



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

MARIA SALETE DA SILVA RODRIGUES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE INCLUSÃO
DE 2-HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA CONTENDO DERIVADO
ESPIRO-ACRIDÍNICO**

**CAMPINA GRANDE - PB
2018**

MARIA SALETE DA SILVA RODRIGUES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE INCLUSÃO
DE 2-HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA CONTENDO DERIVADO
ESPIRO-ACRIDÍNICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

**CAMPINA GRANDE - PB
2018**

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

R696p Rodrigues, Maria Salete da Silva.
Preparação e caracterização de complexo de inclusão de 2-Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina contendo derivado espiroacridínico [manuscrito] / Maria Salete da Silva Rodrigues. - 2018.
40 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.
"Orientação : Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira ,
Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. Ciclodextrina. 2. Solubilidade. 3. Fármacos. I. Título
21. ed. CDD 615.1

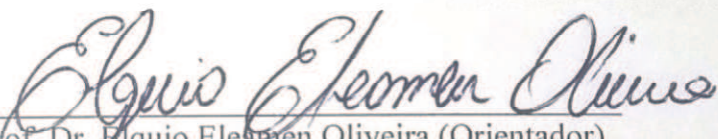
MARIA SALETE DA SILVA RODRIGUES

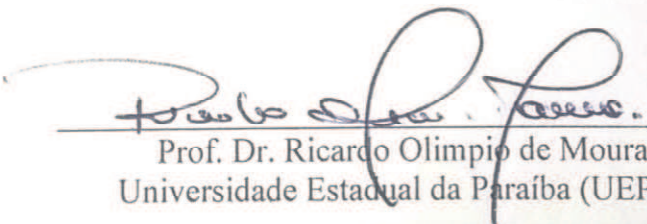
PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE INCLUSÃO
DE 2-HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA CONTENDO DERIVADO
ESPIRO-ACRIDÍNICO

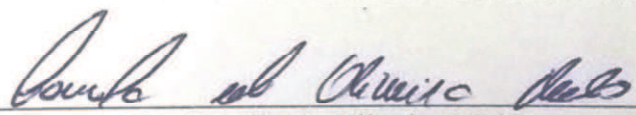
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Departamento de farmácia da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 23/11/2018.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Elquio Eleanen Oliveira (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Me. Camila de Oliveira Melo
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Aos meus pais, pela dedicação, companheirismo e amizade, DEDICO.

RESUMO

Uma grande parte das novas moléculas possui uma baixa solubilidade em água, apresentando uma fraca absorção após administração oral. Um dos desafios da indústria farmacêutica consiste em desenvolver estratégias para melhorar a solubilidade destes fármacos em água, melhorando assim a sua biodisponibilidade. O AMTAC – 01 é um derivado espiro-acridínico obtido a partir da introdução do grupamento N-cianoacetohidrazida utilizado como espaçador da ligação entre os anéis de acridina e o grupo fenila. Esta molécula apresentou potente atividade de inibição de topoisomerase II α e atividade antiproliferativa em linhagens de células tumorais de próstata, mama e melanoma. Entretanto, a alta lipofilicidade e a toxicidade em células normais causam limitações para seu uso terapêutico. A utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão com fármacos hidrofóbicos permite aumentar a solubilidade e estabilidade, além de melhorar a biodisponibilidade e a extensão de dissolução dos complexos formados. A 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina é uma ciclodextrina amorfa, derivada hidrófila da β CD, que apresenta um papel importante por inibir o polimorfismo e a taxa de cristalização de fármacos, mantendo as suas características de dissolução e biodisponibilidade oral. O presente trabalho visou à obtenção de complexos de inclusão entre AMTAC-01 e 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina e a caracterização desse sistema. O complexo de inclusão de HP- β -CD e AMTAC-01 foi preparado utilizando a técnica de liofilização e caracterizado utilizando o diagrama de solubilidade de fase, espectroscopia de infravermelho e difratometria de raios-X. Os estudos de solubilidade de fases revelaram uma curva do tipo A_L, sugerindo a formação de complexos de inclusão com estequiometria 1:1 com uma constante de estabilidade de 1.145,38 M⁻¹. Na presença de 0,2 M de HP- β -CD, a solubilidade do AMTAC-01 aumentou 229 vezes de 0,26.10⁻³ mM para 60,01.10⁻³ mM. A análise do difratograma de raios-x mostrou que a formação do complexo possibilitou uma modificação na estrutura cristalina do AMTAC-01 e os dados de FT-IR demonstraram que não houve formação de novas ligações químicas entre o fármaco e o complexo. Pode-se concluir que a complexação do AMTAC-01 com a 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina permitiu a formação de complexos estáveis com um incremento significativo da solubilidade do AMTAC-01 em água.

PALAVRAS CHAVE: ciclodextrina, complexo de inclusão, solubilidade.

ABSTRACT

A large part of the new molecules have a low solubility in water, showing poor absorption after oral administration. One of the challenges of the pharmaceutical industry is to develop strategies to improve the solubility of these drugs in water, thus improving their bioavailability. AMTAC-01 is a spiro-acridine derivative obtained from the introduction of the N-cyanoacetohydrazide group used as a spacer of the bond between the acridine rings and the phenyl group. This molecule showed potent inhibition of topoisomerase II α activity and antiproliferative activity in prostate, breast and melanoma tumor cell lines. However, high lipophilicity and toxicity in normal cells cause limitations for its therapeutic use. The use of cyclodextrins in the formation of inclusion complexes with hydrophobic drugs allows to increase solubility and stability, in addition to improving the bioavailability and extent of dissolution of the formed complexes. 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin is an amorphous, hydrophilic derivative cyclodextrin of β CD, which plays an important role in inhibiting the polymorphism and rate of drug crystallization, while maintaining its dissolution and oral bioavailability characteristics. The present work aimed at obtaining inclusion complexes between AMTAC-01 and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and the characterization of this system. The inclusion complex of HP- β -CD and AMTAC-01 was prepared using the lyophilization technique and characterized using the phase solubility diagram, infrared spectroscopy and X-ray diffraction. Phase solubility studies revealed a curve of the type AL, suggesting the formation of inclusion complexes with 1: 1 stoichiometry with a stability constant of 1145.38 M⁻¹. In the presence of 0.2 M HP- β -CD, the solubility of AMTAC-01 increased 229-fold from 0.26-10⁻³ mM to 60.01-10⁻³ mM. Analysis of the X-ray diffraction showed that the formation of the complex allowed for a modification in the crystal structure of AMTAC-01 and the FT-IR data demonstrated that there was no formation of new chemical bonds between the drug and the complex. It can be concluded that the complexation of AMTAC-01 with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin allowed the formation of stable complexes with a significant increase in the solubility of AMTAC-01 in water.

KEY WORDS: cyclodextrin, inclusion complex, solubility

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do núcleo acridínico	13
Figura 2: Amsacrina	14
Figura 3: Derivado espiro-acridínico 3- (acridin-9-il) -N-benzilideno-2-cianoacriló-hidrazida (AMTAC – 01)	17
Figura 4: Disposição das hidroxilas na estrutura da CD.	18
Figura 5: Representação esquemática da α cD (a.), β cD (b.) e γ cD (c.)	19
Figura 6: Representação esquemática da formação do complexo de inclusão.	20
Figura 7: Diagrama de solubilidade de fases, apresentando os perfis A e B.	22
Figura 8: Diagrama de solubilidade de fases do AMTAC-01 e HP β CD a 25°C.	28
Figura 9: Difratoograma do AMTAC-01, HP β CD, CI, CII e MF	30
Figura 10: Espectros de FTIR de (a)AMTAC-01; (b) CI (sem acetonitrila); c) CII (com acetonitrila).....	31

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AMSA	Amsacrina
AMTAC-01	3-(acridina-9-il)-N-benzilideno-2cianoacrilohidrazida
CD	Ciclodextrina
CI	Complexo preparado sem acetoneitrila
CII	Complexo preparado com acetoneitrila
CGTase	Ciclodextrina- α -glicosiltransferase
DRX	Difração de Raios-X
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
HP-β-CD	2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina
K_c	Constante de estabilidade aparente
LSVM	Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
S₀	Solubilidade aparente
UV-Vis	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	OBJETIVOS.....	11
2.1	Objetivo geral:.....	11
2.2	Objetivos Específicos:.....	11
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
3.1	Câncer.....	12
3.2	Acridina e seus derivados.....	13
3.3	Ciclodextrinas.....	17
3.4	Complexo de inclusão.....	20
3.5	Técnicas de caracterização de complexos de Inclusão.....	22
3.5.1	Diagrama de solubilidade de fases.....	22
3.5.2	Difratometria de raios -x.....	23
3.5.3	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.....	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1	Materiais.....	25
4.2	Equipamentos utilizados.....	25
4.3	Métodos.....	26
4.3.1	Estudo de solubilidade de fases do complexo.....	26
4.3.2	Preparação do complexo de inclusão AMTAC 01: HP β CD.....	26
4.3.3	Caracterização físico-química do complexo de inclusão AMTAC 01: HP β CD.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1.1	Estudo de solubilidade de fases do complexo.....	28
5.1.2	Difração de raios-X (DRX).....	29
5.1.3	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).....	31
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
7	REFERENCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das principais causas de mortalidade do mundo. Trata-se de uma doença complexa de caráter multifatorial, caracterizada pela multiplicação e propagação descontrolada de células anormais e que podem, através da circulação sanguínea ou linfática, invadir partes adjacentes do corpo e se espalharem para outros órgãos (GUPTA, 2006; SIEGEL, 2015; DE SOUZA 2016). No Brasil, o Ministério da Saúde prevê cerca de 21,4 milhões de novos casos de câncer e 13,2 milhões de mortes relacionadas com a doença em 2030 (INCA, 2015)

Um dos primeiros obstáculos enfrentados com relação à terapia do câncer é a dificuldade de diagnóstico precoce, uma vez que as células alteradas só podem ser detectadas na circulação sanguínea quando já estão em altas concentrações (DANILA, 2011). Além disso, o tratamento do câncer também é um desafio, visto que, ainda se limita à cirurgia, imunoterapia, radioterapia e quimioterapia. Com base nisso, vários grupos de pesquisa espalhados pelo mundo buscam sintetizar novas moléculas contra o câncer, visando uma redução de resistência aos fármacos, causadas por questões farmacológicas, toxicidade e efeitos colaterais que muitas vezes, diminuem a qualidade de vida do paciente (FIGUEIREDO, M. 2005; FIGUEIREDO, A. 2013; LEGER, 2017).

