

Ana Catarina Paixão

# As ciclodextrinas como uma nova abordagem terapêutica para a administração de fármacos no cólon

Monografia realizada no âmbito da Unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,  
orientada pela Professora Doutora Ana Rita Figueiras e apresentada à  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ana Catarina Mendes Paixão, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009495, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 17 de Julho de 2014

---

(Ana Catarina Paixão)

**Assinatura do Tutor:**

---

(Prof.<sup>a</sup> Ana Rita Figueiras)

**Assinatura da aluna:**

---

(Ana Catarina Paixão)

## **ABREVIATURAS**

- 5-ASA - Ácido 5-aminosalicílico
- AINE - Anti-inflamatório não esteróide
- ALN - Alendronato
- BPAA - Ácido bifenilacético
- CD - Ciclodextrina
- EUA - Estados Unidos da América
- FDA - *Food and Drug Administration*
- PEG - Polietilenoglicol
- PGEI - Prostaglandina E1
- TGI - Trato gastrointestinal

## RESUMO

A veiculação de fármacos para o cólon tem-se tornado atrativa, na perspectiva terapêutica, quer pelo seu interesse no tratamento tópico de doenças intestinais, quer como local de absorção de moléculas proteicas. No entanto, os fármacos administrados por via oral têm um longo caminho a percorrer até atingirem o cólon e vários fatores dificultam a chegada do fármaco ativo a este local.

Com o objetivo de ultrapassar estes obstáculos, as ciclodextrinas têm sido estudadas como veículos específicos para administração colónica de fármacos. Graças às suas características únicas e bioadaptáveis, as ciclodextrinas são capazes de complexar variadas moléculas ou parte delas, fornecendo um microambiente protetor à molécula complexada e atenuando as suas propriedades indesejáveis. Contudo, a complexação não é suficiente para garantir a entrega dos fármacos no cólon, visto que os complexos podem dissociar-se antes de o atingir.

Recorrendo à conjugação dos fármacos com as ciclodextrinas, por estabelecimento de ligações covalentes, garante-se a libertação do fármaco apenas quando essas ligações forem destruídas, uma vez que as ciclodextrinas são degradadas no cólon, por ação da microflora aí existente. Este conhecimento deu lugar a uma nova abordagem terapêutica, potencializando a formação de conjugados de fármaco-ciclodextrina como profármacos para administração colónica.

## **ABSTRACT**

Drug delivery to the colon has become attractive either for its interest in the topical treatment of intestinal diseases or for the delivery of peptide molecules. However, drugs administered through the oral route have a long way to go until reaching the colon and several factors can hinder the arrival of the active drug to this site.

In order to overcome these barriers, cyclodextrins have been studied as specific vehicles for colonic administration. Due their exclusive and bioadaptable characteristics, cyclodextrins are capable of complexing various molecules or part of them, providing a protective microenvironment to the complexed molecule and decreasing its undesirable properties. However, complexation is not enough to ensure the delivery of drugs to the colon since the complex dissociates before it reaches it.

Using the conjugation of drugs with cyclodextrins, through covalent bond formation, it is ensured that the drug is released only when these bonds are broken, according that, cyclodextrins are degraded only in the colon by the existing microflora. This knowledge gave rise to a new therapeutic approach, potentiating the formation of drug-cyclodextrin conjugates as prodrugs for colonic administration.

## ÍNDICE

Resumo .....	4
Abstract .....	5
Introdução.....	7
O cólon como um alvo terapêutico para a administração oral de fármacos.....	8
Breves considerações sobre a morfologia e fisiologia do cólon .....	8
Fatores que dificultam a administração de fármacos no cólon.....	9
Complexos de inclusão versus conjugados com ciclodextrinas para administração de fármacos no cólon.....	10
Complexos de inclusão com ciclodextrinas .....	10
Definição e breve caracterização.....	10
Vantagens e desvantagens da sua utilização.....	13
Conjugados com ciclodextrinas .....	15
Definição e breve caracterização.....	15
Vantagens e desvantagens da sua utilização.....	16
Aplicação de conjugados com ciclodextrinas na libertação vetorizada de fármacos.....	17
Exemplos de diferentes alvos terapêuticos .....	17
Aplicações terapêuticas de conjugados com ciclodextrinas para administração oral de fármacos no cólon .....	19
Conclusões e Perspetivas Futuras .....	22
Bibliografia:.....	23

## INTRODUÇÃO

A veiculação de fármacos para órgãos e tecidos alvos é uma estratégia com elevado interesse farmacológico, com vista a aumentar a concentração do fármaco no local pretendido em detrimento de outros, reduzindo os efeitos colaterais resultantes da sua ação sobre os restantes órgãos e sistemas.

O cólon apresenta-se como um alvo terapêutico interessante, pelas patologias a ele associadas, com elevadas taxas de incidência na população mundial, e pelas suas características que o tornam uma via útil na absorção sistémica de fármacos. Das várias vias de administração exploradas ao longo dos anos, a via oral continua a ser a mais conveniente para o doente, embora não permita um fácil acesso dos fármacos ao cólon na forma intacta. O fármaco deve ser capaz de resistir à passagem pelo estômago e intestino delgado e às variações de pH a que esse trajeto obriga, chegando ao cólon com capacidade para exercer o efeito terapêutico pretendido.

Vários sistemas de veiculação têm sido estudados para a entrega específica de fármacos no cólon, explorando propriedades específicas deste órgão. A microflora aí presente é uma das características que tem permitido o desenvolvimento de sistemas de libertação específica com obtenção de melhores resultados.

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos constituídos por um número variável de unidades de glicose. Sabe-se que estas moléculas não são absorvidas ao longo do trato gastrointestinal superior, sendo metabolizadas ao nível do cólon e do cego. Esta característica confere-lhes interesse enquanto veículos de fármacos para o cólon.

As ciclodextrinas apresentam uma forma tronco-cónica com uma cavidade hidrófoba capaz de incorporar diversos tipos de moléculas, alterando as suas propriedades físico-químicas e biológicas. Em adição, devido à sua origem natural e natureza sacarídica, são consideradas pela FDA como sendo moléculas seguras. Atualmente já estão aprovados e disponíveis no mercado fármacos associados a ciclodextrinas, aos quais se juntam produtos cosméticos e nutracêuticos.

