

Inês Sofia Ramos Roldão

## Estruturas Supramoleculares contendo Ciclodextrinas e Polímeros

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

Julho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Inês Sofia Ramos Roldão

# Estruturas Supramoleculares contendo Ciclodextrinas e Polímeros

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

Julho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Inês Sofia Ramos Roldão, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010140359, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de 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, 10 de Julho de 2015

---

(Inês Sofia Ramos Roldão)

A Tutora

---

(Professora Doutora Ana Rita Ramalho Figueiras)

A aluna

---

(Inês Sofia Ramos Roldão)

## **AGRADECIMENTOS**

É com grande satisfação e sensação de dever cumprido que profiro os meus mais sinceros agradecimentos às pessoas que me acompanharam e apoiaram, não só nesta etapa final do meu curso, mas também às que estiveram a meu lado durante todo o meu percurso académico, nomeadamente:

À minha Irmã, Mãe, Pai, Avô e restante Família, pelo incansável apoio, incentivo, confiança e compreensão ao longo de toda a minha vida académica.

À Professora Doutora Ana Rita Figueiras, pela ajuda, disponibilidade e excelente orientação ao longo da elaboração da presente monografia.

Aos restantes Professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pela dedicação e conhecimentos transmitidos.

Aos meus Colegas e Amigos, pela entre-ajuda e amizade demonstradas ao longo destes cinco anos e pelos bons momentos que vivemos juntos e que nunca esquecerei.

A Coimbra, cidade dos Estudantes, por tudo o que me proporcionou, quer a nível pessoal, quer a nível profissional.

A todos, um grande Obrigada!

## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	2
RESUMO/ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	4
2. CICLODEXTRINAS	5
2.1. Formação e Estrutura	5
2.2. Complexos de Inclusão	6
2.3. Vantagens e Aplicações	7
3. POLÍMEROS	8
3.1. Formação, Estrutura e Aplicações	8
3.2. <i>Pluronics</i> e <i>Tetronics</i>	9
4. ESTRUTURAS SUPRAMOLECULARES	11
4.1. Polirotaxanos e Polipseudorotaxanos	11
4.2. Hidrogéis Injetáveis	15
5. APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS	16
5.1. Entrega de Fármacos	16
5.1.1. $\gamma$ -CD e Insulina Peguilada	17
5.1.2. $\alpha$ -CD, <i>Pluronic</i> F127 e Vancomicina	18
5.2. Entrega Genética	20
5.3. Engenharia de Tecidos	21
5.3.1. $\alpha$ -CD, <i>Tetronic</i> T908 e Células Estaminais Mesenquimais	21
6. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS	23
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

BMPs – Proteínas ósseas morfogénicas

CD – Ciclodextrina

CDs – Ciclodextrinas

CI – Complexos de inclusão

CGTase – Ciclodextrina-glicosil-transferase

CMI – Concentração Mínima Inibitória

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

GAG – Glucosaminoglicanos

MSCs – Células estaminais mesenquimais

pDNA – DNA plasmídico

PEG – Poli(etileno glicol)

PEI – Polietilenimina

PEO – Poli(óxido de etileno)

PF-127 – *Pluronic* F127

PPG – Poli(propileno glicol)

PPO – Poli(óxido de propileno)

PPRX – Polipseudorotaxanos

PRX – Polirotaxanos

## **RESUMO**

Um dos principais objetivos da indústria farmacêutica é o desenvolvimento e a obtenção de sistemas que permitam o controlo da libertação de fármacos. Sistemas supramoleculares têm sido investigados durante anos como novos biomateriais. Polipseudorotaxanos baseados em ciclodextrinas consistem numa família de estruturas supramoleculares em que as cadeias de polímero se encaixam nas cavidades das ciclodextrinas.

Uma vasta gama de polipseudorotaxanos e polirotaxanos baseados em diferentes ciclodextrinas e polímeros apresenta a capacidade de formar hidrogéis que podem ser usados como sistemas injetáveis de entrega de fármacos bastante promissores. Possuem arquiteturas supramoleculares únicas com aplicação no campo da regeneração de tecidos e entrega de fármacos e genes. Além disso, aplicações adicionais como a vetorização para células e tecidos específicos, é possível através da incorporação de unidades reconhecidas tais como ligandos, peptídeos, anticorpos, entre outros. Espera-se que o desenvolvimento destas estruturas supramoleculares ofereça um novo paradigma no campo dos biomateriais com aplicações em diversas doenças do quotidiano.

**Palavras-chave:** ciclodextrinas; polímeros; polirotaxanos; polipseudorotaxanos; estruturas supramoleculares; hidrogel; entrega de fármacos; entrega de genes; engenharia de tecidos.

## **ABSTRACT**

One of the biggest goals of the pharmaceutical industry is the development and obtainment of systems that allow the controlled drug release. Supramolecular systems have been investigated for years as novel biomaterials. Cyclodextrin-based polypseudorotaxanes consist in a family of supramolecular structures with cyclodextrins threading onto the polymer chains.

A wide range of polypseudorotaxanes and polyrotaxanes based on different cyclodextrins and polymers are able to form hydrogels that can be used as promising injectable drug delivery systems. They have unique supramolecular architectures that can be applied in the field of tissue regeneration, drug and gene delivery. Furthermore, additional functions such as targeting to specific cells or tissues, is possible through the incorporation of recognizable units such as ligands, peptides, antibodies, and so on. The development of the supramolecular approach is expected to provide a new paradigm in the field of biomaterials with applications in several common diseases.

**Keywords:** cyclodextrins; polymers; polyrotaxanes; polypseudorotaxanes; supramolecular structures; hydrogel; drug delivery; gene delivery; tissue engineering.

## I. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os sistemas de libertação controlada de fármacos têm sido um dos principais focos da investigação farmacêutica e várias são as razões para que isto aconteça, nomeadamente: possibilidade de voltar a patentear fármacos usando novos sistemas de entrega; necessidade da criação de novos sistemas para entrega de proteínas e peptídeos na terapia génica, em deficiências enzimáticas ou terapias anticancerígenas, sem que ocorra a sua inativação biológica nem o aumento de imunogenicidade; necessidade de aumentar a eficácia terapêutica e a segurança dos fármacos administrados de forma convencional, aumentando o tempo que permanecem no organismo e reduzindo os efeitos adversos.<sup>1</sup>

Desde que ocorreu a primeira síntese de polirotaxanos (PRX) com múltiplos anéis de  $\alpha$ -ciclodextrina ( $\alpha$ -CD) em volta de polímeros e foi descoberto o seu potencial como sistemas de libertação de fármacos, vários estudos sobre estas estruturas supramoleculares e as suas aplicações em biomateriais têm vindo a ser realizados.<sup>2</sup>

Materiais poliméricos, tais como hidrogéis, nanopartículas e micelas são geralmente investigados para aplicações biomédicas e farmacêuticas devido às suas propriedades favoráveis à entrega de fármacos e genes.<sup>2</sup> No que toca às ciclodextrinas (CDs), estas apresentam enormes vantagens comparativamente a outras estruturas macrocíclicas, nomeadamente a sua disponibilidade em grande quantidade, o seu elevado grau de pureza, a sua solubilidade em água e a sua biocompatibilidade e ainda pela capacidade de formarem complexos de inclusão (CI) com uma grande variedade de moléculas em meio aquoso.<sup>3</sup>

Desta forma, os agregados supramoleculares auto-organizados têm atraído muita atenção ao longo das últimas décadas, especialmente no que diz respeito às suas aplicações terapêuticas, tais como sistemas de libertação de fármacos, terapia génica ou regeneração de tecidos. Processos de degradação rápida, propriedades de resposta a estímulos como pH ou temperatura ou a capacidade de gelificação *in situ* por processos físicos de *cross-linking* entre moléculas ou subunidades diferentes constituem algumas das suas características que parecem ser bastante promissoras na obtenção de hidrogéis.<sup>4</sup>

Um elevado número de classes terapêuticas pode tirar partido deste controlo da libertação de fármacos, nomeadamente: agentes quimioterápicos, antibióticos, anti-inflamatórios, hormonas, anestésicos e vacinas.<sup>5</sup> O desafio passa pela criação de hidrogéis constituídos por CDs e polímeros, que permitem a administração de uma concentração

eficaz de fármaco numa dose inferior no local e tempo certos, com a consequente redução do aparecimento de reações adversas sistémicas e custos acrescidos e o aumento da adesão à terapêutica por parte dos doentes.<sup>6</sup>

A presente monografia tem como principal objetivo permitir um conhecimento aprofundado das estruturas supramoleculares constituídas por CDs e polímeros, começando por fazer uma breve alusão a estes componentes em separado e seguidamente demonstrar quais são os benefícios que se podem obter da junção de ambos. Por fim, encontram-se referidos alguns dos estudos realizados nesta área que ainda está numa fase inicial de desenvolvimento, fazendo referência a algumas doenças do quotidiano de milhares de pessoas em que estes sistemas de libertação de fármacos já provaram ser muito vantajosos, nomeadamente diabetes *Mellitus*, infeções e doenças osteodegenerativas.

