



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – FCF
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – PPGCF

NATÁLIA DA SILVA MENDONÇA

COMPLEXAÇÃO DO QUIMIOTERÁPICO DOCETAXEL COM HIDROXIPROPIL-
GAMA-CICLODEXTRINA: UMA ESTRATÉGIA PARA AUMENTAR A
SOLUBILIDADE DO FÁRMACO

MANAUS

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – FCF
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – PPGCF

NATÁLIA DA SILVA MENDONÇA

COMPLEXAÇÃO DO QUIMIOTERÁPICO DOCETAXEL COM HIDROXIPROPIL-
GAMA-CICLODEXTRINA: UMA ESTRATÉGIA PARA AUMENTAR A
SOLUBILIDADE DO FÁRMACO

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Tatiane Pereira de Souza – UFAM

Coorientadora: Profa. Dra. Eneida de Paula – UNICAMP

Área de concentração: Desenvolvimento, avaliação da qualidade e da utilização de insumos e produtos farmacêuticos e cosméticos

MANAUS

2024

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M539c Mendonça, Natália da Silva

Complexação do quimioterápico docetaxel com hidroxipropilgama-ciclodextrina: uma estratégia para aumentar a solubilidade do fármaco / Natália da Silva Mendonça. - 2024.

82 f. ; 31 cm.

Orientador(a): Tatiane Pereira de Souza.

Coorientador(a): Eneida de Paula.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Manaus, 2024.

1. câncer. 2. docetaxel. 3. ciclodextrinas. 4. complexos de inclusão. 5. sistemas de liberação de fármacos. I. Souza, Tatiane Pereira de. II. Paula, Eneida de. III. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. IV. Título

“Complexação do quimioterápico docetaxel com hidroxipropil-Gamaciclodextrina: uma estratégia para aumentar a Solubilidade do fármaco.”

DISCENTE: Natália da Silva Mendonça

PARECER:

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas em sua forma final e definitiva pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Manaus, AM, 30/09/2024.

Documento assinado digitalmente
 **PATRICIA DANIELLE OLIVEIRA DE ALMEIDA**
Data: 24/09/2025 14:30:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Patrícia Danielle Oliveira de Almeida
Coordenadora do PPGCF

A mesma foi apresentada perante a banca composta pelos seguintes professores:

Documento assinado digitalmente
 **TATIANE PEREIRA DE SOUZA**
Data: 30/09/2024 10:54:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Tatiane Pereira de Souza
Orientadora e Presidente da Banca (UFAM)

Documento assinado digitalmente
 **ARIADNA LAFOURCADE PRADA**
Data: 30/09/2024 11:33:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Ariadna Lafourcade
Membro (UFMS)

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANA DE MATOS ALVES PINTO**
Data: 30/09/2024 12:03:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Luciana de Matos Alves Pinto
Membro (UFLA)

A todos que acreditam na força da persistência, aqueles que não se deixam vencer pelos desafios e que, com determinação e fé, continuam a lutar por seus sonhos. Este é o resultado de muitas mãos que nunca soltaram as minhas e de um coração que aprendeu que a verdadeira vitória está em nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por não me deixar desistir e por abrir portas essenciais que tornaram possível a realização deste trabalho.

À minha mãe Simone, por seu carinho incondicional, pelas orações que nunca cessaram e por ser meu porto seguro em todos os momentos. Sua presença amorosa e constante foi minha fonte de força e conforto.

Ao meu noivo Fernando, por ser meu maior incentivador e apoiador incondicional. Mesmo nos momentos mais difíceis, quando minhas ausências foram constantes, você sempre esteve ao meu lado, com paciência e amor, me dando forças para seguir em frente. Sua compreensão e apoio foram essenciais para que eu conseguisse concluir esta jornada, e por isso, sou eternamente grata. Esta conquista também é sua!

Ao meu filho de quatro patas, Logan, por ser meu companheiro fiel, por suportar pacientemente minhas ausências e, ainda assim, sempre me receber com o mais puro carinho e alegria. Sua presença constante trouxe conforto e leveza nos momentos mais desafiadores.

À minha irmã Renata, por ser meu exemplo de mulher, por me ensinar tanto com sua sabedoria e generosidade, oferecendo apoio e inspiração nos momentos que mais precisei.

Ao meu pai, pelas orações, por me ensinar a ser forte nos momentos mais difíceis e por sempre desejar sabedoria em minhas escolhas.

À minha coorientadora, Dra. Eneida de Paula, por me acolher em seu grupo de pesquisa e me guiar com tanta dedicação e sabedoria ao longo desta trajetória. Sua generosidade em compartilhar seu vasto conhecimento foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À Professora Dra. Tatiane Pereira de Souza, pela paciência e compreensão ao longo desta jornada, e por sempre me incentivar a não desistir. Sua confiança e apoio, foram importantes para que eu pudesse continuar e concluir este trabalho.

Ao Thiago Sampaio, por me ajudar com tantos experimentos, sempre com paciência e dedicação. Agradeço pelos incentivos constantes e pelo apoio nos momentos mais desafiadores. Sua contribuição foi essencial para o avanço deste trabalho, e sou grata por sua colaboração e parceria ao longo da jornada.

À Fabíola Carvalho, minha querida amiga, de quem tenho tanto orgulho, obrigada por me acolher tantas vezes em sua casa, por ser minha companhia fiel na UNICAMP, mesmo quando já era tarde da noite. Agradeço pelas mensagens motivadoras, pelo carinho e por sua imensa bondade. Sua amizade foi um dos maiores presentes durante essa jornada, e sou profundamente grata por todo o apoio e incentivo que me ofereceu ao longo do caminho.

A todo o grupo de pesquisa Biomembranas, em especial a Gabriela, Rayza, Jéssica, Maria Fernanda, pelo apoio constante e pelo acolhimento caloroso.

Ao Dr. Fabiano Yokaichiya e à Dra. Margareth Franco, pela valiosa ajuda na condução dos experimentos de DRX. À Dra. Márcia Breitreitz, à Ananda Matarazzo e à Fabíola, pela colaboração essencial nos experimentos de DSC. Ao Dr. Luiz Cabeça e ao Dr. Gustavo Henrique, por todo o apoio e assistência com os experimentos de RMN e DOSY. À Dra. Laura Nascimento e ao Matheus, pela ajuda indispensável com o processo de liofilização e à Dra. Natália Bexiga, por sempre estar disposta a me auxiliar com dúvidas sobre liofilização.

À Ashland, pela generosa doação da ciclodextrina e pela prontidão e disposição em esclarecer todas as minhas dúvidas ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

E a todos os amigos, colegas e diversos professores, tanto do estado do Amazonas quanto de São Paulo, que, de perto ou de longe, apoiaram e torceram pela conclusão deste trabalho.

*"Tudo parece impossível até que seja feito."
(Nelson Mandela)*

RESUMO

O docetaxel (DTX), um quimioterápico da classe dos taxanos, é reconhecido como um medicamento essencial pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para o tratamento de vários tipos de câncer, incluindo o de mama. Classificado na classe IV do sistema de classificação biofarmacêutica, o DTX possui baixa solubilidade em água ($6 \mu\text{M}$) e biodisponibilidade limitada. As formulações comerciais de DTX utilizam um tensoativo não iônico, o polissorbato 80, além de etanol para aumentar sua solubilidade, o que pode agravar os efeitos colaterais da quimioterapia. Para superar essas limitações, este estudo explora a complexação do DTX com hidroxipropil-gama-ciclodextrina (HP- γ -CD), uma estratégia promissora para melhorar a solubilidade do fármaco. O complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD foi preparado pelo método de co-solubilização seguido de liofilização, na proporção estequiométrica de 1:2, com tempo de equilíbrio de 6 horas. Técnicas de caracterização como microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria diferencial de varredura (DSC), espectroscopia de infravermelho (FTIR), difração de raios X (DRX) e ressonância magnética nuclear (^1H -RMN) com variação de gradiente de campo (DOSY) foram utilizadas. Os resultados revelaram que a complexação aumentou a solubilidade aquosa do DTX em cerca de 25 vezes ($150 \mu\text{M}$). A DSC demonstrou o desaparecimento do pico endotérmico do DTX no complexo com HP- γ -CD. As micrografias de MEV indicaram a perda da estrutura cristalina do DTX com a complexação, confirmada pela DRX, que revelou a perda do padrão cristalino do DTX complexado e alterações nas dimensões do complexo ($D=18,09$, $d=10,13$ e $h=8,07 \text{ \AA}$) em comparação com a HP- γ -CD pura ($D=17,57$, $d=10,56$ e $h=8,96 \text{ \AA}$). Espectros de FTIR mostraram deslocamentos nas bandas da carbonila do fármaco, sugerindo interações entre DTX e HP- γ -CD. A análise de ^1H -RMN (DOSY) indicou que 17% do DTX interagiu com HP- γ -CD, com uma constante de afinidade intermediária (K_a) de 746 L/mol . Este estudo, o primeiro a investigar a associação do DTX com HP- γ -CD, sugere que o complexo formado é uma estratégia promissora para aumentar a solubilidade aquosa do fármaco, com potencial para se tornar uma nova formulação farmacêutica com efeitos colaterais reduzidos e maior eficácia terapêutica contra o câncer.

Palavras-chave: câncer, docetaxel, ciclodextrinas, complexos de inclusão, sistemas de liberação de fármacos, solubilidade aquosa.

ABSTRACT

Docetaxel (DTX), a chemotherapeutic agent of the taxane class, is recognized as an essential medicine by the World Health Organization (WHO) for the treatment of several types of cancer, including breast cancer. Classified as class IV in the biopharmaceutical classification system, DTX has low water solubility (6 μM) and limited bioavailability. Commercial formulations of DTX use a nonionic surfactant, polysorbate 80, in addition to ethanol to increase its solubility, which can exacerbate the side effects of chemotherapy. To address these limitations, this study explores the complexation of DTX with hydroxypropyl- γ -cyclodextrin (HP- γ -CD), a promising strategy to improve drug solubility. The DTX:HP- γ -CD inclusion complex was prepared by the co-solubilization method followed by lyophilization, in a stoichiometric ratio of 1:2, with an equilibrium time of 6 hours. Characterization techniques such as scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC), infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD), and field gradient diffusion nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$) were used. The results revealed that complexation increased the aqueous solubility of DTX by approximately 25-fold (150 μM). DSC demonstrated the disappearance of the endothermic peak of DTX in the complex with HP- γ -CD. SEM micrographs indicated the loss of the crystalline structure of DTX upon complexation, confirmed by XRD, which revealed the loss of the crystalline pattern of the complexed DTX and changes in the dimensions of the complex ($D=18.09$, $d=10.13$, and $h=8.07$ Å) compared to pure HP- γ -CD ($D=17.57$, $d=10.56$, and $h=8.96$ Å). FTIR spectra showed shifts in the carbonyl bands of the drug, suggesting interactions between DTX and HP- γ -CD. $^1\text{H-NMR}$ (DOSY) analysis indicated that 17% of DTX interacted with HP- γ -CD, with an intermediate affinity constant (K_a) of 746 L/mol. This study, the first to investigate the association of DTX with HP- γ -CD, suggests that the complex formed is a promising strategy to increase the aqueous solubility of the drug, with the potential to become a new pharmaceutical formulation with reduced side effects and greater therapeutic efficacy against cancer.