Esta dissertação tem como objetivo fazer uma revisão de estudos já realizados nesta área, avaliando o potencial das ciclodextrinas como veículos para a administração de fármacos no cólon, assim como as perspetivas futuras da sua utilização.



## **O CÓLON COMO UM ALVO TERAPÊUTICO PARA A ADMINISTRAÇÃO ORAL DE FÁRMACOS**

### BREVES CONSIDERAÇÕES SOBRE A MORFOLOGIA E FISIOLOGIA DO CÓLON

O intestino grosso é a porção do tubo digestivo que se estende da junção ileocecal até ao ânus. É composto pelo cego, colón, reto e canal anal. Normalmente o seu conteúdo demora 18-24 horas a percorrer toda a sua extensão, em contraste com as 3-5 horas requeridas no intestino delgado. (1)

O cólon mede 1,5-1,8 metros de comprimento e divide-se em quatro partes: cólon ascendente, transverso, descendente e sigmoideu. (1)

Do ponto de vista histológico, a parede do cólon é formada por quatro camadas: a camada serosa, a muscular externa, a submucosa e a mucosa, que constitui a camada mais interior. O cólon é irrigado pelas artérias mesentéricas, pelo que, qualquer fármaco nele absorvido passará imediatamente pelo fígado sofrendo o efeito de primeira passagem. (2)

Ao longo do cólon os padrões de motilidade variam, sendo que a primeira parte do cólon é caracterizada pelo seu anti-peristaltismo, o que faz com que o conteúdo fecal lá permaneça por longos períodos de tempo. Juntando a este facto a menor viscosidade do conteúdo intestinal, em comparação com as restantes áreas do cólon, torna-a uma zona ideal para a absorção colónica de fármacos. (2)

A veiculação de fármacos tendo como alvo terapêutico o cólon tem-se tornado atrativa nos últimos anos para os investigadores, quer pelo seu interesse no tratamento tópico de patologias intestinais como colite ulcerosa, doença de Crohn e carcinoma coloretal, quer como local de absorção de moléculas proteicas. (3)

Inicialmente, esta abordagem terapêutica não parecia fazer sentido, devido à pequena área de absorção e às fortes propriedades de barreira do epitélio do cólon. Contudo, o cólon apresenta características únicas, que fazem dele um órgão atrativo para a veiculação de fármacos. (3)

Por um lado, a atividade peptidase no intestino grosso é significativamente mais baixa do que no estômago e intestino delgado e o tempo de trânsito intestinal é muito maior no cólon do que no trato gastro-intestinal superior. Isto permite a absorção de fármaco peptídicos instáveis e de baixa permeabilidade nesta região. (4) Por outro lado, com o tratamento tópico de doenças inflamatórias intestinais é esperada uma ação mais seletiva nos principais focos da inflamação, enquanto ocorre diminuição dos efeitos secundários que, na grande maioria, resultam da absorção sistémica. (5)

Outra característica particular do cólon é a sua microflora, constituída maioritariamente por microrganismos anaeróbios ou anaeróbios facultativos, que produzem um vasto número de enzimas hidrolíticas e redutoras. Esta especificidade do cólon pode ser utilizada na formulação de sistemas transportadores de fármacos para esta região intestinal. (6)

A veiculação de fármacos para o cólon pode ser conseguida recorrendo à administração oral ou rectal dos mesmos, no entanto, a via oral continua a ser a de primeira escolha para o desenvolvimento de formas farmacêuticas, devido à sua comodidade e elevada aceitação pelos doentes.

#### FATORES QUE DIFICULTAM A ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS NO CÓLON

O pH dos fluidos intestinais afeta a eficácia dos fármacos veiculados para o cólon, após administração oral. No estômago, o pH varia entre 1 e 2 em jejum mas aumenta após as refeições. O pH no duodeno é cerca de 6,5, aumentando para 7,5 na porção distal do intestino delgado. No cólon o pH apresenta valores próximos da neutralidade (6,6-7) podendo, no entanto, variar consoante o tipo de alimentação praticada e na presença de determinadas patologias.

Estas mudanças de pH constituem um dos entraves para a entrega específica e intacta de fármaco no cólon, uma vez que afetam o grau de ionização do fármacos, uma vez que a maioria destes se comporta como ácidos fracos ou como bases fracas.

Formular sistemas para veicular fármacos para o cólon com base nestas diferenças de pH tem sido uma das abordagens terapêuticas propostas. No entanto, a diferença entre o intestino delgado e o intestino grosso é demasiado pequena para garantir a especificidade das formulações, além de que diferenças interindividuais podem colocar em causa a eficácia da vectorização. (4)

A absorção de fármacos a nível do cólon depende do tempo de trânsito nesta região. Em indivíduos saudáveis, o tempo de trânsito colónico varia entre 22 a 36 horas. No entanto, este tempo é altamente afetado por diferentes fatores tais como a dieta, patologias existentes, medicação concomitante e o sexo. (2)

O tempo de trânsito intestinal que precede a chegada do fármaco ao cólon é igualmente variável e depende de vários agentes. Um fármaco direcionado para o cólon deve ser suficientemente estável até atingir o órgão-alvo, mas tempos de trânsito intestinal longos podem comprometer essa estabilidade.

A microflora presente no trato gastrointestinal humano consiste numa mistura de bactérias aeróbias, anaeróbias facultativas e anaeróbias estritas, constituindo um ecossistema complexo. (4)

O estômago e duodeno contêm poucas bactérias, todas aeróbias. À medida que se avança no trato gastrointestinal, o número de bactérias aumenta e o número de bactérias anaeróbias é cada vez maior. As espécies predominantes no cólon são as *bacterioides*, *bifidibacteria*, *eubacteria*, *clostridia*, *enterococcus* e *enterobacterias*. (6) Várias enzimas produzidas por estas bactérias têm a capacidade de metabolizar sistemas transportadores de fármacos, constituindo uma estratégia promissora para a libertação de fármacos no cólon.