Nesse contexto, os compostos derivados do núcleo de acridina são amplamente estudados, devido sua alta capacidade de regredir tumores (CHOLEWIŃSKI; DZIERZBICKA; KOODZIEJCZYK, 2011). As acridinas são moléculas aromáticas planares, que possuem, dentre várias outras atividades biológicas, a anticancerígena. Essas moléculas detêm a capacidade de interagir com o DNA por intercalação e bloquear a replicação, a transcrição ou o reparo do DNA, além de inibirem as enzimas topoisomerase I e II (BELMONT et al., 2007; FERGUSON; DENNY, 2007).

Os derivados espiro-acridínico obtidos pelo grupo de pesquisa no laboratório de síntese e vetorização de moléculas (LSVM- UEPB campus V) foram sintetizados com introdução do grupamento N-cianoacetohidrazida utilizado como espaçador da ligação entre os anéis de acridina e o grupo fenila, que sofre ciclização espontânea conduzindo a formação de um anel espiro, o que gerou uma nova série de espiro-acridinas. Entre as moléculas sintetizadas, o 3-(acridin-9-il) -N-benzilideno-2-cianoacriló-hidrazida (**AMTAC-01**) apresentou potente atividade de inibição de topoisomerase II α e atividade antiproliferativa em linhagens de células tumorais de próstata, mama e melanoma (ALMEIDA et al., 2016; MELO, 2018). Entretanto, apesar da

excelente atividade antiproliferativa apresentada por esse composto, sua alta lipofilicidade e a toxicidade em células normais causam limitações para seu uso terapêutico.

A nanotecnologia farmacêutica apresenta a importante finalidade de direcionar e controlar a liberação de fármacos, estando envolvida no desenvolvimento, caracterização e aplicação de sistemas terapêuticos em escala nanométrica ou micrométrica (SAKATA et al., 2007). Os sistemas nanoestruturados possuem a capacidade de entregar medicamentos em órgão específicos com o objetivo de melhorar sua eficácia e segurança terapêutica, prevenindo sua degradação e contornando limitações relacionadas com a hidrofobicidade da molécula (HOYT; MASON, 2008; SAFARI; ZARNEGAR, 2014; KESHARWANI et al., 2018).

Dentro do contexto da nanotecnologia, a utilização de ciclodextrinas em formulações farmacêuticas deve-se, sobretudo às suas propriedades de complexação, que permitem aumentar a solubilidade e estabilidade de um elevado número de fármacos hidrofóbicos. Além disso, ampliam a biodisponibilidade e a extensão de dissolução dos complexos formados quando a solubilidade é um fator limitante para a liberação da molécula (MOSHER E THOMPSON 2002).

Embora a β -ciclodextrina apresente uma frequente aplicação nas formulações comerciais disponíveis, ela dispõe de uma solubilidade aquosa muito limitada devido à estrutura rígida resultante da formação de pontes de hidrogênio intramoleculares entre seus grupos hidroxílicos secundários das unidades de glicose (FROMMING & SZEJTLI, 1994). A 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP β CD) é uma ciclodextrina amorfa, derivada hidrófila da β CD, que apresenta um papel importante por inibir o polimorfismo e a taxa de cristalização de fármacos pouco hidrossolúveis durante o seu armazenamento; mantendo as suas características de dissolução e biodisponibilidade oral (UEKAMA 2004). Além disto, essa ciclodextrina é aprovada para uso em humanos pelo órgão regulador americano (FDA – *Food and drug administration*) (ELEMEN, 2017).

Assim sendo, o presente trabalho propõe investigar o incremento da solubilidade de um derivado espiro-acridínico (AMTAC 01), através da formação de um complexo de inclusão com β -ciclodextrina (HP β CD).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Preparar e caracterizar o complexo de inclusão entre a 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP β CD) e o derivado espiro-acridínico AMTAC-01, visando uma melhoria na solubilidade aparente, e conseqüente, propriedades terapêuticas do fármaco.

2.2 Objetivos Específicos:

- ✓ Preparar o complexo AMTAC-01/HP β CD pelo método de liofilização;
- ✓ Determinar a estequiometria do complexo utilizando o diagrama de solubilidade
- ✓ Calcular a constante de estabilidade pelo método do diagrama de solubilidade;
- ✓ Caracterizar a estrutura do complexo por infravermelho e difração de raios-x.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Câncer

O câncer é uma das doenças que mais causam temor na sociedade, por ter se tornado um estigma de mortalidade e dor, sendo a segunda maior causa de morte nos países industrializados, perdendo apenas para as doenças cardiovasculares (ALMEIDA, 2005). Caracterizada pela multiplicação desordenada de células anormais, que invadem os tecidos e órgãos, podendo ocorrer à formação de metástase em outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores (INCA 2018). Os termos câncer, neoplasia maligna e tumor maligno são sinônimos; possuindo poder de invasão, capacidade de formar metástase e propriedade de desdiferenciação (onde uma célula já diferenciada regride para um estágio indiferenciado, sendo capaz de originar novos tipos de células). Dessa forma, diferem dos tumores benignos que são caracterizados, apenas, pela proliferação descontrolada. (RANG e DALE, 2012, p. 789-809)

Alterações no DNA celular, sendo estas herdadas ou adquiridas, resultam em uma modificação no ciclo celular, levando ao aumento das taxas de proliferação e deficiência nas taxas de morte celular, ocasionando aglomeração de clones de células neoplásicas, dando origem aos tumores (FERRARI; TORRES, 2002). Fatores epigenéticos (ação hormonal, agentes carcinógenos, efeitos de promotores tumorais, entre outros³), em si, não produzem câncer, mas aumentam a probabilidade de a mutação ou mutações genéticas resultarem em câncer. (RANG e DALE, 2012, p. 789-809)

As mutações genéticas que levam ao desenvolvimento do câncer são divididas em duas categorias: a ativação de proto-oncogenes em oncogenes, desencadeando um descontrole na divisão, apoptose e diferenciação celular; e a inativação dos genes supressores tumorais, aumentando, dessa forma, a proliferação de células anormais. (RANG e DALE, 2012, p. 789-809). Essas alterações resultam de mutações puntiformes, amplificação gênica ou translocação de cromossomos, frequentemente em virtude da ação de determinados vírus ou carcinógenos químicos.

Além dos fatores genéticos e epigenéticos, o crescimento tumoral e as metástases dependem da angiogênese, um fator importante na progressão do câncer; que é desencadeada por sinais químicos das células cancerígenas em uma fase de crescimento, quando os tecidos

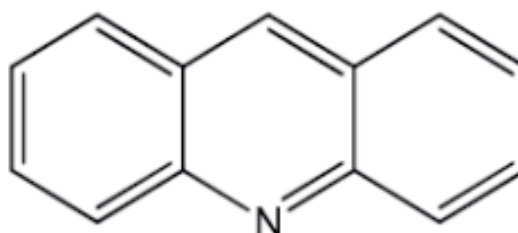
tumorais necessitam de nutrientes e oxigênio (FOLKMAN, 1971). Na ausência de suporte vascular, os tumores podem se tornar necróticos ou mesmo apoptóticos (HOLMGREN et al 1995 ; PARANGI et al 1996).

Apesar de diversas das estratégias utilizadas na terapia do câncer, tais como: tratamento cirúrgico, radioterapia, imunoterapia e terapia gênica; a quimioterapia continua como primeira linha de tratamento (GOUVEIA; MOURA, 2016; GUERRANT et al., 2012), porém, as moléculas disponíveis não são eficazes para todos os tipos de câncer e há muitos efeitos adversos relacionados ao uso. Assim, a busca de novos agentes anticâncer continua e têm como foco tratamentos com maior eficácia e menos efeitos indesejáveis ao paciente. Dentre as opções de quimioterápicos temos os derivados de acridina que têm sido utilizados e investigados para o tratamento do câncer atuando como intercaladores de DNA e supressões da atividade da topoisomerase I e II que estão entre os principais alvos biológicos na terapia do câncer (PATEL et al., 2010; BARROS et al., 2012; LAFAYETTE et al., 2013).

3.2 Acridina e seus derivados

A acridina, $C_{13}H_9N$, é um composto aromático policíclico com estrutura planar, formada por uma piridina central e dois benzenos condensados (Figura 1) (LAFAYETTE et al., 2013). Pode ser encontrada em diversos produtos naturais ou sintetizada na química medicinal (SOUIBGUI et al., 2014).

Figura 1: Estrutura do núcleo acridínico



Fonte: Sánchez et al. (2006)

Isolada pela primeira vez na Alemanha, no ano de 1870, a partir de frações de alcatrão por Grabe e Heinrich Caro, mas seu uso na farmacologia só foi apresentado em 1917 por Ehrlich e Benda que desvendaram as propriedades antimicrobianas do núcleo acridina (GALE; H; PETER, 2012). Com o surgimento das penicilinas, o estudo desse núcleo como antibacteriano foi deixado

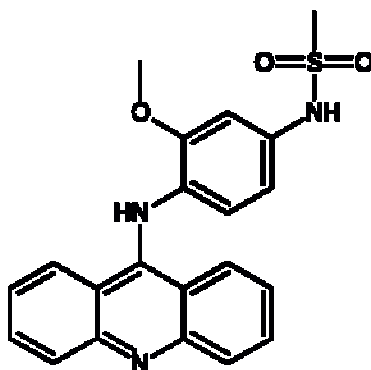
de lado. Toda via, com o aumento crescente da resistência bacteriana surgiu à necessidade urgente de alternativas com novos mecanismos de ação, voltando à atenção dos estudos para os derivados de acridina (PEPTIDE et al., 2015).

Quimicamente, a acridina é um alcaloide de antraceno, conhecido por denominações diversas como: dibenzo-piridina; 10-azaantraceno; 2,3,4,6- dibenzopiridina; 2,3-dibenzoquinolina, entre outros (KUMAR et al., 2012; SCHMIDT e LIU, 2014). A modificação química das acridinas, tais como a introdução de substituintes ou anéis heterocíclicos diferentes faz com que os derivados sintetizados possuam atividades biológicas distintas e proporcione uma melhor relação estrutura-atividade com o receptor molecular desejado (KALIRAJAN et al., 2012)

Antimicrobianas, antimaláricas e anticancerígenas são algumas das principais atividades biológicas das acridinas, que são beneficiadas pela capacidade que as moléculas aromáticas planares possuem de intercalar o DNA entre os pares de bases adjacentes e inibir a síntese de ácido nucléico (BELMONT et al., 2007; FERGUSON; DENNY, 2007). Comumente, as acridinas interagem com o DNA por intercalação e bloqueiam a replicação, a transcrição ou o reparo do DNA, além de apresentarem a capacidade de inibir as enzimas topoisomerase I e II. (RESCIFINA et al., 2014).

