



Estudo da formação de complexo de inclusão entre β -ciclodextrina e complexos de Au(I) contendo ligantes mercaptanos com ação leishmanicida.

Palavras-Chave: β -ciclodextrina; Au(I); leishmaniose.

Autoras:

Gabrielle Albanex Gomes – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Unicamp

Jennyfer Castro da Silva - Instituto de Química - Unicamp

Prof^(a). Dr^(a). Camilla Abbehausen – Instituto de Química - Unicamp

INTRODUÇÃO:

A leishmaniose tegumentar americana é uma doença tropical negligenciada, que afeta o tecido epitelial causando lesões cutâneas. O parasita do gênero *Leishmania* é transmitido através do vetor flebotômico, ao incubar no corpo humano o parasita na forma promastigota sofre uma diferenciação para a forma amastigota, se replicando em células fagocitárias. A doença atinge cerca de 1 milhão de pessoas ao redor mundo, possuindo maior incidência em regiões tropicais como América do Sul e Ásia. As opções de fármacos disponíveis são escassas atualmente, principalmente para a manifestação cutânea da doença (Boelaert; Sundar, 2014).

Nosso grupo de pesquisas vêm estudando o desenvolvimento de metalofármacos de Au(I) e Cu(I) mais efetivos e com menos efeitos colaterais para tratamento da leishmaniose. O principal foco é o tratamento da leishmaniose cutânea estudando novas formas de administração, como a administração tópica proposta por este projeto. Um dispositivo baseado num híbrido de polissilsesquioxano e β -ciclodextrina foi desenvolvido por nosso grupo para encapsulamento e liberação de fármacos de forma tópica. (Abbehausen *et al*, 2010) Além disso, complexos de Au(I) e Cu(I) desenvolvidos no grupo de pesquisa se mostraram pouco solúveis em água dificultando a administração e a formulação destes ativos. Uma das formas de aumentar a solubilidade em água de compostos hidrofóbicos, se dá pela formação de complexos de inclusão com β -ciclodextrina (β -CD). As ciclodextrinas (CD) são (α -1,4)-oligossacarídeos cíclicos de D-glicanopiranosose que formam uma estrutura de cone, com a cavidade hidrofóbica e uma superfície mais hidrofílica (Figura 1). A cavidade hidrofóbica é capaz de formar uma química de complexos de inclusão (do Inglês *host-guest*) com moléculas mais hidrofóbicas melhorando suas propriedades de solubilidade (Szejtli, 1998). As CD são classificadas conforme o número de grupos glicanopiranosose, em α , β e γ , sendo seis, sete e oito, respectivamente. A variação dos grupos glicanopiranosose altera o tamanho de sua cavidade, e consequentemente define o tamanho da molécula incluída (Bender; Komiyana, 1978).

A inclusão é entropicamente favorecida e diferentes metodologias são reportadas na literatura, tais como mistura física, trituração em solvente (kneading), solução com evaporação de solvente, precipitação por neutralização, moagem, secagem por nebulização (spray drying), liofilização (freeze drying), irradiação de micro-ondas, dissolução em fluido supercrítico. (Sharma; Baldi, 2014). A metodologia selecionada pode influenciar o tipo de complexo de inclusão formado e determinar o encapsulamento.

Neste projeto, propomos realizar a inclusão de complexos de [Au(I)(NHC)L] e [Cu(I)(NHC)L] (Figura 2) onde L pode ser ligantes diversos como haletos, moléculas com grupos tióis ou amínicos, em β -CD por diferentes métodos e caracterizar os complexos de inclusão por estudo de dissolução de fases, DSC, ROESY e difração de raios-X. Se bem sucedida, a atividade antiparasitária será avaliada em comparação com o fármaco sem a formação do complexo de inclusão *in vitro* em promastigotas de *L. amazonensis*.

