressos em grandes quantidades em diversos tumores: mama, ovário, pulmão, endométrio, rins, entre outros (Garin-Chesa *et al.*, 1993).

As CD foram já modificadas com sucesso de modo a reconhecerem especificamente recetores tumorais de ácido fólico, através de conjugação com ácido fólico e um espaçador de PEG (Figura 16) (Caliceti *et al.*, 2003).

A utilização do PEG como espaçador tem como principal função aumentar a flexibilidade do ácido fólico, favorecendo deste modo a sua interação com o recetor (Salmaso *et al.*, 2004). No entanto, foi comprovado que este também leva a um aumento da solubilidade do complexo com a β -CD, sendo que o complexo AF-PEG-CD (ácido fólico-PEG-CD) apresenta uma solubilidade três vezes superior à CD não complexada (Caliceti *et al.*, 2003).

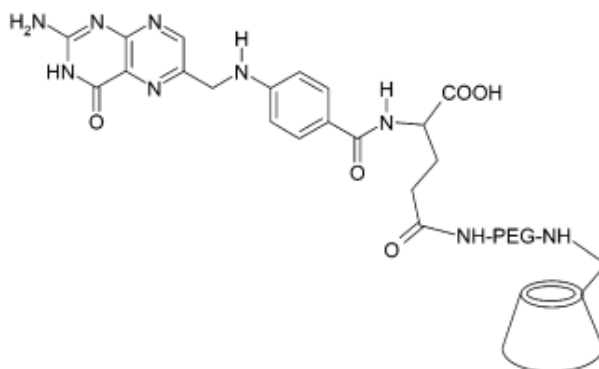


Figura 16 – Estrutura do bioconjugado de ácido fólico com ciclodextrina 1:1 com um espaçador de PEG (AF-PEG-CD) (Caliceti *et al.*, 2003).

Caliceti *et al.* (2003) demonstraram ainda um aumento da solubilidade do β -estradiol de 9 vezes quando complexado com β -CD e de 540 vezes quando complexado com AF-PEG-CD. Adicionalmente, a complexação com o bioconjugado AF-PEG-CD protegeu o β -estradiol contra degradação, e exibiu propriedades hemolíticas negligenciáveis em comparação com a β -CD isolada. Em 2007, Salmaso *et al.* também comprovaram uma diminuição das propriedades hemolíticas do bioconjugado AF-PEG-CD em relação à β -CD. Demonstraram ainda um aumento drástico da solubilidade de curcumina complexada com o bioconjugado em relação à solubilidade com β -CD (cerca de 3200 vezes superior), diminuição da velocidade de degradação da curcumina em 10 e 45 vezes a pH 6,5 e 7,2 respetivamente, e um aumento da especificidade da curcumina complexada para células tumorais KB com expressão do recetor de ácido fólico, em relação à curcumina isolada (Salmaso *et al.*, 2007).

Num estudo mais recente, Zhang *et al.* (2012) confirmou não só uma maior eficácia de ligação do bioconjugado AF-PEG-CD carregado com 5-FU (5- Fluorouracilo) (Figura 17) às células HeLa (com sobreexpressão do recetor de ácido fólico), como também um aumento da internalização celular do 5-FU por endocitose, o que potencializa a sua ação terapêutica.

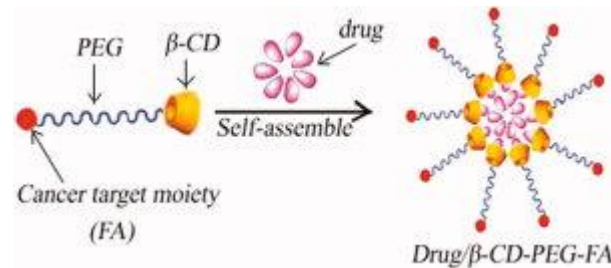


Figura 17 – Mecanismo de formação e estrutura do bioconjugado de 5-FU com ciclodextrina 1:9 com um espaçador de PEG (AF-PEG-CD) (Zhang *et al.*, 2012).

4.3.1.2. Recetor tumoral da transferrina

A transferrina é uma glicoproteína que se liga especificamente ao ferro e o transporta para células em proliferação. Esta liga-se a recetores celulares específicos, é internalizada por endocitose e liberta o ferro no interior da célula. Nas células tumorais, que estão em constante proliferação, estes recetores são sobreexpressos devido à maior necessidade de ferro para progressão do ciclo celular (Faulk *et al.*, 1990; Head *et al.*, 1997).

Bellocq *et al.* (2003) estudaram a eficácia de ligação do bioconjugado Tf-PEG-CD (Transferrina-PEG-CD) complexado com oligonucleótidos (para terapia tumoral génica) em dois tipos de células tumorais com sobreexpressão de recetores de transferrina, células PC-3 (carcinoma humano da próstata) e K562 (leucemia). Na ausência de transferrina livre, que compete com o bioconjugado (Tf-PEG-CD), foi demonstrado um aumento do reconhecimento celular através da derivação das CD com a transferrina, e um aumento da internalização dos oligonucleótidos na célula, o que leva a um aumento da eficácia anti-tumoral.

4.3.2. ESPECIFICIDADE GASTRO-INTESTINAL

No capítulo 3.1.1.4 foi já discutida a possibilidade de libertação retardada de fármacos no trato gastro intestinal através do uso de CD preferencialmente solúveis em meios de pH neutro ou levemente alcalino como é o caso do trato intestinal. Esta estratégia é utilizada para a libertação preferencial de fármacos sensíveis a pH ácido no trato intestinal, no entanto não é indicada para a libertação de fármacos no cólon, pois a libertação do fármaco é praticamente completa no intestino delgado.

A libertação cólon-específica de fármacos é um tipo de libertação bastante interessante para o tratamento de doenças relacionadas com o cólon, como o cancro do cólon, doença de Crohn e colite ulcerosa (Kosaraju, 2005).

Como já discutido anteriormente, as CD praticamente não são absorvidas ao longo do trato gastrointestinal, no entanto são degradadas por enzimas bacterianas no cólon, onde são assimiladas sob a forma de glucopirranose. Esta característica pode ser explorada para libertação de fármacos no cólon através da conjugação do fármaco com a CD, que funcionam como pró-fármacos. Deste modo o fármaco apenas é libertado no cólon após ser degradada a sua ligação à CD, onde pode atuar localmente sem ser observada uma extensa absorção sistémica, que muitas vezes é responsável pelos efeitos adversos dos fármacos para doenças do cólon (Hirayama *et al.*, 1996; Minami *et al.*, 1998; Uekama *et al.*, 1997).

Para o tratamento da doença inflamatória do cólon são usados corticosteroides como a prednisolona, no entanto após administração oral grande parte desta é absorvida antes de alcançar o seu local de ação, o cólon, o que leva à ocorrência de efeitos adversos sistémicos severos, como supressão adrenal, hipertensão e osteoporose. Através da conjugação deste fármaco com CD por ligação éster a um dos grupos hidroxilo terminais, Yano *et al.* (2000) demonstraram uma libertação praticamente completa do fármaco em condições semelhantes às do cólon.