O primeiro quimioterápico contendo núcleo acridínico foi a Amsacrina (m-AMSA) ou N-[4-(acridin-9-ilamino- metóxi-fenil]-metanosulfonamida, introduzida na clínica médica em 1976, sendo considerado um agente intercalante de DNA e inibidor de topoisomerase II (figura 2), sendo conhecida por exibir atividade citotóxica potente, sendo empregado clinicamente no tratamento de leucemias agudas e linfomas, mas é ineficaz em tumores sólidos (BARROS et al., 2012; LAFAYETTE et al., 2013).

Figura 2: Amsacrina



Fonte: Autor

As DNA topoisomerasas são enzimas responsáveis por diminuir as tensões geradas pelas supertorções formadas na separação das fitas, seja em processos temporários, como na transcrição ou recombinação, ou permanentemente, como na replicação. Ao realizar essa separação, as supertorções na molécula de DNA podem induzir a um enrolamento ou uma helicoidização na quebra das fitas de DNA (CHAMPOUX, 2001; JORGE, 2012). Devido a sua relevância notável, essas enzimas têm sido alvos para diversos fármacos com função antibiótica e antitumoral (ALMEIDA, 2016).

Os inibidores de topoisomerasas podem ser classificados em dois grupos, sendo eles: os “venenos de topoisomerase” e os inibidores catalíticos. Os “venenos de topoisomerase” podem agir de duas formas não necessariamente exclusivas, na qual alguns compostos agem inibindo a atividade da enzima em religar a fita de DNA clivada, e outros agem aumentando os níveis de cisão. Além disso, podem ser divididos como não intercalantes ou intercalantes de DNA, sendo este último capaz de se sobrepor entre as bases da cadeia nucleotídica, alterando a geometria requerida para religação das fitas de DNA e, conseqüentemente, aumentando o tempo do complexo enzima-DNA (DEWEESE et al., 2009; OSHEROFF, 2009; NITISS, 2009; JORGE, 2012;). Já os inibidores catalíticos irão impedir a atividade da mesma evitando a formação do complexo enzima-DNA, seja pela inibição da ligação da enzima com o DNA ou por impedir que a topoisomerase clive o DNA (JORGE, 2012).

Um conhecido inibidor da topoisomerase I é o alcaloide 4-etil-4-hidroxi-1,12-diidro-4H-2-oxa-6,12a-diaza-dibenzo[b,h]-fluoreno-3,13-diona chamado de camptotecina, isolado da casca da árvore *Camptotheca acuminata*. Apesar do seu efeito antitumoral, apresenta-se clinicamente inviável, tendo em vista que esse torna-se inativo dentro de minutos no pH fisiológico devido a abertura do seu anel lactônico e aos carboxilatos presentes na molécula, que ligam rapidamente a albumina do soro humano, tornando-a inacessível para captação celular. Atualmente, três derivados hidrossolúveis da camptotecina são aprovados para uso clínico, o topotecan, irinotecan e o belotecan. As modificações moleculares permitiram a obtenção de um anel lactônico mais estável sob condições fisiológicas e diminuiu a afinidade do fármaco pela albumina (POMMIER, 2009; POMMIER et al., 2010).

Os “venenos de topoisomerasas” II incluem diversas famílias de origem sintética ou natural, tais como antraciclinas, epipodofilotoxinas, flavonoides e derivados da acridina, sendo alguns desses também intercalantes de DNA, como as antraciclinas e os derivados da acridina.

Atualmente seis fármacos são aprovados para uso nos Estados Unidos, entre eles a etoposídeo e a doxorubicina (e seus derivados) que são utilizados para uma variedade de cânceres sistêmicos e tumores sólidos, como leucemias, linfomas, sarcomas, câncer de mama, câncer no pulmão, neuroblastoma e células malignas germinativas (MOURA, 2009; PENDLETON et al., 2014;).

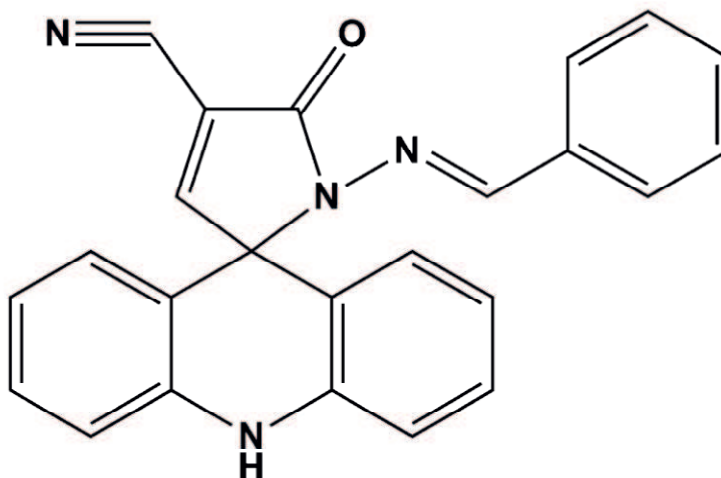
Três fatores são responsáveis por tornar as células cancerígenas sensíveis aos fármacos direcionados a topoisomerasas, são eles: as células cancerígenas possuem uma maior concentração de topoisomerasas I e II α , o que implica em um maior aporte de enzimas a serem atacadas; para manter o crescimento, as células cancerígenas replicam rapidamente, o que favorece a conversão da clivagem causada pela topoisomerase em uma clivagem permanente; diferentemente das células normais, as células cancerígenas tem checkpoints defeituosos, tornando-as mais sensíveis aos efeitos dos “venenos de topoisomerasas (DEWEESE et al., 2009; MOURA, 2009).

Devido a problemas como efeitos secundários, resistência a medicamentos e fraca biodisponibilidade e o seu metabolismo ter sido associado com a produção de radicais livres, o que pode causar sérios danos aos tecidos normais (BARROS et al., 2013; LANG et al., 2013; ZHANG et al., 2014), há uma busca constante por novos derivados obtidos através de modificações químicas neste composto protótipo para melhorias na terapia do câncer.

Uma classe de derivados da acridina foi obtida por reações de ciclização, produzindo um anel de cinco ou seis membros ligados ao carbono 9 da acridina (VILKOVA; PROKAIIOVA; IMRICH, 2014). Assim, com base nesses estudos novos derivados espiro-acridínicos foram obtidos com a introdução de um grupo ciano- N- acilhidrazona entre o grupamento acridina e o fenil, seguido de uma ciclização espontânea.

O 3- (acridin-9-il) -N-benzilideno-2-cianoacrilo-hidrazida (AMTAC-01) (figura 3) foi testado em linhagens de células tumorais de glioma (U251), melanoma (UACC-62), adenocarcinoma de mama (MCF-7), ovário (NCL-ADR), rins (786-O), carcinoma de pulmão de células não pequenas (NCL-H460), próstata (PC-3), cólon (HT-29), leucemia mielóide crônica (K-562) e queratinócitos humanos (HaCaT), (ALMEIDA et al., 2016)

Figura 3: Derivado espiro-acridínico 3- (acridin-9-il) -N-benzilideno-2-cianoacrilato-hidrazida (AMTAC – 01)



Fonte: ALMEIDA et al., (2016)

O AMTAC-01 apresentou valores de IC₅₀ (concentração molar que inibe 50% do crescimento celular) menor que 7 μ M para quase todas as linhagens de células tumorais, com exceção da linhagem de células renais (41,9 μ M). O derivado foi mais ativo para linhagens celulares de adenocarcinoma de próstata e mama, porém, não foi ativo para leucemia mielóide crônica (ALMEIDA et al., 2016)

Esses resultados apontam para o potencial terapêutico que os derivados espiro-acridínicos apresentam em tumores sólidos, o que torna esses derivados promissores candidatos a novos fármacos anticancerígenos (ALMEIDA et al., 2016). Todavia, sua alta lipofilicidade e a toxicidade em células normais causam limitações para seu uso terapêutico.

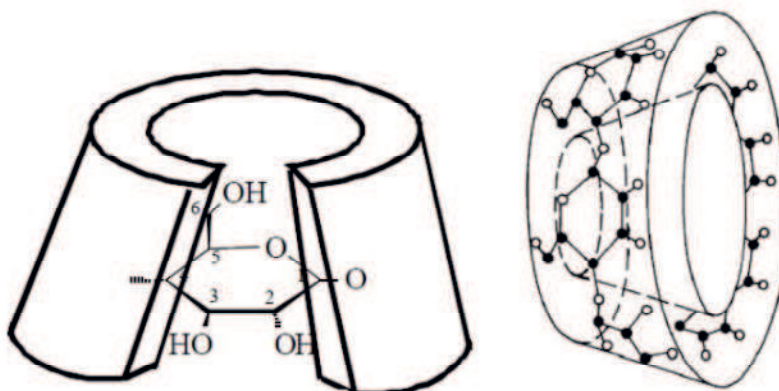
3.3 Ciclodextrinas

As ciclodextrinas (CD's) foram descobertas pela primeira vez por Villiers, em 1981. Nos seus estudos, isolou o microrganismo *Bacillus macerans*, produtor da enzima ciclodextrina-glicosil-transferase (CGtase), que atua sobre o amido formando estruturas cíclicas compostas por seis (α -ciclodextrinas), sete (β -ciclodextrinas) ou oito (γ -ciclodextrinas) unidades de α -1,4-glicopiranosose (MOSHER & THOMPSON 2002; OLIVEIRA, 2008; MACEDO, 2010).

A estrutura molecular das ciclodextrinas apresenta-se em forma tronco – cônica, onde exibem dois grupos hidroxílicos: os grupos hidroxílicos primários, que se encontram na extremidade mais estreita e os grupos hidroxílicos secundários, localizados na extremidade mais

larga. (Figura 4), que proporciona ausência de livre rotação das ligações glicosídicas e da conformação em cadeia da unidade de glicose (LOFTSSON E BREWSTER, 1996). Essa característica permite a livre rotação dos grupos hidroxílicos primários, enquanto o grupo de hidroxilas secundárias constitui uma cadeia relativamente rígida. (BEKERS, UITENDAAL E BEIJNEN, 1991).

Figura 4: Disposição das hidroxilas na estrutura da CD.



Fonte: (RIBEIRO, 2002).

A presença de grupos hidroxilas nas extremidades favorece a solubilidade das ciclodextrinas em água. Estes compostos possuem uma superfície externa hidrofílica e uma cavidade central hidrofóbica, a qual pode acomodar uma variedade de fármacos lipofílicos. Além disso, esse arranjo em forma de anel truncado das moléculas de glicose possibilita a utilização desses compostos como hóspedes na formação de complexos de inclusão (VEIGA et al., 2006). O quadro 1 resume as propriedades físico-químicas mais importantes das CD's naturais.