Keywords: cancer, docetaxel, cyclodextrins, inclusion complex, drug delivery systems, solubility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema representativo da formação do tumor.....	15
Figura 2 – Estadiamento do câncer de mama [a] Tumor tem até 2 centímetros e que não se espalhou; [b] Tumor tem 2 a 5 centímetros e que pode se espalhar para os linfonodos próximos; [c] Tumor de qualquer tamanho e que pode se espalhar para os linfonodos e parede torácica; [d] Câncer metastático que se espalhou para outros órgãos e/ou tecidos.	18
Figura 3 – Mecanismo de ação proposto para o DTX (a) Representação de um microtúbulo; (b) Ligação do docetaxel à subunidade β da tubulina, que compõe o microtúbulo.....	24
Figura 4 – Número de publicações mundiais relacionadas com CDs, no período entre 1942 a 2024.	29
Figura 5 – Fórmulas estruturais das CDs naturais.	30
Figura 6 – Estrutura da HP- γ - CD.	35
Figura 7 – Representação de tipos de complexos de inclusão CD-fármaco.....	36
Figura 8 – Esquema geral do preparo do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD.....	42
Figura 9 – Espectro de absorção no UV-VIS do DTX, livre e complexado com HP- γ -CD (razão molar 1:2), após 6 horas de agitação. O espectro de HP- γ -CD também é dado, como controle.....	47
Figura 10 – Determinação da solubilidade aquosa do DTX puro.	48
Figura 11 – Determinação do tempo de equilíbrio de formação do complexo DTX:HP- γ -CD.	50
Figura 12 – Estequiometria da complexação do DTX com HP- γ -CD pelo método de variação contínua (<i>job plot</i>).	51
Figura 13 – Imagens das etapas de formação do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD. [a] Complexo de inclusão após 6 h de equilíbrio, [b] Complexo de inclusão após rotaevaporação dos solventes, previamente à liofilização.	52
Figura 14 – Imagem de amostras do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD liofilizado.	54

Figura 15 – Determinação da solubilidade aquosa do complexo DTX:HP- γ -CD.	55
Figura 16 – Termogramas de DSC, obtidos com taxa de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹ , de: hidroxipropil- γ -ciclodextrina (HP- γ -CD), Docetaxel (DTX), Complexo docetaxel: hidroxipropil- γ -ciclodextrina (DTX:HP- γ -CD) e Mistura física dos excipientes (MF).	56
Figura 17 – Padrão de difração de raios X em pó de, [a] DTX, [b] HP- γ -CD, [c] DTX/HP- γ -CD, mistura física, [d] complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD.	57
Figura 18 – DRX: Detalhe dos difratogramas, comparando [a] HP- γ -CD e [b] DTX:HP- γ -CD quanto ao diâmetro interno (d), externo (D) e altura (h) do cone da ciclodextrina. Os valores entre parêntesis indicam erro experimental.	58
Figura 19 – Micrografias (MEV) das amostras de: [a] DTX; [b] HP- γ -CD, [c] Mistura física DTX:HP- γ -CD, [d] complexo DTX:HP- γ -CD. Ampliação de 160 x.	59
Figura 20 – Espectros de absorção no ATR-FTIR de: DTX, HP- γ -CD, mistura física DTX/HP- γ -CD e complexo DTX:HP- γ -CD.	60
Figura 21 – Espectros de ¹ H-RMN do: [a] DTX em mistura de DMSO-água, [b] da HP- γ -CD e [c] sobreposição espectral da amostra de DTX (azul) e do complexo DTX:HP- γ -CD (marrom). Notar a não variação nos deslocamentos químicos dos hidrogênios do fármaco (eg – aromáticos entre 7,25-8,25 ppm) e a grande sobreposição espectral que dificultou a análise dos deslocamentos químicos individuais.	63
Figura 22 – Espectros de 2D DOSY- ¹ H-RMN para docetaxel (DTX) e o complexo DTX:HP- γ -CD.	64

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Informações Docetaxel (DTX).	21
Tabela 1 – Formulação Taxotere®.	23
Tabela 2 – Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) proposto por Amidon <i>et al.</i> (1995).	27
Tabela 3 – Comparação entre CDs naturais e quimicamente modificadas.	31
Tabela 4 – Exemplos de medicamentos que empregam CDs, disponíveis no mercado.....	33
Tabela 5 – Condições utilizadas no CLAE para medida de solubilidade aquosa do DTX.....	39
Tabela 6 – Resultados brutos do experimento de determinação de solubilidade em água do DTX puro, por CLAE.	48
Tabela 7 – Resultados brutos da análise de tempo de equilíbrio	49
Tabela 8 – Resultados dos testes em diferentes razões molares DTX: HP- γ -CD.	51
Tabela 9 – Ciclo utilizado para liofilização do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD.....	53
Tabela 10 – Resultados brutos do experimento de determinação de solubilidade do complexo DTX:HP- γ -CD, por CLAE.....	54
Tabela 11 – Frequências das bandas de absorção de amostras de: DTX, HP- γ -CD, mistura física DTX/HP- γ -CD (MF) e complexo DTX:HP- γ -CD.	60
Tabela 12 – Coeficientes de difusão do DTX, HP- γ -CD e DTX:HP- γ -CD, fração molar do complexo e constante de associação DTX:HP- γ -CD (K_a), conforme determinado por DOSY- ¹ H-RMN.	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

10-DAB	10-desacetilbacatina-III
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AUC	Área sob a curva
CAVASOL W8	Hidroxiopropil-gama-ciclodextrina
CDs	Ciclodextrinas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DM- β -CD	Dimetil- β -ciclodextrina
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DRX	Difração de raio X
DTX	Docetaxel
DTX:HP- γ - CD	Complexo Docetaxel-Hidroxiopropil - gama - ciclodextrina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier
HP- α -CD	Hidroxiopropil - alfa - ciclodextrina
HP- β -CD	Hidroxiopropil - beta - ciclodextrina
HP- γ - CD	Hidroxiopropil - gama - ciclodextrina
INCA	Instituto Nacional de Câncer
JOB PLOT	Técnicas de variação contínua
Me- β -CD	Metil-beta-ciclodextrina
MM	Massa Molecular
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
μ M	Micromolar
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PTX	Paclitaxel
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SBE- β -CD	Sulfobutiléter- β -ciclodextrina
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
UV-Vis	Ultravioleta Visível
α -CD	Alfa-ciclodextrina

β -CD	Beta-ciclodextrina
γ - CD	Gama-ciclodextrina
\bar{X}	Média aritmética
σ	Desvio Padrão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo geral.....	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	15
3.1. Câncer	15
3.2. Câncer de mama.....	16
3.3. Quimioterápicos taxanos	19
3.3.1. Docetaxel (DTX).....	19
3.3.1.1. Mecanismo de ação do DTX	24
3.3.1.2. Farmacocinética do DTX.....	25
3.3.1.3. Solubilidade do DTX.....	26
3.4. Ciclodextrinas (CDs)	28
3.4.1. Hidroxipropil-gama-ciclodextrina (HP- γ - CD)	34
3.4.2. Complexos de inclusão (Fármaco-CD)	36
4. MATERIAIS e MÉTODOS	38
4.1. Caracterização do DTX livre por espectrofotometria UV-VIS	38
4.2. Determinação da solubilidade aquosa do DTX.....	38
4.3. Preparo do Complexo DTX:HP- γ -CD	39
4.3.1. Tempo de Equilíbrio	39
4.3.2. Determinação da estequiometria do complexo de inclusão.....	40
4.3.3. Preparo do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD	41
4.3.4. Liofilização do complexo DTX:HP- γ -CD.....	42
4.3.5. Determinação da solubilidade do complexo DTX:HP- γ -CD.....	42
4.4. Caracterização do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD	43
4.4.1. Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	43
4.4.2. Difração de Raio-X (DRX).....	43
4.4.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	44
4.4.4. Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	44
4.4.5. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H -RMN).....	45
4.4.5.1. Medidas de difusão (DOSY- ^1H -RMN).....	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46

5.1.	Caracterização do DTX livre e complexado por espectrofotometria UV-VIS...	46
5.2.	Determinação da solubilidade aquosa DTX.....	47
5.2.1.	Tempo de equilíbrio.....	49
5.2.2.	Determinação da estequiometria do complexo DTX:HP- γ -CD	50
5.2.4.	Liofilização do complexo DTX:HP- γ -CD.....	53
5.2.5.	Determinação da solubilidade do complexo DTX:HP- γ -CD.....	54
5.3.	Caracterização do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD	56
5.3.1.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	56
5.3.2.	Difração de Raio-X (DRX).....	57
5.3.3.	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	59
5.3.4.	Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	60
5.3.5.	Ressonância Magnética Nuclear (^1H -RMN).....	63
5.3.5.1.	Medidas de difusão (DOSY- ^1H -RMN).....	63
CONCLUSÃO		66
REFERÊNCIAS		67

1. INTRODUÇÃO

O câncer é um grave problema de saúde pública, sendo uma das principais causas de morte e um obstáculo significativo para o aumento da expectativa de vida em todo o mundo (DE OLIVEIRA SANTOS *et al.*, 2023; SIEGEL *et al.*, 2023; SIEGEL *et al.*, 2024).

Globalmente, o câncer de mama é o mais comum entre as mulheres (OMS, 2021; CHAURASIA *et al.*, 2023; SIEGEL *et al.*, 2024). No Brasil, segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), é o mais prevalente entre as mulheres em todas as regiões do país, superado apenas pelo câncer de pele não melanoma, sendo que, 73.610 novos casos são esperados até 2025 conforme estimativa do INCA (INCA, 2022).

A escolha do tratamento é baseada no grau, estágio e subtipo molecular do câncer, promovendo uma terapia mais personalizada, segura e eficaz (COOMBES *et al.*, 2019; BURGUIN e DIORIO, 2021). A quimioterapia inclui várias famílias de medicamentos citotóxicos, como agentes alquilantes, antimetabólitos e inibidores de tubulina (CARVALHO, 2023). O docetaxel (DTX), cujo medicamento de referência é o Taxotere[®], é um quimioterápico da classe dos taxanos, administrado pela via intravenosa para o tratamento de diversos tipos de câncer, incluindo o câncer de mama (ANVISA, 2023; VASAN *et al.*, 2023).

Apesar de ser um taxano importante utilizado em uma ampla gama de cânceres, o regime padrão de tratamento com DTX é realizado por formulações que incluem polissorbato 80 e etanol como excipientes, devido à baixa solubilidade aquosa do DTX, mas estes excipientes estão associados a reações adversas graves (MAZZAFERRO *et al.*, 2011; AHMAD *et al.*, 2014; IMRAN *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2024).

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos biocompatíveis e biodegradáveis obtidos a partir do amido e da ação da enzima ciclodextrina-glicosiltransferase (CGTase), são amplamente utilizadas na indústria farmacêutica devido à sua influência na solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade química e propriedades de absorção de fármacos através da formação de complexos de inclusão (DAS *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2022). As CDs naturais, como alfa-ciclodextrina (α -CD), beta-ciclodextrina (β -CD) e gama-ciclodextrina (γ -CD), são

compostas por seis, sete e oito unidades de glicopiranosose, respectivamente (CARRIER *et al.*, 2007; MATENCIO *et al.*, 2020; CID-SAMAMED *et al.*, 2022).

Com o avanço das tecnologias de síntese, além dos CDs naturais, também foram desenvolvidas CDs quimicamente modificadas, como hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD), hidroxipropil- γ -ciclodextrina (HP- γ -CD), sulfobutil-éter- β -ciclodextrina (SBE- β -CD), dimetil- β -ciclodextrina (DM- β -CD), entre outras (MIHOUB *et al.*, 2018; ARRUDA *et al.*, 2021; FERREIRA *et al.*, 2022; JANSOOK e LOFTSSON, 2022; WANG *et al.*, 2023). Essas modificações são eficazes para aumentar ainda mais a solubilidade das CDs e a capacidade de formação de complexos de inclusão, além de ampliar as aplicações na indústria farmacêutica (FERREIRA *et al.*, 2022; SARABIA-VALLEJO *et al.*, 2023).

A HP- γ -CD é um derivado hidroxialquilado da γ -CD que combina uma alta capacidade de encapsulamento com uma solubilidade elevada (> 500 mg/mL), provavelmente devido à sua estrutura não cristalina (BREWSTER e LOFTSSON, 2007). Estudos toxicológicos indicam que a HP- γ -CD é amplamente segura em doses terapêuticas (LU *et al.*, 2024).

Complexos de inclusão com HP- γ -CD foram preparados por vários pesquisadores, demonstrando vantagens em comparação com medicamentos não complexados. Por exemplo, um complexo de inclusão 1:1 de trimetoprim e HP- γ -CD revelou aumento da estabilidade e solubilidade em comparação com o trimetoprim não complexado (MACEDO *et al.*, 2012). Estudos com bupropiona e HP- γ -CD sugerem que a HP- γ -CD é uma ferramenta farmacêutica eficaz para encapsulamento e liberação de fármacos (MISIUK, 2014). Além disso, a ceftazidima complexada com HP- γ -CD mostrou melhorias significativas em solubilidade, biodisponibilidade e estabilidade em comparação com a ceftazidima livre (MISIUK, 2016). Complexos de inclusão de curcumina e HP- γ -CD também demonstraram maior estabilidade em solução aquosa do que o ativo livre (SHITYAKOV *et al.*, 2017). A icarina, teve sua solubilidade em água aumentada em 654 vezes pela complexação com HP- γ -CD, melhorando significativamente sua dissolução e biodisponibilidade (DING, *et al.*, 2023).

Devido à importância do DTX na terapia anticancerígena e às limitações associadas ao seu uso, diversas investigações foram realizadas para tentar melhorar sua solubilidade e reduzir os efeitos adversos (MAZZAFERRO *et al.*, 2011; REN *et al.*, 2020; SADAQUAT e AKHTAR, 2020). Mazzaferro e colaboradores investigaram a

interação do DTX com metil-beta-ciclodextrina (Me- β -CD), encontrando um aumento significativo na solubilidade aquosa (MAZZAFERRO *et al.*, 2011). Sadaquat e Akhtar (2020) estudaram o efeito do β -CD, HP- β -CD e SBE- β -CD na solubilidade e taxa de dissolução do DTX, mostrando que o SBE- β -CD teve o maior efeito. Ren e colaboradores prepararam complexos de inclusão DTX-SBE- β -CD, observando melhora na biodisponibilidade oral e na capacidade de inibir o crescimento de células tumorais em comparação com o DTX puro (REN *et al.*, 2020).