## 2. CICLODEXTRINAS

### 2.1. Formação e Estrutura

As CDs são um grupo de oligossacarídeos compostos por seis, sete ou oito unidades de glucopirranose unidas por ligações  $\alpha$ -D-1,4-glicosídicas, originando a  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CDs, respetivamente (Tabela I; Fig. 1).<sup>7</sup> São obtidas por degradação enzimática do amido, através da ação da enzima ciclodextrina-glicosil-transferase (CGTase), que é produzida por diferentes microrganismos.<sup>8</sup> Devido a fatores estéricos e a tensões no anel, não existem CDs com menos de seis unidades de glucose e CDs com nove ou mais unidades de glucose têm conformação helicoidal e são rapidamente reduzidas a formas mais pequenas.<sup>9</sup>

Tabela I – Propriedades físico-químicas das  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CDs. Adaptado de <sup>8</sup>

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Unidades de glucose	6	7	8
Massa molecular (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidade aquosa (g/100 a 25°C)	14,5	1,85	23,2
Diâmetro da cavidade interna (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Altura da estrutura tronco-cónica (Å)	7,9 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,1
Volume aproximado da cavidade (Å <sup>3</sup> )	174	262	427

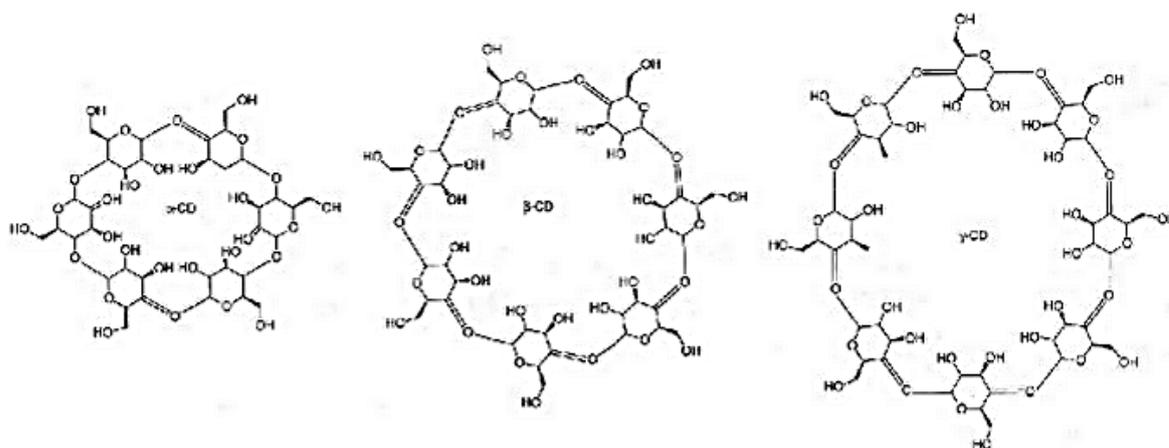


Fig. 1 – Estrutura química da  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CDs, respectivamente. Adaptado de <sup>9</sup>

As CDs são bastante estáveis em meio alcalino, mas sofrem hidrólise em meio fortemente ácido.<sup>8</sup> Alguns aspetos merecem especial atenção, nomeadamente o facto da  $\alpha$ -CD em elevadas concentrações induzir hemólise, pelo que parâmetros como hemorragia, lise ou coagulação devem ser sempre avaliados; e também o facto da  $\beta$ -CD causar problemas renais quando administrada por via intravenosa por se acumular no rim devido à sua baixa solubilidade aquosa.<sup>8, 10</sup>

O carácter anfílico das CDs deve-se ao facto da cavidade central ser hidrofóbica, enquanto que a parte externa é hidrofílica devido à presença de grupos hidroxilo. Os hidroxilos primários e secundários conferem propriedades interessantes às CDs (por exemplo, solubilidade, eficiente complexação, libertação controlada de fármacos, agregação, etc...) por serem locais susceptíveis a modificação química, podendo originar derivados hidrófilos (metilados, hidroxialquilados, ramificados), hidrófobos (etilados, acilados) e ionizáveis.<sup>8, 11</sup> Particularmente, a  $\beta$ -CD apresenta baixa solubilidade aquosa devido às pontes de hidrogénio intramoleculares que se estabelecem entre os seus hidroxilos secundários, originando uma estrutura muito rígida. Esta limitação é contornada pelo uso de derivados através da modificação química dos seus grupos hidroxilo, o que também melhora a sua toxicidade, principalmente quando administrada por via parenteral.<sup>8</sup>

## 2.2. Complexos de Inclusão

As CDs são conhecidas como moléculas hospedeiras graças à sua estrutura peculiar que permite a inclusão de uma enorme variedade de moléculas orgânicas na sua cavidade hidrofóbica.<sup>8</sup> Em meio aquoso, as moléculas de água que estão alojadas na cavidade das CDs encontram-se num ambiente energeticamente desfavorável, dada a natureza da interação

polar-apolar. Posto isto, as moléculas de água são facilmente deslocadas do interior das CDs e substituídas por moléculas apolares, levando à formação de CI (Fig. 2).<sup>8,9</sup>

Os principais requisitos para a formação dos CI são a geometria (tamanho e forma) e a polaridade compatíveis entre a molécula hóspede e hospedeira, pois é necessário um ajuste total ou parcial entre os dois compostos.<sup>8</sup>

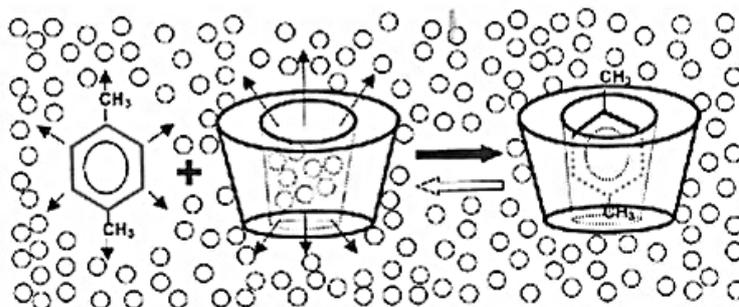


Fig. 2 – Representação da formação de CI em meio aquoso, em que a molécula hospedeira é o p-xileno e as moléculas de água estão representadas por círculos. Adaptado de <sup>8</sup>

### 2.3. Vantagens e Aplicações

No último século assistiu-se a um enorme aumento na utilização das CDs, pois são produtos semi-naturais obtidos a partir de fontes naturais renováveis; são produzidas milhares de toneladas por ano a baixo custo, através de processos não agressivos para o ambiente; causam poucos ou nenhuns efeitos secundários no organismo humano e podem ser consumidas pelo Homem em medicamentos, alimentos ou cosméticos.<sup>8</sup>

Devido à sua estrutura macrocíclica, as CDs têm sido extensamente utilizadas em sistemas de entrega de fármacos, devido à sua capacidade de funcionarem como moléculas hospedeiras, quer seja de proteínas, iões ou oligonucleótidos.<sup>7, 12, 13</sup>

A formação dos CI com os fármacos, devido à forma tronco-cônica das CDs, permite melhorar a solubilidade, estabilidade, biodisponibilidade (através da modificação da permeabilidade das membranas biológicas) e taxa de libertação dos mesmos.<sup>12, 13</sup>

As CDs tornam-se extremamente atrativas devido à sua baixa imunogenicidade e baixa toxicidade e ainda pelo facto de serem usadas como veículos para entrega de fármacos a nível oral, nasal, ocular, retal, dérmico, entre outros. Atualmente, no mercado farmacêutico existem mais de 40 produtos baseados na formação de CI com CDs e a tendência é que este número venha a aumentar.<sup>11, 13</sup>