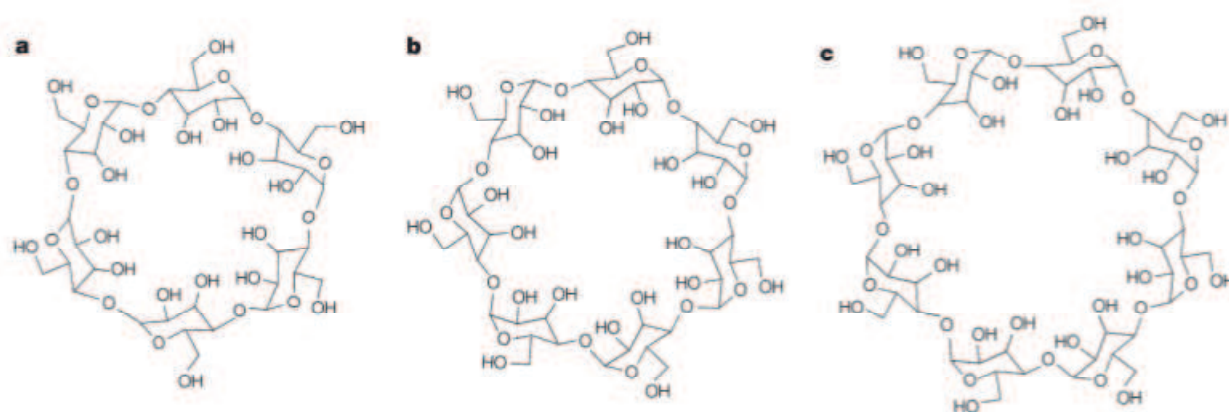
CD	Nº de unidades de glicose	Peso Molecular	Diâmetro interno da cavidade (Å)	Volume da cavidade (Å ³)	Solubilidade aquosa a 25° C (% m/v)
α CD	6	972	4,7-5,3	174	14,5
β CD	7	1135	6,0-6,5	262	1,85
γ CD	8	1297	7,5-8,3	427	23,2

Quadro 1: Propriedades físico-químicas das CDs naturais (adaptado de Uekama, 2004).

Como as ciclodextrinas naturais (α, β e γ – CD's) têm seus usos limitados por apresentarem baixa solubilidade aquosa e toxicidade, restringe-se a aplicabilidade destas, principalmente como carregadores de fármacos. Logo, derivados de ciclodextrinas têm sido

desenvolvidos, principalmente com base na β -CD, a fim de expandir as propriedades físico-químicas, em especial ao aumento da solubilidade (BREWSTER e LOFTSSON, 2007). Sendo assim, grupos hidroxílicos primários e/ou secundários foram substituídos por diferentes grupos funcionais, sendo classificados como: derivados hidrofílicos (grupos metil e hidroxipropil), hidrofóbicos (grupos acetil e etil), anfífilas (estruturas de micelas) e derivados iônicos (sulfobutilo-éter) (UEKAMA et al, 1998; VEIGA et al, 2006.)

Figura 5: Representação esquemática da α cD (a.), β cD (b.) e γ cD (c.)



Fonte: Adaptado de Davis e brewster (2004)

Dentre estes derivados semi-sintéticos que foram produzidos, a 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina, merece destaque. Essa CD derivada é obtida pelo tratamento de β -ciclodextrina com oxido de propileno e possui uma solubilidade em água superior a 600mg/mL e é relatada na literatura como segura para administração oral e parenteral, além de ser descrita nos compêndios oficiais da Farmacopeia Americana e Europeia e ser citada na lista de excipientes farmacêuticos considerados inativos pelo FDA (STELLA; RAJEWSKI, 1997; GOULD; SCOTT, 2005; LOFTSSON; HREINSDOTTIR, 2007; GUEDES et al., 2008,)

A complexação com ciclodextrinas permite o aumento da biodisponibilidade de fármacos com baixa solubilidade em meio aquoso. Esse efeito é obtido devido ao incremento de solubilidade, dissolução, molhabilidade e permeabilidade que estes complexos promovem indiretamente a substância hóspede (BRITO & et al., 2004). As CDs funcionam como transportadores moleculares, carregando as moléculas hidrofóbicas hóspedes em solução até as membranas celulares lipofílicas (para qual apresentam maior afinidade), facilitando sua absorção. Como consequência ao seu tamanho elevado (massa molecular de quase 1000 para mais de 2000)

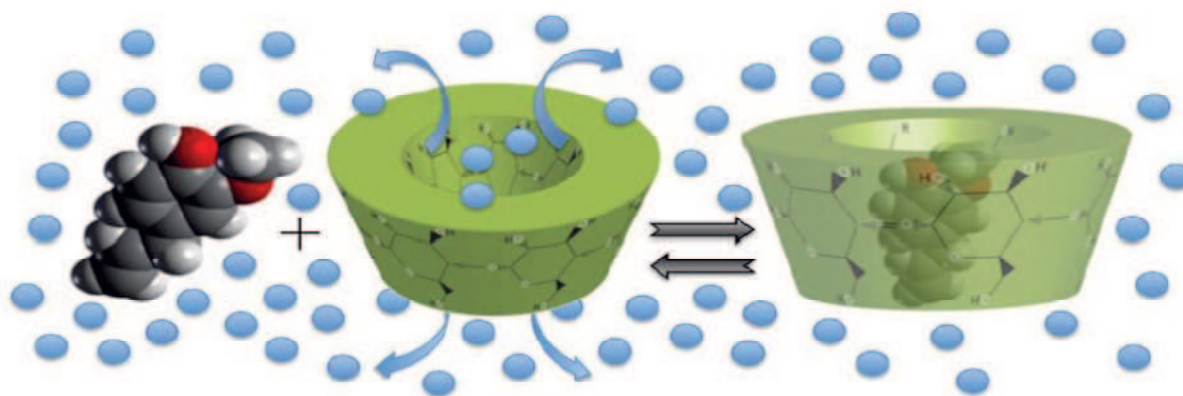
e sua superfície hidrofílica, a absorção das CD's pelas membranas celulares é insignificante. (RAJEWSKI & STELLA, 1996; LOFTSSON & MÁSSON, 2001; LOFTSSON & et al., 2003).

3.4 Complexo de inclusão

A estrutura das ciclodextrinas permite a formação de complexos de inclusão com uma variedade de substratos, tanto em solução, como no estado sólido (DEL VALLE, 2004). Este atributo tem levado a aplicação das CD's nas mais variadas áreas, como: alimentos, farmacêutica, cosmética, biotecnologia, química analítica, agricultura e tecnologia ambiental. Os complexos formados entre as ciclodextrinas e substrato são do tipo hospedeiro-hóspede, onde as moléculas do substrato são hóspedes e as moléculas de ciclodextrinas hospedeiras (BUDAL, 2003; ARAÚJO, 2007).

A extremidade das ciclodextrinas é composta por grupos hidroxílicos e átomos de hidrogênio (H1, H2 e H4) que favorecem sua solubilização em meio aquoso. Os átomos de hidrogênio (H3 e H5) e as pontes de oxigênio glicosídicas compõem o interior da cavidade. Os pares de elétrons não ligantes do oxigênio estão voltados para o interior da cavidade, produzindo alta densidade eletrônica e resultando num ambiente com características de base de Lewis e um caráter extremamente hidrofóbico (BUDAL, 2003 e CALDERINI 2006).

Figura 6: Representação esquemática da formação do complexo de inclusão.



Fonte: MURA, 2014

A compatibilidade geométrica entre a molécula receptora e o substrato é um ponto determinante para a formação do complexo de inclusão, visto que, o tamanho e geometria da molécula a ser incluída dentro da ciclodextrina devem ser adequados para o encaixe da substância hóspede (LOFTSSON e BREWSTER, 1997). Além do mais, a polaridade da molécula hóspede

deve ser observada, já que moléculas hidrofóbicas têm maior afinidade pela cavidade apolar da ciclodextrina quando em solução aquosa (LOFTSSON e BREWSTER, 1997).

Várias metodologias podem ser empregadas na obtenção de complexos de inclusão, o que irá determinar a técnica ideal é a natureza da molécula hóspede. Os métodos mais utilizados na preparação dos complexos são descritos a seguir (DEL VALLE, 2004; CUNHA FILHO; SÁ-BARRETO, 2007, PANDYA; MANSURI; PATEL, 2008, PATEL; PATEL; SHAH, 2010, WANG et al., 2011).

- *Empastagem* - onde uma pasta de CD é preparada com uma pequena quantidade de água, para que a molécula hospede seja adicionada sem um solvente ou em uma pequena quantidade de etanol, depois se evapora o solvente e forma-se o complexo em pó.
- *Moagem* – onde os complexos de inclusão são preparados a partir da moagem entre a CD e a molécula hóspede, costuma ser um processo muito lento e o grau de complexação é baixo.
- *Co-precipitação* - Consiste na adição de uma solução da molécula hóspede a uma solução de CD, com condições próximas a saturação, utilizando para isso mudanças bruscas de temperatura ou adição de solventes orgânicos, obtendo o complexo de inclusão na forma precipitada, onde este pode ser recolhido por decantação, centrifugação ou filtração.
- *Spray-drying/Secagem por pulverização* - Uma solução monofásica da molécula hóspede com CD é preparada utilizando um solvente adequado. A solução é então agitada para atingir o equilíbrio, a seguir o solvente é removido por secagem por pulverização.
- *Liofilização* - Consiste na eliminação de solvente dos sistemas em solução, através de um prévio congelamento e posterior secagem a pressões reduzidas. Esta técnica permite a obtenção de complexos de inclusão com elevado rendimento e um baixo estresse térmico. O processo de liofilização é tido como uns dos mais eficientes, podendo proteger contra a decomposição química, minimizar perda de atividade que é evitada através da baixa temperatura de processamento.

A escolha do método de preparo é importante não só para o produto final obtido, como também a simplicidade do método, baixo custo, rendimento alto, rapidez e principalmente facilidade na transposição de escala (LIRA, 2007). Além de que, cada molécula a ser complexada

obtem características peculiares, levando a condições ideais de preparo com a ciclodextrina (MURA ET AL., 1999).