4.4. APLICAÇÃO DE CICLODEXTRINAS NA TERAPIA FOTODINÂMICA

4.4.1. TERAPIA FOTODINÂMICA

A Terapia fotodinâmica (TF) consiste numa modalidade inovadora para o tratamento localizado de tumores como adjuvante de radioterapia, quimioterapia e cirurgia, evitando deste modo os efeitos adversos relacionados com a ação citotóxica sobre células saudáveis. Simultaneamente possui várias aplicações não-oncológicas como tratamento de afeções dermatológicas, oftalmológicas, cardiovasculares e infecciosas (Mazzaglia, 2011).

A TF consiste na utilização de uma substância fotossensibilizante (SF) como algumas porfirinas e seus análogos que se acumulam preferencialmente em vários tipos de tumores sólidos (Moan e Berg, 1992). Estas substâncias (corantes) quando expostas a radiação com comprimentos de onda entre 600-800 nm (radiação com maior poder penetrante dos tecidos) (Allison e Sibata, 2010) sofrem um processo fotooxidativo, sendo deste modo convertidas a um estado fotoativo (Moor, 2000). Neste estado, as SF são capazes de formar espécies citotóxicas, nomeadamente EROs (espécies reativas de oxigénio) que induzem apoptose ou necrose das células e tecidos envolventes através de reações de oxidação dos componentes celulares (Luo *et al.*, 1996) (Figura 18).

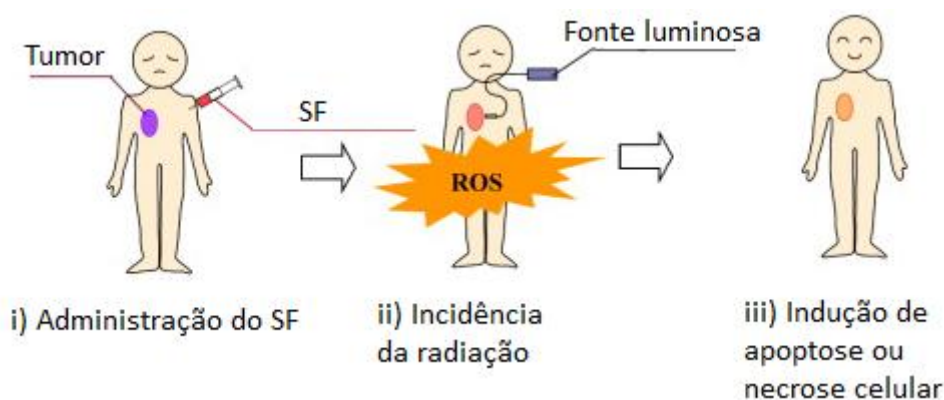


Figura 18 - Mecanismo de ação da terapia tumoral fotodinâmica. Adaptado de Yano *et al.* (2011).

A ação destrutiva das SF apenas ocorre após conversão para um estado energético superior (excitado), logo a radiação deve incidir diretamente no local do tumor (Allison

e Sibata, 2010). Tendo em conta que esta radiação possui um poder penetrante dos tecidos humanos de aproximadamente 2 cm, para melanomas ou afeções tópicas a luz pode ser incidida diretamente na pele (Dougherty *et al.*, 1998). Para tumores ou infeções internas a luz deve ser incidida através de endoscópios e fibras óticas (Fenyvesi e Malaga, 2013).

As moléculas candidatas a SF para TF devem obedecer aos seguintes critérios: i) estabilidade química, ii) solubilidade aquosa, iii) elevada capacidade para formação de ROS, iv) ausência de citotoxicidade no escuro, v) seletividade tumoral, vi) acumulação rápida nos tecidos tumorais, vii) elevada clearance renal, viii) absorção molar elevada entre os comprimentos de onda 600-800 nm (Yano *et al.*, 2011).

4.4.2. APLICAÇÃO DAS CICLODEXTRINAS

A utilização de ciclodextrinas como coadjuvantes na terapia fotodinâmica é uma possibilidade atrativa e bastante investigada nas últimas décadas. A formação de complexos CD-SF (Figura 19) leva a um aumento da estabilidade química das SF por impedirem o contato com substâncias oxidantes (como a exposição luminosa) e reação com componentes da formulação, e aumento da solubilidade aquosa das SF, eliminando deste modo a necessidade de utilização de outros agentes solubilizantes menos vantajosos (Ferro *et al.*, 2009). Por outro lado, o aumento da estabilidade e solubilidade leva a uma maior biodisponibilidade das SF nos tecidos alvo e consequentemente um aumento da atividade citotóxica. As CD impedem ainda a agregação das SF *in vitro* e *in vivo* sem comprometerem a sua fotoatividade como demonstrado por Moser (2000).

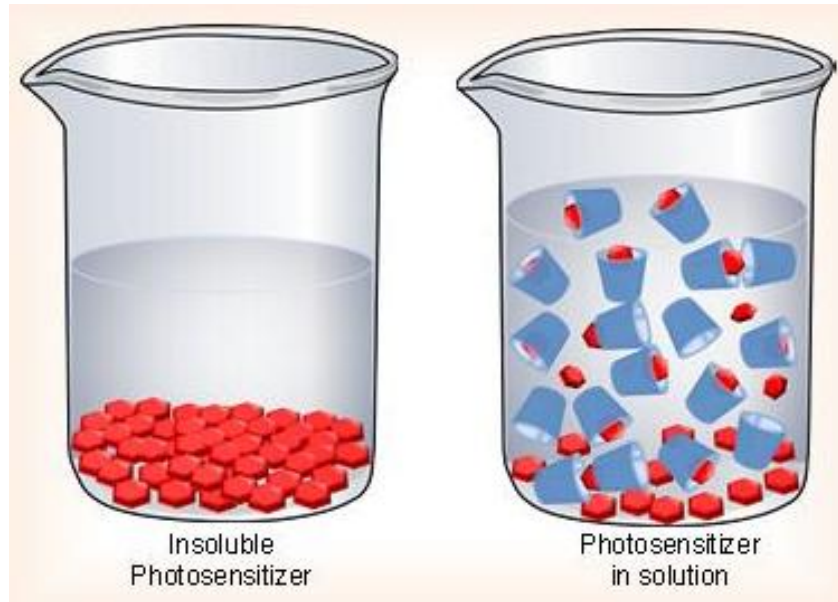


Figura 19 - Utilização de ciclodextrinas para o aumento da solubilidade das SF (Fenyvesi e Malaga, 2013).

As CD possibilitam também a formação de complexos de não-inclusão com SF hidrófilas. Nesta situação existe ainda a possibilidade de formação de complexos de inclusão com outras moléculas terapêuticas hidrófobas, o que permite um ataque duplo mais eficaz dos tecidos alvo (Figura 20). Aggelidou *et al.* (2013) reportaram uma atividade anti tumoral sinérgica através da utilização de ciclodextrinas conjugadas com Protoporfirina IX e o composto anticancerígeno N-desmetiltamoxifeno. Este complexo exerce simultaneamente ação quimio- e fototerapêutica.