A flora intestinal humana é praticamente independente da dieta, idade e localização geográfica, de tal forma que a variação enzimática interindividual não aparenta ser um problema sério para a vectorização de fármacos. Contudo, certas doenças ou tratamentos com antibióticos podem alterar a flora intestinal e pôr em causa a eficácia destes sistemas. (4) É importante considerar seriamente se o uso da microflora será vantajoso para a veiculação de fármacos para o cólon, pois a libertação do fármaco está dependente da degradação do sistema por parte dessa microflora.

Todos estes fatores devem ser tidos em conta no desenvolvimento de sistemas de administração específicos para a libertação de fármacos no cólon, para que o fármaco tenha a eficácia pretendida e apresente vantagens terapêuticas relativamente às formulações convencionais.

## **COMPLEXOS DE INCLUSÃO VERSUS CONJUGADOS COM CICLODEXTRINAS PARA ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS NO CÓLON**

### COMPLEXOS DE INCLUSÃO COM CICLODEXTRINAS

#### DEFINIÇÃO E BREVE CARATERIZAÇÃO

As ciclodextrinas (CD) são oligossacáridos cíclicos, constituídos por um número variável de unidades de glicose, que se obtêm por ação da enzima ciclodextrina- $\alpha$ -glicosiltransferase sobre o amido. (7) As ciclodextrinas naturais mais comuns apresentam seis, sete ou oito unidades de D(+)- glicopiranoose unidas por ligações  $\alpha$  (1,4) e denominam-se  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  -CD, respetivamente. (7)

Todas estas moléculas apresentam-se cristalinas, não-higroscópicas e com uma estrutura tronco-cónica, possuindo uma cavidade de natureza apolar que contrasta com o exterior hidrofílico. Ciclodextrinas com número inferior a seis unidades de glicose não

existem, por razões estereoquímicas e ciclodextrinas com número superior a oito unidades de glicose são produzidas com baixo rendimento, pelo que têm reduzido interesse farmacêutico. (7)

Algumas das propriedades físico-químicas mais importantes das ciclodextrinas naturais encontram-se sumariadas na Tabela I:

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Nº unidades glicose	6	7	8
Massa molecular	972	1135	1297
Sol. Aquosa (g/100ml a 25°C)	14,5	1,85	23,2
Diâmetro da cavidade (Å)	4,7 – 5,3	6,0 – 6,5	7,5 – 8,3
Volume da Cavidade (Å <sup>3</sup> )	174	262	427
pK <sub>a</sub>	12,332	12,202	12,081

Tabela I: Propriedades físico-químicas das principais ciclodextrinas naturais. Adaptado de (7).

Na sua estrutura molecular, as ciclodextrinas apresentam os grupos hidroxilos secundários nos átomos C-2 e C-3 das unidades de glicose, na extremidade mais larga, enquanto os grupos hidroxilo primários, ligados aos átomos C-6 das unidades de glicose, se localizam na extremidade oposta, mais estreita. Todos esses grupos hidroxilo podem servir como pontos de partida para modificações estruturais e vários grupos funcionais podem ser introduzidos dentro do anel macrocíclico das ciclodextrinas. (8) A Figura 1 ilustra a localização dos grupos hidroxilos da  $\beta$ -CD.

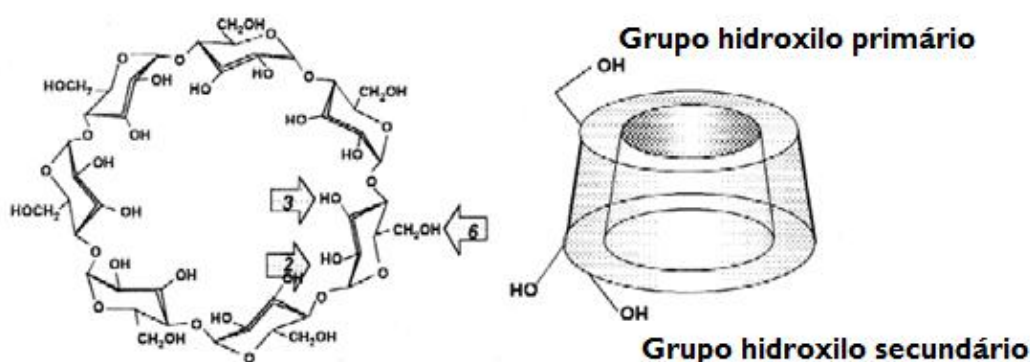


Figura 1: Representação esquemática da localização dos grupos hidroxilos da  $\beta$ -CD. Adaptado de (8).

Na cavidade hidrófoba das ciclodextrinas, vários tipos de fármacos podem ser incluídos. Desta associação resultam complexos fármaco-ciclodextrina, também designados

por complexos de inclusão. Os complexos de inclusão são, portanto, entidades compostas por duas ou mais moléculas, nas quais uma das moléculas – hospedeira – inclui total ou parcialmente, sem estabelecimento de ligações covalentes, uma molécula hóspede. (9)

A formação de complexos de inclusão está condicionada pela estrutura e propriedades físico-químicas quer dos fármacos encapsulados, quer das ciclodextrinas. (10) A condição mínima requerida é a compatibilidade geométrica entre as moléculas hóspede e hospedeira, ou seja, a molécula hóspede tem de penetrar e ajustar-se total ou parcialmente na cavidade apolar da ciclodextrina. (9)

Assim sendo, a inclusão de moléculas hóspedes na cavidade das ciclodextrinas é condicionada, não só por fatores estereoquímicos relacionados com a forma e o tamanho das moléculas hóspedes, mas também pela polaridade dessas moléculas. Em solução aquosa, a cavidade apolar das ciclodextrinas é ocupada por moléculas de água, as quais se encontram num ambiente energeticamente desfavorável, dada a natureza da interação polar-apolar. A formação de complexos de inclusão ocorre através de um processo em que as moléculas de água, localizadas na cavidade central das ciclodextrinas, são substituídas por uma molécula hóspede ou por grupos lipófilos dessa molécula. (9) Este fenómeno encontra-se representado na Figura 2:

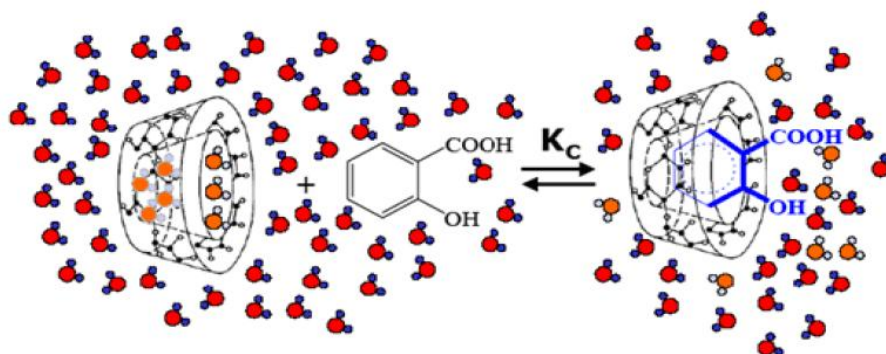


Figura 2: Representação esquemática da formação de um complexo de inclusão, sendo o ácido salicílico a molécula hóspede. Adaptado de (10).

Considera-se que a libertação de entalpia das moléculas de água da cavidade das ciclodextrinas é a principal força motora para a formação do complexo. A energia do sistema diminui quando as moléculas de água (de elevada entalpia) são substituídas por moléculas hóspede, que são menos polares do que a água. (10) Para além do mecanismo proposto, podem estar envolvidas interações *van der Waals*, ligações de hidrogénio, interações hidrófobas e alterações na tensão superficial do solvente. (10)

É de realçar que as ligações que se estabelecem entre a molécula hospedeira e a molécula hóspede durante a formação do complexo de inclusão não são permanentes, formando-se um equilíbrio dinâmico entre a associação e a dissociação de ambas as moléculas. O equilíbrio existente entre as moléculas de fármaco livre e as moléculas de fármaco complexadas é quantitativamente descrito pela constante de estabilidade ou associação,  $K_c$ , onde  $[\text{Fármaco-CD}]$ ,  $[\text{Fármaco}]$  e  $[\text{CD}]$  representam, respetivamente fármaco complexado, fármaco livre e CD livre, e encontra-se esquematizado na figura 3. (14)

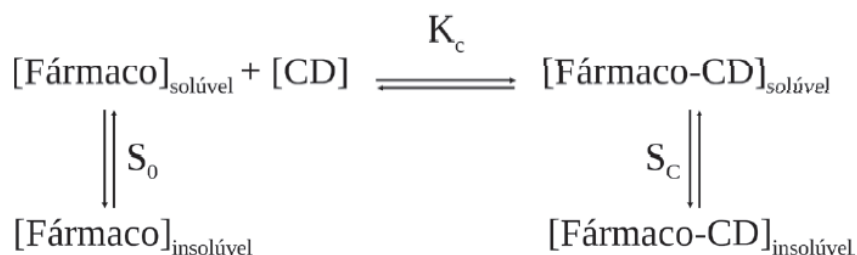


Figura 3: Representação do equilíbrio de associação e dissociação na formação dos complexos de inclusão.  $S_0$  representa a solubilidade do fármaco e  $S_c$  a solubilidade do complexo formado. Adaptado de (14).

A magnitude da constante  $K_c$  varia geralmente entre 0 e  $10^5 \text{ M}^{-1}$ , sendo 0 se o fármaco for incapaz de formar um complexo de inclusão com a CD e  $10^5$  para o limite superior já experimentalmente observado em complexos fármaco-CD. A cinética de dissociação será tanto mais lenta, quanto mais forte for a ligação fármaco-CD, e portanto quanto maior o valor de  $K_c$ . (10)

Contudo, a associação e dissociação de moléculas de fármaco e de CDs são processos dinâmicos que ocorrem muito rapidamente, num espaço de tempo da ordem dos milissegundos, mesmo para complexos com constantes de estabilidade mais elevadas. Sendo assim, a cinética de libertação do fármaco a partir das CDs não é um fator limitante na absorção do mesmo. (14)

#### VANTAGENS E DESVANTAGENS DA SUA UTILIZAÇÃO

A formação de complexos de inclusão altera significativamente as características do substrato. Estas alterações incluem modificações na reatividade química da molécula hóspede, fixação de substâncias muito voláteis, melhoria da solubilidade de compostos, estabilização de substâncias sensíveis à luz, calor e oxidação, proteção da degradação de substâncias por microrganismos, mascaramento de corantes ou pigmentos e atividade catalítica com substratos. (11)

As consequências diretas mais importantes da inclusão de um fármaco numa ciclodextrina são relativas ao aumento da solubilidade do fármaco incluído. (11) Fármacos classificados como pouco solúveis ou insolúveis podem ver a sua absorção oral aumentada através da complexação com ciclodextrinas, refletindo-se este efeito no aumento da sua biodisponibilidade oral, podendo conduzir, em certos casos, à diminuição da respetiva dose terapêutica administrada. (10)

A formação de complexos de inclusão permite reduzir os efeitos secundários, não só como consequência de uma diminuição da dose terapêutica, mas também pela diminuição da exposição de determinadas moléculas sobre os tecidos biológicos, como resultado da encapsulação molecular na cavidade das ciclodextrinas.

Apesar da complexação poder influenciar a libertação do fármaco e a sua dissolução não significa que esta resulte necessariamente num aumento da permeabilidade e biodisponibilidade do fármaco, na medida em que as ciclodextrinas, devido ao seu elevado tamanho, não penetram as membranas biológicas, sendo necessário que ocorra a dissociação do complexo para que depois o fármaco livre sofra absorção.