Considerando os estudos existentes, acredita-se que a combinação do DTX com HP- γ -CD, por meio da formação de complexos de inclusão, pode ser uma estratégia promissora para aumentar a solubilidade aquosa do medicamento. Vale ressaltar que não foram encontrados estudos sobre a associação de DTX com HP- γ -CD na literatura. Esta abordagem tem o potencial de ser explorada no desenvolvimento futuro de uma nova formulação de DTX, com efeitos secundários reduzidos e maior eficácia terapêutica contra o câncer.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Preparar o complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD e avaliar seu efeito na solubilização do DTX.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar DTX livre por espectrofotometria UV-VIS;
- Determinar a solubilidade aquosa do DTX;
- Determinar o tempo de equilíbrio e estequiometria ideal para formação do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD;
- Preparar o complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD, utilizando a técnica de co-solubilização, seguida de liofilização;
- Determinar a solubilidade do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD;
- Caracterizar o complexo formado (DTX:HP- γ -CD), comparado ao fármaco não complexado, através de ensaios de calorimetria diferencial de varredura (DSC), difração de Raios-X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV),

espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e ressonância magnética nuclear com gradiente de campo (DOSY- ^1H -RMN).

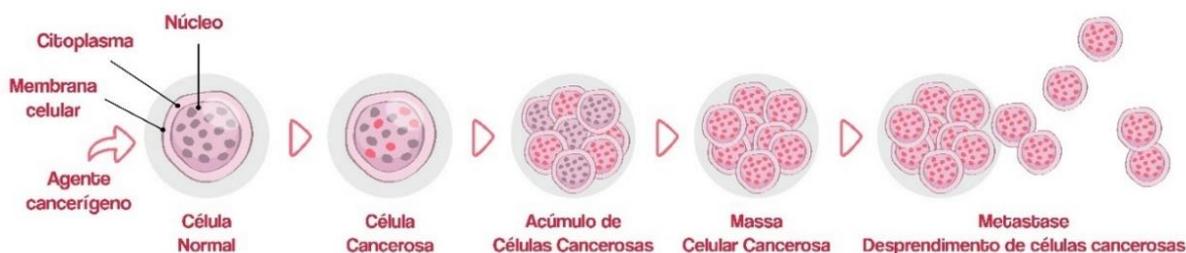
3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Câncer

De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 2020) e Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2022), o termo câncer, abrange mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas, que podem afetar qualquer parte do corpo, as quais têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos, que podem se espalhar para outras regiões do corpo, através de metástases que tendem a ser agressivas e incontroláveis. As células vão se diferenciar de acordo com o local de invasão e a multiplicação celular vai variar de acordo com a velocidade desse processo (DEZENA *et al.*, 2023).

O câncer é um grande problema de saúde pública em todo o mundo, sendo uma das principais causas de morte e importante barreira para o aumento da expectativa de vida (DE OLIVEIRA SANTOS *et al.*, 2023; SIEGEL *et al.*, 2023; SIEGEL *et al.*, 2024). Nos Estados Unidos é a segunda principal causa de morte entre as pessoas com menos de 85 anos (SIEGEL *et al.*, 2024). Ele surge quando uma célula normalmente se transforma em uma célula tumoral em um processo de vários estágios (Figura 1), que geralmente progride de uma lesão pré-cancerosa para tumores malignos (OPAS, 2020).

Figura 1 – Esquema representativo da formação do tumor.



Fonte: Adaptado de INCA, 2022.

O número de pessoas vivendo com o diagnóstico de câncer aumentou globalmente devido a uma população crescente e envelhecida, maior exposição a fatores de risco, detecção precoce facilitada por métodos de triagem aprimorados para

alguns tipos de câncer e avanços nos tratamentos, resultando em melhor prognóstico e sobrevida (FERRIS *et al.*, 2023). Milhões de novos casos de câncer são diagnosticados anualmente no mundo e, para ter melhores chances de controle e sobrevida, os pacientes precisam iniciar tratamento o quanto antes (GUPTA *et al.*, 2023).

Estima-se que ocorram 1.680 mortes diárias por câncer nos Estados Unidos, em 2024. O progresso na prevenção ainda permanece lento e a incidência continua a aumentar em 6 dos 10 principais tipos de câncer, como mama, próstata, útero, pâncreas, orofaringe, fígado (em mulheres), rim, melanoma, além dos cânceres de colo do útero e de mama em jovens adultos. Entre adultos com menos de 50 anos, o câncer colorretal tornou-se a principal causa de morte em homens e a segunda em mulheres (atrás apenas do câncer de mama). Além disso, o perfil etário dos pacientes com câncer tem mudado de idosos para indivíduos de meia-idade (SIEGEL *et al.*, 2024).

No Brasil, é esperado que até 2025 ocorram 704 mil casos novos de câncer, ou 483 mil se excluídos os casos de câncer de pele não melanoma, que é o mais incidente, com 220 mil casos novos (31,3%), seguido pelos cânceres de mama, com 74 mil (10,5%); próstata, com 72 mil (10,2%); cólon e reto, com 46 mil (6,5%); pulmão, com 32 mil (4,6%); e estômago, com 21 mil (3,1%) casos novos (INCA, 2022).

3.2. Câncer de mama

O câncer de mama descreve um grupo de doenças biologicamente e molecularmente heterogêneas, com comportamentos distintos, sendo causado pela multiplicação desordenada de células anormais da mama, que forma um tumor com potencial de invadir outros órgãos (FENG *et al.*, 2018; INCA, 2022).

A heterogeneidade deste câncer pode ser observada pelas diferentes manifestações clínicas, morfológicas, assinaturas genéticas e nas respostas terapêuticas. O aparecimento de nódulo, geralmente indolor, duro e irregular é o sintoma mais comum, mas há tumores que são de consistência branda, globosos e bem definidos. Outros sinais incluem: edema cutâneo semelhante à casca de laranja, retração cutânea, dor, inversão do mamilo, hiperemia, descamação ou ulceração do mamilo e secreção papilar. A secreção associada ao câncer geralmente é

transparente, podendo ser rosada ou avermelhada devido à presença de glóbulos vermelhos, podem também surgir linfonodos palpáveis na axila (INCA, 2022).

Mundialmente, o câncer de mama é o tipo de câncer que mais acomete mulheres (CHAURASIA *et al.*, 2023; SIEGEL *et al.*, 2024; WHO, 2021). No Brasil, é o tipo mais incidente em mulheres de todas as regiões, depois do câncer de pele não melanoma. Com base na estimativa levantada pelo INCA em 2023, o número estimado de casos novos de câncer de mama no país até 2025, é de 73.610 casos, correspondendo a um risco estimado de 66,54 casos novos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2022).

Nos Estados Unidos, a incidência tem aumentado lentamente, cerca de 0,6% por ano, desde meados da década de 2000, em grande parte devido a diagnósticos de doença localizada e positivos para receptores hormonais. Entre 2012-2019 o aumento da incidência foi mais acentuado nas mulheres com menos de 50 anos (1,1% por ano) do que naquelas com 50 anos ou mais (0,5% por ano), atribuído, em parte, a uma taxa de fertilidade decrescente e ao aumento da obesidade (SIEGEL *et al.*, 2024).

De acordo com Nolan *et al.* (2023), uma combinação de fatores genéticos e não genéticos influencia a incidência do câncer de mama. Este último, inclui idade, fatores de risco reprodutivos (por exemplo, menarca precoce e menopausa tardia), hormônios femininos exógenos, estilo de vida (por exemplo, obesidade pós-menopausa e consumo de álcool) e exposição à radiação.

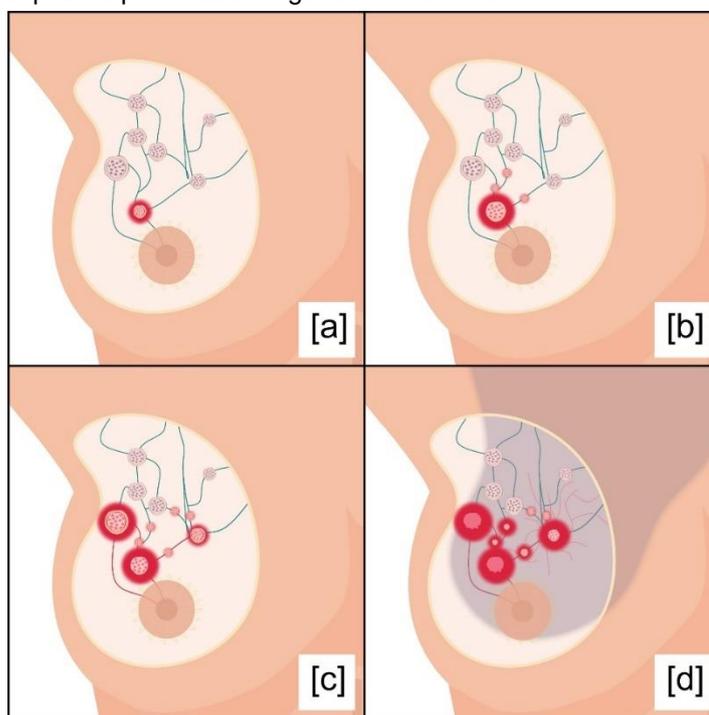
Ferris *et al.* (2023) afirma, que o câncer de mama contribui substancialmente para a morbidade e mortalidade feminina, justificando esforços de pesquisa no sentido da busca por tratamentos mais eficazes e seguros.

O prognóstico do câncer de mama depende do estadiamento da doença (Figura 2), das características do tumor e quando diagnosticado no início, tem maior chances de cura, pois possibilita tratamento em tempo oportuno, maior sobrevida e menor morbidade (GARCIA-OLIVEIRA *et al.*, 2021; INCA, 2022).

Diante da alta incidência e mortalidade do câncer de mama, especialmente em países de baixa e média renda, as estratégias de prevenção, diagnóstico precoce e tratamento individualizado são fundamentais para melhorar os desfechos clínicos (CHAURASIA *et al.*, 2023; WHO, 2021). Apesar dos progressos, desafios como a desigualdade no acesso ao tratamento e o impacto de fatores sociais e econômicos

na saúde das mulheres ainda precisam ser superados para garantir melhores resultados globais (SIEGEL *et al.*, 2024).

Figura 2 – Estadiamento do câncer de mama [a] Tumor tem até 2 centímetros e que não se espalhou; [b] Tumor tem 2 a 5 centímetros e que pode se espalhar para os linfonodos próximos; [c] Tumor de qualquer tamanho e que pode se espalhar para os linfonodos e parede torácica; [d] Câncer metastático que se espalhou para outros órgãos e/ou tecidos.



Fonte: Adaptado de INCA (2022).

As principais classificações dos cânceres de mama são determinadas pela histopatologia e por características moleculares (HARBECK *et al.*, 2019; WAKS e WINER, 2019). Histologicamente, o subtipo mais comum é o carcinoma ductal invasivo (50 - 75% dos pacientes), seguido por carcinoma lobular invasivo (5 - 15% dos pacientes), carcinomas ductais/lobulares mistos e outras histologias mais raras constituem o restante dos pacientes (WAKS e WINER, 2019).

Quanto às características moleculares, a presença e ausência de marcadores específicos: receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP) e o receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2), separa o câncer de mama em três tipos básicos: receptores hormonais positivos (RH⁺), receptor do fator de crescimento epidérmico humano positivo (HER2⁺) e cânceres de mama triplo negativo (FENG *et al.*, 2018).

A escolha do tratamento é baseada no grau, estágio e subtipo molecular visando obter a terapia mais personalizada, segura e eficiente. Para o câncer de mama não metastático, a terapia estratégica envolve a remoção do tumor por meio de cirurgia completa ou conservadora da mama com radioterapia pré-operatória (neoadjuvante) ou pós-operatória (adjuvante) e terapia sistêmica, incluindo quimioterapia, hormonioterapia e imunoterapia. Para o câncer de mama metastático, são usadas as mesmas terapias sistêmicas, objetivando conter a propagação do tumor, uma vez que este tipo permanece incurável (BURGUIN e DIORIO, 2021; COOMBES *et al.*, 2019).

A quimioterapia compreende várias famílias de fármacos incluindo agentes alquilantes, antimetabólitos e inibidores de tubulina. No tratamento quimioterápico, são inúmeros os efeitos colaterais causados pela toxicidade das terapias adotadas (insônia, fadiga, déficit cognitivo, náuseas, vômitos, anemia, perda de peso) que muitas vezes diminuem a qualidade de vida do paciente (CARVALHO, 2023).

3.3. Quimioterápicos taxanos

Os taxanos são uma classe de diterpenos amplamente conhecidos por suas propriedades anticancerígenas, sendo derivados de plantas do gênero *Taxus spp.* (família *Taxaceae*) (ARRUDA *et al.*, 2022). O primeiro taxano a receber aprovação da *Food and Drug Administration* (FDA) foi o paclitaxel (comercializado como Taxol[®]) em 1992, seguido pelo docetaxel (Taxotere[®]) (BRANDÃO *et al.*, 2010).

Por mais de quatro décadas, a atividade anticancerígena dos taxanos foi atribuída principalmente à sua ação sobre os microtúbulos, estruturas essenciais para a divisão celular, uma vez que, esses fármacos estabilizam os microtúbulos, impedindo sua despolimerização, o que leva à formação anormal do fuso mitótico e bloqueia a progressão da mitose. Como resultado, as células tumorais são incapazes de completar a divisão celular, resultando em apoptose. Embora essa seja a explicação clássica baseada em estudos *in vitro*, pesquisas recentes em modelos animais e em pacientes com câncer indicam que os taxanos podem induzir apoptose de maneira independente da interrupção mitótica, ampliando o entendimento dos mecanismos de ação desses compostos em um contexto *in vivo* (Vennin *et al.*, 2023).