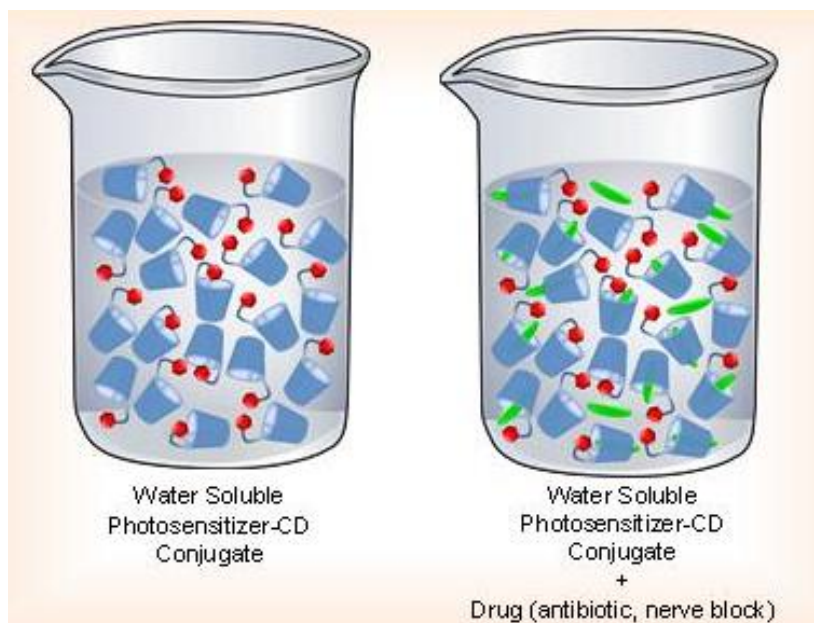


Figura 20 - Conjugação de complexos CD-SF com substâncias terapêuticas coadjuvantes (anticancerígenos, antimicrobianos, entre outros) (Fenyvesi e Malaga, 2013).

4.4.2.1. *Terapia tumoral fotodinâmica*

A aplicação deste tipo de complexos na terapia oncológica é sem dúvida uma das vertentes da terapia fotodinâmica mais estudadas devido à possibilidade de aumento da seletividade do SF para os tecidos tumorais, bem como aumento da estabilidade, solubilidade e biodisponibilidade da SF. Para além disso, consiste numa hipótese alternativa para o tratamento de tumores MDR, que exibem múltipla resistência a fármacos anti cancerígenos (Mazzaglia, 2011).

Kralova *et al.* (2006) demonstraram a eficácia *in vivo* do complexo entre Porfirina e β -CD (1:2) no tratamento de tumores mamários em ratinhos. Foi concluído através deste estudo que a complexação com CD possibilita uma acumulação tumoral da SF mais rápida e seletiva, o que representa enormes vantagens na terapia tumoral visto que a acumulação em tecidos saudáveis leva à ocorrência de graves efeitos adversos. Em adição, foi ainda observada uma atividade anti tumoral mais intensa, pois ocorreu irradiação dos tumores até 3 dias após iniciado o tratamento ao contrário do uso de porfirina isolada que apenas levou a uma redução temporária do crescimento tumoral.

Existe ainda a possibilidade de criação de CD conjugadas com ligandos que possuam afinidade específica para recetores expressos em células tumorais, como por exemplo a conjugação de ciclodextrinas com a forma oxidada da vitamina B9 (ácido fólico), que só as células tumorais reconhecem e utilizam (Salmaso e Sonvico, 2013; Yin *et al.*, 2013), tal como discutido no capítulo anterior. Nesta situação, apesar de ainda não haver estudos que o comprovem, a complexação com SF poderá potenciar a ação anticancerígena graças às propriedades inatas das CD e ação direcionada do ácido fólico para os recetores tumorais, e diminuição dos efeitos adversos devido à especificidade do complexo para tecidos tumorais.

4.4.2.2. *Terapia antibacteriana fotodinâmica*

Ao contrário da terapia tumoral fotodinâmica, a terapia fotodinâmica para o tratamento de infeções bacterianas é uma área que ainda necessita de bastante desenvolvimento. No entanto os poucos estudos efetuados obtiveram resultados bastante promissores, principalmente tendo em conta a emergência mundial de bactérias com resistência múltipla a antibióticos e a crescente necessidade de encontrar alternativas terapêuticas para as eliminar.

Tendo em conta a natureza eletrostática negativa da parede celular das bactérias, as SF com maior eficácia antibacteriana são as que possuem carga positiva, como as porfirinas e seus derivados, devido à maior interação exibida entre estes (Hamblin *et al.*, 2002; Jori e Coppelotti, 2007).

Ferro *et al.* (2009) reportaram a formação de um complexo entre ciclodextrinas catiónicas (SC_6NH_2) e porfirinas catiónicas (TDPyP) com um elevado potencial de formação de ROS, eficaz na inativação de MRSA. Estes complexos também se mostraram eficazes na eliminação de outras bactérias Gram negativas como a *Escherichia coli*. Isto ocorre devido à quantidade adicional de cargas positivas fornecidas pelas ciclodextrinas catiónicas, e devido à capacidade destas de promoverem a penetração das porfirinas na célula bacteriana, aumentando deste modo a sua eficácia.

Num estudo mais recente, Hanakova *et al.* (2013) avaliaram o efeito antibacteriano de complexos de derivados de porfirina (ZnTPPS₄ e TMPyP) com HP-β-CD sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Estes demonstraram que a presença de CD aumentou a eficácia do tratamento, resultando numa maior inviabilidade bacteriana.

V. CONCLUSÃO

Esta dissertação pretendeu fornecer uma visão geral sobre as características das ciclodextrinas, origem, síntese e principais vantagens, bem como as suas principais aplicações nos ramos da indústria farmacêutica a cosmética, e apresentar o estado de arte destas, incluindo as suas aplicações mais recentes e especializadas, fornecendo ainda uma visão sobre as perspetivas futuras.

A crescente busca do conhecimento científico leva a um constante aprimoramento dos sistemas específicos de libertação de fármacos, bem como a produção de excipientes capazes de ultrapassar as limitações de grande parte das novas moléculas descobertas com potencial terapêutico (baixa solubilidade, estabilidade, biodisponibilidade, ...). Entre estes são de salientar as ciclodextrinas, que pelo seu carácter anfifílico apresentam o potencial de complexar moléculas hidrófobas ou partes destas e ainda moléculas hidrófilas, surtindo deste modo efeitos positivos sobre as características de diversas moléculas. Para além disso, permitem a libertação modificada de fármacos, incluindo a sua libertação específica no cólon ou em células tumorais.

As descobertas recentes das aplicações das ciclodextrinas como molécula terapêutica para o tratamento da doença Niemann Pick tipo C e para reversão do bloqueio neuromuscular induzido por BNM abrem caminho para novas possibilidades, como uso das ciclodextrinas para tratamento de envenenamentos por complexação estável e específica de toxinas, ou mesmo a sua exploração em doenças caracterizadas por distúrbios metabólicos de lípidos como no caso da doença NPC. Como tal, é necessário continuar a investir nesta área promissora, de modo a aproveitar todas as possibilidades que as ciclodextrinas têm para oferecer.

VI. BIBLIOGRAFIA

Addi&Cassi Fund. [Em linha]. Disponível em <<http://addiandcassi.com/we-dare-to-dream-for-a-cure/>>. [Consultado em 05/09/2013].