Algumas das aplicações descritas das CDs são as seguintes: diminuir a irritação ocular e gastrointestinal, disfarçar cheiros e sabores indesejáveis, evitar interações entre diferentes fármacos e excipientes, diminuir a volatilidade de compostos muito voláteis, aumentar a estabilidade e solubilidade de fármacos, aumentar a absorção de fármacos, controlar perfis de libertação de fármacos, diminuir a toxicidade local e sistémica, aumentar a permeabilidade de fármacos através de barreiras biológicas.<sup>12, 13</sup>

Como já foi referido, na indústria farmacêutica, as CDs são principalmente utilizadas para solubilizar fármacos hidrofóbicos, estabilizar moléculas lábeis e possibilitar o controlo da libertação de fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos. Esta última propriedade é também partilhada por sistemas poliméricos e a associação de ambos tem sido explorada por vários investigadores que têm como objetivo perceber quais as vantagens que se podem obter do efeito sinérgico das CDs aliadas aos polímeros.<sup>11</sup>

A maioria dos estudos incide na utilização da  $\beta$ -CD em estruturas supramoleculares pelo facto desta estabelecer interações com um elevado número de fármacos. Porém, publicações mais recentes focam-se em estruturas formadas por  $\gamma$ -CD e  $\alpha$ -CD, uma vez que a  $\gamma$ -CD apresenta uma cavidade com um tamanho mais apropriado para alojar moléculas de maiores dimensões, e a  $\alpha$ -CD possui maior solubilidade, permitindo a obtenção de géis injetáveis.<sup>12</sup>

### **3. POLÍMEROS**

#### **3.1. Formação, Estrutura e Aplicações**

O desenvolvimento de sistemas de libertação controlada está intimamente relacionado com o agente apropriado capaz de controlar essa mesma libertação, sustentar a ação terapêutica do fármaco ao longo do tempo e libertá-lo num determinado tecido ou órgão alvo. Preenchendo estes requisitos, os polímeros são agentes versáteis para exercer tal função.<sup>14</sup> A grande vantagem do uso destas macromoléculas consiste na manutenção da janela terapêutica durante um período de tempo superior, sem causar efeitos laterais, através da libertação prolongada dos fármacos.

Polímeros são macromoléculas constituídas por unidades repetidas de pequenas moléculas chamadas monómeros. O processo que lhes dá origem é denominado de

polimerização e podem organizar-se de forma linear, ramificada ou entre-cruzada (*cross-linking*). O peso molecular do polímero resulta do produto do seu grau de polimerização e peso molecular da unidade que se repete.<sup>1</sup>

Entre os vários mecanismos existentes para o controlo da libertação dos fármacos, a inibição da difusão do fármaco constitui aquele que é aplicado no caso dos hidrogéis formados por polímeros. As cadeias poliméricas usadas no *cross-linking* dos hidrogéis formam uma barreira à difusão e esta diminui, à medida que o hidrogel intumescer, criando espaços livres (“poros”) para a libertação do fármaco (Fig. 3).<sup>5</sup>

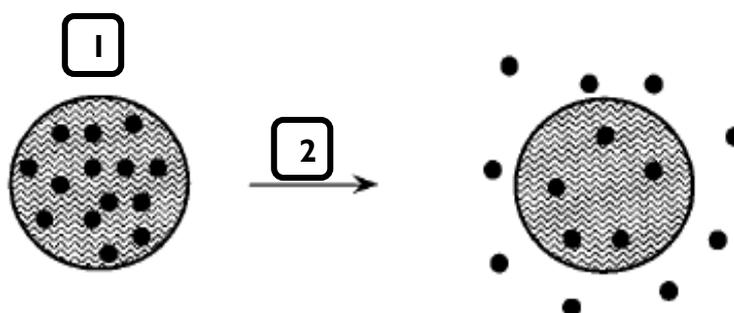


Fig. 3 – Mecanismo da libertação dos fármacos nos hidrogéis: difusão controlada. Inicialmente as moléculas de fármaco não se conseguem libertar da matriz polimérica (1). Com o decorrer do tempo, formam-se “poros” na matriz, pelo que as moléculas se vão difundir através deles (2). Adaptado de <sup>1</sup>

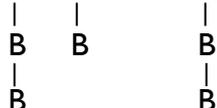
Depois de ocorrer a libertação do fármaco, o desejável é que o polímero seja excretado do organismo por processos naturais, podendo ser eliminado pelo rim ou biodegradado em moléculas mais pequenas que são posteriormente excretadas. Sistemas biodegradáveis são preferidos (usando polímeros como polihidroxibutirato ou policaprolactona), pois não é necessário a sua recuperação ou manipulação cirúrgica depois da sua introdução no organismo, caso que acontece com os polímeros não-biodegradáveis. A biodegradação ocorre principalmente graças a hidrólises e a clivagens enzimáticas que levam à excisão das cadeias poliméricas. Para alguns polímeros, a clivagem das cadeias laterais resulta num produto hidrossolúvel que será posteriormente excretado.<sup>2, 5</sup>

### 3.2. Pluronic e Tetronics

Do ponto de vista químico, é necessário entender que diferentes mecanismos para controlo da libertação de fármacos exigem naturalmente polímeros com diferentes

características. No que toca à formulação de estruturas supramoleculares os mais utilizados são os copolímeros *Pluronic* e *Tetronic*.

A designação de copolímero diz respeito a uma cadeia de polímero que contém dois ou mais monómeros diferentes. Dependendo do arranjo dos monómeros (A e B) no copolímero, assim podemos obter os seguintes tipos: -A-B-B-A-A-B-A-A-A-B- (copolímero aleatório); -A-B-A-B-A-B-A-B- (copolímero alternado); -A-A-A-B-B-B- (copolímero em bloco); -A-A-A-A-A-A-A- (copolímero ramificado).<sup>1</sup>



Os poloxameros, sintetizados sob o nome de *Pluronic* (Fig. 4), são copolímeros anfifílicos em tribloco, constituídos por blocos anfifílicos de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (PEO-PPO-PEO).<sup>4</sup> São sensíveis à temperatura, sendo que na natureza existem no estado líquido a baixas temperaturas e na forma de um gel semi-sólido a temperaturas mais elevadas. Este comportamento de transição reversível *in situ* torna-os favoráveis à libertação de vários agentes bioativos.<sup>15, 16</sup>

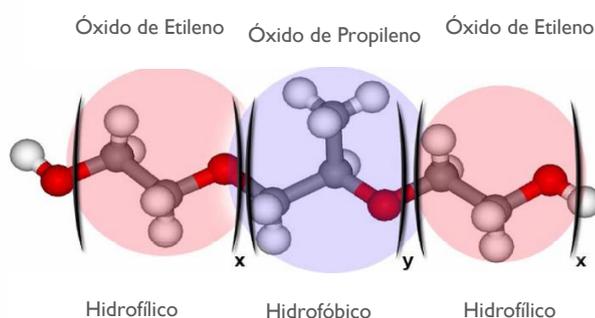


Fig. 4 – Representação molecular dos *Pluronic*, em que x e y representam o número de vezes que as unidades de PEO e PPO se repetem, respectivamente. Adaptado de <sup>17</sup>

O segmento hidrofílico de PEO contribui em 70% para a formação do copolímero, tem a capacidade de impedir a adsorção e agregação de proteínas que sejam incorporadas (evita processos de endocitose, fagocitose, *clearance*, entre outros) e é o responsável pela solubilidade aquosa, por estabelecer ligações de hidrogénio com a água. Por outro lado, o segmento hidrofóbico de PPO cria as condições ideais para a incorporação de fármacos lipofílicos através do estabelecimento de forças de *van der Waals* e interações hidrofóbicas.<sup>5, 6, 16</sup>

Particularmente, o *Pluronic* F127 (PF-127) tem sido largamente investigado para aplicação na área biomédica, pois soluções aquosas cuja concentração em PF-127 se situa

entre os 20% e 30% são líquidas a baixas temperaturas (4-5°C) e tornam-se semi-sólidas à temperatura corporal.<sup>6</sup> Contudo, a sua rápida dissolução nos fluidos fisiológicos, o curto tempo de residência e a rápida *clearance* são características que lhe são desfavoráveis, pelo que a sua associação a outros compostos (por exemplo, CDs) é vantajosa para contornar estas desvantagens.<sup>16</sup>

As poloxaminas ou *Tetronics* (Fig. 5) são copolímeros com a forma de X compostos por quatro diblocos de PEO-PPO ligados centralmente por um grupo etilenodiamina. Este grupo central confere propriedades interessantes, especialmente correlacionadas com a sua sensibilidade a variações de pH, ou seja, enquanto transportadores de fármacos, a libertação dos mesmos pode ser feita em função do pH.<sup>15</sup>