Embora compartilhem um mecanismo de ação semelhante, o docetaxel (DTX) tem uma afinidade de ligação à subunidade beta (β) da tubulina quase duas vezes

maior que o paclitaxel (PTX), o que pode contribuir para sua maior eficácia em determinadas situações clínicas (BELANI, 2004).

Os taxanos são amplamente utilizados em protocolos de quimioterapia para tratar vários tipos de câncer, com destaque para câncer de mama e câncer de pulmão. No entanto, a terapia com taxanos está associada a uma série de efeitos colaterais significativos, como neuropatia periférica, que pode resultar em dor crônica e perda de função motora; neutropenia febril, que aumenta o risco de infecções graves; além de convulsões e encefalopatia, que podem comprometer a função neurológica (VENNIN *et al.*, 2023). Esses efeitos adversos limitam o uso prolongado, exigindo monitoramento cuidadoso e ajustes na dosagem para minimizar o impacto sobre a qualidade de vida dos pacientes.

Do ponto de vista farmacotécnico, os taxanos são moléculas hidrofóbicas que requerem o uso de surfactantes para serem solubilizadas em formulações intravenosas. Contudo, o uso desses excipientes, como o Cremophor EL® (para o PTX) e o Polissorbato 80 (para o DTX), podem alterar a farmacocinética dos fármacos, resultando em uma absorção não linear, além de reduzir a disponibilidade do fármaco na corrente sanguínea, limitando sua eficácia terapêutica e como consequência menos fármaco ativo atinge as células tumorais, o que pode comprometer o efeito terapêutico (ARRUDA *et al.*, 2022; ASHRAFIZADEH *et al.*, 2020).

3.3.1. Docetaxel (DTX)

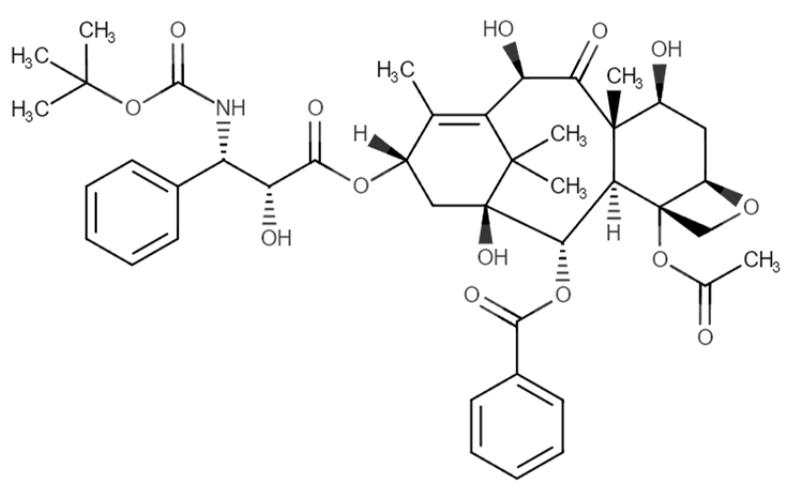
O docetaxel (DTX) é um análogo semissintético do paclitaxel (PTX), obtido a partir da 10-desacetilbacatina-III (10-DAB), extraída das folhas da árvore *Taxus baccata* (teixo europeu) (ARRUDA *et al.*, 2021; SADAQUAT *et al.*, 2021). Assim como o PTX, o DTX está listado como um dos medicamentos essenciais da Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo considerado um quimioterápico essencial para o tratamento de diversos tipos de câncer (WHO, 2023).

O DTX foi aprovado pela primeira vez nos Estados Unidos em 1996, inicialmente para o tratamento de câncer de mama avançado e câncer de pulmão de células não pequenas (GRAY *et al.*, 2023; PÉTRONILLE *et al.*, 2020). Atualmente, além dessas indicações, o DTX é amplamente utilizado para o tratamento de câncer gástrico, de próstata, de cabeça e pescoço, seja em monoterapia ou em combinação

com outros fármacos como a doxorubicina, capecitabina e cisplatina (ANVISA, 2023; VASAN *et al.*, 2023).

A molécula de DTX (representada no Quadro 1) apresenta baixa solubilidade em meio aquoso (2 a 4,93 mg/L), além de ser um composto altamente lipofílico ($\log P > 3$) e possuir uma massa molecular elevada (807,87 g/mol), o que contribui para sua classificação como uma molécula "bola de graxa". Essas características justificam sua limitada solubilidade em água (CARVALHO, 2023; FANG *et al.*, 2015; MAZZAFERRO *et al.*, 2011).

Quadro 1 – Informações Docetaxel (DTX).

Fórmula estrutural DTX	
Solubilidade em água (mg/L)	2 a 4,93
Massa molar (g/mol)	807,87
Fórmula molecular	C ₄₃ H ₅₃ NO ₁₄
Aspecto	Pó cristalino branco ou quase branco.
Solubilidade	Praticamente insolúvel em água, livremente solúvel em etanol anidro, solúvel em cloreto de metileno.
Ponto de fusão (°C)	232
logP	4,1
pKa	10,97
Absorção no UV (nm)	232

Fonte: Adaptado de FANG *et al.* (2015); PUBCHEM (2023); USP (2020); MAZZAFERRO *et al.* (2011).

De acordo com HOU *et al.* (2021), o DTX apresenta uma atividade antitumoral potente, no entanto, sua aplicação clínica ainda é limitada por sua baixa solubilidade em água, distribuição seletiva insuficiente e rápida eliminação do organismo, o que afeta sua eficácia terapêutica, exigindo o desenvolvimento de formulações otimizadas. Além disso, as formulações disponíveis comercialmente contêm excipientes, como o polissorbato 80 e o etanol, que estão associados a alta toxicidade, incluindo hepatotoxicidade e reações de hipersensibilidade graves, como anafilaxia, mesmo com o uso de pré-medicação com corticosteroides (AHMAD *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2021; MAZZAFERRO *et al.*, 2011).

Alguns dos efeitos adversos relacionados ao DTX incluem neutropenia, neuropatia periférica e estenose do ducto nasolacrimal, além de retenção grave de líquidos. A neutropenia, aumenta o risco de infecções graves, sendo uma das principais complicações hematológicas associadas. Já a neuropatia periférica, pode limitar a capacidade do paciente de realizar atividades diárias e é dose-dependente, frequentemente piorando com o uso contínuo do fármaco. A estenose do ducto nasolacrimal pode causar lacrimejamento excessivo e desconforto ocular. Além disso, a retenção de líquidos pode resultar em edema, ascite e derrame pleural (AGÜEROS *et al.*, 2009; HAGER *et al.*, 2024).

Essas reações podem ser atenuadas com o uso de corticosteroides, como a dexametasona, que auxilia na redução da inflamação e previne a retenção de líquidos. No entanto, o uso prolongado de corticosteroides, especialmente em doses elevadas, também está associado a uma série de efeitos colaterais, como imunossupressão, aumento do risco de infecções, osteoporose e hiperglicemia. Além disso, estudos indicam que o uso crônico de corticosteroides pode aumentar a depuração do DTX, diminuindo sua eficácia antitumoral e potencialmente exigindo ajustes na dose para manter a resposta terapêutica ideal (AGÜEROS *et al.*, 2009; HAGER *et al.*, 2024).

Outro ponto crítico é a presença de etanol como excipiente, uma vez que pode causar intoxicação alcoólica, principalmente em pacientes sensíveis, como aqueles que já apresentam disfunção hepática ou comprometimento metabólico. Casos de intoxicação aguda por etanol durante a infusão intravenosa já foram relatados pelo FDA, levando à recomendação de monitoramento rigoroso desses pacientes para evitar complicações como sonolência, vertigem e, em casos mais graves, depressão respiratória (FDA, 2014).

Embora existam bastante desafios clínicos, o DTX continua sendo um dos medicamentos quimioterápicos mais lucrativos, gerando cerca de US\$ 3,5 bilhões em receita global. O mercado de DTX está projetado para crescer a uma taxa anual de 3,10% entre 2023 e 2031, com a Europa liderando esse aumento, devido à demanda crescente por alternativas terapêuticas eficazes no tratamento de cânceres resistentes (BEHESHTIZADEH *et al.*, 2024).

Até 2010, o DTX era comercializado na Europa em uma apresentação com dois frascos separados: um contendo DTX, ácido cítrico e polissorbato 80, e o outro com etanol a 95% em água para injeção. Esse processo complexo de preparação, além de potencialmente gerar erros durante a mistura, também apresentava maiores riscos de cristalização. Em resposta a esses desafios, a Sanofi-Aventis, em 2010, lançou uma nova apresentação em frasco único (solução concentrada para administração parenteral após diluição). Essa reformulação, simplificou o processo de preparo, reduziu o tempo de manuseio pelos profissionais de saúde, mas não eliminou totalmente o risco de cristalização (PÉTRONILLE *et al.*, 2020).

No Brasil, o taxotere® continua sendo o medicamento de referência registrado na ANVISA para a forma farmacêutica solução injetável (Tabela 1), disponível em apresentações de 20 mg/1,0 mL e 80 mg/4,0 mL. O processo de preparo da solução para administração intravenosa, envolve a retirada da quantidade necessária da solução concentrada de taxotere®, essa quantidade é transferida, através de uma injeção única, para uma bolsa ou frasco de infusão com 250 mL de solução glicosilada a 5% ou solução de cloreto de sódio 0,9%, a qual, deve ser utilizada dentro de 6 horas (incluindo 1 hora de infusão intravenosa), uma vez que é supersaturada, e portanto, pode cristalizar com o tempo (ANVISA, 2023).

Tabela 1 – Formulação Taxotere®.

Componente	Função
Docetaxel	Princípio ativo
Polissorbato 80	Solvente/tensoativo
Álcool etílico	Co-solvente/ veículo
Ácido cítrico	Agente corretor de pH

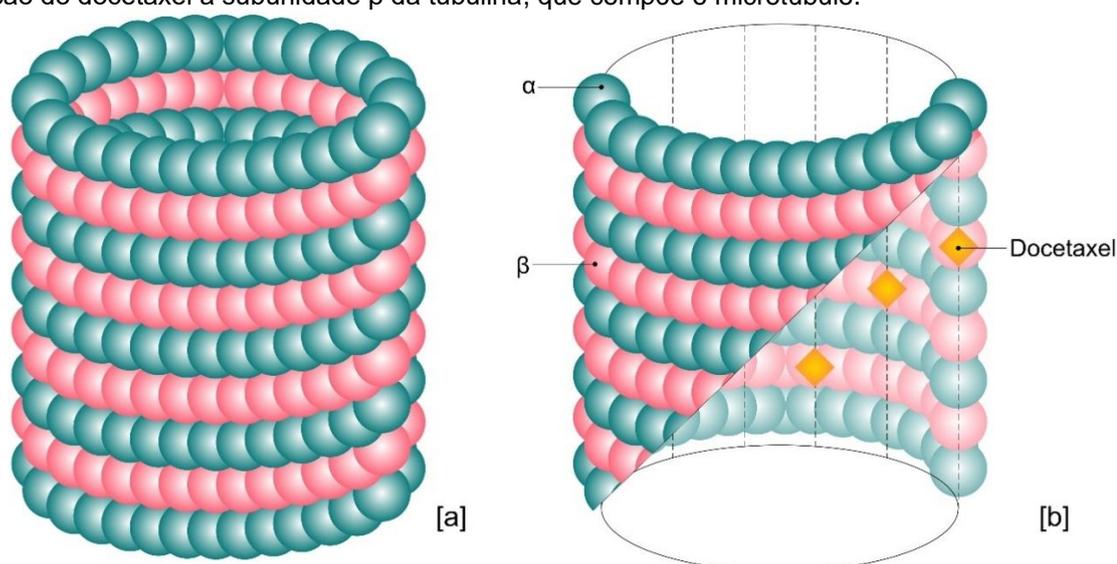
Fonte: Autor (2023).

3.3.1.1. Mecanismo de ação do DTX

O principal mecanismo anticancerígeno do DTX está relacionado à sua capacidade de interromper a função dos microtúbulos durante a progressão do ciclo celular, especificamente na fase G2/M, levando à apoptose (YANG *et al.*, 2022). Os microtúbulos desempenham papéis cruciais na biologia celular, como manutenção da forma celular, motilidade e, principalmente, na divisão celular (SOUZA, 2004). Eles são formados por dímeros de tubulina, compostos por subunidades alfa (α) e beta (β), que se polimerizam por meio da ligação a moléculas de GTP (guanossina 5' trifosfato), formando a estrutura dos microtúbulos (SOUZA, 2004; YANG *et al.*, 2022).

O DTX se liga diretamente à subunidade β da tubulina, estabilizando os microtúbulos e impedindo sua despolimerização (Figura 3). Esse bloqueio na dinâmica dos microtúbulos interrompe a divisão celular, resultando em apoptose (GUPTA *et al.*, 2023).