Aggelidou, C., Theodossiou, T. A., Yannakopoulou, K. (2013). Protoporphyrin IX- β -Cyclodextrin Bimodal Conjugate: Nanosized Drug Transporter and Potent Phototoxin. *Photochemistry and photobiology*, 89(5), pp. 1011-1019.

Aktas, Y., *et al.* (2003). Influence of hydroxypropyl beta-cyclodextrin on the corneal permeation of pilocarpine. *Drug development and industrial pharmacy*, 29(2), pp. 223-230.

Alexanian, C., *et al.* (2008). Effect of pH and water-soluble polymers on the aqueous solubility of nimesulide in the absence and presence of β -cyclodextrin derivatives. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(11), pp. 1433-1439.

Allison, R. R., Sibata, C. H. (2010). Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 7(2), pp. 61-75.

Amann, M., Deressnandt, G. (1993). Solving problems with cyclodextrins in cosmetics. *Cosmetics and Toiletries*, 108(11), pp. 90-95.

Amidon, G. L., *et al.* (1995). A theoretical basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 12(3), pp. 413-420.

Antony, A. C. (1992). The biological chemistry of folate receptors. *Blood*, 79(11), pp. 2807-2820.

Aqul, A., *et al.* (2011). Unesterified cholesterol accumulation in late endosomes/lysosomes causes neurodegeneration and is prevented by driving cholesterol export from this compartment. *The Journal of Neuroscience*, 31(25), pp. 9404-9413.

Arun, R., Ashok, K., Sravanthi, V. (2008). Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule. *Scientia Pharmaceutica*, 76(1), pp. 567-598.

- Badhani, A., *et al.* (2012). Evaluation of cyclodextrins for enhancing corneal penetration of natamycin eye drops. *Journal of pharmacy and bioallied sciences*, 4(1), pp. 24-30.
- Balogh, K., Fenyvesi, E. (2013). Statistical evaluation of the cyclodextrin related literature published in the cyclodextrin news in 2012. *Cyclodextrin news*, 27(1), pp. 1-19.
- Bar-On, P., *et al.* (2006). Effects of the cholesterol-lowering compound methyl-beta-cyclodextrin in models of alpha-synucleinopathy. *Journal of neurochemistry*, 98(4), pp. 1032-1045.
- Becket, G., Schep, L. J., Tan, M. Y. (1999). Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 179(1), pp. 65-71.
- Bellocq, N. C., *et al.* (2003). Transferrin-containing, cyclodextrin polymer-based particles for tumor-targeted gene delivery. *Bioconjugate chemistry*, 14(6), pp. 1122-1132.
- Berbicz, F., *et al.* (2011). Use of photoacoustic spectroscopy in the characterization of inclusion complexes of benzophenone-3-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and ex vivo evaluation of the percutaneous penetration of sunscreen. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79(2), pp. 449-457.
- Biwer, A., Antranikian, G., Heinzle, E. (2002). Enzymatic production of cyclodextrins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(6), pp. 609-617.
- Bom, A., *et al.* (2009). Preclinical pharmacology of sugammadex. *Journal of critical care*, 24(1), pp. 29-35.
- Bom, A., Thomson, K. I. (2006). Effect of high doses of sugammadex on mouse hemidiaphragm contractions during TOF stimulation. *Anesthesiology*, 105, pp. 1-3.
- Booij, L. H. (2009). Cyclodextrin and the emergence of sugammadex. *Anesthesia*, 64(1), pp. 31-37.

Bozkir, A., Denli, Z. F., Basaran, B. (2012). Effect of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on the solubility, stability and in-vitro release of ciprofloxacin for ocular drug delivery. *Acta polinae pharmaceutica*, 69(4), pp. 719-724.

Brady, R. O., *et al.* (1989). Niemann-Pick disease types C and D. *Neurologic Clinics*, 7(1), pp. 75-88.

Brewster, M. E., *et al.* (1989). The potential use of cyclodextrins in parenteral formulations. *Journal of parenteral science and technology*, 43(5), pp. 231-240.

Brewster, M. E., *et al.* (1991). Development of aqueous parenteral formulations for carbamazepine through the use of modified cyclodextrins. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(4), pp. 380-383.

Brewster, M. E., Loftsson, T. (2007). Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced drug delivery reviews*, 59(7), pp. 645-666.

Brochsztain, S., Politi, M. J. (1999). Solubilization of 1,4,5,8-naphthalenediimides and 1,8-naphthalimides through the formation of novel host-guest complexes with α -cyclodextrin. *Langmuir*. 15(13), pp. 4486-4494.

Caliceti, P., *et al.* (2003). Synthesis and physicochemical characterization of folate-cyclodextrin bioconjugate for active drug delivery. *Bioconjugate chemistry*, 14(5), pp. 899-908.

Camargo, F., *et al.* (2001). Cyclodextrins in the treatment of a mouse model of Niemann-Pick C disease. *Life sciences*, 70(2), pp. 131-142.

Carrier, R. L., Miller, L. A., Ahmed, I. (2007). The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. *Journal of controlled release*, 132(2), pp. 78-99.

Carrol, J., McBride, R. (2013). [Em linha]. Disponível em <<http://www.fiercebiotech.com/story/fda-deals-merck-another-setback-anesthesia-drug-sugammadex/2013-07-16>>. [Consultado em 05/09/2013]

Chen, F. W., Li, C., Ioannou, Y. A. (2010). Cyclodextrin Induces Calcium-Dependent Lysosomal Exocytosis. *PLoS One*, 5(11), pp. 1-14.

Cho, H., Torii, M., Kanamori, T. (Lion Corp.). (1987). Deodorant controlling mouth odor. Patente Japonesa 63.264.516

Ciobanu, A., *et al.* (2013). Cyclodextrin-intercalated layered double hydroxides for fragrance release. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 75(3-4), pp. 333-339. (a)

Ciobanu, A., *et al.* (2013). Retention of aroma compounds from *Mentha piperita* essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers. *Food chemistry*, 138(1), pp. 291-297. (b)

Citernesi, U. (2001). Photostability of sun filters complexed in phospholipids or β -cyclodextrin. *Cosmetics and toiletries*, 116(9), pp. 77-86.

Conferência Internacional NIH/TRND (2013). [Em linha]. Disponível em <http://www.nnpdf.org/documents/FINAL-NIHTRNDCycloTrialUpdateMay32013-WrittenTranscripts_000.pdf>. [Consultado em 05/09/2013].

Corti, G. *et al.* (2007). Physical-chemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- β -cyclodextrin. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 45(3), pp. 480-486.

CTD Holdings Inc. [Em linha]. Disponível em <<http://www.cyclodex.com/>>. [Consultado em 20/09/2013].