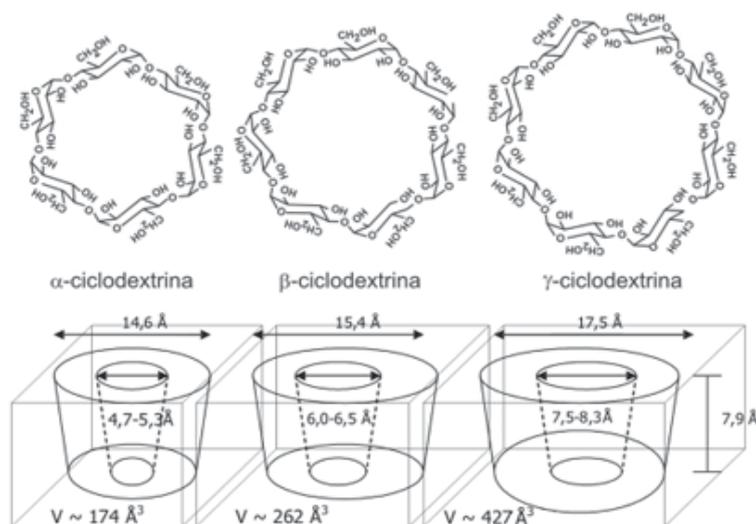


Figura 1. Esquema representando as dimensões aproximadas. Da esquerda para direita: α -CD, β -CD e γ -CB

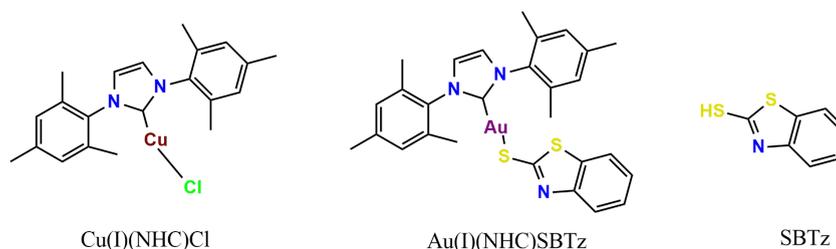


Figura 2. Complexos metálicos propostos para inclusão.

METODOLOGIA:

As metodologias realizadas para a inclusão dos complexos consistiram em métodos como trituração (do inglês *kneading*) que tem como objetivo a inclusão através da energia mecânica fornecida durante a trituração dos reagentes, co-evaporação de solventes mutuamente miscíveis, e a filtração seguida de evaporação, que consiste somente no uso de um único solvente formando uma solução supersaturada. Os métodos realizados foram esquematizados na Tabela 1.

Tabela 1. Tabela com os métodos realizados

Metodologia	Cu(I)(NHC)Cl	2-mercaptobenzotiazol
Mistura de solventes miscíveis	Solvente: etanol/acetona Proporção: 1:1 t: 48h T: ambiente Evaporação: rota evaporador/seco a vácuo	Solvente: água/etanol Proporção: 1:1 t: 24h/agitação máxima T: ambiente Evaporação: rota evaporador/seco a vácuo
Proporção 1:10		Solvente: água milli-Q Proporção: 1:10 (β -CD:SBTz)

	----- -----	t: 22h/agitação máxima T: 60°C Filtração da solução/precipitado Evap. Filtrado: rota evaporador/seco a vácuo
Basificação do meio	----- -----	Solvente: água milli-Q Proporção: 1:1:1 (β-CD:SBTz:NaOH) t: 22h/agitação máxima T: ambiente Filtração da solução/precipitado Evap. Filtrado: rota evaporador/seco a vácuo
Kneading	Solvente: água/acetona Proporção: 1:1 t: 1h de maceração/teste de solubilidade 20 min T: ambiente Evaporação: rota evaporador/seco a vácuo	----- -----

As inclusões dos compostos na tabela 1 para cada metodologia testada foram verificadas por RMN de ¹H.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Para o composto de Cu(I)(NHC)Cl, observou-se através dos espectros de RMN de ¹H, que não houve a inclusão entre complexo e β-CD devido ao tamanho do ligante IMes. Para validar a proposta de incluir o complexo Au(I)(NHC)SBTz, um teste de inclusão com o ligante SBTz foi realizado. Para isso foram testadas as metodologias de basificar o meio com NaOH para solubilizar o 2-mercaptobenzotiazol em água e deixar o meio homogêneo, e outra em adicionar uma proporção 1:10 (β-CD:SBTz) a fim de deixar um excesso de ligante, dessa forma forçando a inclusão. O espectro de RMN de ¹H (figura 3) da inclusão utilizando a metodologia de meio básico, foi feito em solvente deuterado (D₂O), demonstrando a inclusão do SBTz em β-CD.