Figura 3 – Mecanismo de ação proposto para o DTX (a) Representação de um microtúbulo; (b) Ligação do docetaxel à subunidade β da tubulina, que compõe o microtúbulo.



Fonte: Adaptado de IMRAN *et al.* (2020); CARVALHO (2023).

O complexo formado entre os microtúbulos e o DTX não tem a capacidade de se desmontar, o que compromete a função celular. A instabilidade dinâmica dos microtúbulos, que envolve o encurtamento e alongamento constantes, é essencial para a divisão celular. A interrupção dessa dinâmica nas fases de metáfase e anáfase impede a divisão celular e resulta em morte celular (CHAURASIA *et al.*, 2023; GAO *et al.*, 2015; GUPTA *et al.*, 2023). Além de sua ação nos microtúbulos, o DTX também

inibe a angiogênese e afeta a via apoptótica, contribuindo para a morte celular tumoral (CARVALHO, 2023; NERIS *et al.*, 2016).

Além dos efeitos diretos sobre os microtúbulos, o DTX induz a formação de agregados anômalos, causando estresse intracelular, o que intensifica a destruição das células tumorais. Por isso, o DTX é amplamente utilizado no tratamento de cânceres sólidos, como câncer de mama, próstata e pulmão, especialmente em estágios avançados (FANG *et al.*, 2015; MAZZAFERRO *et al.*, 2011).

Além de suas propriedades citotóxicas, o DTX tem efeitos antitumorais indiretos, como a indução de senescência celular, impedindo que as células tumorais avancem no ciclo celular mesmo sem apoptose imediata. Estudos também indicam que o DTX pode modificar o microambiente tumoral, interferindo na angiogênese e na invasão celular, o que ajuda a reduzir a progressão tumoral, além de aprimorar a resposta imunológica, promovendo a exposição de antígenos tumorais e facilitando a ação de células imunológicas contra as células cancerígenas (BEHESHTIZADEH *et al.*, 2024).

3.3.1.2. Farmacocinética do DTX

A toxicidade do DTX depende da via de administração e de seu perfil farmacocinético, o qual segue um modelo de três compartimentos. Ele apresenta três fases diferentes com distintas meias-vidas: alfa (4,5 min), beta (38,3 min) e gama (12,2 h). Inicialmente, há uma rápida distribuição para os tecidos periféricos, seguida por uma fase terminal mais prolongada (FARHA, 2024).

A área sob a curva (AUC) é proporcional à dose administrada em infusões de 75 mg/m² a 100 mg/m², o que demonstra um comportamento linear dentro dessa faixa de dosagem. O DTX é tipicamente administrado por via intravenosa (semanal ou a cada três semanas), resultando em níveis elevados do medicamento no fígado, músculos, estômago e ductos biliares, embora sua depuração ocorra rapidamente nos primeiros 15 minutos após a administração (BEHESHTIZADEH *et al.*, 2024).

O volume de distribuição em estado estacionário é estimado em aproximadamente 113 litros, indicando uma ampla disseminação nos tecidos corporais. O DTX liga-se predominantemente a lipoproteínas, albumina e outras proteínas plasmáticas, com cerca de 94% a 97% do fármaco se ligando

principalmente à α 1-glicoproteína ácida (AAG), o que limita a fração livre disponível para sua ação terapêutica (BRADSHAW-PIERCE, 2007; FARHA, 2024).

Quando administrado por via oral, a concentração significativa de glicoproteína P no trato gastrointestinal e a forte tendência do DTX de se ligar a ela resultam em uma biodisponibilidade oral inferior a 10% (BEHESHTIZADEH *et al.*, 2024). O metabolismo do DTX ocorre predominantemente no fígado, mediado pela enzima CYP3A4, que transforma o fármaco em metabólitos inativos. Aproximadamente 70% a 80% do DTX é metabolizado por essa via, destacando a relevância da função hepática para sua eliminação (GAO *et al.*, 2015; BRADSHAW-PIERCE, 2007). A coadministração de medicamentos que inibem ou induzem a CYP3A4 pode alterar significativamente a farmacocinética do DTX, aumentando o risco de toxicidade ou diminuindo sua eficácia (BRADSHAW-PIERCE, 2007).

A excreção do DTX ocorre predominantemente pelas fezes, com cerca de 75% do fármaco sendo eliminado por essa via, e apenas 6% sendo excretado pela urina (FARHA, 2024).

A meia-vida de eliminação terminal do DTX varia consideravelmente, com valores médios na literatura entre 11 e 116 horas, sugerindo uma alta variabilidade interindividual (BRADSHAW-PIERCE, 2007). Essa variabilidade destaca a importância de ajustar a dose em pacientes com comprometimento hepático, que podem ter uma meia-vida prolongada e, conseqüentemente, maior risco de toxicidade (EMA, 2024).

3.3.1.3. Solubilidade do DTX

A solubilidade é uma das principais características que determinam o desenvolvimento de novos medicamentos, bem como a escolha da forma farmacêutica e, conseqüentemente, a eficácia dos medicamentos. Por esse motivo, é amplamente estudada por pesquisadores, tanto na indústria quanto na academia, com o objetivo de melhorar essa propriedade físico-química, inerente a cada tipo de molécula, e viabilizar formulações farmacêuticas que garantam segurança e eficácia. (DAS *et al.*, 2020; DE VARGAS *et al.*, 2012; GOMES *et al.*, 2015).

Fármacos pouco solúveis em água são um desafio para o desenvolvimento farmacêutico e aplicação clínica (LIU *et al.*, 2023), visto que a solubilidade é

fundamental para alcançar a concentração desejada do fármaco na circulação sistêmica (NICOLETTI *et al.*, 2023).

Em 1995, Amidon e colaboradores propuseram o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), que divide os fármacos de acordo com suas características de solubilidade e permeabilidade em quatro classes (Tabela 2) (AMIDON *et al.*, 1995). O SCB é uma abordagem científica baseada nas características de solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal da substância ou substâncias medicamentosas (FDA, 2022).

Tabela 2 – Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) proposto por Amidon *et al.* (1995).

	Classe I	Classe II	Classe III	Classe IV
Solubilidade	Alta	Baixa	Alta	Baixa
Permeabilidade	Alta	Alta	Baixa	Baixa

Fonte: Adaptado de AMIDON *et al.* (1995).

De acordo com o FDA, um fármaco é considerado altamente solúvel quando a sua maior dose é solúvel em 250 mL (volume segundo o protocolo de estudos de bioequivalência) ou menos, em meio aquoso na faixa de pH de 1,0-7,5. Caso contrário, o fármaco é considerado pouco solúvel. Por outro lado, a classificação de permeabilidade é baseada diretamente na extensão da absorção no intestino, *in vivo* ou *in vitro*. Um fármaco permeável é aquele em que a biodisponibilidade absoluta é $\geq 85\%$ ou ainda $\geq 85\%$ da dose administrada for recuperada na urina como inalterada (FDA, 2022).

A baixa solubilidade em água limita a biodisponibilidade e a absorção de fármacos (CHEN *et al.*, 2011), além de afetar a estabilidade da formulação (KIPP, 2004). Moléculas hidrofóbicas geralmente requerem altas doses e precisam de regimes de alta dosagem para atingir as concentrações plasmáticas terapêuticas após a administração (BHALANI *et al.*, 2022).

As formulações parenterais evitam o trato gastrointestinal, o que permite uma melhor biodisponibilidade do fármaco em comparação com formulações orais, características que as torna extremamente úteis na prática clínica, pois fornecem uma via alternativa para administrar medicamentos. No entanto, no desenvolvimento de uma formulação parenteral, as propriedades intrínsecas do fármaco, principalmente a

baixa solubilidade, são um dos maiores desafios a serem superados, visto que a maioria das formulações parenterais são à base de água. Além disso, escolher os excipientes certos para formulações pode ser extremamente difícil, especialmente para fármacos pouco solúveis em água como os quimioterápicos, uma vez que alguns excipientes como os surfactantes (apesar da melhora aparente da solubilidade em água do insumo ativo) podem causar intolerância no local da injeção (FERREIRA *et al.*, 2022).

O DTX é classificado como um fármaco de classe IV, caracterizado por baixa solubilidade e baixa permeabilidade. Para melhorar sua solubilização, utilizam-se surfactantes não iônicos, como o polissorbato 80, e etanol (BHALANI *et al.*, 2022; AHMAD *et al.*, 2014; MAZZAFERRO *et al.*, 2011). O polissorbato 80 desempenha um papel crucial nesse processo, formando micelas, estruturas esféricas em que as partes hidrofóbicas encapsulam o fármaco lipofílico no interior, aumentando sua solubilidade em meio aquoso (BHALANI *et al.*, 2022). O etanol, por sua vez, reduz a polaridade do meio, facilitando ainda mais a solubilização do DTX ao diminuir a tensão superficial da solução (GHADI e DAND, 2017). No entanto, o uso desses solventes pode resultar em toxicidade e reações adversas (AHMAD *et al.*, 2014), conforme já mencionado acima.

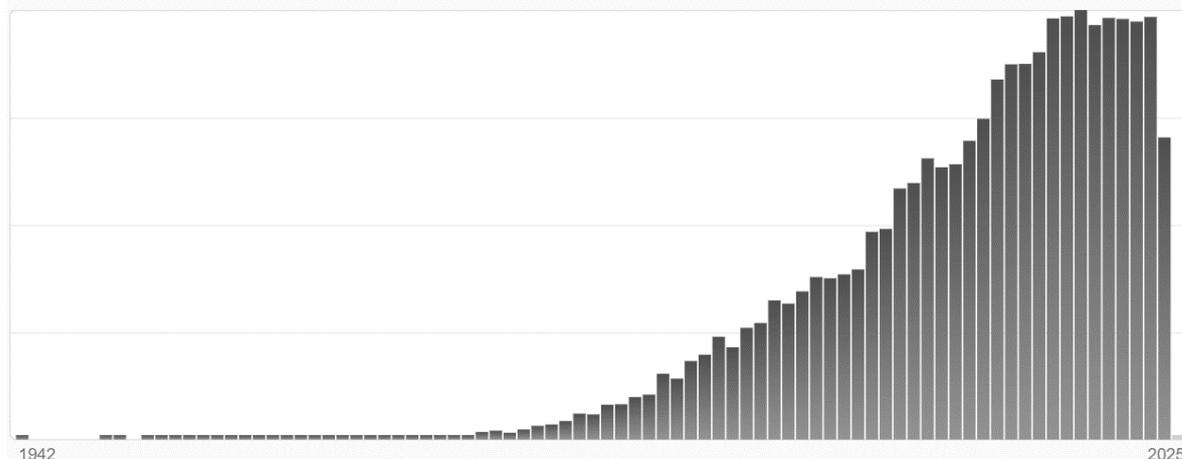
3.4. Ciclodextrinas (CDs)

As CDs são conhecidas há muitas décadas. A primeira descrição científica foi em 1891, por Antoine Villiers, que estudou a obtenção de dextrinas cristalinas por meio da digestão enzimática de amido de batata por *Bacillus amylobacter* (LOFTSSON e DUCHENE, 2007). Em 1953, a primeira patente para o uso em produtos farmacêuticos com CDs foi obtida por Freudenberg e colaboradores (FERREIRA *et al.*, 2022).

Uma pesquisa realizada na plataforma *SciFinder*, utilizando a ferramenta *Chemical Abstracts Service (CAS)*, revelou que já foram publicadas cerca de 105.000 pesquisas em todo o mundo relacionadas a CDs em geral. Esses números refletem a relevância crescente das CDs, não apenas em pesquisas acadêmicas, mas também em aplicações industriais e tecnológicas. Somente em 2024, foram publicadas 3.315 novas pesquisas (Figura 4). Além das publicações científicas, um total de 36.000

patentes relacionadas as CDs já foram depositadas globalmente, indicando o forte potencial comercial e a diversidade de aplicações.

Figura 4 – Número de publicações mundiais relacionadas com CDs, no período entre 1942 a 2024.



Fonte: SciFinder (2024).