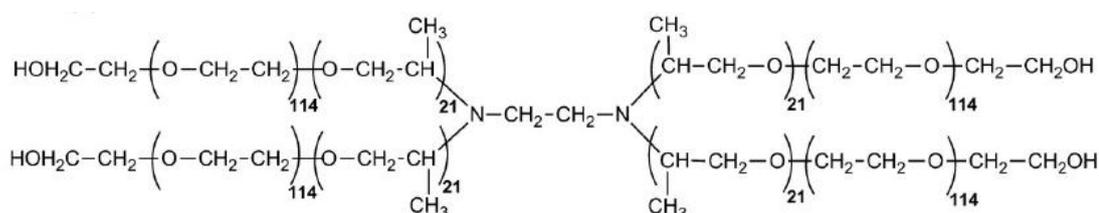


Fig. 5 – Estrutura do *Tetronic* 908. Adaptado de <sup>10</sup>

Devido ao seu carácter anfifílico, estes copolímeros apresentam propriedades tensoativas, incluindo a capacidade de estabelecer interações com superfícies hidrofóbicas e membranas biológicas e em solução aquosa, quando atingem concentrações superiores à concentração micelar crítica (CMC) organizam-se originando micelas.<sup>17</sup> Quer sejam constituídos por polímeros naturais, sintéticos ou semi-sintéticos, *Pluronics* e *Tetronics* têm apresentado grande aplicabilidade como veículos de fármacos, aditivos alimentares, produtos para agricultura e sistemas injetáveis para engenharia de tecidos.<sup>6</sup>

## 4. ESTRUTURAS SUPRAMOLECULARES

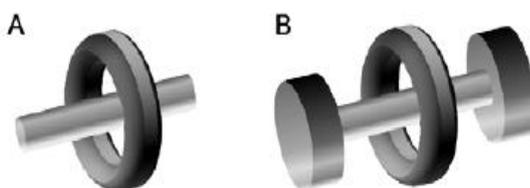
### 4.1. Polirotaxanos e Polipseudorotaxanos

Estas estruturas supramoleculares foram inicialmente descritas por *Harada et al.* na década de 90, fazendo referência ao facto da  $\alpha$ -CD apresentar a capacidade de envolver as cadeias poliméricas de poli(etileno glicol) (PEG), estabelecendo com estas CI.<sup>2,7</sup>

Características importantes destes sistemas resultam do estabelecimento de interações não covalentes entre os componentes, os quais têm locais de reconhecimento

complementares, pelo que o encaixe do polímero na estrutura macrocíclica da CD é fundamental, inclusive para a obtenção de elevados rendimentos.<sup>3</sup>

O resultado desta complexação origina estruturas supramoleculares designadas por PPRX (Fig. 6A), uma vez que as CDs podem ser separadas das cadeias do polímero quando dissolvidos em água, já que a sua união é feita por ligações não covalentes. Neste caso, a ausência de moléculas bloqueadoras, permite que as CDs possam movimentar-se ao longo do “esqueleto” dos polímeros ou das suas cadeias laterais. Por outro lado, quando as cadeias de polímeros estão covalentemente rodeadas por moléculas bloqueadoras, as CDs não se conseguem libertar do complexo, o que origina os PRX (Fig. 6B). Estes novos sistemas de libertação de fármacos têm sido desenvolvidos com conjugados de CD-fármaco e grupos-alvo, que podem ser libertados após a biodegradação das extremidades volumosas dos PRX.<sup>2, 7, 12, 15</sup>



Fig, 6 – Representação esquemática de um pseudorotaxano (A) e de um rotaxano (B). Adaptado de <sup>3</sup>

Vários requisitos devem ser cumpridos para que ocorra a síntese de PRX com base em CDs: (1) O polímero tem que formar um CI estável com a CD; (2) O polímero deve ser suficientemente longo para permitir a inserção dos grupos bloqueadores nas extremidades; (3) O CI tem que ser solúvel; (4) O solvente não deve provocar a sua dissociação; uma vez que a inclusão é impulsionada principalmente por interações hidrofóbicas, apenas a água e, até certo ponto, outros solventes altamente polares, tais como o dimetilsulfóxido e a dimetilformamida, podem ser utilizados; (5) Tanto os grupos bloqueadores como o rotaxano devem ser solúveis no solvente; (6) Os grupos bloqueadores devem ser suficientemente grandes para impedir o desencaixe. Ainda deve ser tido em conta que grupos bloqueadores hidrofóbicos podem causar problemas de solubilidade e temperaturas de reação elevadas podem conduzir à dissociação dos CI, ambos constituem aspetos desfavoráveis à formação dos rotaxanos.<sup>3</sup>

PPRX e PRX consistem, então, em CDs ligadas a (co)polímeros como PEO, PPO, entre outros.<sup>12</sup> Contudo, há que ter em conta que os complexos formados estão dependentes do tamanho, pois devido à sua cavidade mais pequena, o  $\alpha$ -CD apenas forma CI com polímeros de PEG, enquanto que a cavidade mais larga da  $\beta$ -CD lhe permite a

complexação com PPO.<sup>7, 15</sup> Já no que se refere à  $\gamma$ -CD, também formam CI com PPO e em cada cavidade é possível alojar duas cadeias de PEO.<sup>12</sup>

No que toca à formação de CI entre a  $\alpha$ -CD e copolímeros em tribloco PPO-PEO-PPO, cada bloco de PEO está rodeado por um largo bloco de PPO. Estes sistemas são denominados de poloxameros reversos (*Pluronic* R) e também eles são copolímeros lineares, mas a configuração dos blocos encontra-se alterada: os grupos exteriores são blocos hidrofóbicos de PPO, com um bloco central hidrofílico constituído por unidades de óxido de etileno. Embora a cadeia PPO seja muito grande para penetrar na cavidade da  $\alpha$ -CD, verificou-se que esta tem a capacidade de contornar os volumosos blocos de PPO, formando estáveis e seletivos CI com o PEO central. Apesar deste facto, a complexação é um processo muito rápido e, em muitos casos, pode ser observada em poucos minutos.<sup>2, 4</sup>

Além disso, também é possível sintetizar estruturas supramoleculares com o copolímero PEO-PPO-PEO utilizando os anéis das  $\alpha$ - e  $\gamma$ -CDs, em que a  $\gamma$ -CD envolve o bloco central de PPO e os anéis das  $\alpha$ -CDs rodeiam os blocos de PEO, funcionando como grupos bloqueadores e impedindo o desencaixe do anel da  $\gamma$ -CD. Desta forma, vários polímeros com comprimentos de bloco diferentes podem ser combinados com CDs para produzir diferentes tipos de sistemas.<sup>2</sup>

Utilizando o *Pluronic* como exemplo, verificou-se que no caso da formação do PPRX com a  $\alpha$ -CD, além das associações de moléculas PEO complexadas entre os blocos de PRX, há também uma interação hidrofóbica entre os blocos de PPO (Fig. 7a). Por outro lado, no caso de misturas de *Pluronic*/ $\beta$ -CD, não há interações hidrofóbicas, pois os blocos de PPO estão complexados com a  $\beta$ -CD e as estruturas de PRX são responsáveis pelo processo de agregação (Fig. 7b) que pode conduzir à formação de um precipitado branco com uma determinada estrutura cristalina, embora inicialmente tenha um aspeto coloidal. De notar que estes complexos têm de ser preparados usando grandes quantidades de água devido à baixa solubilidade da  $\beta$ -CD comparativamente com a  $\alpha$ -CD. Por outro lado, a elevada solubilidade em água da  $\alpha$ -CD permite preparar misturas com quantidades mais elevadas tanto de polímero como de CD.<sup>4</sup>

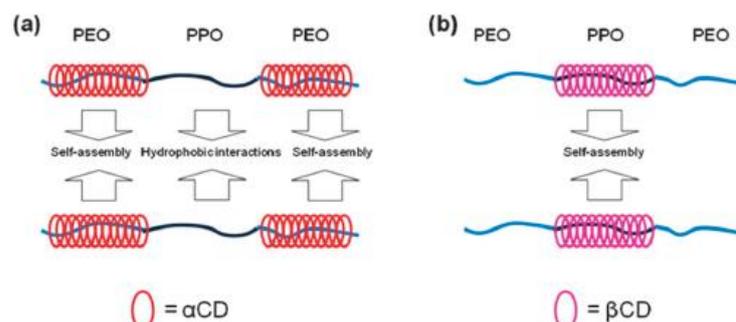


Fig. 7 – Estrutura de um PPRX constituído por Pluronic e  $\alpha$ -CD (a) e  $\beta$ -CD (b). De notar a inexistência de interações hidrofóbicas em (b) devido à complexação dos blocos de PPO com a  $\beta$ -CD. Adaptado de <sup>12</sup>