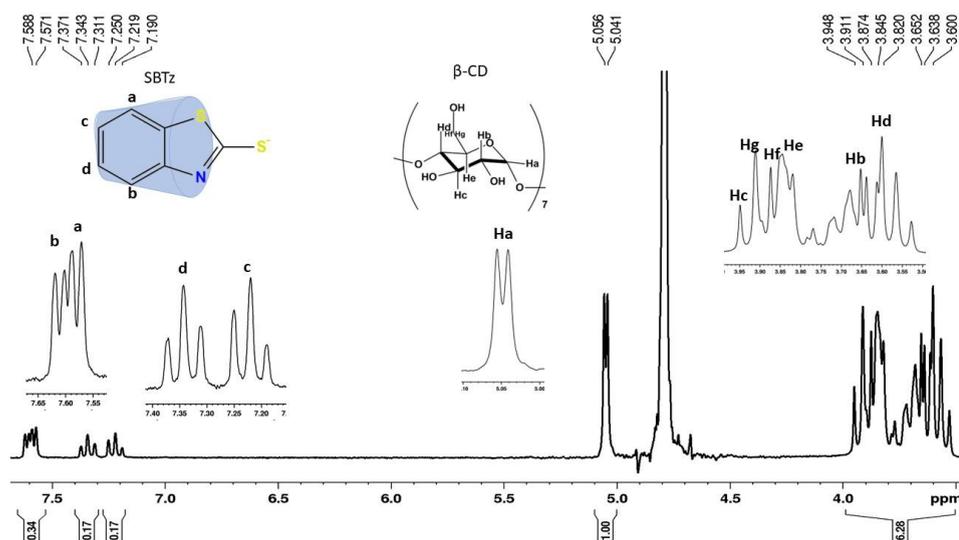


Figura 3. Espectro de RMN de ^1H (D_2O) do SBTz incluído em $\beta\text{-CD}$ através da basificação do meio reacional.

No espectro em questão, é possível atribuir sinais em torno de 7,5 ppm na região de aromáticos, correspondente ao SBTz e também em torno de 5 ppm, indicando a presença da molécula $\beta\text{-CD}$. Integrando o sinal de hidrogênio indicado como **Ha** da $\beta\text{-CD}$ para 1, observa-se que para o sinal entre 7,57 e 7,58 ppm, referente ao hidrogênio **a** são sinais para 2 H do 2-mercaptobenzotiazol, possibilitando estabelecer a proporção de inclusão 1:1 de SBTz: $\beta\text{-CD}$.

Já a metodologia usando uma proporção maior de SBTz, mostrou através do espectro de RMN de ^1H que ocorreu a inclusão, pois aparecem os mesmos sinais do SBTz em comparação com o espectro em meio básico (figura 4). Porém os sinais aparecem próximos ao ruído, impedindo de verificar a quantidade de SBTz incluído. Desta forma, infere-se que houve pouca inclusão em relação ao método em meio básico.

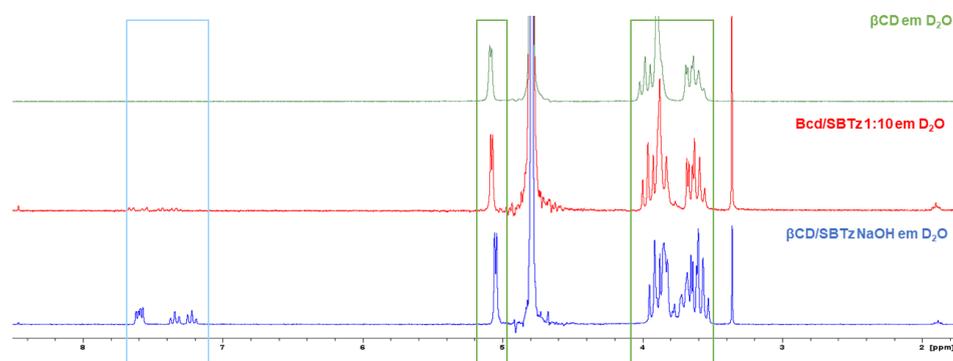


Figura 4. Espectro de RMN de ^1H de comparação do método utilizando proporção 1:10 entre $\beta\text{-CD}$ e SBTz.