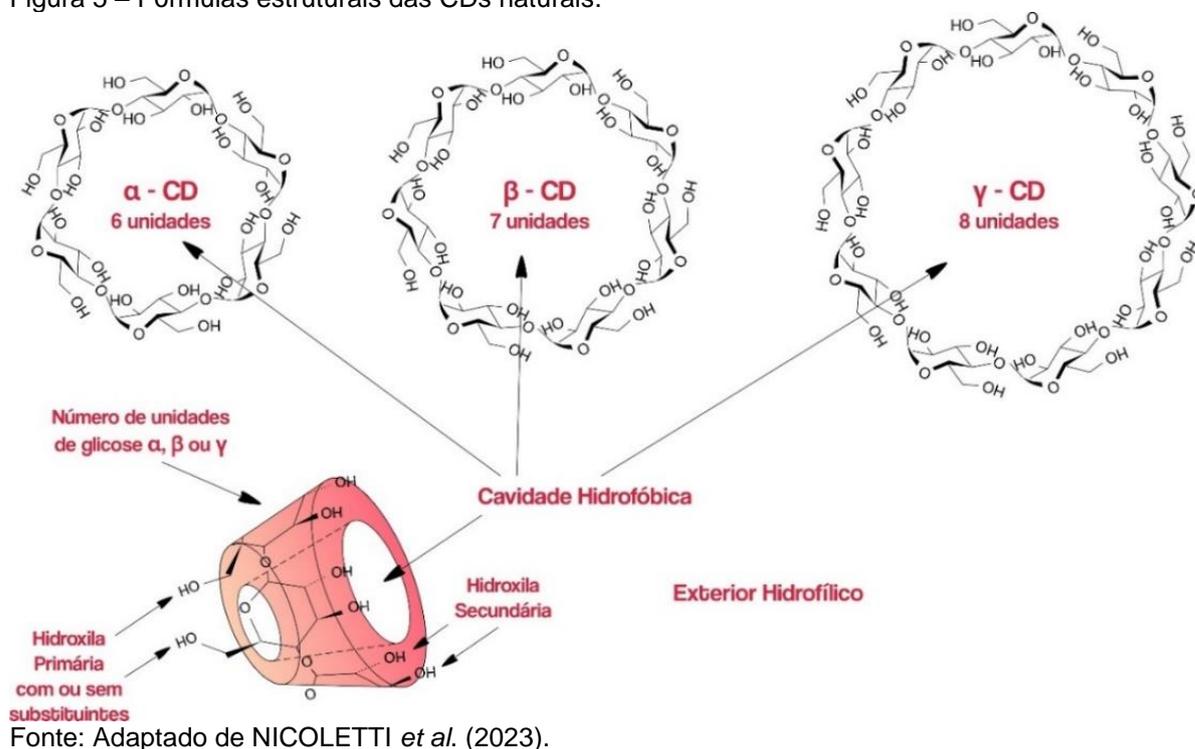
CDs são oligossacarídeos cíclicos, formados pela degradação enzimática bacteriana do amido por ação da enzima glicosiltransferase (CGTase). Elas são compostas por pelo menos seis unidades de glicopiranosose ligadas por uma ligação α . As CDs mais abundantes e de ocorrência natural contêm seis, sete e oito unidades de glicopiranosose e são denotadas α -CD, β -CD e γ -CD (Figura 5), respectivamente (CARRIER *et al.*, 2007; CID-SAMAMED *et al.*, 2022; MATENCIO *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2022).

A estrutura do anel macrocíclico da CD é cônica, com uma cavidade interna que contém um esqueleto carbônico ligado a grupos hidroxilas e oxigênios por meio de ligações glicosídicas orientadas para o interior do anel. Essa configuração cria uma zona de alta densidade eletrônica dentro da cavidade, que é hidrofóbica, enquanto as hidroxilas voltadas para o exterior tornam a superfície externa hidrofílica (NICOLETTI *et al.*, 2023).

A dicotomia entre o interior hidrofóbico e o exterior hidrofílico é uma das propriedades mais marcantes das CDs, conferindo-lhes a capacidade de formar complexos de inclusão estáveis com uma ampla variedade de moléculas, tanto hidrofóbicas quanto anfifílicas, de maneira parcial ou total. Esse encapsulamento pode aumentar significativamente a solubilidade aparente das moléculas em água, além de

melhorar sua estabilidade, protegendo-as de fatores como oxidação, luz e calor (JANSOOK e LOFTSSON, 2022; FERNÁNDEZ *et al.*, 2019).

Figura 5 – Fórmulas estruturais das CDs naturais.

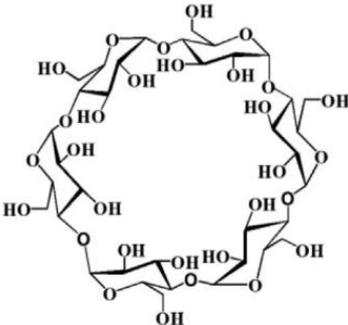
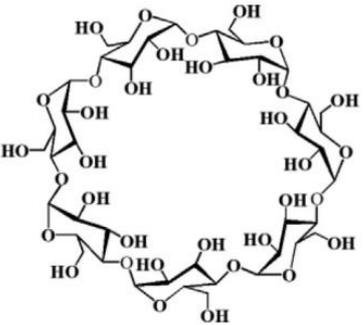
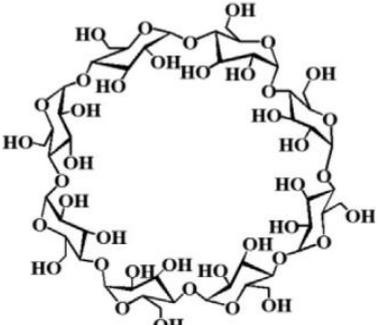


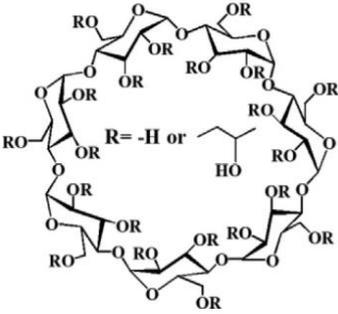
Entre as CDs naturais, a β-CD é a que apresenta a menor solubilidade, devido a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares, apresentando pouca interação com as moléculas da água. Essas interações tornam a estrutura rígida e impedem a sua hidratação pelas moléculas de água. Na α-CD, apenas quatro das seis possíveis ligações de hidrogênio podem ser estabelecidas, porque uma unidade de glicose encontra-se em posição distorcida. A γ-CD, por possuir uma estrutura não coplanar é a mais flexível e a mais solúvel das CDs naturais (NICOLETTI *et al.*, 2023).

A administração parenteral de β-CDs pode causar nefrotoxicidade, devido à formação de complexos insolúveis com colesterol, e hemólise de eritrócitos (MORAES *et al.*, 2007). Para mitigar esses efeitos, foram desenvolvidas CDs modificadas (Tabela 3), como hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD), hidroxipropil-γ-ciclodextrina (HP-γ-CD), sulfobutil-éter-β-ciclodextrina (SBE-β-CD) e dimetil-β-ciclodextrina (DM-β-CD) (MIHOUB *et al.*, 2018; ARRUDA *et al.*, 2021; FERREIRA *et al.*, 2022; JANSOOK e LOFTSSON, 2022; WANG *et al.*, 2023).

Essas modificações são eficazes para aumentar ainda mais a solubilidade das CDs e capacidade de formação de complexos de inclusão, além de ampliar suas aplicações na indústria farmacêutica. (FERREIRA *et al.*, 2022; SARABIA-VALLEJO *et al.*, 2023).

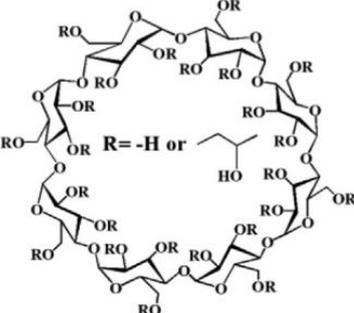
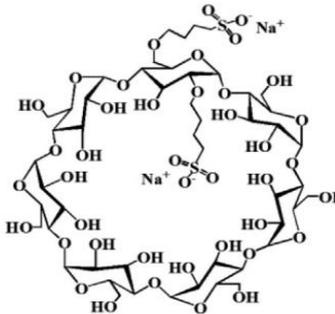
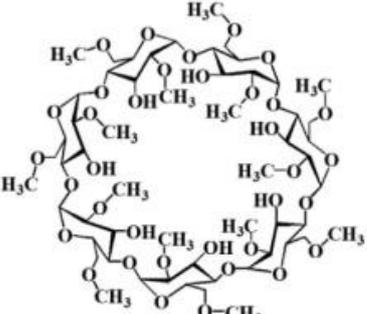
Tabela 3 – Comparação entre CDs naturais e quimicamente modificadas.

Tipo de Ciclodextrina	Estrutura química	Diâmetro da cavidade interna (Å)	Solubilidade em água (mg/mL) a 25 °C	Massa molecular (g/mol)
CDs naturais				
α-ciclodextrina		4,5–5,3	145	972
β-ciclodextrina		6,0–6,5	18,5	1135
γ-ciclodextrina		7,5–8,3	232	1297
CDs quimicamente modificados				

Hidroxiopropil- β -ciclodextrina		6,0–6,5	>600	1400
----------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	---------	------	------

[continua]

Tabela 3 – Comparação entre CDs naturais e quimicamente modificadas.

Tipo de Ciclodextrina	Estrutura química	Diâmetro da cavidade interna (Å)	Solubilidade em água (mg/mL) a 25°C	Massa molecular (g/mol)
Hidroxiopropil- γ -ciclodextrina		7,5–8,3	>500	~1576
Sulfobutil-éter- β -ciclodextrina		6,0–6,5	>500	2163
Dimetil- β -ciclodextrina		6,0–6,5	>500	1331

Fonte: Adaptado de MIHOUB *et al.* (2018) e WANG *et al.* (2023).

As CDs quimicamente modificadas de maior interesse farmacêutico incluem aquelas resultantes da introdução do radical hidroxipropil na β -CD e γ -CD, substituindo as hidroxilas em C2, C3 e C6. Essas modificações aumentam a solubilidade e a estabilidade dos complexos de inclusão formados com fármacos. Outro derivado de destaque é a sulfobutil-éter- β -ciclodextrina, um derivado polianiónico cuja introdução do radical $R = -(CH_2)_4SO_3Na^+$ permite a complexação de moléculas neutras. Além disso, derivados metilados, como a dimetil- β -ciclodextrina, também são amplamente empregados na indústria farmacêutica devido às suas propriedades aprimoradas de solubilização (JANSOOK e LOFTSSON, 2008).

As aplicações das CDs abrangem diversos campos, como química, farmácia, biologia, medicina, indústria alimentícia, cosmetologia e biotecnologia. No entanto, seu papel mais destacado está na indústria farmacêutica (CRINI e ALEYA, 2022).

Além de melhorar a solubilidade e estabilidade de fármacos, as CDs permitem manipular compostos voláteis, reduzir sabores e odores desagradáveis e minimizar os efeitos irritantes de certos compostos. Além disso, elas podem atuar na modulação da taxa de liberação dos fármacos, funcionando como excipientes para liberação controlada. As CDs são frequentemente descritas como transportadoras eficientes, mantendo compostos hidrofóbicos em solução e facilitando sua entrega à superfície das membranas biológicas (MOKHTAR *et al.*, 2018).

Estudos demonstram que fármacos pouco solúveis em água, como o DTX quando complexados com CDs, se dispersam de forma mais eficaz em matrizes hidrofílicas, aumentando sua solubilidade, suas concentrações sanguíneas e, conseqüentemente, suas respostas biológicas (HUANG *et al.*, 2011; FERRATI *et al.*, 2015; CRINI e ALEYA, 2022). As CDs também atuam como intensificadoras de permeação, aumentando a concentração de fármacos nas membranas biológicas. No entanto, devido à sua grande estrutura e caráter hidrofílico, as CDs não atravessam as membranas biológicas por difusão passiva, sendo sua baixa toxicidade uma vantagem significativa em comparação com outros excipientes. Essa baixa toxicidade se deve à sua baixa absorção sistêmica e excreção praticamente inalterada, o que minimiza o risco de efeitos adversos (BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

As vantagens oferecidas pelas CDs justificam sua inclusão em diversas formulações farmacêuticas já disponíveis comercialmente (Tabela 4).

Fármaco	Forma Farmacêutica	CD
Limaprost	Comprimido	α -CD
Aceclofenaco	Comprimido	β -CD
Ácido salicílico	Loção tópica	β -CD
Cetirizina	Comprimido mastigável	β -CD
Dexametasona	Creme tópico	β -CD

[continua]

Tabela 4 – Exemplos de medicamentos que empregam CDs, disponíveis no mercado.

Fármaco	Forma Farmacêutica	CD
Etinilestradiol	Comprimido	β -CD
Histamina	Creme tópico	β -CD
Meloxicam	Comprimido, supositório	β -CD
Metronidazol	Gel vaginal	β -CD
Nicotina	Comprimido sublingual, comprimido mastigável	β -CD
Nimesulida	Comprimido, sachê oral	β -CD
Omeprazol	Comprimido	β -CD
Piroxicam	Comprimido, supositório, adesivo transdérmico	β -CD
Minoxidil	Solução tópica	γ -CD
Diclofenaco sódico	Solução IV e IM, solução oftálmica	HP- β -CD
	Solução oftálmica	HP- γ -CD
Hidrocortisona	Solução oral	HP- β -CD
Itraconazol	Solução IV	HP- γ -CD
	Solução oral, solução IV	HP- β -CD
Voriconazol	Comprimido	HP- β -CD
	Solução IV	SBE- β -CD
Amiodarona	Solução IV	SBE- β -CD
Carfilzomibe	Solução IV	SBE- β -CD
Aripiprazol	Solução IM	SBE- β -CD
Tc-99m Teoboroxima	Solução IV	HP- γ -CD

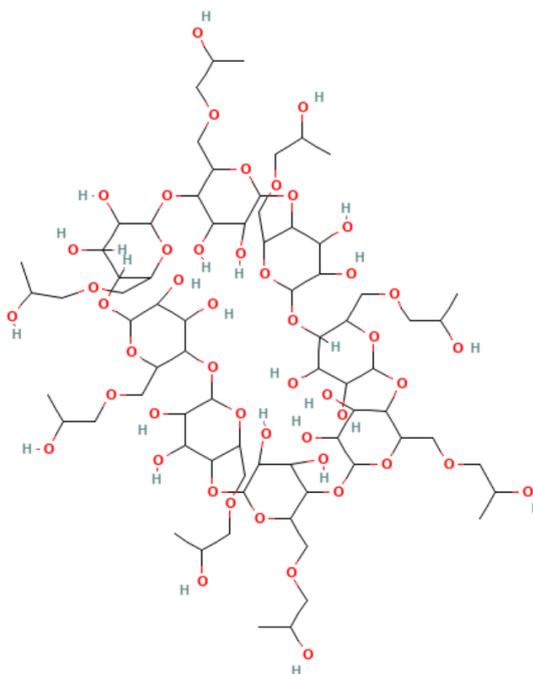
Fonte: Adaptado de NICOLETTI *et al.* (2023) e PUSKÁS, *et al.* (2023).