O facto das CDs envolverem as cadeias poliméricas hidrofílicas leva à desidratação das mesmas, formando-se nanocilindros como um canal cristalino. A ligação que se estabelece entre as CDs ao longo das cadeias de polímeros deve-se principalmente a interações hidrofóbicas e de *van der Waals*, bem como a ligações de hidrogénio *head-to-head* e *tail-to-tail* entre as unidades de CDs vizinhas. É esta associação das CDs de PPRX adjacentes que origina uma rede 3D (Fig. 8) que depende principalmente do polímero e da sua concentração, da temperatura e do conteúdo de iões no meio.<sup>12</sup> O rendimento dos CI formados aumenta com o aumento do peso molecular do polímero, principalmente se o grau de polimerização for maior do que 10.<sup>3</sup>

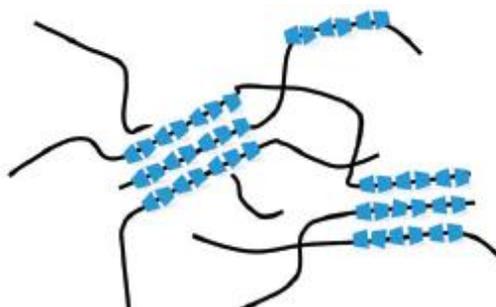


Fig. 8 – Representação de uma estrutura supramolecular constituída pelos CI formados entre CDs e polímeros. Adaptado de <sup>12</sup>

Devido à sua baixa citotoxicidade, tamanho controlável e uma arquitetura única, os PRX e os PPRX baseados em CDs têm sido alvo de investigação como novos biomateriais.<sup>2</sup> Uma grande variedade de estruturas supramoleculares podem ser obtidas através da modificação da relação de resíduos polares/apolares do polímero, da composição química do mesmo, do seu peso molecular ou estrutura polimérica (linear ou ramificada). No que toca às CDs, o papel da sua estrutura reflete-se na escolha do derivado apropriado. Os diferentes substituintes funcionais que podem ser incorporados nos hidroxilos das CDs podem ser envolvidos na produção destes sistemas ou na montagem molecular com diferentes moléculas orgânicas, tais como polímeros, proteínas ou material genético.<sup>3</sup>

Adicionalmente, estes sistemas supramoleculares baseados em CDs podem funcionar como pró-fármacos, pois inúmeros agentes terapêuticos podem ser conjugados com os polímeros. Além disso, podem ser utilizados na libertação direcionada para células ou tecidos específicos através da inclusão de ligandos, tais como hidratos de carbono, peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos ou anticorpos e seus derivados (Fig. 9). A flexibilidade das CDs devido à sua mobilidade em torno da cadeia polimérica permite aumentar as interações entre o ligando e o recetor. Até à atualidade, já se tornou possível a preparação de formulações sensíveis a variações de temperatura, pH, reações químicas ou redox para entrega de fármacos.<sup>12, 13, 18</sup>

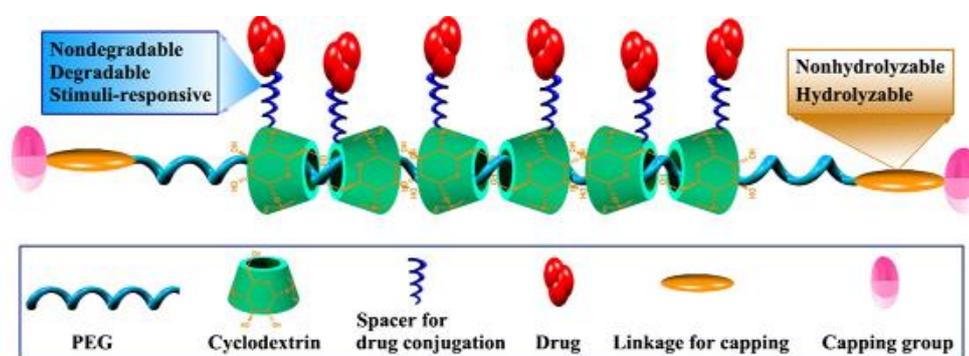


Fig. 9 – Ilustração de uma possível estrutura supramolecular para a incorporação de fármacos. Adaptado de <sup>13</sup>

## 4.2. Hidrogéis Injetáveis

Com base nos conceitos anteriormente mencionados, aliou-se as vantagens dos polímeros (elevado peso molecular e capacidade de vetorização) à capacidade das CDs em formar CI. Das interações intramoleculares entre estes componentes resultou a formação de estruturas supramoleculares que conduzem à modificação das propriedades reológicas dos sistemas formados.<sup>12</sup> Quando soluções de CD e copolímero são misturadas, o resultado é um sistema que se vai tornando progressivamente numa dispersão turva ou em géis, sendo que os PPRX que se formam têm tendência para se auto-agregar, minimizando o contacto com o meio aquoso e a separação de fases.<sup>10, 19</sup> As grandes vantagens que decorrem da sua produção é que se formam em solução aquosa, à temperatura ambiente e sem recurso a agentes químicos.<sup>13</sup>

Estes hidrogéis resultam de uma rede formada pelo *cross-linking* que se estabelece, sendo que a associação dos nanocilindros em microcristais atua como *tie-junctions* na formação dos géis (Fig. 10). Estes apresentam a capacidade de absorver grandes quantidades de água, uma boa biocompatibilidade e uma cinética de libertação controlada.<sup>12, 15, 19</sup> A rede

que se estabelece contém as propriedades coesivas dos sólidos e as características difusivas dos líquidos.<sup>6</sup>

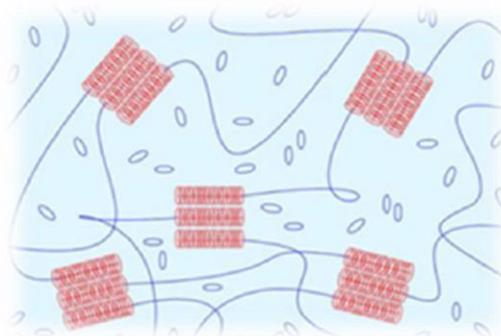


Fig. 10 – Representação da estrutura dos hidrogéis supramoleculares formados pelo encaixe dos polímeros de PEO na cavidade da  $\alpha$ -CD. Adaptado de <sup>2</sup>

Como as interações inter-PPRX são reversíveis, os géis formados apresentam um comportamento tixotrópico, pelo que quando sujeitos a uma força de cisalhamento, a sua viscosidade diminui. Assim sendo, basta uma pequena pressão externa (como é o caso da exercida pelo êmbolo de uma seringa) para que a formulação se torne injetável e depois recupere a sua viscosidade no local de injeção, formando um depósito.<sup>12</sup> As características de bioadesividade dos hidrogéis permitem que estes permaneçam no local onde são injetados durante longos períodos de tempo.<sup>5</sup>

Todas estas propriedades peculiares tornam a sua aplicação versátil em diversas áreas do campo farmacêutico e biomédico, nomeadamente na entrega de fármacos, entrega genética e engenharia de tecidos. A sua produção e utilização tem sido alvo de investigação como possíveis materiais para encapsulação e formação de injetáveis de fármacos, proteínas, vacinas e DNA plasmídico (pDNA).<sup>15, 19</sup>

## 5. APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

### 5.1. Entrega de Fármacos

A formação de PPRX na presença de fármacos implica o estabelecimento de interações muito complexas entre todos os componentes, tendo consequências importantes sobre a capacidade de carga do fármaco e a sua entrega, devido principalmente ao deslocamento competitivo das moléculas de fármaco das cavidades das CDs provocado pela formação dos PPRX. Pode ocorrer uma competição entre o fármaco e o polímero para a

cavidade da CD dependendo das interações que se estabelecem entre fármaco-CD, fármaco-polímero, polímero-CD e fármaco-PPRX.<sup>3</sup>

Dentro desta área, vários têm sido os estudos realizados com o intuito de tirar partido das propriedades de libertação controlada de fármacos que os hidrogéis constituídos por PRX e PPRX oferecem. Deste modo, serão apresentados alguns dos estudos já realizados e que permitiram obter resultados interessantes neste campo de investigação.