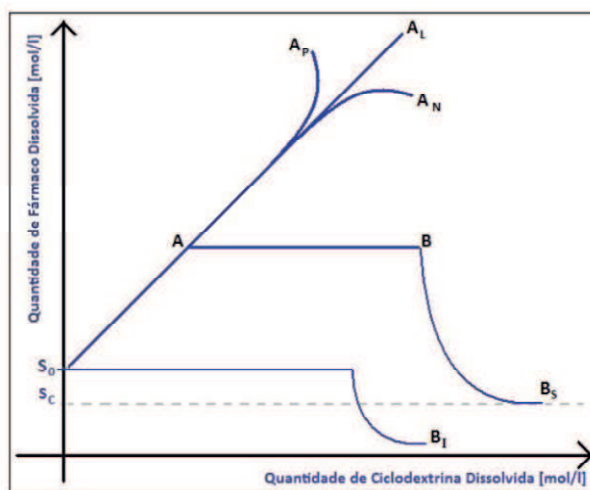
3.5 Técnicas de caracterização de complexos de Inclusão

3.5.1 Diagrama de solubilidade de fases

O diagrama de solubilidade é um dos principais métodos para verificação da formação do complexo de inclusão, a partir da constante de estabilidade e sua estequiometria. A estequiometria desses complexos pode variar nas seguintes proporções: 1:1, 1:2, 2:1 e 2:2, mas a mais comum é formar complexos 1:1 (uma molécula de CD para uma molécula de fármaco), quando em solução aquosa. A efetividade da complexação em meio aquoso é quantitativamente medida pela constante de estabilidade K_c (constante de formação ou associação) do complexo. (VEIGA et al, 2006; BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

Um método desenvolvido e interpretado por Higuchi e Connors permite avaliar os diferentes comportamentos dos fármacos adicionados em excesso a volumes fixos de soluções de ciclodextrinas em concentrações crescentes, podendo ser classificados em dois tipos: A e B (Figura 6) (LYRA et al., 2010).

Figura 7: Diagrama de solubilidade de fases, apresentando os perfis A e B.



Fonte: Adaptado de Veiga, Pecorelli e Ribeiro (2006).

No sistema A, ocorre um aumento gradual da solubilidade em função da concentração de CD, com subtipos AL, AP e AN, assim classificados conforme a inclinação da reta. Complexos do tipo AL têm estequiometria 1:1 e tem a solubilidade aumentada linearmente em função do

aumento das concentrações de CD. Complexos AP e AN possuem estequiometria maior e menor que 1, respectivamente, haja visto que as suas retas sofrem desvios, caracterizando a maior ou menor solubilidade do complexo em relação ao fármaco livre (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; LYRA et al., 2010).

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

As informações obtidas através do diagrama de solubilidade de fases permite fazer inferências sobre a estequiometria de inclusão e estimar o valor da constante de associação K_c , sendo este um parâmetro muito importante, pois determina o grau de associação da molécula hóspede na cavidade da CD, uma vez que complexos pouco estáveis liberam rapidamente a substância hóspede e os muito estáveis o liberam com dificuldade. Além disso, a constante de associação possibilita avaliar a afinidade e o grau de ligação das moléculas encapsuladas na cavidade da CD. (VEIGA et al, 2006; BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

3.5.2 Difractometria de raios -x

A difratometria de raios-X (DRX) é uma das melhores técnicas para caracterização de complexo de inclusão tendo a capacidade de determinar da à natureza cristalina de sólidos, e dessa forma a complexação será avaliada por alterações nos picos característicos da molécula hóspede e da ciclodextrina com o complexo (VEIGA; PECORELLI; RIBEIRO 2006). Geralmente, os complexos de inclusão apresentam estrutura amorfa (CONNORS, 1997; STEJTLLI, 1998) e a diminuição dos picos pode representar uma complexação parcial, uma vez que o material complexado não permanece na forma cristalina (PATEL et al.,2007).

3.5.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

A caracterização dos complexos de inclusão por espectroscopia na região do infravermelho (IV) é baseada nos deslocamentos que ocorrem nas bandas de absorção da CD, devido a interações entre grupos de átomos da molécula hóspede e da CD, e o espectro da própria molécula hóspede. Pode-se observar o deslocamento nos números de onda (ν) das bandas de

absorção ou a variação e sobreposição de bandas, que é mais frequente. No entanto, essa técnica não é a mais adequada como evidência conclusiva de complexação (UEKAMA e OTAGIRI, 1987; MANOLIKAR e SAWANT, 2003; MURA et al, 2003) .

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Substâncias e reagentes

- Acetonitrila grau HPLC – **Baker (USA)**
- 3-(acridina-9-il)-N-benzilideno-2cianoacrilohidrazida-**AMTAC – 01 – (LSVM) (MELO, 2018)**
- 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina – HP- β -CD Mw – 1.460 – **Sigma Aldrich (USA)**

4.2 Equipamentos utilizados

- Balança analítica (**modelo AUW220D- SHIMADZU**)
- Espectrofotômetro (**modelo SP-2000 UV, Spectrum**)
- Espectrofotômetro de FTIR (**modelo IRPrestige-21, SHIMADZU -Japão**)
- Difractômetro de raios-X (**modelo D8- Advance, Bruker**)
- Ultracentrífuga (**modelo CP 100NX - HITACHI**)
- Liofilizador de bancada (**modelo Alpha 1-2 plus, CHRIST- USA**)
- Agitador mecânico (**modelo TS – 2000 A VDRL SHAKER, Biomixer**)

4.3 Métodos

4.3.1 Estudo de solubilidade de fases do complexo

Estudos de solubilidade de fases foram realizados de acordo com o método descrito por Higuchi e Connors (1965). Uma quantidade em excesso de AMTAC-01 (2mg) foi adicionada a uma série de soluções de água contendo diferentes quantidades de HP β CD, variando de 0 a 200 μ M. As suspensões foram agitadas a 25 ° C \pm 1 ° C até que o equilíbrio de solubilidade atingido (72h), em seguida, as amostras foram filtradas através de filtros de membrana hidrofílica (0,45 μ m). A concentração de AMTAC-01 no filtrado foi determinada a 268 nm por espectrofotômetro UV-Vis (modelo SP-2000 UV, Spectrum). Os dados de solubilidade foram obtidos pelo segmento linear dos diagramas. Assumindo a formação de um complexo com razão estequiométrica 1:1, a constante de estabilidade aparente (K1: 1) do AMTAC-01 foi calculada a partir da relação linear entre a concentração molar de AMTAC-01 em solução, em função da concentração molar de concentração de HP β CD, acordo com a Eq. 1, onde o S0 é a solubilidade do AMTAC-01 na ausência de HP β CD.

$$K_c = \frac{\text{inclinação}}{S_0 \times 1 - \text{inclinação}}$$

Eq. 1

4.3.2 Preparação do complexo de inclusão AMTAC 01: HP β CD

Foram preparados dois complexos de inclusão utilizando a técnica de liofilização. No CI, HP β CD e AMTAC-01 foram pesados com precisão numa proporção molar de 1:1 e dissolvidos em água destilada sobre agitação, durante 72 horas, a 25 ° C. A solução foi congelada e liofilizada por 24 h. No CII, o AMTAC-01 pesado foi solubilizado em 1 mL de acetonitrila antes de ser adicionado na solução de HP β CD.

4.3.3 Caracterização físico-química do complexo de inclusão AMTAC 01: HP β CD

4.3.3.1 Difração de raios-X (DRX)

O estado físico do AMTAC-01, da ciclodextrina e dos complexos contendo AMTAC-01 foram analisadas em difratômetro de raios-X (D8 advanced, Bruker) usando radiação de CuK α (λ = 0,15418 nm, com tubos de voltagem 40 Kv e corrente de tubo 20 mA). As amostras foram

analisadas com ângulo de varredura ao longo de 2θ variando de 5° a 70° , com velocidade de $2^\circ/\text{min}$.

4.3.3.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

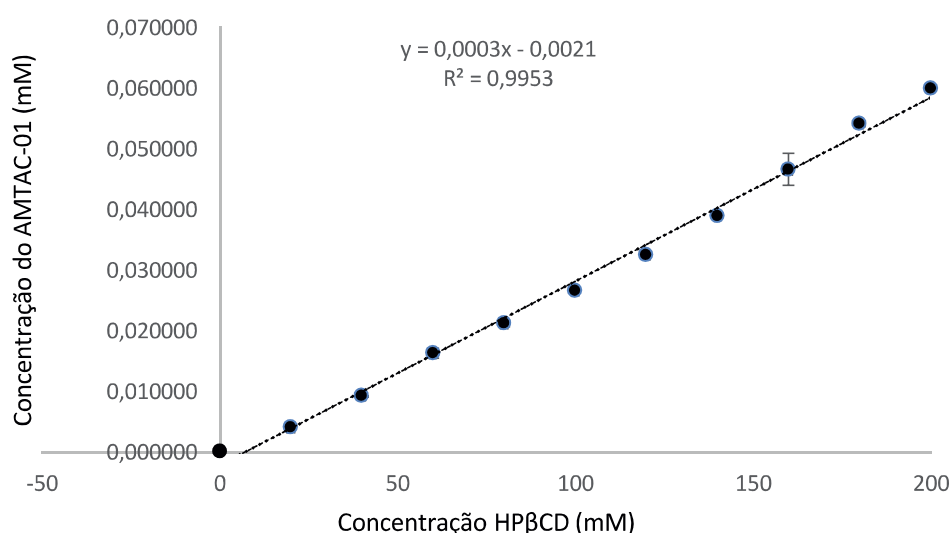
Espectros de FT-IR foram obtido em espectrofotômetro (modelo IR Prestige-21, SHIMADZU - Japão) pela técnica de refletância total atenuada (ATR) na faixa espectral de 4000 a 700 cm^{-1} . Foram analisados o fármaco, a mistura física do fármaco e ciclodextrina e dos complexos contendo o AMTAC-01.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1.1 Estudo de solubilidade de fases do complexo

O diagrama de solubilidade de fases é um método amplamente aceito para avaliar o efeito da complexação com ciclodextrina na solubilidade do fármaco. (HIGUCHI E CONNORS, 1965). A figura 8 revela que a solubilidade do AMTAC-01 aumentou linearmente com o aumento da concentração de HP β CD, evidenciando um diagrama do tipo A_L, sendo, portanto, um complexo de inclusão solúvel em água. A curva obtida apresentou um valor de inclinação de 0,0003, sendo este um valor inferior a 1, confirmando com o gráfico, dessa forma, a formação de um complexo com estequiometria 1:1, ou seja, de primeira ordem em relação a HP β CD e ao AMTAC-01, conforme a teoria de Higuchi-Connors. Outro fator que possibilita a confirmação da estequiometria 1:1 é o valor do coeficiente de correção próximo a 1 ($R^2=0,9953$).

Figura 8: Diagrama de solubilidade de fases do AMTAC-01 e HP β CD a 25°C.