3.4.1. Hidroxipropil-gama-ciclodextrina (HP- γ - CD)

A HP- γ -CD é um derivado modificado da γ -CD. A modificação hidroxipropila envolve a substituição de alguns dos grupos hidroxila (-OH) nas posições C2, C3 ou C6 das unidades de glicose pela adição de grupos hidroxipropila (-CH₂CH(OH)CH₃). Essa modificação ocorre por meio de uma reação de alquilação, onde agentes de hidroxipropilação, como óxido de propileno (BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

A adição de grupos hidroxipropila aumenta substancialmente sua solubilidade em água, chegando a mais de 500 mg/mL, devido à sua estrutura amorfa e não cristalina, o que facilita a formação de complexos de inclusão com moléculas hidrofóbicas. Esses complexos podem aumentar a biodisponibilidade dos fármacos, especialmente aqueles com baixa solubilidade aquosa (LOFTSSON e DUCHENE, 2007).

Figura 6 – Estrutura da HP- γ - CD.



Fonte: PUBCHEM (2024).

Alguns exemplos de formulações comerciais em que a HP- γ -CD é utilizada incluem o diclofenaco de sódio/Voltaren (colírio) da Novartis, que utiliza a HP- γ -CD para aumentar a solubilidade e biodisponibilidade ocular, o Itraconazol (solução injetável) da Altan, onde a HP- γ -CD solubiliza esse antifúngico lipofílico, e o Tc-99 Teboroxima/Cardiotec (solução injetável) da Bracco, para diagnósticos cardíacos

(PUSKÁS *et al.*, 2023). Essas formulações demonstram a versatilidade da HP- γ -CD em medicamentos tópicos e injetáveis.

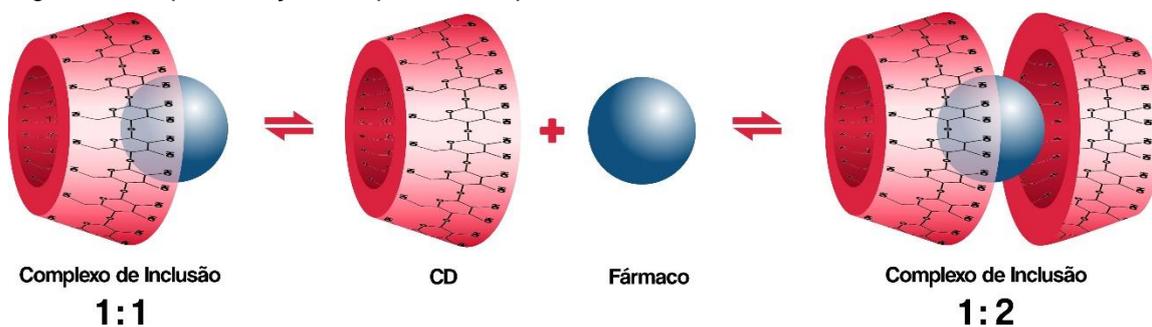
Estudos toxicológicos indicam que a HP- γ -CD é amplamente segura em doses terapêuticas. Após a administração, ela é eliminada pelos rins com baixo risco de bioacumulação. Em comparação com a β -CD, a HP- γ -CD tem um perfil toxicológico superior, com menor incidência de irritação ou reações adversas, além de oferecer uma solução mais segura, uma vez que não forma complexos cristalinos nos rins, melhorando assim a tolerabilidade e segurança, sendo apropriada para uma variedade de formulações, incluindo uso tópico e injetável (LU *et al.*, 2024; MORAES *et al.*, 2007).

A HP- γ -CD possui o status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pela FDA e é aprovada como excipiente pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA). Isso garante sua segurança para o uso em uma ampla gama de formulações farmacêuticas, permitindo sua aplicação em produtos inovadores com alta demanda de solubilidade e estabilidade de fármacos (BRAGA, 2019).

3.4.2. Complexos de inclusão (Fármaco-CD)

A principal característica das CDs é a sua capacidade de formar complexos de inclusão pelo fenômeno de interação supramolecular. No complexo de inclusão, a molécula hóspede (fármaco) é inserida na molécula hospedeira (CD), sem que haja rompimento ou formação de ligação covalente entre o fármaco e a CD. A fração lipofílica total ou parcial do fármaco pouco solúvel em água é aprisionada na cavidade central hidrofóbica da CD (Figura 7) (SHALABY *et al.*, 2021; NICOLETTI *et al.*, 2023; SADAQUAT *et al.*, 2021).

Figura 7 – Representação de tipos de complexos de inclusão CD-fármaco.



Fonte: Autor (2023).

As forças motrizes para a formação do complexo incluem a liberação de moléculas de água ricas em entalpia da cavidade hidrofóbica da CDs, interações de *van der Waals*, interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas. O tamanho da molécula do fármaco é um fator crítico para o mecanismo de inclusão porque elas devem caber na cavidade da CD (JANSOOK e LOFTSSON, 2022).

De acordo com Nicoletti *et al.* (2023), existem quatro conexões energeticamente favoráveis que ajudam a alcançar o equilíbrio para formar o complexo de inclusão:

1. Deslocamento das moléculas de água da cavidade da CD.
2. Aumento do número de ligações de hidrogênio formadas conforme a água retorna para cavidade.
3. Diminuição de conexões repulsivas entre molécula-hóspede hidrofóbica e o meio aquoso.
4. Aumento das interações hidrofóbicas conforme a molécula-hóspede se insere na cavidade da CD.

Vários fármacos anticancerígenos já foram complexados com CD naturais e modificadas para melhorar suas propriedades físicas e químicas e aumentar a solubilidade, estabilidade, biodisponibilidade, dissolução e diminuir a toxicidade (SADAQUAT *et al.*, 2021).

A complexação de doxorubicina com γ -CD e HP- γ -CD melhorou sua permeabilidade através da barreira hematoencefálica (MONNAERT *et al.*, 2004). A complexação do lmitanibe com β -CD, aumentou sua solubilidade (BÉNI *et al.*, 2007). A estabilidade da doxorubicina e do PTX também aumentou após a complexação com HP- γ -CD (SINGLA *et al.*, 2002).

Esses resultados indicam que a formação de complexos de inclusão com CDs apresenta um impacto positivo sobre diversos aspectos dos fármacos. Com DTX, como descrito anteriormente, há trabalhos que indicaram vantagens na taxa de dissolução, biodisponibilidade oral e toxicidade contra células tumorais, após complexação com Me- β -CD, β -CD, HP- β -CD e SBE- β -CD (MAZZAFERRO *et al.*, 2011; SADAQUAT e AKHTAR, 2020; REN *et al.*, 2020). Porém não há, de nosso conhecimento, estudos da complexação com HP- γ -CD.

Vários métodos podem ser utilizados para o preparo de complexos de inclusão incluindo: co-solubilização, co-precipitação, co-evaporação, secagem por pulverização, malaxagem, moagem, fluido supercrítico e liofilização. Os métodos de complexação empregados constituem processos de relativa simplicidade, sendo a seleção da abordagem experimental uma decisão que, de maneira crucial, se pauta nas propriedades inerentes ao fármaco em questão, bem como na determinação se o processo ocorrerá em âmbito laboratorial ou industrial (BHALANI *et al.*, 2022; JANSOOK e LOFTSSON, 2022).

4. MATERIAIS e MÉTODOS

O fármaco docetaxel (DTX) e todos os solventes e reagentes, foram disponibilizados pelo Laboratório de Biomembranas, Instituto de Biologia/UNICAMP e seus parceiros. A hidroxipropil- γ -ciclodextrina (HP- γ -CD) (Cavasol W8 HP) foi obtida através de doação da empresa Ashland Brasil.

4.1. Caracterização do DTX livre por espectrofotometria UV-VIS

A espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta/visível (UV/VIS) é um método analítico amplamente utilizado, que se baseia na capacidade de espécies iônicas ou moleculares absorverem luz na faixa de 200 a 700 nm (LYRA *et al.*, 2010).

A intensidade da radiação absorvida pela amostra é medida e, por meio da Lei de Lambert-Beer, pode ser diretamente relacionada à concentração da espécie absorvente (ROCHA e TEIXEIRA, 2004).

De acordo com a Farmacopeia Americana, o DTX apresenta absorção máxima de luz em 232 nm (USP, 2020). Para confirmar esse comprimento de onda, foi preparada uma solução de DTX a 6 μ M, correspondente à sua solubilidade em água (FANG *et al.*, 2015). O espectro de absorção foi obtido na faixa de 200 a 500 nm, utilizando uma cela de 1 cm de caminho óptico no espectrofotômetro Bio-Varian (Cary 50/Austrália). O mesmo experimento foi realizado utilizando tampão acetato 0,01 M pH 5,0.

4.2. Determinação da solubilidade aquosa do DTX

A solubilidade de substância pura em dado solvente, à temperatura constante, é parâmetro característico da mesma, podendo servir para fins de identificação e

avaliação de grau de pureza (ANVISA, 2019). A solubilidade do DTX em água foi determinada pela área do pico, em um Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Waters Breeze (Waters Technol, MA/EUA) de acordo com a condições descritas na (Tabela 5).

O experimento foi conduzido com dez concentrações diferentes de DTX, variando de 1 a 10 μM , em triplicata (KÖNCZÖL, 2018). Com os dados obtidos, foram construídas curvas de calibração para avaliar o ponto de inflexão, correspondente à máxima solubilidade aquosa.

Tabela 5 – Condições utilizadas no CLAE para medida de solubilidade aquosa do DTX.

Parâmetros	Condições
Coluna	C18 5 μ 150 x 4,60 mm (Luna)
Temperatura forno	30 °C
Fase Móvel	Água:Metanol, 30:70 (v/v)
Fluxo	1 mL.min ⁻¹
Volume de Injeção	20 μL
Comprimento de onda	232 nm

Fonte: Autor (2024).

4.3. Preparo do Complexo DTX:HP- γ -CD

4.3.1. Tempo de Equilíbrio

Um requisito muito importante para a complexação, é que o grupo hidrofóbico da molécula a ser incluída se ajuste total ou parcialmente na cavidade da CD. Para o complexo formado, em solução aquosa, é estabelecido um equilíbrio dinâmico entre as moléculas do hospedeiro (CD) e convidado (fármaco), pois essas moléculas associam-se e dissociam-se constantemente (KUBOTA *et al.*, 2010). Desta forma, a determinação do tempo mínimo para atingir o equilíbrio de complexação é um parâmetro importante para otimizar e garantir a reprodutibilidade do preparo de complexos de inclusão.

O tempo de equilíbrio entre o DTX e a HP- γ -CD foi determinado monitorando as alterações na absorbância a 232 nm, com medições realizadas a cada hora durante 20 horas, seguidas de leituras adicionais em 24 e 48 horas. A solução de DTX (6 μM) foi exposta a um excesso de HP- γ -CD (30 μM), sob agitação a 350 rpm e a uma temperatura de 25 °C.

Mudanças nas propriedades ópticas, como deslocamentos hipercrômicos (aumento da intensidade de absorção) e hipsocrômicos (deslocamento do comprimento de onda para valores menores), são frequentemente observadas quando o fármaco é incorporado ao complexo de CD. Essas mudanças ocorrem porque o ambiente dentro da cavidade do complexo é menos polar em comparação ao meio aquoso, o que altera a interação do fármaco com a luz (MURA, 2015).

4.3.2. Determinação da estequiometria do complexo de inclusão

Um fator importante na complexação de fármacos é a estequiometria do complexo de inclusão. As CDs formam complexos relativamente não específicos com uma grande variedade de substratos e a principal condição a ser atendida é que o fármaco possa se adaptar à cavidade, ainda que parcialmente (VENTURINI *et al.*, 2008).

Um método bem estabelecido e bastante utilizado para determinar a estequiometria de complexos é o de *Job plot* ou método de variação contínua (SAHA *et al.*, 2016; RAJBANSHI *et al.*, 2023).