### 5.1.1. $\gamma$ -CD e Insulina Peguilada

Muitos são os benefícios que decorrem da peguilação de moléculas para aumentar a sua eficácia terapêutica, entre eles destaca-se o aumento do tempo de semi-vida, o melhoramento da resistência à proteólise, a reduzida imunogenicidade e o aumento da biodisponibilidade na circulação sistémica, tudo isto como consequência do aumento do peso molecular.<sup>7, 20</sup>

Num estudo realizado observou-se que a insulina peguilada formava PPRX com a  $\alpha$ - e a  $\gamma$ -CDs, através da inserção de uma e duas unidades de PEG, respetivamente, nas cavidades das mesmas. As soluções contendo  $\alpha$ - e  $\gamma$ -CDs originaram precipitados brancos, o que correspondeu à formação dos PPRX, já na solução contendo  $\beta$ -CD não foi observada a formação de precipitados.<sup>7, 20</sup>

Os perfis de libertação da insulina peguilada dos PPRX contendo  $\alpha$ - e  $\gamma$ -CDs foram avaliados, tendo-se verificado (Fig. 11) a seguinte ordem de libertação: insulina peguilada > PPRX com  $\gamma$ -CD > PPRX com  $\alpha$ -CD. Assim sendo, os autores concluíram que os PPRX podem funcionar como sistemas de libertação sustentada de insulina, sendo que a taxa de libertação dependerá tanto do volume do meio de dissolução como da concentração de CD no mesmo.<sup>7, 20</sup>

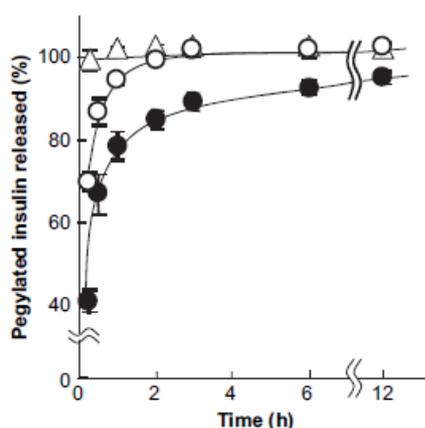


Fig. 11 – Perfil de libertação *in vitro* da insulina peguilada ( $\Delta$ ), dos PPRX com  $\gamma$ -CD (○) e dos PPRX com  $\alpha$ -CD (●), avaliado em tampão fosfato, a pH 7.4 e a 37°C. Adaptado de <sup>7</sup>

A administração subcutânea de insulina é um dos pontos mais críticos da terapêutica da diabetes. Na tentativa de avaliar este parâmetro foi comparada a administração subcutânea de insulina, de insulina peguilada e de insulina libertada pelos PPRX com  $\gamma$ -CD (os PPRX com  $\alpha$ -CD não foram incluídos no estudo, visto que a  $\gamma$ -CD apresenta melhor perfil de segurança, uma atividade hemolítica inferior e uma biodegradabilidade superior quando comparada com a  $\alpha$ -CD). Como seria de esperar, os níveis de insulina diminuíram para o nível basal mais tardiamente quando foram utilizados os PPRX com  $\gamma$ -CD (passado 6h) comparativamente à insulina (2h) e à insulina peguilada (4h). Verificou-se ainda que os níveis de glucose atingiram o mínimo 2h depois da injeção com a insulina e a insulina peguilada, sendo que recuperaram para o nível basal após 6h. Já no que toca aos PPRX com  $\gamma$ -CD, o efeito hipoglicémico foi mais marcado, sendo que apenas voltou ao nível basal 12h após a injeção.<sup>7, 20</sup>

De acordo com estes resultados, PPRX constituídos por  $\gamma$ -CD representam um sistema de entrega sustentada de insulina, levando à diminuição dos níveis de glucose no sangue durante mais tempo (devido à manutenção dos níveis de insulina) e à diminuição do número de injeções de insulina administradas necessárias para manter esses mesmos níveis dentro de valores aceitáveis.<sup>7, 20</sup>

### 5.1.2. $\alpha$ -CD, *Pluronic F127* e Vancomicina

Com o intuito de diminuir o risco de infeção associado a técnicas invasivas, sistemas injetáveis capazes de formar matrizes poliméricas *in situ* (depósitos no local de injeção) representam uma técnica para a libertação controlada de fármacos.<sup>19</sup>

A formação de estruturas supramoleculares surge mais uma vez como uma alternativa, através do estabelecimento de uma rede supramolecular que se traduz na formação de CI entre a  $\alpha$ -CD e os blocos de PEO do *Pluronic F127*, conduzindo a um aumento da viscosidade do sistema e tornando-o promissor para regular a difusão de macromoléculas como é o caso da vancomicina. Este antibiótico é uma escolha no tratamento de infeções como a osteomielite causada por bactérias Gram-positivo. A vancomicina forma CI com a  $\alpha$ -CD, ficando aprisionada no gel, sem interferir na formação do mesmo, sendo adicionada antes da mistura das soluções de PF-127 e  $\alpha$ -CD. Desta forma, géis formados por  $\alpha$ -CD e PF-127 oferecem uma alternativa ao tratamento sistémico para

esta infecção, mantendo os níveis de vancomicina acima da concentração mínima inibitória (CMI) durante tempo suficiente para erradicar a infecção.<sup>19</sup>

Quanto maior for a concentração de  $\alpha$ -CD, maior é a taxa de gelificação, contudo a concentração do copolímero apenas afeta a formação do gel até 5% de  $\alpha$ -CD. As formulações foram facilmente injetadas, apresentando um comportamento tixotrópico. A pressão exercida aquando a injeção foi suficiente para promover o desarranjo de algumas estruturas e as propriedades de auto-agregação dos blocos de PPO permitiram a rápida recuperação da estrutura supramolecular à temperatura corporal, contrariamente ao que sucede em formulações contendo apenas  $\alpha$ -CD e PEG, nas quais se verificou uma perda acentuada da viscosidade durante a injeção, sendo necessárias várias horas para que ocorra a restauração da mesma, o que resulta numa *clearance* precoce do sistema do local de injeção.<sup>19, 21</sup>

Elevadas concentrações de PF-127 não trazem grandes vantagens, nem mesmo ao nível da libertação da vancomicina, pois apenas o aumento da concentração de  $\alpha$ -CD leva a uma diminuição do coeficiente de difusão (Fig. 12). Géis sem  $\alpha$ -CD na sua formulação libertam cerca de 80% de vancomicina em 24h, já os que contêm  $\alpha$ -CD este valor diminui para menos de 45%. Este facto deve-se ao elevado peso molecular da vancomicina e à baixa mobilidade da  $\alpha$ -CD, o que dificulta o movimento do fármaco.<sup>19, 21</sup>

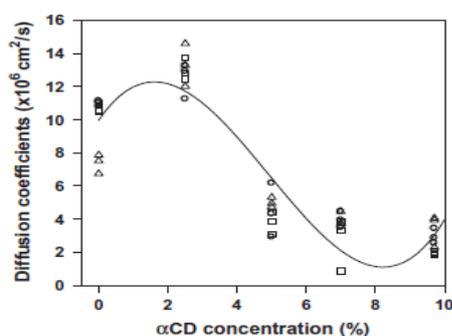


Figura 12 – Relação do coeficiente de difusão da vancomicina em função da concentração de  $\alpha$ -CD: coeficiente de difusão diminui com o aumento da concentração de  $\alpha$ -CD. Adaptado de <sup>19</sup>

Os autores concluíram que os hidrogéis contendo 13% de PF-127 e 5% de  $\alpha$ -CD eram os que apresentavam taxas de gelificação mais elevadas, maior estabilidade, mais fácil injetabilidade, maior comportamento viscoelástico e permitiam uma libertação controlada da vancomicina durante vários dias.<sup>19</sup>

## 5.2. Entrega Genética

Embora a libertação de fármacos seja a área mais desenvolvida, também o papel dos PRX na entrega genética tem vindo a ser explorado ao longo dos tempos. Sabe-se que os PRX podem funcionar como sistemas de entrega não-viral de ácidos nucleicos, pois as CDs permitem a incorporação de resíduos catiónicos. PRX catiónicos consistem em múltiplos grupos de oligoetileniminas ligadas às CDs, têm forte capacidade de ligação ao ácido desoxirribonucleico (DNA), de entrega de genes e apresentam baixa toxicidade.<sup>18, 22</sup>