A constante de associação (K_c) é um bom indicativo para estimar a força de ligação entre a ciclodextrina e a molécula hóspede. De um modo geral, o valor de K_c ideal entre as CDs e a grande maioria dos fármacos é de $100-1000 \text{ M}^{-1}$ (MUKNE & NAGARSENKER, 2004). O complexo de inclusão formado entre o AMTAC-01 e a HP β CD apresentou um valor de $K_{1:1} = 1.145,38 \text{ M}^{-1}$, indicando uma boa afinidade e estabilidade do complexo formado, visto que, um baixo valor de K_c aponta uma fraca interação com uma quantidade maior de ligante livre, enquanto o valor K_c alto indica que o equilíbrio é deslocado em direção à formação do complexo (MUKNE & NAGARSENKER, 2004). Em pesquisas publicadas envolvendo β CD no aumento

da solubilidade de substâncias pouco solúvel em água, relataram desde uma baixa constante de associação ($K_{1:1}=12 \text{ M}^{-1}$) para acetato de celulose (PANICHPAKDEE; SUPAPHOL, 2011) até uma alta constante de associação com o celecoxibe, um anti-inflamatório não esteroide, que obteve valor de $K_{1:1}$ de 9.004 M^{-1} (VENTURA et al, 2005)

A equação obtida através da regressão linear possibilitou calcular e confirmar o incremento da solubilidade do AMTAC-01 mediante a complexação com HP β CD. A solubilidade aparente do AMTAC01 aumentou em 229 vezes em uma solução aquosa contendo 0,2M de HP β CD, passando $0,26 \cdot 10^{-3} \text{ mM}$ para $60,01 \cdot 10^{-3} \text{ mM}$, estando esse incremento dentro dos valores encontrados na literatura, quando comparado com Patel (2010) que incrementou a solubilidade do Lorazepam em 322 vezes em uma solução aquosa contendo 200 mM de HP β CD. Kristmundsdóttir e colaboradores (2005) também utilizaram HP β CD como agente solubilizante para ácido fumarprotocetrárico, metabólitos secundários liquênicos, aumentando a solubilização do mesmo em quase 300 vezes.

5.1.2 Difração de raios-X (DRX)

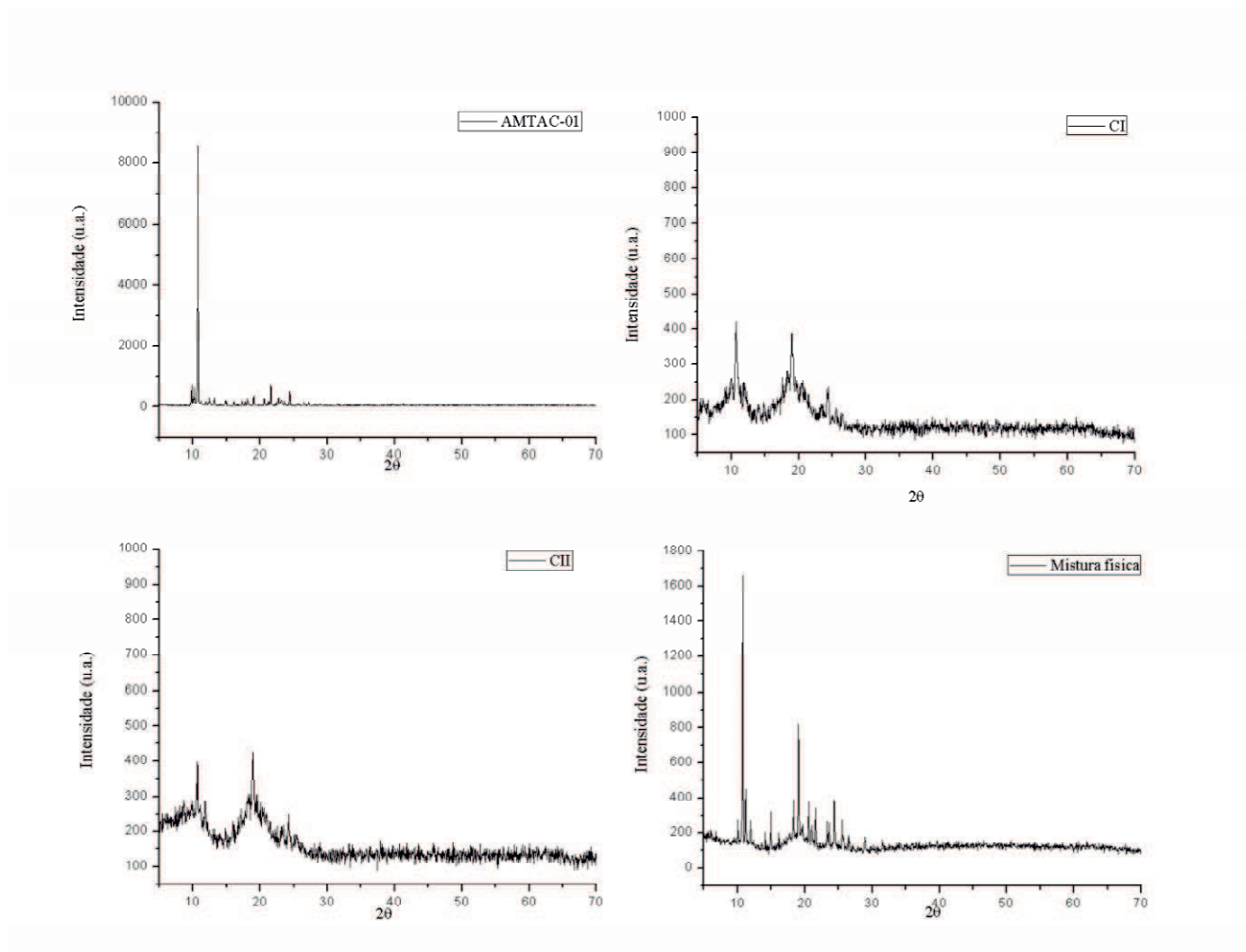
Esta técnica está baseada no princípio de que o fenômeno de complexação está frequentemente associado ao aumento do grau de amorfização das substâncias envolvidas na formação do complexo no estado sólido (RIBEIRO et al, 2003), por isso diferenças nos difratogramas das amostras, como surgimento ou desaparecimento de picos ou mudanças nas intensidades relativas, constituem indícios de formação do complexo. O perfil de DRX do AMTAC-01, HP β CD, CI, CII e MF são mostrados na figura 9.

O difratograma do AMTAC-01 apresentou um pico bem intenso em aproximadamente 10° e picos menos intensos em aproximadamente 9° , 21° e 24° ; característicos do estado cristalino do fármaco. Em contraste, o perfil de DRX da HP β CD apresenta uma estrutura amorfa que não possui picos cristalinos. Já o da mistura física é identificado pela sobreposição dos perfis de AMTAC-01 e HP β CD. Os mesmos picos do AMTAC-01 aparecem claramente na mistura física. Observa-se também, com uma pequena intensidade, as regiões amorfas característica do difratograma da HP β CD.

No difratograma dos complexos verifica-se que os picos mais intensos do AMTAC-01 se sobressaem em menor intensidade sobre as regiões amorfas da HP β CD, indicando a amorfização da estrutura do AMTAC-01-HPBCD, além disso, não ocorreu adição de picos. Segundo Kubota,

2012, complexos formados por liofilização tem uma tendência a manter a estrutura de soluto. Nos complexos AMTAC-01-HPBCD foi possível observar que o complexo manteve algumas regiões cristalinas, porém com uma grande redução em sua intensidade de picos quando comparado com o fármaco livre.

Figura 9: Difratoograma do AMTAC-01, HPBCD, CI, CII e MF



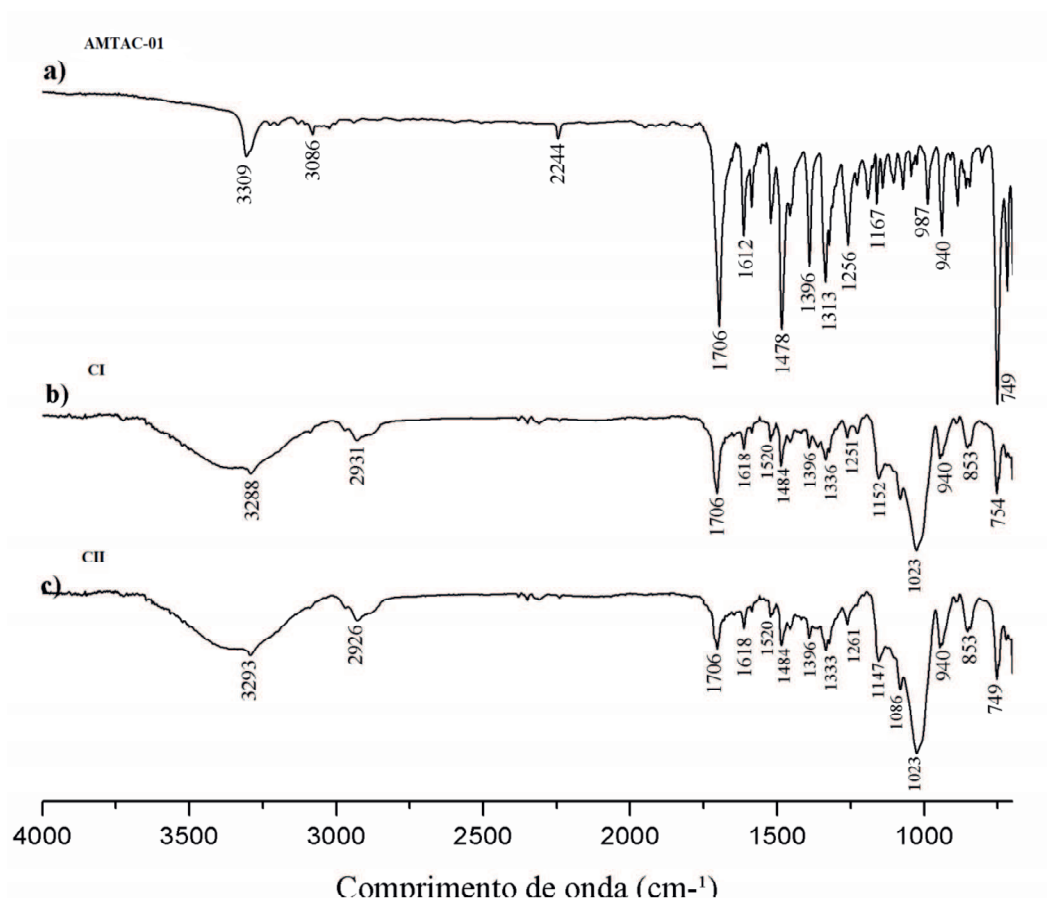
Em seus estudos, na formação de complexo de inclusão entre Trimetoprim e RAMEB (beta-ciclodextrina aleatoriamente metilada), KUBOTA, 2010, justificou os picos de Trimetoprim observados no difratograma do complexo a etapa de resfriamento da solução, necessária ao congelamento na formação do complexo, podendo, nessa etapa, ocorrer à precipitação do fármaco não complexado.

5.1.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros, na região do infravermelho, de espécies moleculares têm origem na absorção de energia causada por transições de um estado vibracional para outro, pois as radiações nesta parte do espectro não têm energia suficiente para causar transições eletrônicas (CALDERINE, 2003).