Embora os complexos de inclusão permitam geralmente um aumento da estabilidade física e química dos fármacos complexados, existem algumas situações particulares em que as ciclodextrinas potenciam a degradação dos fármacos. (10) Além disso, estudos realizados revelaram que, para muitas substâncias a complexação com ciclodextrinas não é possível ou não apresenta quaisquer vantagens. A formação de complexos de inclusão é altamente condicionada pela estrutura e propriedades físico-químicas dos fármacos complexados e da ciclodextrina, na medida em que para que o complexo de inclusão seja formado, a molécula de fármaco tem que ajustar-se total ou parcialmente no interior hidrofóbico da cavidade da ciclodextrina. (9)

Como referido anteriormente, uma característica inerente à formação de complexos de inclusão é o facto de se gerar um equilíbrio entre as moléculas hóspedes e as moléculas livres, em solução. O grau de dissociação do complexo é dependente da magnitude da constante de estabilidade do mesmo. Esta propriedade é uma qualidade desejável para que o complexo se dissocie e o fármaco se apresente na sua forma livre, apto para ser absorvido. No entanto, este equilíbrio é por vezes uma desvantagem, quando se pretende a veiculação de fármacos para órgãos ou tecidos alvo, uma vez que complexos pouco estáveis dissociam-se antes de os atingir. Um dos métodos para evitar a dissociação consiste em ligar covalentemente o fármaco à ciclodextrina. Neste caso, não se trata de complexos de inclusão mas sim de conjugados de fármacos com ciclodextrinas. (8) Este assunto será abordado detalhadamente nos próximos tópicos.

## CONJUGADOS COM CICLODEXTRINAS

### DEFINIÇÃO E BREVE CARACTERIZAÇÃO

Recentemente têm sido desenvolvidas estratégias para aumentar o potencial das ciclodextrinas como agentes de entrega específica de fármacos. No entanto, a formação de complexos de inclusão é insuficiente para transportar um fármaco para um órgão ou tecido alvo, uma vez que, após a administração, a molécula do fármaco poderá ser facilmente libertada antes de atingir o alvo terapêutico. (13)

Uma das estratégias estudadas para contornar este problema consiste na síntese de conjugados de fármacos com ciclodextrinas. A conjugação com ciclodextrinas implica o estabelecimento de ligações covalentes entre o fármaco e os grupos hidroxilo da ciclodextrina, cujo objetivo é garantir a libertação do fármaco apenas nos locais em que ocorra quebra dessas ligações.

Como referido anteriormente, as ciclodextrinas 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 ciclodextrina, funcionando como profármacos.

O fármaco covalentemente ligado à ciclodextrina é uma nova molécula e, portanto, pode perder ou modificar a sua atividade farmacológica. Logo, o derivado sintetizado deve garantir a libertação do fármaco na zona onde a absorção ocorre, na sua forma farmacologicamente ativa. (13)

A síntese de profármacos específicos para libertação no cólon requer várias considerações, nomeadamente, as propriedades físico-químicas do fármaco e da ciclodextrina, bem como o tipo de ligação envolvida na conjugação.

Das ciclodextrinas naturais, a  $\beta$ -ciclodextrina, constituída por sete unidades de glicose, é a mais utilizada pois, embora apresente reduzida solubilidade aquosa, possui uma cavidade interna com dimensões adequadas para incorporar um elevado número de fármacos e é obtida industrialmente com maior rendimento e menores custos, relativamente às outras ciclodextrinas. (14) As moléculas de fármaco podem ser covalentemente ligadas aos grupos hidroxilos primários ou secundários da  $\beta$  – ciclodextrina originando conjugados fármaco-ciclodextrina. (15)

Estudos realizados utilizando um fármaco anti-inflamatório, o ácido bifenilacético (BPAA), demonstraram que os conjugados éster apresentam um maior potencial para libertar o fármaco no cólon, comparativamente aos conjugados amida. Os ésteres



apresentam estabilidade química razoável, sendo uma característica ideal para a sua formulação, para além de servirem de substratos para as esterases existentes no cólon. Assim, no caso dos conjugados éster, a libertação do fármaco ocorre pela abertura do anel da ciclodextrina, permitindo a entrega específica do fármaco. Por outro lado, nos conjugados amida, o fármaco não é libertado após a abertura do anel da ciclodextrina no cólon, uma vez que as ligações amida são resistentes às enzimas bacterianas, conduzindo à formação de derivados hidrofílicos estáveis tais como a maltose e conjugados de amida triose, que não são absorvidos e permanecem no conteúdo intestinal. (5)

Nesses mesmos estudos, usando BPAA, constatou-se que a solubilidade dos conjugados estava relacionada com a dimensão da cavidade hidrofóbica da ciclodextrina. Por exemplo, a baixa solubilidade dos conjugados de  $\beta$ -Ciclodextrina foi atribuída à associação intermolecular entre a molécula de fármaco e a vizinhança da cavidade da ciclodextrina. Por outro lado, a elevada solubilidade observada em conjugados com  $\alpha$ -Ciclodextrina pode dever-se ao facto de a cavidade ser demasiado pequena para acomodar a molécula de BPAA.

#### VANTAGENS E DESVANTAGENS DA SUA UTILIZAÇÃO

Entre as diferentes abordagens que visam a entrega de fármacos, a veiculação para locais alvo sempre despertou fascínio para os investigadores. Desde a década de 70 que as ciclodextrinas e os seus derivados, em virtude das suas peculiares propriedades de inclusão, têm sido propostas como excipientes farmacêuticos e foram aplicadas em diversos produtos comercializados. Adicionalmente, as ciclodextrinas passaram a ser estudadas como excipientes funcionais, em sistemas de libertação controlada e, nos últimos anos, deixaram de ser vistas apenas como excipientes funcionais e passaram a ser consideradas transportadores supramoleculares multifuncionais. (5)

Como já foi referido, a conjugação de fármacos com ciclodextrinas, através do estabelecimento de ligações covalentes, surgiu como uma nova abordagem terapêutica para a veiculação vetorizada de fármacos, que não era possível com a utilização de complexos de inclusão com ciclodextrinas.