Os polímeros catiónicos não virais como a polietilenimina (PEI), em comparação com vetores virais, apresentam características superiores, nomeadamente por serem económicos, estáveis e de fácil modificação. Contudo, a sua aplicação era limitada, pois a PEI apresenta elevada citotoxicidade e não é biodegradável. A introdução das CDs conduziu a uma diminuição da citotoxicidade e a um aumento da eficácia da transfecção genética.<sup>18, 22</sup>

Um requisito fundamental a ter em conta é que as moléculas bloqueadoras devem ser clivadas intracelularmente e para isso é necessária a incorporação de grupos citocliváveis nas extremidades dos PRX. Já no interior da célula, uma das maiores preocupações é a fuga aos endossomas que englobam as estruturas e as entregam aos lisossomas para posterior degradação. As membranas endossomais ao serem expostas às CDs, vão sofrer uma quebra na sua constituição, devido à inclusão de lípidos e colesterol nas cavidades das CDs. Ao mesmo tempo, a perda de interações no políplexo enfraquece as associações intermoleculares entre o DNA e as CDs catiónicas, libertando-se, assim, o DNA que fica disponível para transfecção (Fig. 13).<sup>18, 22</sup>

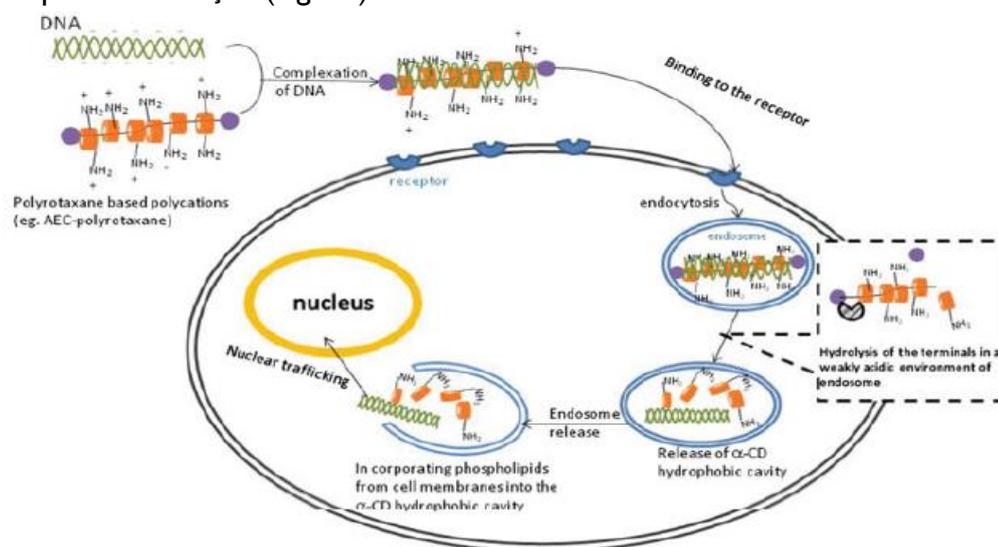


Fig. 13 – Estratégia de entrega intracelular de genes usando PRX catiónicos. Adaptado de <sup>18</sup>

### 5.3. Engenharia de Tecidos

PRX e PPRX têm sido vistos com interesse na área da engenharia de tecidos no que toca ao desenvolvimento de biomateriais biocompatíveis e hidrogéis biodegradáveis, pois conseguem reter grandes volumes de água e possuem um efeito ósseo anabólico. A  $\alpha$ -CD envolvendo cadeias de PEG delimitadas por L-fenilalanina ou benziloxycarbonil (Z)-l-fenilalanina possui grande potencial na engenharia de tecidos, pois as ligações éster que se estabelecem com o PEG vão ser hidrolisadas *in vivo*. A tabela seguinte reúne as aplicações atuais dos hidrogéis na engenharia de tecidos, quer ao nível dos fibroblastos, condrócitos ou osteoblastos, bem como as potenciais aplicações dos mesmos.<sup>2,3</sup>

Tabela 2 – Algumas aplicações dos hidrogéis na engenharia de tecidos. Adaptado de <sup>2</sup>

	<b>Estrutura</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Tipo de célula encapsulada</b>	<b>Resultado</b>
<b>Aplicação Atual</b>	Hidrogel de PRX-PEG	Cultura de fibroblastos	Fibroblastos	Aumento da adesão celular e proliferação
	Hidrogel de PRX-PEG poroso	Cartilagem	Condrócitos	Boa adesão celular nos poros e matriz extracelular cartilaginosa com glucosaminoglicanos (GAG)
	Hidrogel de PRX-PEG poroso com colesterol	Cartilagem	Condrócitos	Aumento da proliferação celular e degradação controlada do gel
	Hidrogel catiónico de PRX-PEG poroso	Cartilagem	Condrócitos	Aumento da ligação entre condrócitos e produção de GAG
	Hidrogel de PRX-PEG poroso contendo partículas de hidroxiapatite	Osso	Osteoblastos	Boa adesão dos osteoblastos
<b>Potencial Aplicação</b>	Hidrogéis de PRX-PEG são candidatos à libertação controlada de moléculas bioativas para a engenharia óssea e de cartilagem			
	PRX são candidatos a transportadores de fármacos/genes para engenharia de tecidos			

#### 5.3.1. $\alpha$ -CD, Tetric T908 e Células Estaminais Mesenquimais

Doenças osteodegenerativas e fraturas acidentais são uma realidade que tem vindo a aumentar devido à prática desportiva e ao envelhecimento da população. Proteínas ósseas morfogénicas (BMPs) estimulam as células estaminais mesenquimais (MSCs) para que se diferenciem em precursores ósseos e são uma opção cada vez mais estudada através do desenvolvimento de métodos minimamente invasivos que envolvam a sua estabilização e a baixa *clearance* do local de aplicação.<sup>10, 12</sup>

Curiosamente, um dos grupos de fármacos mais conhecidos na terapêutica anti-lipídica (estatinas, principalmente a sinvastatina) parece induzir a osteogênese em ratos e linhas celulares humanas, a expressão de BMPs, a atividade da fosfatase alcalina e a proliferação de osteoblastos. Contudo, são necessárias doses mais elevadas do que as usadas no tratamento da hipercolesterolemia e a administração oral é limitada devido à baixa solubilidade da sinvastatina. Para além das inúmeras aplicações já mencionadas, *Tetronics* (e mais recentemente, o *Pluronic F68*) têm a capacidade de induzir a proliferação *in vitro* de MSCs durante a primeira semana e a diferenciação osteoblástica nas duas semanas seguintes. Assim sendo, a regeneração óssea ganha uma nova esperança através da preparação de sistemas facilmente administrados por uma seringa e que formam estruturas viscoelásticas que induzem a osteogênese. Também neste caso, a junção com  $\alpha$ -CD tornou-se vantajosa na medida em que permitiu diminuir a concentração de copolímero e prolongar o tempo de permanência no local da injeção.<sup>10</sup>

Tendo em conta todos estes fatores, a combinação da sinvastatina com o *Tetronic T908* e a  $\alpha$ -CD resultou na formação de uma estrutura supramolecular capaz de promover a diferenciação das MSCs em osteoblastos, em que o copolímero exerce três funções: atividade osteoindutiva, solubilização e estabilização da sinvastatina e suporte físico para a preparação das formulações injetáveis. A forma hidróxica da sinvastatina é a responsável pela sua atividade osteogénica e surge a pH superior ou inferior a 5, pelo que a pH fisiológico se encontra na forma pretendida para exercer o efeito terapêutico desejado. Outro facto constatado foi que quanto maior for a concentração de *Tetronic T908*, mais lenta é a libertação da sinvastatina sem que haja interferência desta no processo de gelificação, uma vez que interage com o copolímero em locais diferentes da  $\alpha$ -CD.<sup>10, 12</sup>

Tendo em conta vários parâmetros como a citocompatibilidade e a taxa de libertação de sinvastatina, sistemas constituídos por 5% de  $\alpha$ -CD e 4-8% de *Tetronic T908* demonstraram ser os mais promissores para as formulações injetáveis, no entanto a concentração de sinvastatina a utilizar ainda gera alguma controvérsia. Alguns estudos indicam que 1  $\mu$ M de sinvastatina garante uma melhor viabilidade celular, enquanto outros sugerem que causa efeitos citotóxicos. Outra das grandes vantagens destas estruturas reside no facto de suportarem a autoclavagem sem alteração das suas propriedades, o que é um aspeto importante no que toca à esterilidade dos injetáveis.<sup>10</sup>