A figura 10 apresenta o espectrograma de FT-IR do AMTAC-01 e dos complexos formados. Analisando o espectro do AMTAC-01, foi possível observar as bandas de absorções características. A presença de um pico de 3.309 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento NH de amida secundária, em 1.706 cm^{-1} observa-se o pico de alta intensidade correspondente ao estiramento C=O presente na estrutura do fármaco, em 1.612 cm^{-1} um pico de baixa intensidade sugestivo do estiramento C=N e em 1.478 cm^{-1} o pico característico de absorção de estiramento C=C de anel aromático. Os gráficos de FT-IR demonstraram, dessa forma, que não houve a formação de ligações químicas entre o AMTAC-01 e a HP β CD.

Figura 10: Espectros de FTIR de (a)AMTAC-01; (b) CI (sem acetonitrila); c) CII (com acetonitrila)



Analisando os espectros dos complexos CI e CII, sendo o CI referente ao complexo formado apenas em solução de HP β CD e o CII formado com uma prévia solubilização do AMTAC-01 em acetonitrila; observa-se que ambos apresentaram espectrogramas semelhantes, com bandas de média intensidade em aproximadamente 3.400 cm^{-1} sugestivo do estiramento da ligação O-H de hidroxila. Em 2.931 cm^{-1} um pico característico do estiramento C-H e em aproximadamente 1.140 cm^{-1} , 1.080 cm^{-1} e 1.020 cm^{-1} (C-H e C-O-C); todos estes característicos do espectrograma de HP β CD.

Em 3290 cm^{-1} para CI e CII, constata-se o aparecimento da banda característica da ligação N-H de amina secundária presente na estrutura do AMTAC-01, em 1.706 cm^{-1} observa-se o pico correspondente ao estiramento C=O, em 1.618 cm^{-1} um pico sugestivo do estiramento C=N e em 1.484 cm^{-1} o pico característico de absorção de estiramento C=C de anel aromático, todos estes presentes na estrutura do AMTAC-01.

A evidente alteração na intensidade é associada à formação de complexo de inclusão. Além disso, uma redução significativa na intensidade de todas as bandas de absorção características do AMTAC-01 pode ser devido a uma restrição na vibração relacionada ao processo de complexação, como justificado por ELEAMEN, 2017.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O complexo de inclusão formado entre AMTAC-01:HP β CD foi preparado com êxito pelo método de liofilização, proporcionando uma alternativa tecnológica para superar a baixa solubilidade aquosa do AMTAC-01. A complexação foi capaz de aumentar a solubilidade em 229 vezes e assegurar um constante de associação $K_c = 1.145,38 \text{ M}^{-1}$, que pode inferir uma estabilidade adequada para o complexo. A análise do difratograma de raios-x mostrou que a formação do complexo possibilitou uma modificação na estrutura cristalina do AMTAC-01 e estabilidade do fármaco. Os gráficos de FT-IR demonstraram que não houve a formação de ligações químicas entre o AMTAC-01 e a HP β CD.

O aumento considerável da solubilidade do AMTAC-01 pode aumentar a eficácia deste fármaco. Estudos posteriores, como: análise térmica, ressonância magnética nuclear, microscopia eletrônica de varredura e estudos in vivo serão realizados a fim de investigar a atividade anticancerígena desta molécula para uma avaliação de seu potencial como uma nova molécula de ação anticancerígena para ser introduzida no mercado.

7 REFERENCIAS

- ALMEIDA, VL De et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quim Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-29, 2005.
- ARAÚJO, M, V, G. Química supramolecular: complexos de inclusão de fármacos antitoxoplasmose em derivado de ciclodextrina. São Cristóvão, 2007. Dissertação de mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de Sergipe.
- ARAUJO, M.V.G.; VIEIRA, E.K.B.; LAZARO, G.S.; CONOGERO, L.S.; FERREIRA, O.P.; ALMEIDA, L.E.; BARRETO, L.S.; COSTA-JR, N.B.; GIMENEZ, I.F. Inclusion complexes of pyrimethamine in 2-hydroxypropyl- β -ciclodextrin: Characterization phase solubility and molecular modeling. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 15, p.5752-5759, 2007.
- ARRAIS, A.; SAVARINO, P. Raman spectroscopy is a convenient technique for the efficient evaluation of cyclodextrin inclusion molecular complexes of azo-dye colorants and largely polarisable guest molecules. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. v. 64, n.1-2, p. 73-81, 2009.
- BARROS, F. W. A.; SILVA, T. G.; PITTA, M. G. R.; BEZERRA, D. P.; COSTA LOTUFO, L. V.; MORAES, M. O. M.; PESSOA, C.; MOURA, M. A. F. B.; ABREU, F. C.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; GOULART, M. O. F. Synthesis and cytotoxic activity of new acridinethiazolidine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 20, 3533–3539. 2012.
- BEKERS, O; UITENDAAL, E; BEIJNEN, J, H *et al.* Cyclodextrins in the pharmaceutical Field. **Drug Development and Industrial Pharmacy**.17, p. 1503-1549, 1991.
- BELMONT, P.; BOSSON, J.; GODET, T.; TIANO, M. Acridine and Acridone Derivatives, Anticancer Properties and Synthetic Methods: Where Are We Now? **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 2, p. 139–169, 2007.
- BOUQUET, Wim et al. Paclitaxel/ β -cyclodextrin complexes for hyperthermic peritoneal perfusion—Formulation and stability. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics**, v. 66, n. 3, p. 391-397, 2007.
- BREWSTER, M, E; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical excipients. **Pharmaceutical Technology European**, v. 5, p. 26-34, 1997.
- BREWSTER, M. E. E LOFTSSON, T. (2007). cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. in: *adv Drug Deliv rev*, 59(7): 645-666.
- BRITO, M.A.F.O.; JÚNIOR, C.S.N & SANTOS, H.F. Análise estrutural de ciclodextrinas: um estudo comparativo entre métodos teóricos clássicos e quânticos. *Química. Nova*. 2004. (6):882-888.
- BUDAL, R, M. Estudos de formação de complexos de inclusão em ciclodextrinas. Santa Catarina, 2003. Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Federal de Santa Catarina.

- CALDERINI, A. Encapsulação e caracterização físico-química do fármaco vasodilatador minoxidil em ciclodextrinas. Campinas, 2006. Dissertação de mestrado. Instituto de Química, UNICAMP.
- CAMPOS, Thiers Araújo. Complexos de inclusão ácido fumarprotocetrárico: 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina: preparação, caracterização e encapsulação em lipossomas. 2012.
- CHAMPOUX, J. J. DNA Topoisomerases: Structure, Function, and Mechanism. *Annual Review of Biochemistry*, Washington, v. 70, p. 369-413, 2001.
- CHOLEWIŃSKI, G.; DZIERZBICKA, K.; KOODZIEJCZYK, A. M. Natural and synthetic acridines / acridones as antitumor agents : their biological activities and methods of synthesis. **Pharmacological Reports**, p. 7-12, 2011.
- CUNHA-FILHO, M.S.S.; SÁ-BARRETO, L.C.L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêuticos. *Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada*. v. 28, n. 1, p. 1-9, 2007.
- DANILA, Daniel C.; FLEISHER, Martin; SCHER, Howard I. Circulating tumor cells as biomarkers in prostate cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 17, n. 12, p. 3903-3912, 2011.
- DE ALMEIDA, Sinara Mônica Vitalino et al. New spiro-acridines: DNA interaction, antiproliferative activity and inhibition of human DNA topoisomerases. **International journal of biological macromolecules**, v. 92, p. 467-475, 2016.
- DE SOUZA ESPINDOLA SANTOS, Aline et al. Mortalidade por câncer entre pintores brasileiros das regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 24, n. 4, 2016.
- DEL VALLE, E.M.M. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. v. 39, p. 1033-1046, 2004.
- DEWEESE, J. E.; OSHEROFF, N. The DNA cleavage reaction of topoisomerase II: Wolf in sheep's clothing. *Nucleic Acids Research*, Nashville, v.37, n. 3, p. 738-748, 2009.
- ELEAMEN, Giovanna RA et al. Improvement of Solubility and Antifungal Activity of a New Aminothiophene Derivative by Complexation with 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 1, p. 116-125, 2017.
- FERGUSON, L. R.; DENNY, W. A. Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.623, n. 1-2, p. 14-23, 2007
- FERGUSON, L. R.; DENNY, W. A. Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.623, n. 1-2, p. 14-23, 2007.
- FERRARI, C. K.B; TORRES, E. A. F.S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. *Revista Brasileira de Cancerologia*, Rio de Janeiro, v 48, p.375-382, 2002.

FIGUEIREDO, André Luiz Peixoto et al. Laser terapia no controle da mucosite oral: um estudo de metanálise. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 59, n. 5, p. 467-474, 2013.

FIGUEIREDO, Maria Antonia Zancanaro et al. Manejo da osteorradionecrose em pacientes submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço. 2005.

FOLKMAN, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. **New england journal of medicine**, v. 285, n. 21, p. 1182-1186, 1971.

GALE, P. A. C.; H; PETER, R. Acridine: A versatile heterocyclic nucleus. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 69, n. 1, p. 3–9, 2012.

GERLOCZY, A.; FONAGY, A.; KERESZTES, P.; PERLAKY, L & SZEJTLI, J. Absorption, distribution, excretion and metabolism of universally labelled ¹⁴C-b cyclodextrin in rat after per os administration. **Gums and Stabilisers for the Food Industry**. London: Elsevier Applied Science Publishers.1986. 503-510.

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

GOUVEIA, R. G.; MOURA, R. O. Derivados de Acridina como Intercaladores de DNA: Uma Revisão. *Anais I CONBRACIS*, Campina Grande, v. 1, 2016.

GUERRANT, W.; PATIL, V.; CANZONERI, J. C.; OYELERE, A. K. Dual Targeting of Histone Deacetylase and Topoisomerase II with Novel Bifunctional Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, Georgia, v. 55, p.1465-1477, 2012.

GUPTA, Gaorav P.; MASSAGUÉ, Joan. Cancer metastasis: building a framework. **Cell**, v. 127, n. 4, p. 679-695, 2006.

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

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. In *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, vol. 4; Reilley, C. N., ed.; 1965, p. 117

HOLMGREN L, O'REILLY MS, J. FOLKMAN Dormancy de micrometastases: proliferação de equilíbrio e apoptose na presença de supressão de angiogênese. *Nat Med*. 1995; 1 : 149–53.

HOYT, V. W.; MASON, E. Nanotechnology. Emerging health issues. **Journal of Chemical Health and Safety**, v. 15, n. 2, p. 10–15, 2008.