Davidson, D. T., *et al.* (2009). Chronic Cyclodextrin Treatment of Murine Niemann-Pick C Disease Ameliorates Neuronal Cholesterol and Glycosphingolipid Storage and Disease Progression. *PLoS One*, 4(9), pp. 1-15.

deBoer, H. D., *et al.* (2006). Reversal of profound rocuronium neuromuscular blockade by sugammadex in anesthetized rhesus monkeys. *Anesthesiology*, 104(4), pp. 718-723. (a)

deBoer, H. D., *et al.* (2006). Sugammadex, a new reversal agent for neuromuscular block induced by rocuronium in the anaesthetized Rhesus monkey. *British journal of anaesthesia*, 96(4), pp. 473-479. (b)

deBoer, H. D., *et al.* (2006). Time course of action of sugammadex (Org 25969) on rocuronium-induced block in the Rhesus monkey, using a simple model of equilibration of complex formation. *British journal of anaesthesia*, 97(5), pp. 681-686. (c)

deBoer, H. D., *et al.* (2007). Reversal of rocuronium-induced (1.2 mg/Kg) profound neuromuscular block by sugammadex: a multicenter, dose-finding and safety study. *Anesthesiology*, 107(2), pp. 239-244.

Dietschy, J. M., Turley, S. D. (2001). Cholesterol metabolism in the brain. *Current opinion in lipidology*, 12(2), pp. 105-112.

Donati, F. (2000). Neuromuscular blocking drugs for the new millennium: current practice, future trends - comparative pharmacology of neuromuscular blocking drugs. *Anesthesia and analgesia*, 90(5), pp. 2-6.

Donati, F. (2011). Sugammadex: A cyclodextrin-based novel formulation and marketing story. *In: Bilensoy, E. (ed). Cyclodextrins in Pharmaceutics, Cosmetics and Biomedicine: Current and Future Industrial Applications. Hoboken, Wiley, pp.363-370.*

Dougherty, T. J., *et al.* (1998). Photodynamic therapy. *Journal of the national cancer institute*, 90(12), pp. 889-905.

Duchêne, D., Wouessidjewe, D., Poelman, M. C. (1999). Cyclodextrins in cosmetics. *In: Magdassi, S., Touitou, E. Novel cosmetic Delivery Systems. Nova Iorque, Marcel Decker, pp. 275-293.*

Ellouze, F., Amar, N. B., Deratani, E. (2011). Les cyclodextrines a large cycle: synthèse, purification, et applications. *Comptes Rendus Chimie*, 14(10), pp. 967-971.

Epemolu, O., *et al.* (2002). Liquid chromatography/mass spectrometric bioanalysis of a modified γ -cyclodextrin (Org 25969) and Rocuronium bromide (Org 9426) in guinea pig plasma and urine: its application to determine the plasma pharmacokinetics of Org 25969. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16(20), pp. 1946-1952.

Epemolu, O., *et al.* (2003). Reversal of neuromuscular blockade and simultaneous increase in plasma rocuronium concentration after the intravenous infusion of the novel reversal agent Org 25969. *Anesthesiology*, 99(3), pp. 632-637.

European Medicines Agency. [Em linha]. Disponível em <http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000885/human_med_000680.jsp&mid=WC0b01ac058001d124>. [Consultado em 13/09/2013]

FAO (2013). [Em linha]. Disponível em <<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-additives/en/>>. [Consultado em 12/09/2013].

Faulk, W. P., *et al.* (1990). Preliminary clinical study of transferrin-adriamycin conjugate for drug delivery to acute leukemia patients. *Molecular biotherapy*, 2(1), pp. 57-60.

Fenyvesi, E., Malanga, M. (2013). Cyclodextrins in the photodynamic therapy. *Cyclodextrin news*, 27(4), pp. 1-12.

Fernandes, C. M., *et al.* (2003). Hydrophilic and hydrophobic cyclodextrins in a new sustained release oral formulation of nifedipine: in vitro evaluation and bioavailability studies in rabbits. *Journal of controlled release*, 88(1), pp. 127-134.

Ferro, S., *et al.* (2009). Inclusion of 5-[4-(1-dodecanoylpyridinium)]-10,15,20-triphenylporphine in supramolecular aggregates of cationic amphiphilic cyclodextrins: physicochemical characterization of the complexes and strengthening of the antimicrobial photosensitizing activity. *Biomacromolecules*, 10(9), pp. 2592-2600.

Figueiras, A. *et al.*, (2007). Solid-state characterization and dissolution profiles of the inclusion complexes of omeprazole with native and chemically modified β -cyclodextrin. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 67(2), pp. 531-539.

Filipovic-Grcic, J. *et al.* (1996). Chitosan microspheres of nifedipine and nifedipine-cyclodextrin inclusion complexes. *International journal of pharmaceuticals*, 135(1-2), pp. 183-190.

Gabelica, V., Galic, N. De Pauw, E. (2002). On the specificity of cyclodextrin complexes detected by electrospray mass spectroscopy. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 13(8), pp. 946-953.

Garin-Chesa, P., *et al.* (1993). Trophoblast and ovarian cancer antigen LK26: sensitivity and specificity in immunopathology and molecular identification as a folate-binding protein. *The American journal of pathology*, 142(2), pp. 557-567.

Gomes, L. M. M., *et al.* (2013). Inclusion complexes of red bell pepper pigments with β -cyclodextrin: Preparation, characterisation and application as natural colorant in yogurt. *Food chemistry*, pp. 1-9, *in press*.

Griffin, L. D., *et al.* (2004). Niemann Pick type C disease involves disrupted neurosteroidogenesis and responds to allopregnanolone. *Nature medicine*, 10(7), pp. 704-711.

Hamblin, M. R., *et al.* (2002). Poly-cationic photosensitiser conjugates: effect of chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 49(6), pp. 941-951.

Hanakova, A., *et al.* (2013). The application of antimicrobial photodynamic therapy on *S. aureus* and *E. coli* using porphyrin photosensitizers bound to cyclodextrin. *Microbiological research*, pp. 1-8, *in press*.

Hatae, S., Nakashima, K. (1987). Whitening cosmetic. Patente EP 0241572.

Head, J. F., Wang, F., Elliott, R. L. (1997). Antineoplastic drugs that interfere with iron metabolism in cancer cells. *Advances in enzyme regulation*, 37, pp. 147-169.

Hillery, A. M., Lloyd, A. W., Swarbrick, J. (2001). *Drug Delivery and Targeting for Pharmacists and Pharmaceutical Scientists*. Boca Raton, CRC Press, pp. 263, 321.

Hirayama, F., Minami, K., Uekama, K. (1996). In vitro evaluation of biphenyl acetic acid- β -cyclodextrin conjugates as colon-targeting prodrugs: drug release behaviour in rat biological media. *The journal of pharmacy and pharmacology*, 48(1), pp. 27-31.

Hirlekar, R., Kadam, V. (2009). Preformulation study of the inclusion complex irbersartan- β -cyclodextrin. *AAPS PharmSciTech*, 10(1), pp. 276-281.

Hirlekar, R., Kadam, V. (2009). Preparation and characterization of inclusion complexes of carvedilol with methyl- β -cyclodextrin. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 63(1), pp. 219-224.

Holland, L., *et al.* (1999). *Cosmetic compositions comprising cyclic oligosaccharides and fragrance*. Patente EUA WO 67,716.

Huang, P., *et al.* (2007). Cholesterol reduction by methyl-beta-cyclodextrin attenuates the delta opioid receptor-mediated signaling in neuronal cells but enhances it in non-neuronal cells. *Biochemical pharmacology*, 73(4), pp. 534-549.