Considerando todos estes fatores, os PPRX constituídos por  $\alpha$ -CD-Tetronic T908-sinvastatina representam uma forte aposta na diferenciação osteoblástica devido à ação sinérgica entre os componentes que constituem estes sistemas supramoleculares.<sup>10</sup>

## 6. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS

Desde há muitos anos que as CDs e os seus derivados são usados como excipientes em formulações farmacêuticas, principalmente com o objetivo de melhorar características indesejáveis de alguns fármacos e, conseqüentemente, torná-los mais biodisponíveis. Contudo, é a sua aplicação em estruturas supramoleculares que recentemente começou a atrair mais atenção: os avanços feitos com base na sua propriedade de auto-agregação tornaram possível a construção de hidrogéis, nanopartículas, micelas, vesículas, nanogéis, nanopoliplexos, entre outros, tirando partido da sua capacidade de formar CI e das interações hospedeiro-hóspede.<sup>13</sup>

As propriedades e funcionalidades das estruturas supramoleculares constituídas por CDs e polímeros “inteligentes” (ou seja, que respondem a determinados estímulos, alterando o seu estado em função da temperatura, pressão, pH, etc...) dependem do tipo de polímero, do derivado de CD e dos substituintes funcionais selecionados para a sua preparação. A produção de hidrogéis supramoleculares utilizando copolímeros tribloco anfífilos biodegradáveis e CDs poderá tornar-se uma excelente estratégia para a entrega de fármacos minimamente invasiva bem como para o controlo da sua libertação, devido às suas propriedades tixotrópicas e reversíveis e pelo facto de constituírem um veículo hidrossolúvel com elevada viscosidade.

Apesar de todas as vantagens que oferecem, é necessária uma contínua investigação sobre a eficácia e segurança da aplicação destes sistemas em seres humanos. Parâmetros como a estabilidade das estruturas supramoleculares, a performance das mesmas relativamente à entrega de fármacos, *clearance*, biocompatibilidade sistémica e toxicidade têm que ser avaliados de forma aprofundada de modo a proceder-se à otimização destes sistemas. Embora seja um conceito que já há alguns anos está a ser desenvolvido, só recentemente surgiram as primeiras aplicações práticas das estruturas supramoleculares.

Estudos indicam que os avanços mais relevantes serão obtidos nos próximos anos, como resultado da conceção personalizada de novos polímeros, derivados de CDs e grupos

funcionais, que permitem produzir estruturas menos tóxicas, mais seguras e mais eficazes e que permitem o seu emprego em terapêuticas individualizadas.<sup>3</sup> Paralelamente, é fundamental aferir quais as quantidades de CD e polímero necessárias para a formação do “hidrogel ideal”, qual a quantidade deste que deve ser injetada no doente, bem como quais as cinéticas de libertação de fármacos, condições de esterilidade e durante quanto tempo estes devem/podem ser libertados.

A passagem para a realidade clínica e a transposição de escala para um nível industrial, atingindo elevada pureza e rendimento constituem um desafio a ser consumado. Porém, muitas vezes a grande barreira para que isto aconteça, centra-se nos elevados custos destes novos sistemas de entrega de fármacos, que só se justificam se demonstrarem uma eficácia muito superior aos tradicionais já existentes, e ainda no facto de a lista de matérias biocompatíveis ser ainda muito limitada.

Apesar de tudo, o futuro destas novas estruturas supramoleculares na entrega de fármacos e na terapia génica parece ser promissor. Para além disso, é já bem visível a sua aplicação em inúmeras doenças, muitas delas crónicas, como é o caso da diabetes *Mellitus*, doenças osteodegenerativas ou ainda em infeções. Com o vasto campo de aplicações destes sistemas e tratando-se de doenças em que é necessária uma administração contínua de fármacos, os hidrogéis oferecem uma alternativa vantajosa ao permitirem uma libertação controlada dos fármacos que veiculam. Assim sendo, o número de tomas necessárias é reduzido e, conseqüentemente, verifica-se um aumento da adesão à terapêutica por parte dos doentes.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ROBINSON, J R & LEE, V H L; **Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications**. Vol. 29, Ed. 2; Marcel Dekker, Inc.; United States of America.
2. LI JJ, ZHAO F, LI J. – **Polyrotaxanes for applications in life science and biotechnology**. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011;90(2):427-43.
3. GARCIA-RIO L, OTERO-ESPINAR FJ, LUZARDO-ALVAREZ A, *et al.* – **Cyclodextrin based rotaxanes, polyrotaxanes and polypseudorotaxanes and their biomedical applications**. *Curr Top Med Chem* 2014;14(4):478-93.
4. LARRANETA E, ISASI JR. – **Self-assembled supramolecular gels of reverse poloxamers and cyclodextrins**. *Langmuir* 2012;28(34):12457-62.
5. UHRICH KE, CANNIZZARO SM, LANGER RS, *et al.* – **Polymeric systems for controlled drug release**. *Chem Rev* 1999;99(11):3181-98.
6. ALMEIDA H, AMARAL MH, LOBAO P, *et al.* – **Pluronic(R) F-127 and Pluronic Lecithin Organogel (PLO): main features and their applications in topical and transdermal administration of drugs**. *J Pharm Pharm Sci* 2012;15(4):592-605.
7. HIGASHI T, HIRAYAMA F, MISUMI S, *et al.* – **Design and evaluation of polypseudorotaxanes of pegylated insulin with cyclodextrins as sustained release system**. *Biomaterials* 2008;29(28):3866-71.
8. VEIGA F, PECORELLI C, RIBEIRO L (2006); **As Ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica**. Ed. I; MinervaCoimbra; Coimbra.
9. DUCHÊNE, D. (2011); **Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes**. In: **Bilensoy, E. (ed.) Cyclodextrins in Pharmaceutics, Cosmetics and Biomedicine: Current and Future Industrial Applications**: 3-19; Wiley; New Jersey.
10. SIMOES SM, VEIGA F, TORRES-LABANDEIRA JJ, *et al.* – **Poloxamine-cyclodextrin-simvastatin supramolecular systems promote osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells**. *Macromol Biosci* 2013;13(6):723-34.
11. OTERO-ESPINAR FJ, BLANCO-MENDEZ J. – **Natural & synthetically-modified cyclodextrins and polymers in drug delivery systems**. *Curr Top Med Chem*. Netherlands, 2014:463-4.

12. SIMOES SM, REY-RICO A, CONCHEIRO A, *et al.* – **Supramolecular cyclodextrin-based drug nanocarriers.** *Chem Commun (Camb)* 2015;51(29):6275-89.
13. ZHANG J, MA PX. – **Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: recent progress and future perspective.** *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65(9):1215-33.
14. LOPES SM, LOBO JM *et al.* - **Formas farmacêuticas de libertação modificada: polímeros hidrofílicos.** *Braz J of Pharma Sci.* 2005; Vol. 41, nº 2
15. ESTEVEZ CA, ISASI JR, LARRANETA E, *et al.* – **Release of beta-galactosidase from poloxamine/alpha-cyclodextrin hydrogels.** *Beilstein J Org Chem* 2014;10:3127-35.
16. AKASH MS, REHMAN K. – **Recent progress in biomedical applications of Pluronic (PF127): Pharmaceutical perspectives.** *J Control Release* 2015;209:120-38.
17. BATRAKOVA EV, KABANOV AV. – **Pluronic block copolymers: evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers.** *J Control Release* 2008;130(2):98-106.
18. LI JJ, ZHAO F, LI J. – **Supramolecular polymers based on cyclodextrins for drug and gene delivery.** *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2011;125:207-49.
19. SIMOES SM, VEIGA F, TORRES-LABANDEIRA JJ, *et al.* – **Syringeable Pluronic-alpha-cyclodextrin supramolecular gels for sustained delivery of vancomycin.** *Eur J Pharm Biopharm* 2012;80(1):103-12.
20. HIGASHI T, HIRAYAMA F, ARIMA H, *et al.* – **Polypseudorotaxanes of pegylated insulin with cyclodextrins: application to sustained release system.** *Bioorg Med Chem Lett* 2007;17(7):1871-4.
21. SIMOES SM, VEIGA F, RIBEIRO AC, *et al.* – **Supramolecular gels of poly-alpha-cyclodextrin and PEO-based copolymers for controlled drug release.** *Eur J Pharm Biopharm* 2014;87(3):579-88.
22. LOETHEN S, KIM JM, *et al.* – **Biomedical Applications of Cyclodextrin Based Polyrotaxanes.** *Polymer Reviews* 2007; 47:383-418.