INCA- INSTITUTO NACIONAL DE CANCER. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. João Pessoa 2018. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa2016-v11.pdf>. Acesso em: 15 out. 2018.

Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2016: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2015.

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

IRIE, T & UEKAMA, K. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 3 Toxicological issues and safety evaluation. *J. Pharm. Sci.* **1997**. 147-162.

JORGE, P. M. Indução de parada no ciclo celular e apoptose pelo ditelureto de difenila: Uma possível relação com inibição de enzimas topoisomerasas. 2012. 106 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2012.

KALIRAJAN, R.; RAFICK, M. H. M.; SANKAR, S.; JUBIE, S. Docking Studies, Synthesis, Characterization and Evaluation of Their Antioxidant and Cytotoxic Activities of Some Novel Isoxazole- Substituted 9-Anilinoacridine Derivatives. *The ScientificWorld Journal*. Volume 2012.

KESHARWANI, Prashant et al. Nanotechnology based approaches for anti-diabetic drugs delivery. *Diabetes research and clinical practice*, 2017.

KRISTMUNDSDÓTTIR, T.; JÓNSDÓTTIR, E.; ÖGMUNDSDÓTTIR H.M.; INGÓLFSDÓTTIR, K. Solubilization of poorly soluble lichen metabolites for biological testing on cell lines. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.24, p.539-543, 2005.

KUBOTA, Daniela et al. Estudo físico-químico do complexo de inclusão do fármaco Trimetoprim com a β ciclodextrina aleatoriamente metilada. 2010.

KUMAR, R.; KAUR, M.; KUMARI, M. Acridine: a versatile heterocyclic nucleus. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. v. 69, nº 1, p. 3-9, 2012.

LAFAYETTE, E.A.; ALMEIDA, S.M.V.; PITTA, M.G.R.; BELTRÃO, E.I.C.; SILVA, T.G.; MOURA, R.O.; PITTA, I.R.; CARVALHO JÚNIOR, L.B.; LIMA, M.C.A. Synthesis, DNA binding and topoisomerase I inhibition activity of thiazacridine and imidazacridine derivatives. *Molecules*, 18, 15035–15050. 2013.

LANG, X.; LI, L.; CHEN, Y.; SUN, Q.; WUA, Q.; LIU, F.; TAN, C.; LIU, H.; GAO, C.; JIANG, Y. Novel synthetic acridine derivatives as potent DNA- binding and apoptosis-inducing antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 21, 4170–4177. 2013.

LEGER, Paul; LIMPER, Andrew H.; MALDONADO, Fabien. Pulmonary toxicities from conventional chemotherapy. *Clinics in chest medicine*, v. 38, n. 2, p. 209-222, 2017.

LIRA, M.C.B.; FERRAZ, M.S.; SILVA, D.G.V.C.; CORTES, M.E.; TEIXEIRA, K.I.; CAETANO, N.P.; SINISTERRA, R.D.; PONCHEL, G.; SANTOS-MAGALHÃES N.S. Inclusion complex of usnic acid with β -cyclodextrin: characterization and nanoencapsulation into liposomes. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, v.64, p.215-224, 2009.

LIU, Yang et al. Triple negative breast cancer therapy with CDK1 siRNA delivered by cationic lipid assisted PEG-PLA nanoparticles. **Journal of controlled release**, v. 192, p. 114-121, 2014.

LOFTSSON, T & MÁSSON, M. Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. **Int. J. Pharm.** 2001. 15-30.

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

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

LOFTSSON, T.; SIGFÚSSON, S.D.; SIGURSSON, H.H & MÁSSON, M. The effects of cyclodextrins on topical delivery of hydrocortisone: The aqueous diffusion layer. **STP Pharma Sci.** 2003. 125-131.

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

MARQUES, H.M.C., HADGRAFT, J., KELLAWAY, I.W.: Studies of cyclodextrin inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. *International Journal of Pharmaceutics* 63(3), 259-266 (1999)
doi:[http://dx.doi.org/10.1016/03785173\(90\)90132-N](http://dx.doi.org/10.1016/03785173(90)90132-N)

MELO, C. O. **NANOPARTÍCULAS DE PLA CONTENDO DERIVADO ESPIRO ACRIDÍNICO COM ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA**. Dissertação (Dissertação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba – UEPB -. 2018.

MENDONÇA, Elisângela AM et al. Enhanced antiproliferative activity of the new anticancer candidate LPSF/AC04 in cyclodextrin inclusion complexes encapsulated into liposomes. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 4, p. 1355-1366, 2012. NOVAK, C.; EHEN, Z.; FODOR, M.; JICSINSZKY, L.; ORGOVANYI, J. Application of combined thermoanalytical techniques in the investigation of cyclodextrin inclusion complexes. *Journal Thermal Analysis and Calorimetry*. v. 84, n. 3, p. 693-701, 2006.

MOSHER, G.; THOMPSON, D. O. Complexation and cyclodextrins. In: Swarbrick, J. B. (Ed.). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York, p. 531-558, 2002.

MOURA, R. O. Síntese e avaliação in vitro de novos derivados isoquinolínicos, quinazolínicos, pirimidínicos e piridínicos acridínicos. 2009. 238 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2009.

MUKNE, A. P., & NAGARSENKER, M. S. (2004). Triamterene-b-cyclodextrin systems: preparation, characterization and in vivo evaluation. *AAPS Pharmaceutical Science and Technology*, 5, 83–90.

- MURA, P *et al.* Diferencial scanning calorimetry as analytical tool in the study of drugcyclodextrin interactions.73, p. 635-646, 2003.
- NITISS, J. L. DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions. *Nature Reviews Cancer*, Tennessee, v. 9, p. 327-337, 2009.
- PANDYA S.J.; MANSURI J.S.; PATEL P. Compatible Polymer used as complexes in various drug delivery systems: β -Cyclodextrin. *Pharmainfo.net*. v. 6, n. 2, 2008.
- PARANGI S, O'REILLY M, CHRISTOFORI G, ET AL. A terapia de angiogese de ratinhos transgicos impede o crescimento de tumor de novo. *Proc Natl Acad Sci EUA A*. 1996; 93 : 2002–7.
- PATEL, Haresh et al. Preparation and characterization of etoricoxib- β -cyclodextrin complexes prepared by the kneading method. ***Acta pharmaceutica***, v. 57, n. 3, p. 351-359, 2007.MANOLIKAR, N, K; SAWANT, M, R. Study of isoproturon by its complexation with β CD. ***Chemosphere***. 51, p. 811-816, 2003.
- PATEL, Rakesh; PATEL, Manisha. Solid-state characterization and in vitro dissolution behavior of lorazepam: Hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex. ***Drug. Discov. Ther***, v. 4, p. 442-452, 2010.
- PATEL, R.; PATEL, M.; SHAH, D. Applications of cyclodextrin in drug delivery. *International Journal of Pharma World Research*. v.1, n. 2, p. 1-22, 2010.
- PEPTIDE, A.; ZHANG, W.; YANG, X.; SONG, J.; ZHENG, X.; CHEN, J.; MA, P.; ZHANG, B.; PITHA, J., SZENTE, L. e GREENBERG, J. Poly-L-methionine sulfoxide: A biologically inert analogue of dimethyl sulfoxide with solubilizing potency. ***Journal of Pharmaceutical Sciences***, v.72, n.6, p.665-668, 1983.
- PHALHAD T.; RAJENDRAKUM, K. Study of freeze-dried quercetin cycloextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffractions and SEM analysis. ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, v.34, p.333-339, 2004.
- RAJEWSKI, ROGER A.; STELLA, VALENTINO J. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery. ***Journal of pharmaceutical sciences***, v. 85, n. 11, p. 1142-1169, 1996.
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J., Henderson, G. *Farmacologia*. 7^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.
- RESCIFINA, A.; ZAGNI, C.; VARRICA, M. G.; PISTARÀ, V.; CORSARO, A. Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling. ***European Journal of Medicinal Chemistry***, v. 74, p. 95-115, 2014.
- RIBEIRO, L.; LOFTSSON, T.; FERREIRA, D. et al. Investigation and Physicochemical Characterization of Vinpocetine-Sulfobutyl ether b- cyclodextrin binary and ternary complexes. ***Chemistry & Pharmaceutical Bulletin***, v.51, n.8, p.914-922, 2003.

SAFARI, J.; ZARNEGAR, Z. Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design A review. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, n.2, p. 85-99, 2014.

SAKATA, Karen Namie et al. Concepções da equipe de saúde da família sobre as visitas domiciliares. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 60, n. 6, 2007.

SATHIGARI, S.; CHADHA, G.; LEE, Y-H.P.; WRIGHT, N.; PARSONS, D.L.; RANGARI, V.K.; FASINA, O.; BABU, R.J. Physicochemical characterization of efavirenz–cyclodextrin inclusion complexes. **Pharm. Sci. Tech.**, 2009;10:1-10.

SCHMIDT, A.; LIU, M. Recent Advances in the Chemistry of Acridines. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Volume 115 ISSN 0065-2725. 2015.

SIEGEL, Rebecca L.; MILLER, Kimberly D.; JEMAL, Ahmedin. Cancer statistics, 2015. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 65, n. 1, p. 5-29, 2015.

SOUIBGUI, Amel et al. New series of acridines and phenanthrolines: synthesis and characterization. **Tetrahedron**, v. 70, n. 18, p. 3042-3048, 2014.

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

UEKAMA, K; HIRAYAMA, F; IRIE, I. Cyclodextrin drug Carrier systems. **Chem. Rev.** 98, p. 2045-2076, 1998.

UEKAMA, K; OTAGARINI, M. Cyclodextrin in drug Carrier systems. **Drug Carrier Syst.** 3, p. 140, 1987.

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

VENTURA, Cinzia Anna et al. Preparation of celecoxib-dimethyl- β -cyclodextrin inclusion complex: characterization and in vitro permeation study. **European journal of medicinal chemistry**, v. 40, n. 7, p. 624-631, 2005.

VENTURINE CG, Nicoline J, Machado C, Machado VG. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. *Quim Nova* 2008;31(2):360-8.

VILKOVA, M.; PROKAILOVA, M.; IMRICH, J. Spontaneous cyclization of (acridin-9 ylmethyl) thioureas to spiro of acridine spirocycles. **Tetrahedron**, v. 70, p. 944–961, 2014.

WANG, R. Pharmaceutical Engineering — Article Conjugation with Acridines Turns Nuclear Localization Sequence into Highly Active. **Engineering**, v. 1, n. 4, p. 500–505, 2015.

ZHANG, B; LI, X.; LI, B.; GAO C.; JIANG Y.. Acridine and its derivatives: a patent review (2009 - 2013). *Expert Opin Ther Pat.* ;24(6):647-64. 2014.