Infarmed [Em linha]. Disponível em <<http://www.infarmed.pt/genericos/pesquisamg/pesquisaMG.php>>. [Consultado em 06/05/2013]

Irie, T., *et al.* (1992). Enhancing effects of cyclodextrins on nasal absorption of insulin in rats. *International Journal of Pharmaceutics*, 84(2), pp. 129-139.

Jori, G., Coppelotti, O. (2007). Inactivation of pathogenic microorganisms by photodynamic techniques: mechanistic aspects and perspective applications. *Anti-infective agents in Medicinal chemistry*, 6(2), pp. 119-131.

Junghans, J. A. H., Muller, R. H. (2008). Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *International journal of nanomedicine*, 3(3), pp. 295-310.

Kalkan, Y., *et al.* (2012). The effect of rocuronium, sugammadex, and their combination on cardiac muscle and diaphragmatic skeletal muscle cells. *Journal of anesthesia*, 26(6), pp. 870-877.

Kalogeropoulos, N., *et al.* (2009). Encapsulation of complex extracts in β -cyclodextrin: an application to propolis ethanolic extract. *Journal of Microencapsulation*, 26(7), pp. 603-613.

Kameron, K. S., *et al.* (2002). Modified gamma-cyclodextrins and their rocuronium complexes. *Organic letters*, 4(20), pp. 3403-3406.

Klein, U., Gimpl, G., Fahrenholz, F. (1995). Alteration of the myometrial plasma membrane cholesterol content with beta-cyclodextrin modulates the binding affinity of the oxytocin receptor. *Biochemistry*, 34(42), pp. 13784-13793.

Klorane (2013). [Em linha]. Disponível em <http://www.klorane.pt/cabelo/champos_secos/>. [Consultado em 26/09/2013]

- Kosaraju, S. L. (2005). Colon targeted delivery systems: review of polysaccharides for encapsulation and delivery. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(4), pp. 251-258.
- Kralova, J., *et al.* (2006). Novel Porphyrin Conjugates with a Potent Photodynamic Antitumor Effect: Differential Efficacy of Mono- and Bis- β -cyclodextrin Derivatives *In Vitro* and *In Vivo*. *Photochemistry and photobiology*, 82(2), pp. 432-438.
- Lange, Y., *et al.* (2002). Dynamics of lysosomal cholesterol in Niemann-Pick type C and normal human fibroblasts. *Journal of lipid research*, 43(2), pp. 198-204.
- Lange, Y., Ye, J., Steck, T. L. (1998). Circulation of Cholesterol between Lysosomes and the Plasma Membrane. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(30), pp. 18915-18922.
- Laurent, S., Serpelloni, M., Pioch, D. (1999). A study of β -cyclodextrin stabilized paraffin oil/water emulsions. *International Journal of cosmetic science*, 50(1), pp. 15-22.
- Ledesma, M. D., *et al.* (2011). Brain pathology in Niemann Pick disease type A: Insights from the acid sphingomyelinase knockout mice. *Journal of Neurochemistry*, 116(5), pp. 779-788.
- Lee, C., *et al.* (2009). Reversal of profound neuromuscular block by sugammadex administered three minutes after rocuronium: a comparison with spontaneous recovery from succinylcholine. *Anesthesiology*, 110(5), pp. 1020-1025.
- Lemesle-Lamache, V., *et al.* (1996). Study of β -cyclodextrin and ethylated β -cyclodextrin salbutamol complexes, in vitro evaluation of sustained-release behaviour of salbutamol. *International journal of pharmaceuticals*, 141(1-2), pp. 117-124.
- Leysen, J., *et al.* (2011). Rocuronium-induced anaphylaxis is probably not mitigated by sugammadex: evidence from an in vitro experiment. *Anaesthesia*, 66(6), pp. 526-527.
- Lin, H. S., *et al.* (2000). 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin increases aqueous solubility and photostability of all-trans-retinoic acid. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 25(4), pp. 265-269.

- Liscum, L., Sturley, S. L. (2004). Intracellular trafficking of Niemann-Pick C proteins 1 and 2: obligate components of subcellular lipid transport. *Biochimica et biophysica acta*, 1685(1-3), pp. 22-27.
- Liu, B., et al. (2007). Receptor-mediated and bulk-phase endocytosis cause macrophage and cholesterol accumulation in Niemann-Pick C disease. *Journal of Lipid Research*, 48(8), pp. 1710-1723.
- Liu, B., et al. (2009). Reversal of defective lysosomal transport in NPC disease ameliorates liver dysfunction and neurodegeneration in the npc1^{-/-} mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(7), pp. 2377-2382.
- Loftsson, T. (2001). Cyclodextrins in skin delivery. *Cosmetics and toiletries*. 115(10), pp. 59-66.
- Loftsson, T., Brewster, M. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Drug solubilisation and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(10), pp. 1017-1025.
- Loftsson, T., Brewster, M. E. (2010). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62(11), pp. 1607-1621.
- Loftsson, T., Hreinsdóttir, D., Másson, M. (2007). The complexation efficiency. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 57(1), pp. 545-552.
- Loftsson, T., Másson, M., Brewster, M. E. (2004). Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Journal of pharmaceutical sciences*, 93(5), pp. 1091-1099.
- Loftsson, T., Stefánsson, E. (2003). Cyclodextrins in eye drop formulations: enhanced topical delivery of corticosteroids to the eye. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 80(2), pp. 144-150.
- Lucas-Abellán, C., et al. (2007). Cyclodextrins as resveratrol carrier system. *Food Chemistry*, 104(1), pp. 39-44.
- Luo, Y., Chang, C. K., Kessel, D. (1996). Rapid Initiation of Apoptosis by Photodynamic Therapy. *Photochemistry and photobiology*, 63(4), pp. 528-534.

- Martin Del Valle, E. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process biochemistry*, 39(9), pp. 1033-1046.
- Matsuda, H., Ito, K. (Shiseido Co, Ltd) (1991). *Body deodorants containing hydroxyalkylated cyclodextrins*, Patente Japonesa 03.284.616 (b)
- Matsuda, H., Ito, K. (Shiseido Co, Ltd) (1991). *Cosmetics packs containing hydroxyalkylated cyclodextrins*. Patente Japonesa 03.287.512 (a)
- Matsuo, M., *et al.* (2013). Effects of cyclodextrin in two patients with Niemann–Pick Type C disease. *Molecular genetics and metabolism*, 108(1), pp. 76-81.
- Mazzaglia, A. (2011). Photodynamic tumor therapy with cyclodextrin nanoassemblies. *In: Bilensoy, E. (ed). Cyclodextrins in Pharmaceuticals, Cosmetics and Biomedicine: Current and Future Industrial Applications*. Hoboken, Wiley, pp.343-361.
- Minami, K., Hirayama, F., Uekama, K. (1998). Colon-specific drug delivery based on α -cyclodextrin prodrug release behaviour of biphenylacetic acid from its cyclodextrin conjugates in rat intestinal tracts after oral administration. *Journal of pharmaceutical sciences*, 87(6), pp. 715-720.
- Miura, T., Takada, A., Ooe, A. (2012). Tretinoin Cyclodextrin Complex (RA/CyD) Causes Less Irritation with an Equal Antiwrinkle Effect Compared with Conventional Tretinoin: Clinical and Histologic Studies of Photoaged Skin. *Aesthetic plastic surgery*, 36(4), pp. 971-981.
- Moan, J., Berg, K. (1992). Photochemotherapy of cancer: experimental research. *Photochemistry and photobiology*, 55(6), pp. 931-948.
- Monnaert, V., *et al.* (2004). Behavior of alpha-, beta-, and gamma-cyclodextrins and their derivatives on an in vitro model of blood-brain barrier. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 310(2), pp. 745-751.
- Moor, A. C. (2000). Signaling pathways in cell death and survival after photodynamic therapy. *Journal of photochemistry and photobiology*, 57(1), pp. 1-13.
- Moser, J. G. (2000). Porphyrins and phthalocyanines as model compounds for detoxification of tumor chemotherapeutic drugs. *The journal of peptide research*, 4(1), pp. 129-135.