O processo de conjugação de fármacos com ciclodextrinas implica a síntese de uma nova molécula, com o estabelecimento de ligações covalentes entre as duas moléculas iniciais. Esse processo envolve fontes de energia externa, agentes de reticulação tóxicos e condições drásticas (altas temperaturas, pH elevado, uso de solventes orgânicos, etc.), que podem afetar a estrutura química do fármaco encapsulado. (16) No entanto, recentes avanços biotecnológicos têm vindo a contribuir para melhorias significativas na síntese de

conjugados e várias técnicas têm sido estudadas como alternativas aos processos clássicos de síntese orgânica. (15)

No que respeita à ação terapêutica destes agentes, esta está dependente, na maioria dos casos, da quebra da ligação entre as duas moléculas para que o fármaco fique na sua forma ativa. Fatores fisiológicos que coloquem em causa esse processo levam à ineficácia terapêutica do conjugado. Por exemplo, na veiculação de fármacos para o cólon, a eficácia do fármaco está dependente da ação das enzimas bacterianas aí existentes. Sabe-se que determinadas patologias e o uso de determinados fármacos antibióticos, podem afetar a microflora intestinal, e dessa forma comprometer a metabolização das ciclodextrinas. Deste modo, são necessários estudos adicionais, em indivíduos doentes, que comprovem a vantagem da veiculação de fármacos através da sua conjugação com ciclodextrinas. (17)

No âmbito da farmacocinética, os conjugados fármaco-ciclodextrina apresentam uma absorção mais lenta comparativamente aos complexos de inclusão com ciclodextrinas e ao fármaco na forma livre, pelo que os conjugados apresentam um início de ação mais lento. Contudo, verifica-se uma maior biodisponibilidade e redução dos efeitos adversos quando se utiliza o fármaco conjugado com ciclodextrinas, o que os torna atrativos do ponto de vista terapêutico.

## **APLICAÇÃO DE CONJUGADOS COM CICLODEXTRINAS NA LIBERTAÇÃO VETORIZADA DE FÁRMACOS**

### EXEMPLOS DE DIFERENTES ALVOS TERAPÊUTICOS

- **Ossos:**

A reparação de defeitos ósseos é dispendiosa e invasiva, levando a comunidade científica a dirigir esforços no sentido de melhorar a eficácia das terapêuticas existentes.

Recentemente, investigadores da Universidade de Nebraska, projetaram e sintetizaram um conjugado de alendronato com  $\beta$ -ciclodextrina (ALN- $\beta$ -CD), com o objetivo de vetorizar agentes terapêuticos para os ossos e dentes. Este conjugado foi então estudado para a entrega de prostaglandina E1 (PGE1) no tratamento de defeitos ósseos. O trabalho consistiu em injetar o conjugado ALN- $\beta$ -CD-PGE1 na mandíbula de ratos, o qual se ligaria à superfície óssea através do grupo fosfonato do alendronato, ligando o restante complexo ao local de injeção. Graças à libertação gradual da PGE1 e à sua retenção no local

alvo, a toxicidade sistêmica poderia ser reduzida. A viabilidade da hipótese foi então estudada, usando um grupo controle ao qual foi administrado o conjugado ALN- $\beta$ -CD.

Surpreendentemente, o grupo controle demonstrou a ocorrência de uma reação anabolizante óssea superior à do grupo a que foi administrado o conjugado ALN- $\beta$ -CD-PGEI. (18) Uma das explicações apontadas sugere que, devido à capacidade complexante versátil da  $\beta$ -CD, vários compostos endógenos com propriedades anabólicas possam ter sofrido ligação ao local alvo, tais como prostaglandinas, esteroides, vitamina D, etc.

Embora o mecanismo de ação não tenha sido claramente elucidado, sabe-se que o conjugado ALN- $\beta$ -CD tem efeitos anabólicos ósseos que não foram visualizados usando alendronato isoladamente. (18) Estudos adicionais serão necessários para confirmar a hipótese. Num futuro próximo, a conjugação de diversas substâncias com ciclodextrinas poderá vir a ser uma das estratégias terapêuticas no tratamento de doenças ósseas.

- **Recetores tumorais:**

Através do estudo das características das células tumorais, é possível desenvolver conjugados de ciclodextrinas que reconheçam especificamente determinados recetores tumorais.

O ácido fólico é essencial para o desenvolvimento celular, estando envolvido na síntese de purinas e pirimidinas. Nas células normais, os transportadores de ácido fólico apenas reconhecem folatos reduzidos e não conjugados, enquanto que nas células tumorais, devido ao crescimento celular acelerado, reconhecem folatos reduzidos e folatos conjugados. Estes recetores são expressos em grandes quantidades, em diversos tumores. (19)

As ciclodextrinas foram já modificadas com sucesso de modo a reconhecerem especificamente recetores tumorais de ácido fólico, através de conjugação com esta vitamina e um espaçador de polietilenoglicol (PEG), que aumenta a flexibilidade da molécula. (22)

Os conjugados de ácido fólico com ciclodextrinas permitem a complexação de moléculas ativas com ação citostática no interior da ciclodextrina, aumentando desta forma a especificidade destes fármacos para as células tumorais, potenciando a sua ação terapêutica e reduzindo os efeitos secundários associados. (22)

Outro recetor que está sobreexpresso nas células tumorais é o recetor da transferrina, uma vez que esta molécula transporta para a célula o ferro, essencial para a progressão do ciclo celular. Estudos realizados revelaram a eficácia de conjugados transferrina-PEG-CD complexado com oligonucleótidos, resultando num aumento do

reconhecimento celular e da internalização dos oligonucleótidos na célula tumoral e, conseqüentemente, aumentando a eficácia terapêutica. (23)

#### APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DE CONJUGADOS COM CICLODEXTRINAS PARA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE FÁRMACOS NO CÓLON

A utilização da via de administração oral como forma de direcionar fármacos para o cólon é extremamente útil para o tratamento de uma variedade de doenças intestinais, cada vez mais preocupantes, como a doença intestinal inflamatória (doença de Crohn e colite ulcerosa) e o cancro colo-rectal, o qual constitui a terceira causa de morte por cancro em todo o mundo. (22)

Quer se pretenda uma ação sistêmica ou local, não é fácil conseguir que o fármaco alcance o cólon de forma íntata, sem ter perdido parcial ou totalmente as suas propriedades. É neste sentido que se tem proposto a utilização de sistemas transportadores especificamente direcionados para a libertação colónica, os quais devem ser capazes de proteger o fármaco durante a sua passagem pelo estômago e intestino delgado.