CONCLUSÕES:

Os métodos de inclusão realizados com o complexo de Cu(I)(NHC)Cl não obtiveram resultados positivos, dessa forma, propôs-se uma mudança de ligante para o complexo de Au(I)(NHC) , utilizando grupos aromáticos mercaptanos ao invés de Cl^- . Previamente, testou-se a inclusão de SBTz e observou-se a inclusão utilizando um meio básico. Desta forma, possibilita testar a inclusão de Au(I)(NHC)SBTz como próximos passos. Os complexos de Au(I)(NHC)SBTz assim que incluídos em $\beta\text{-CD}$, serão testados frente a atividade leishmanicida, e serão comparados os resultados com Au(I)(NHC)SBTz livre.

BIBLIOGRAFIA

ABBEHAUSEN, Camilla; AIRES, Rochanna L; FONTES, Josielle V; MIGUEL, Danilo, C; ROSA, Leticia. A “Golden Age” for the discovery of new antileishmanial agents: Current status of leishmanicidal gold complexes and prospective targets beyond the trypanothione system. **ChemMedChem**, v. 1, n. 16, p. 1682-1696, 2021.

ABBEHAUSEN, Camilla; ALVES Danilo A; BERGAMINI Fernando R.G; CORBI Pedro P; de PAIVA, Raphael E.F; LANCELOTTI, Marcelo; THOMPSON, Andre L. Investigating the inclusion of the Ag(I)-nimesulide complex into β -cyclodextrin: studies in solution and in the solid state **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v.79, p.225–235, 2014.

ABBEHAUSEN, Camilla; FONTES, Josielle V; GALUPPO, Carolina; JÚDICE, Wagner A.S; LIMA Rochanna L.A; MIGUEL Danilo C; SIQUEIRA Fábio S; ROSA, Leticia B; Antileishmanial activity and insights into the mechanisms of action of symmetric Au(I) benzyl and aryl-N-heterocyclic carbenes. **Journal of Inorganic Biochemistry**. 2022

ABBEHAUSEN, Camilla. **Síntese de Híbridos de Siloxanos e β -Ciclodextrinas**. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Tecnológica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

ABBEHAUSEN, Camilla; FORMIGA, André L. B.; SABADINI, Edvaldo; YOSHIDA, Inez V. P. A- β -cyclodextrin/siloxane hybrid polymer: synthesis, characterization and inclusion complexes. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 1867-1876, 2010.

BENDER, Myron L; KOMIYAMA Makoto. Cyclodextrin Chemistry. Edição 6. New York: Springer Verlag, 1998.

BRASIL, Portal. SUS oferece diagnóstico e tratamento gratuito para pessoas com Leishmaniose. **Secretária do Estado de Saúde de Minas Gerais**, 2017. Disponível em: [https://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/9689-sus-oferece-diagnostico-e-tratamento-gratuitos-contr-a-leishmaniose#:~:text=No%20caso%20da%20leishmaniose%20tegumentar,Infectologia%20Evandro%20Chagas%20\(INI\)](https://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/9689-sus-oferece-diagnostico-e-tratamento-gratuitos-contr-a-leishmaniose#:~:text=No%20caso%20da%20leishmaniose%20tegumentar,Infectologia%20Evandro%20Chagas%20(INI)). Acesso em: 19 de junho 2023.

CIRRI, Damiano; LANDINI, Ida; MASSAI, Lara; MINI, Enrico; MAESTRELLI, Francesca; MESSORI, Luigi. Cyclodextrin Inclusion Complexes of Auranoftin and Its Iodido Analog: A Chemical and Biological Study. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 5, p. 23-33, 2021.

PATIL, Jagadevappa. INCLUSION COMPLEXE SYSTEM; A NOVEL TECHNIQUE TO IMPROVE THE SOLUBILITY AND BIOAVAILABILITY OF POORLY SOLUBLE DRUGS: A REVIEW. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences Review And Research**., p. 29-33. 2010.

SHARMA, Neha; BALDI, Ashsh. Exploring versatile applications of cyclodextrins: an overview. **Drug Delivery**, Online, v. 23, n. 3, p. 729-747. 2014

SZEJTLI, József. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. **Chemical Reviews**, p.98-1743. 1998