Mosher, G., Thompson, D. O. (2002). Complexation and cyclodextrins. *In*: Swarbrick, J. S., Boylan, J. C. (eds). *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. Nova Iorque, Marcel Dekker, pp . 531-568.

Mosing, M., *et al.* (2010). Reversal of profound rocuronium block monitored in three muscle groups with sugammadex in ponies. *British journal of anaesthesia*, 105(4), pp. 480-486.

Mosing, M., *et al.* (2012). Reversal of profound rocuronium or vecuronium-induced neuromuscular block with sugammadex in isoflurane-anaesthetised dogs. *The veterinary journal*, 192(3), pp. 467-471.

Mukherjee, S., Maxfield, F. R. (2004). Lipid and cholesterol trafficking in NPC. *Biochimica et biophysica acta*, 1685(1-3), pp. 28-37.

Muller, B. W., Brauns, U. (1986). Hydroxypropyl- β -cyclodextrin derivatives: influence of average degree of substitution on complexing ability and surface activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75(6), pp. 571-572.

Naguib, M., Brull, S. J. (2009). Update on neuromuscular pharmacology. *Current opinion on anaesthesiology*, 22(4), pp. 483-490.

National Library of Medicine [Em Linha]. Disponível em <<http://www.nlm.nih.gov/>>. [Consultado em 05/09/2013].

NPD Foundation. [Em linha]. Disponível em <<http://www.nnpdf.org/Cyclodextrin.html>>. [Consultado em 04/09/2013]

Ogawa, N., *et al.* (2013). Quetiapine Free Base Complexed with Cyclodextrins to Improve Solubility for Parenteral Use. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 61(8), pp. 809-815.

Oguma, T., Kawamoto, H. (2003). Production of cyclodextrin and its application. *Trends Glycoscience Glycotechnology*, 15(82), pp. 91-99.

Ohtani, Y., *et al.* (1989). Differential effects of alpha-, beta-and gamma-cyclodextrins on human erythrocytes. *European journal of biochemistry*, 186(1-2), pp. 17-22.

Patterson, M. C., *et al.* (2007). Miglustat for treatment of Niemann-Pick C disease: a randomised controlled study. *Lancet neurology*, 6(9), pp. 765-772.

Patterson, M. C., Platt, F. (2004). Therapy of Niemann-Pick Disease, type C. *Biochimica et biophysica acta*, 1685(1-3), pp. 77-82.

Pentchev, P. G., *et al.* (1985). A defect in cholesterol esterification in Niemann-Pick disease (type C) patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82(23), pp. 8247-8251.

Pontikis, C. C., *et al.* (2013). Cyclodextrin alleviates neuronal storage of cholesterol in Niemann-Pick C disease without evidence of detectable blood-brain barrier permeability. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 36(3), pp. 491-498.

Quaglia, F. *et al.* (2001). Modulation of drug release from hydrogels by using cyclodextrins: the case of nicardipine/ β -cyclodextrin system in crosslinked polyethyleneglicol. *Journal of controlled release*, 71(3), pp. 329-337.

Rajewski, R. A., Stella, V. J. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: 2. In vivo drug delivery. *Journal of pharmaceutical sciences*, 85(11), pp. 1142-1169.

Ramirez, C. M., *et al.* (2011). Quantitative role of LAL, NPC2, and NPC1 in lysosomal cholesterol processing defined by genetic and pharmacological manipulations. *Journal of lipid research*, 52(4), pp. 688-698.

Rathbone, M. J., Hadgraft, J., Roberts, M. S. (2003). *Modified-Release Drug Delivery Technology*. Nova Iorque, Marcel Decker. pp. 234, 238, 239.

Regiert, M. (2007). Oxidation-stable linoleic acid by inclusion in α -cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 57(1), pp. 471-474.

Rendleman, J. A. (1999). The Production of Cyclodextrins Using CGTase from *Bacillus macerans*. In: Bucke, C. (ed). *Carbohydrate biotechnology protocols*. Westminster, Humana press, pp. 89-101.

Ribeiro, L., *et al.* (2003). Investigation and physicochemical characterization of voponcetine-sulfobutyl ether β -cyclodextrin binary and ternary complexes. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51(8), pp. 914-922.

- Rosenbaum, A. I., *et al.* (2010). Endocytosis of beta-cyclodextrins is responsible for cholesterol reduction in Niemann-Pick type C mutant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(12), pp. 5477-5482.
- Salem, I., Duzgunes, N. (2003). Efficacies of cyclodextrin-complexed and liposome-encapsulated clarithromycin against *Mycobacterium avium* complex infection in human macrophages. *International Journal of Pharmaceutics*, 250(2), pp. 403-414.
- Salmaso, S., *et al.* (2004). Specific Antitumor Targetable β -Cyclodextrin–Poly(ethylene Glycol)–Folic Acid Drug Delivery Bioconjugate. *Bioconjugate chemistry*, 15(5), pp. 997-1004.
- Salmaso, S., *et al.* (2007). New cyclodextrin bioconjugates for active tumour targeting. *Journal of drug targeting*, 15(6), pp. 379-390.
- Salmaso, S., Sonvico, F. (2013). Targeted cyclodextrins. *In: Bilensoy, E. (ed). Cyclodextrins in Pharmaceutics, Cosmetics and Biomedicine: Current and Future Industrial Applications*. Hoboken, Wiley, pp. 251-273.
- Schmid, G. (1996). Preparation and industrial production of cyclodextrins. *In: Atwoods et al (eds). Comprehensive supramolecular chemistry, vol 3. Cyclodextrins*. Oxford, Pergamon, pp 41–56
- Shimada, K., *et al.* (1991). Emulsifying properties of α -, β -, γ -cyclodextrins. *Journal of the Japanese Society for food science and technology*, 38(1), pp. 16-20.
- Smith, J., Charter, E. (2010). *Functional Food Product Development*. Chichester, John Wiley & Sons. pp. 24-38.
- Sokol-Kobielska, E. (2013). Sugammadex – indications and clinical use. *Anaesthesiology intensive therapy*, 45(2), pp. 106-110.
- Sparr, H. J., *et al.* (2007). Early reversal of profound rocuronium-induced neuromuscular blockade by sugammadex in a randomized multicenter study: efficacy, safety, and pharmacokinetics. *Anesthesiology*, 106(5), pp. 935-943.
- Staals, L. M., *et al.* (2010). Reduced clearance of rocuronium and sugammadex in patients with severe to end-stage renal failure: a pharmacokinetic study. *British journal of anaesthesia*, 104(1), pp. 31-39.