As propriedades das ciclodextrinas anteriormente mencionadas, têm demonstrado interesse no desenvolvimento de formas farmacêuticas de entrega específica de fármacos no cólon. Deste modo o fármaco pode atuar localmente sem que ocorra uma extensa absorção sistêmica, responsável pela maioria dos efeitos adversos observados. Alguns exemplos já estudados serão apresentados de seguida.

- **Libertação do conjugado ácido 5-aminosalicílico-CD no cólon:**

A colite ulcerativa e a doença de Crohn são distúrbios recorrentes que envolvem cronicamente a mucosa e submucosa do cólon. O ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) é um composto ativo utilizado na terapêutica de manutenção destas patologias. (5) No entanto, quando administrado oralmente, uma grande quantidade de fármaco é absorvida antes de chegar ao local de ação, desencadeando efeitos colaterais sistêmicos.

Um grupo de investigadores da Universidade de Shenyang, na China, estudou o comportamento in vivo do 5-ASA conjugado com  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ - ciclodextrinas, no intestino de ratos. O conjugado foi administrado oralmente e foram recolhidas amostras de sangue após 4, 8, 12 e 24 horas. No grupo de controlo foi administrado 5-ASA. Após o ensaio, os animais foram mortos e recolhidos alguns órgãos tais como o estômago, o intestino delgado, o ceco

e o cólon para posterior análise. O grupo controlo revelou um pico de concentração do fármaco no plasma e na urina 4 horas após a administração. (5)

Os vários conjugados permitiram constatar que a taxa de libertação do fármaco do conjugado depende da ciclodextrina utilizada, tendo sido mais rápida com a  $\gamma$ -CD e mais prolongada com a  $\beta$ -CD. (5)

Os resultados obtidos no grupo a que foi administrado o conjugado mostraram quantidades insignificantes de fármaco no sangue e na urina após o período experimental. O fármaco na forma livre foi detetado no ceco e cólon. Concluiu-se então que o conjugado resistia à passagem pelo estômago e intestino delgado, não se verificando absorção sistémica significativa e que o conjugado, nomeadamente o anel da ciclodextrina foi submetido ao processo de abertura no ceco e no cólon, onde o fármaco foi encontrado na forma livre. (23)

- **Conjugados de Ciclodextrinas com AINE's:**

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINE's) são amplamente usados no tratamento de estados inflamatórios crónicos. Além disso, apresentam uma atividade promissora para a prevenção e tratamento de cancro do cólon e colite ulcerativa. (22) Os seus efeitos colaterais resultantes da absorção no TGI superior são a principal contrapartida da sua utilização, sendo por isso desejável a entrega específica no local de ação.

Diversos AINE's tais como o naproxeno, flurbiprofeno, cetoprofeno e diclofenac foram conjugados com ciclodextrinas, com o objetivo de estudar o seu potencial para a vectorização colónica. (5)

O flurbiprofeno conjugado com  $\alpha$  e  $\beta$ -ciclodextrinas foi testado *in vitro* e *in vivo*. Ambos os conjugados foram eficientemente hidrolisados no cólon de ratos, exceto nos casos em que foi feito um tratamento prévio com clindamicina, que danificou a microflora intestinal, responsável pela degradação das ciclodextrinas. (5)

O diclofenac foi conjugado com o grupo hidroxilo da  $\beta$ -ciclodextrina e foi determinada a sua estabilidade e capacidade de libertação do fármaco no cólon. (15) Os resultados do estudo *in vitro* mostraram, mais uma vez, a resistência do conjugado à passagem pelo estômago e intestino delgado e a libertação do fármaco ativo por ação da microflora do cólon.

- **Conjugados de Ciclodextrinas na quimioterapia do cancro colo-retal:**

Apesar dos constantes avanços na medicina terem vindo a aumentar a esperança de vida dos doentes oncológicos, o cancro colo-rectal é ainda uma das principais causas de morte nos EUA e na Europa.

Os atuais métodos de quimioterapia estão longe de ser os ideais, pela administração de doses elevadas e pela quantidade de efeitos colaterais indesejáveis. Pretende-se então desenvolver estratégias de entrega específica dos fármacos no local do tumor, sem prejuízo dos tecidos saudáveis. (5) Como consequência, conjugados de ciclodextrinas com substâncias com propriedades quimiopreventivas ou citostáticas têm sido investigados para otimizar a administração oral da terapêutica.

Para a entrega específica no cólon, no tratamento do cancro colo-rectal, foi proposta a administração de um conjugado com  $\beta$ -ciclodextrina. Entre as diversas propriedades dos ácidos gordos de cadeia curta, foi reportado o seu efeito em tumores em diversos estudos, particularmente no cancro colo-rectal. Os estudos de conjugados de ciclodextrinas com estes ácidos, tais como conjugados  $\beta$ -CD/ácido n-butírico, têm-se focado na entrega específica no cólon. No entanto, ainda não foram relatados estudos *in vivo* utilizando com modelos animais com cancro. (5) Contudo, vários conjugados de ciclodextrinas com substâncias utilizadas no tratamento oncológico têm sido propostas e poderão vir a surgir como uma resposta aos problemas atualmente associados à terapêutica nesta área.

- **Conjugados de Ciclodextrinas com corticosteroides:**

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. (5) Através da conjugação deste fármaco com CD por ligação éster a um dos grupos hidroxilo terminais foi observada uma libertação praticamente completa do fármaco *in vitro*, em condições semelhantes às do cólon. (24)

## **CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS**

A veiculação de fármacos para o cólon apresenta um potencial interesse terapêutico, nomeadamente em patologias específicas deste órgão como a colite ulcerosa ou a doença de Crohn.

Nos diversos estudos analisados, as ciclodextrinas apresentaram-se como potenciais veículos no desenvolvimento de profármacos de entrega específica no cólon, através da formação de conjugados. Os resultados são promissores e revelam capacidade de resistência à passagem pelo trato gastrointestinal superior, com a possibilidade da utilização de doses mais baixas e conseqüentemente menores efeitos secundários associados. No entanto, estes compostos encontram-se ainda numa fase inicial de investigação e será necessário realizar estudos em humanos que confirmem a sua eficácia e segurança.

A julgar pela evolução ao longo dos últimos anos e pelo crescente esforço empreendido no estudo das suas propriedades, é provável que os primeiros conjugados com ciclodextrinas para administração colónica surjam no mercado num futuro próximo.

Para além da veiculação para o cólon e outros alvos terapêuticos mencionados, abrem-se outros caminhos aliciantes com a aplicação de ciclodextrinas em diversos sistemas terapêuticos, tornando-as compostos promissores também na área biotecnológica.

## **BIBLIOGRAFIA:**

- 1- SEELEY, R.R.; STEPHENS, T.; PHILIP, T. – *Anatomia & Fisiologia*. Sexta edição. Lusociência, 2003. ISBN: 972-8930-7. Cap 24: 905-909.
- 2 - BARATA, P. et al – *Veiculação de Fármacos para o Cólon*. Revista da Faculdade de Ciências da Saúde. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa. Vol. 4 (2007), 134-143.
- 3- LEOPOLD, C. S. – *A Practical Approach in the Design of Colon-specific Drug Delivery System*. In: MOLEMA, G. and MEIJER, D.K.F. *Drug Targeting*. Weinheim: Wiley-VCH, 2001. ISBN: 3-527-29989-0. V.12: 157-168.
- 4- JAIN, A. et al – *Perspectives of Biodegradable Natural Polysaccharides for Site-Specific Drug Delivery to the Colon*. J Pharm Pharmaceut Sci. Vol. 10 (2007), 86-128.
- 5- SALMASO, S.; SONVICO, F. – *Targeted Cyclodextrins*. In: *Cyclodextrins in pharmaceuticals, cosmetics, and biomedicine: current and future industrial applications*. Turquia: Erem Bilesay, 2011. ISBN 978-0-470-47422-8, 260-263.
- 6- PHILIP, A. K. , PHILIP, B. – *Colon Targeted Drug Delivery Systems: A Review on Primary and Novel Approaches*. Oman Medical Journal. Vol.25 (2010), 70-78.
- 7- SALTÃO, R., VEIGA, F. – *Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Vol 37, nº1 (2001), 12-52.
- 8- HIRAYAMA, F., UEKAMA, K. – *Cyclodextrin-based controlled drug release system*. Advanced Drug Delivery Reviews. Vol. 36 (1999), 125-141.
- 9- VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. – *As Ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica*. Primeira Edição. Minerva Coimbra, 2006. ISBN: 972-798-174-7.
- 10- VEIGA, F.; FIGUEIRAS, A. – *Libertação Modificada por inclusão do fármaco em ciclodextrinas*. In: SOUTO, E.; LOPES, C. – *Novas Formas Farmacêuticas para administração de fármacos*. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa, 2012. ISBN 978-989-643-078-8, 353-359.
- 11 – VENTURINI, C. et al. – *Propriedades e aplicações recentes das Ciclodextrinas*. Química Nova. Vol. 31, nº2 (2008), 360-368.
- 12- SALÚSTIO, P.J. et al. – *Advanced Technologies for Oral Controlled Release: Cyclodextrins for Oral Controlled Release*. American Association of Pharmaceutical Scientists. Vol. 12, nº 4 (2011), 1276-1288.
- 13– RIZZARELLI, E., et al. European Patent Application – *Cyclodextrins functionalized with etofolac as specific site release agents*. EPI860110 A1 (2007).



- 14- OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; COELHO, P. – *Ciclodextrinas: formação de complexos e a sua aplicação farmacêutica*. Revista da Faculdade de Ciências da Saúde. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa (2009). ISSN 1646 – 0480.6, 70-83.
- 15- VIEIRA, A.; et al. – *Microwave synthesis and in vitro stability of diclofenac- $\beta$ -cyclodextrin conjugate for colon delivery*. Carbohydrate Polymers. Vol. 93 (2013), 512-517.
- 16- MANAKKER, F.; et al. – *Cyclodextrin-Based Polymeric Materials: synthesis, Properties and Pharmaceutical/Biomedical Applications*. American Chemical Society. Vol.10, nº12. (2009), 3158-3172.
- 17- KANAUCHI, O. et al. – *The beneficial effects of microflora, especially obligate anaerobes, and their products on the colonic environment in inflammatory bowel disease*. Current Pharmaceutical Design. Vol.11, nº8 (2005), 1047-1053.
- 18- LIU, X.; et al. – *Osteotropic  $\beta$ -cyclodextrin for local bone regeneration*. Biomaterials. Vol. 29 (2008), 1686-1692.
- 19- ANTONY, A. C. – *The biological chemistry of folate receptors*. Blood. Vol. 79, nº11 (1999), 2807-2820.
- 20- ZHANG, H., et al. – *Folate-conjugated  $\beta$ -cyclodextrin from click chemistry strategy and for tumor-targeted drug delivery*. Journal of Biomedical Materials Research. Vol. 100, nº19 (2012), 2441-2449.
- 21- BELLOCQ, N. C., et al. – *Transferrin-containing, cyclodextrin polymer-based particles for tumor-targeted gene delivery*. Bioconjugate Chemistry. Vol. 14, nº6 (2003), 1122-1132.
- 22- ELKAMELA, A. H. et al. – *Oral colon targeted delivery systems for treatment of inflammatory bowel diseases: Synthesis, in vitro and in vivo assessment*. International Journal of Pharmaceutics. Vol.358 (2008), 248-255.
- 23-ZOU, M., et al – *Colon-specific drug delivery systems based on cyclodextrin prodrugs: In vivo evaluation of 5-aminosalicylic acid from its cyclodextrin conjugates*. World Journal of Gastroenterology. Vol.11, nº47 (2005), 7457-7460.
- 24- Yano, H., et al. – *Hydrolysis behavior of prednisolone 21-hemisuccinate/ $\beta$ -cyclodextrin amide conjugate: involvement of intramolecular catalysis of amide group in drug release*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. Vol. 48, nº8 (2000), 1125-1128.