Staals, L. M., *et al.* (2011). Reversal of rocuronium-induced neuromuscular block by sugammadex is independent of renal perfusion in anesthetized cats. *Journal of anesthesia*, 25(2), pp. 241-246. (a)

Staals, L. M., *et al.* (2011). Sugammadex reverses neuromuscular block induced by 3-desacetyl-vecuronium, an active metabolite of vecuronium, in the anaesthetised rhesus monkey. *European journal of anaesthesiology*, 28(4), pp. 265-272. (b)

Stella, V. J., He, Q. (2008). Cyclodextrins. *Toxicologic pathology*, 36(1), pp. 30-42.

Swarbrick, J. (2007). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology vol 2*. Nova Iorque, Informa Healthcare, pp. 671-691.

Szejtli, J. (1984). Limits of cyclodextrin application in oral drug preparations. *Journal of inclusion phenomena*, 2(3-4), pp. 487-501.

Szejtli, J. (2005). Cyclodextrin complexed generic drugs are generally not bio-equivalent with the reference products: therefore the increase in number of marketed drug/cyclodextrin formulations is so slow. *Journal of inclusion phenomenom and macrocyclic chemistry*, 52(1), pp. 1-11.

Szejtli, J., *et al.* (1983). Preparation, properties and biological activity of beta-cyclodextrin inclusion complex of menadione. *Die Pharmazie*, 38(3), pp. 189-193.

Thurberg, B. L., *et al.* (2012). Liver and Skin Histopathology in Adults with Acid Sphingomyelinase Deficiency (Niemann-Pick Disease Type B). *The American Journal of Surgical Pathology*, 36(8), pp. 1234-1246.

Tonkova, A. (1998). Bacterial cyclodextrin glucanotransferase. *Enzyme and Microbial Technology*, 22(8), pp. 678-686.

Trinh, J., *et al.* (1999). *Cyclodextrin Based compositions for reducing body odour*. Patente EUA 5.897.855

Tsomi, V. (1991). Cosmetic skin-lightening composition based on a hydroquinone/2,6-dimethyl-3-cyclodextrin complex. Patente WO 91/18589.

Turek, J. J., Leamon, C. P., Low, P. S. (1993). Endocytosis of folate-protein conjugates: ultrastructural localization in KB cells. *Journal of cell science*, 106(1), pp. 423-430.

Uekama, K. (2004). Design and evaluation of cyclodextrin-based drug formulation. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 52(8), pp. 900-915.

Uekama, K., Hirayama, F., Irie, T. (1998). Cyclodextrin drug carrier systems. *Chemical Reviews*, 98(5), pp. 2045-2076.

Uekama, K., Minami, K., Hirayama, F. (1997). 6A-O-[(4-biphenyl)acetyl]-alpha-, -beta-, and -gamma-cyclodextrins and 6A-deoxy-6A-[[[(4-biphenyl)acetyl]amino]-alpha-, -beta-, and -gamma-cyclodextrins: potential prodrugs for colon-specific delivery. *Journal of medicinal chemistry*, 40(17), pp. 2755-2761.

US Food and Drug Administration (2013). [Em linha]. Disponível em <<http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/noticeinventory/ucm154385.htm>>. [Consultado em 10/09/2013]. (a)

US Food and Drug Administration (2013). [Em linha]. Disponível em <<http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/noticeinventory/ucm154182.htm>>. [Consultado em 10/09/2013]. (b)

US Food and Drug Administration (2013). [Em linha]. Disponível em <<http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/noticeinventory/ucm153769.htm>>. [Consultado em 10/09/2013]. (c)

Valentino, J. S., Quanren, H. (2008). Cyclodextrins. *Toxicology pathology*, 36(1), pp. 30-42.

Vance, J. E. (2006). Lipid imbalance in the neurological disorder, Niemann-Pick C disease. *FEBS Letters*, 580(23), pp. 5518-5524.

Vanier, M. T. (1999). Lipid changes in Niemann–Pick disease type C brain: personal experience and review of the literature. *Neurochemical Research*, 24(4), pp. 481-489.

Ventura, C. A., *et al.* (2001). Biomembrane Model Interaction and Percutaneous Absorption of Papaverine Through rat Skin: Effects of cyclodextrins as Penetration Enhancers. *Journal of Drug Targeting*, 9(5), pp. 379-393.

Wojtanik, K. M., Liscum, L. (2003). The transport of low density lipoprotein-derived cholesterol to the plasma membrane is defective in NPC1 cells. *The journal of biological chemistry*, 278(17), pp. 14850-14856.

Woo, R. A. M., *et al.* (1998). *Uncomplexed cyclodextrin compositions for odour control*. Patente EUA 5.942.217

Yano, H., *et al.* (2000). Hydrolysis behavior of prednisolone 21-hemisuccinate/beta-cyclodextrin amide conjugate: involvement of intramolecular catalysis of amide group in drug release. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 48(8), pp. 1125-1128.

Yano, S., *et al.* (2011). Current states and future views in photodynamic therapy. *Journal of photochemistry and photobiology*, 12(1), pp. 46-67.

Yazdaniyan, M., *et al.* (2004). The “high solubility” definition of the current FDA guidance on Biopharmaceutical Classification System may be too strict for acidic drugs. *Pharmaceutical Research*, 21(2), pp. 293-299.

Yin, J. J., *et al.* (2013). Synthesis and Biological Evaluation of Novel Folic Acid Receptor-Targeted, β -Cyclodextrin-Based Drug Complexes for Cancer Treatment. *PLoS One*, 8(5), pp. 1-10.

Yoshioka, N., *et al.* (2012). Rapid Communications in Mass Spectrometry. *Journal of smooth muscle research*, 48(2-3), pp. 59-64.

Young, O. A., Gupta, R. B., Sadooghy-Saraby, S. (2012). Effects of cyclodextrins on the flavor of goat milk and its yogurt. *Journal of food science*, 77(2), pp. 122-127.

Zervas, M., *et al.* (2001). Critical role for glycosphingolipids in Niemann Pick disease type C. *Current biology*, 11(16), pp. 1283-1287.

Zhang, H., *et al.* (2012). Folate-conjugated β -cyclodextrin from click chemistry strategy and for tumor-targeted drug delivery. *Journal of biomedical materials research*, 100(19), pp. 2441-2449.

Zhekova, B. Y., Stanchev, V. S. (2011). Reaction Conditions for Maximal Cyclodextrin Production by Cyclodextrin Glucanotransferase from *Bacillus megaterium*. *Polish Journal of Microbiology*, 60(2), pp. 113-118.

Zia, V., Rajewski, R. A., Stella, V. J. (2001). Effect of cyclodextrin charge on complexation of neutral and charged substrates: comparison of SBE₇- β -CD to HP- β -CD. *Pharmaceutical Research*, 18(5), pp. 667-673.