Este método, permite que um parâmetro físico diretamente relacionado com a concentração do complexo possa ser medido e representado graficamente em função de (**r**), a razão molar fármaco/CD (LYRA *et al.*, 2010). O valor máximo para este parâmetro ocorre em: $r = m / (m+n)$, onde **m** é a proporção molar do fármaco e **n** a proporção molar da CD no complexo, ou seja, se a estequiometria for 1:1 ($m + n = 2$) o valor máximo para o parâmetro examinado é observado em $r=0,5$ (DOMINGUES, 2020).

Para o experimento, preparou-se soluções estoques de DTX e HP- γ -CD e a partir delas foram feitas diluições em um volume final de 5 mL (completado com água deionizada) de modo que houvesse concentrações crescentes de DTX e decrescentes de HP- γ -CD sendo a concentração molar final estabelecida em 6 μ M (DTX + CD), porém com razões molares variando de 0:10 a 10:0 de DTX e HP- γ -CD (CARVALHO, 2007).

As concentrações foram utilizadas para encontrar o valor de (**r**) (razão molar DTX/ HP- γ -CD) de acordo com a Equação [1] (PESSINE, 2012).

$$(r) = \frac{[DTX]}{\{[DTX]_{total} + [HP\gamma CD]_{total}\}} \quad [1]$$

Para análise, frascos erlenmeyers, permaneceram sob agitação em temperatura ambiente a 350 rpm, respeitando-se o tempo de equilíbrio (6 h) determinado como descrito no item 4.3.1. Ao final deste tempo, foram realizadas as leituras em triplicata, por meio de espectrofotometria UV no comprimento de onda de 232 nm, objetivando observar mudanças na intensidade da absorção por variação na concentração de DTX e HP- γ -CD.

4.3.3. Preparo do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD

O complexo de inclusão entre o DTX e a HP- γ -CD foi obtido utilizando o método de co-solubilização, uma técnica amplamente descrita na literatura. Esse método é eficaz para a formação de complexos de inclusão e envolve a dissolução tanto do fármaco quanto da CD em solventes adequados, seguidos pela mistura dessas soluções sob agitação contínua. O princípio básico dessa técnica é garantir que ambos os componentes estejam completamente solubilizados em soluções compatíveis antes da mistura, permitindo que as interações intermoleculares ocorram de forma eficiente (RAO *et al.*, 2006; MELO *et al.*, 2007; FRACETO *et al.*, 2007).

Para a preparação do complexo de inclusão, 12,3 μ M de DTX (considerando a massa molecular de 807,87 g/mol) foram solubilizados em 10 mL de álcool etílico absoluto (Labsynth Ltda, Brasil). Em paralelo, 24,6 μ M de HP- γ -CD (com massa molecular de 1570 g/mol) foram solubilizados em tampão acetato 0,01 M (pH 5,0), respeitando a estequiometria previamente determinada no item 4.3.2 de 1:2 (DTX:HP- γ -CD).

A solução contendo a HP- γ -CD foi adicionada lentamente à solução contendo o DTX, visando garantir uma complexação eficiente e evitar a precipitação ou formação de agregados indesejados e a mistura foi agitada em uma chapa magnética (Fisatom, Brasil) a 350 rpm e 25 °C, até que a completa solubilização e o tempo de equilíbrio de complexação fossem alcançados.

Após a formação do complexo, a solução foi submetida a um rotaevaporador (Heidolph Hei-VAP Value Digital, Alemanha) para a remoção dos solventes, resultando em um sólido, o qual foi ressuspenso em tampão acetato.

O material obtido foi então fracionado em frascos ampola de vidro e submetido ao processo de liofilização para garantir sua estabilidade (GRILLO *et al.*, 2008; JUG e MURA, 2018).

Figura 8 – Esquema geral do preparo do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD.



Fonte: Autor (2023).

4.3.4. Liofilização do complexo DTX:HP- γ -CD

A secagem do complexo de inclusão formado foi realizada através da técnica de liofilização, levando a formação de pós amorfos com alto grau de interação entre o fármaco e a CD. Na liofilização a água é removida por sublimação, através do congelamento e posterior secagem primária e secundária sob pressão reduzida (KUMAR *et al.*, 2011).

A liofilização do complexo foi realizada no liofilizador (LyoStar 3, SP Scientific, EUA). As amostras foram colocadas em frascos ampola de 10 mL, os quais foram vedados com batoque semiaberto.

4.3.5. Determinação da solubilidade do complexo DTX:HP- γ -CD

A solubilidade do complexo foi determinada pela área do pico em 232 nm, determinada por CLAE, de acordo com a condições descritas na Tabela 5 do item 4.2.

Para isso foi preparada uma solução saturada de DTX:HP- γ -CD (300 μ M) e a partir desta foram feitas diluições de 6 a 300 μ M, de modo que, em volume final de 2 mL (completado com tampão acetato 0,01 M pH 5,0), houvesse pontos acima e abaixo da solubilidade.

Após agitação e centrifugação, o sobrenadante de cada tubo foi lido em 232 nm em um Cromatógrafo Líquido de alta eficiência (CLAE) Waters Breeze (Waters Technol, MA/EUA) e os resultados de variação de área serviram para construção das curvas de calibração.

4.4. Caracterização do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD

4.4.1. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os métodos térmicos são amplamente utilizados na caracterização de complexos de inclusão, principalmente pela precisão e rapidez das análises. DSC permite a detecção quantitativa de todos os processos que requerem energia (FIGUEIRAS *et al.*, 2007). O calorímetro é um instrumento analítico importante na caracterização de interações de fármacos e CDs no estado sólido (ARAÚJO *et al.*, 2009). A formação do complexo de inclusão pode ser identificada nos perfis de DSC, pelo desaparecimento de picos endotérmicos ou exotérmicos e por variações relevantes na entalpia do pico correspondente ao fármaco puro e complexado (RIBEIRO *et al.*, 2003; FIGUEIRAS *et al.*, 2007).

As medidas de DSC foram realizadas no equipamento DSC Q100 (TA Instruments, New Castle, EUA) do Instituto de Química da UNICAMP. Para análise, as amostras foram colocadas em cadinhos de alumínio hermeticamente selados. O teste foi conduzido sob uma taxa de aquecimento de 10 °C/min na faixa de 25 a 250 °C. As seguintes amostras foram analisadas: HP- γ -CD, DTX, complexo DTX:HP- γ -CD e a mistura física DTX/HP- γ -CD.

4.4.2. Difração de Raio-X (DRX)

A DRX é um dos melhores métodos para a investigação de complexos de inclusão no estado sólido pois permite não apenas detectar a formação do complexo, como também conhecer sua estrutura e as interações que se estabelecem entre o fármaco e a CD. Se ocorrer a formação de complexo, o difratograma é completamente diferente da sobreposição dos difratogramas dos componentes isolados (ARAÚJO *et al.*, 2009, WÜPPER, 2021).

As medições de difração de raios X em pó para as amostras de DTX, HP- γ -CD, mistura física DTX/HP- γ -CD, e complexo DTX:HP- γ -CD foram realizadas no equipamento 7000 Shimadzu de ângulo largo de geometria Bragg-Bretano θ - θ , no

Departamento de Física da Universidade Federal do Paraná (colaboração com Dr. Fabiano Yokaichyia). O material do ânodo no instrumento é feito de cobre e, por conseguinte, a linha $K\alpha$ com um comprimento de onda típico de $\lambda(K\alpha) = 1,5406 \text{ \AA}$ foi utilizada para as experiências de difração.

Além disso, também foi utilizado um detector cintilador e fonte de radiação com tensão e corrente reguladas para 40 kV e 20 mA, respectivamente. O difratograma de raios X em pó foi medido com um analisador de cristais de grafite pirolítico, a uma velocidade de $2^\circ/\text{min}$, entre $2\theta=5^\circ$ e 90° , na configuração θ - 2θ .

4.4.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Em complexos de inclusão, a MEV permite identificar o estado cristalino resultante do processo de complexação, que difere daquele obtido pela simples mistura do fármaco com a CD. As alterações na cristalinidade das substâncias puras e complexadas auxiliam no melhor entendimento da complexação. Nas misturas físicas, é possível distinguir os cristais do fármaco das partículas de CD; no entanto, quando o complexo é formado, o estado cristalino resultante é distinto do observado na mistura física das moléculas (MELO *et al.*, 2007; LYRA *et al.*, 2010).

As amostras DTX, HP- γ -CD, mistura física DTX/HP- γ -CD e complexo DTX:HP- γ -CD foram avaliadas no microscópio eletrônico de varredura (Jeol, modelo SM-5800LV, Japão), do Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) do Instituto de Biologia da UNICAMP, utilizando uma ampliação de 160x e escala de 100 μm .

As amostras foram fixadas em porta-amostras de alumínio (*stubs*) por meio de fita adesiva de carbono. O excesso das amostras foi retirado e os *stubs* foram submetidos ao processo de *sputtering*, ou seja, as amostras foram metalizadas no equipamento *Sputter coater* (SCD-050, Balzers, Liechtenstein) durante 120 s a 30 kV e armazenados até a análise (XU *et al.*, 2023).

4.4.4. Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR é muito útil para verificar a formação de complexos de inclusão no estado sólido (DE FREITAS *et al.*, 2021). Para isso, são verificadas interações em nível molecular, detectando-se mudanças significativas na forma e na posição das bandas de absorvância, através do espectro vibracional dos diferentes

grupos funcionais das moléculas de fármacos complexados ou livres (LYRA *et al.*, 2010).

O FTIR da amostra de DTX, HP- γ -CD, mistura física DTX/HP- γ -CD, e complexo DTX:HP- γ -CD foi realizado no Instituto de Química da UNICAMP utilizando-se o espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada (ATR-FTIR) Agilent Carry 630, EUA. As especificações das medidas foram: modo de transmitância, 128 varreduras por análise e resolução de até 2,0 cm⁻¹, no intervalo de 4000 a 400 cm⁻¹.

4.4.5. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (¹H-RMN)

A RMN é uma excelente ferramenta para a caracterização de complexos de inclusão, pois fornece informações estruturais sobre a estequiometria, constantes de ligação e a orientação molecular do fármaco dentro da cavidade da CD. Além disso, a RMN permite investigar interações específicas entre o fármaco e a CD, o que é crucial para entender a estabilidade e a eficiência do complexo (FRACETO *et al.*, 2007).

Nesta técnica, observam-se modificações nos deslocamentos químicos dos sinais da CD, causadas pela associação com o fármaco. Essas mudanças refletem a alteração no microambiente ao redor dos átomos de hidrogênio localizados no interior da cavidade da CD, indicando a inclusão do fármaco. De maneira semelhante, o fármaco encapsulado também pode apresentar mudanças nos sinais correspondentes aos átomos que penetram nas cavidades da CD, oferecendo pistas sobre a profundidade de inclusão e as interações intermoleculares (VENTURINI *et al.*, 2008; DE PAULA *et al.*, 2011).

Para registrar os espectros de RMN de hidrogênio (¹H-NMR) de cada amostra, 150 μ M de DTX, HP- γ -CD e do complexo DTX:HP- γ -CD foram dissolvidos em 0,6 mL de solvente deuterado (CDCl₃) com 4% de DMSO-d₆.

Os espectros de RMN foram registrados em um espectrômetro Agilent DD2 do Laboratório Nacional de Biociências (Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais - CNPEM) operando na frequência Larmor de 499,726 MHz. 0,5 mM TMS-¹H-d₄ (Sigma-Aldrich 3-(trimetilsilil)-2,2',3,3'-ácidotetradeteropropiônico) foi adicionado como referência (0 ppm).

4.4.5.1. Medidas de difusão (DOSY-¹H-RMN).

Os experimentos DOSY foram realizados para o DTX, HP- γ -CD e para o complexo DTX:HP- γ -CD a 25 °C com a mesma diluição e equipamentos do item 4.4.5.

Os cálculos do coeficiente de difusão para cada pico foram efetuados com o software *Agilent VnmrJ V.4.2*. A fração do fármaco complexado foi determinada conforme descrito nas equações [2] e [3] (FRACETO, *et al.*, 2010).

$$f_{compl} = \frac{(D_{livre} - D_{compl})}{(D_{livre} - D_{macro})} \quad [2]$$

$$K_a = \frac{f_{compl}}{\left((1 - f_{compl})([molécula\ receptora] - f_{compl}[ligante]) \right)} \quad [3]$$

A equação 2 descreve a fração de ligante complexada f_{compl} em termos dos coeficientes de difusão: onde D_{livre} representa a fração do ligante no estado livre, D_{compl} é o coeficiente de difusão do complexo e D_{macro} é o coeficiente de difusão de uma macromolécula de referência ou do complexo em seu estado máximo de ligação.

A equação 3 descreve a equação que define a constante de associação K_a , a qual representa a afinidade entre o ligante e o receptor. Ela é calculada a partir da fração de ligante complexada f_{compl} da concentração da molécula receptora e da fração de ligante livre $(1 - f_{compl})([molécula\ receptora] - f_{compl}[ligante])$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do DTX livre e complexado por espectrofotometria UV-VIS

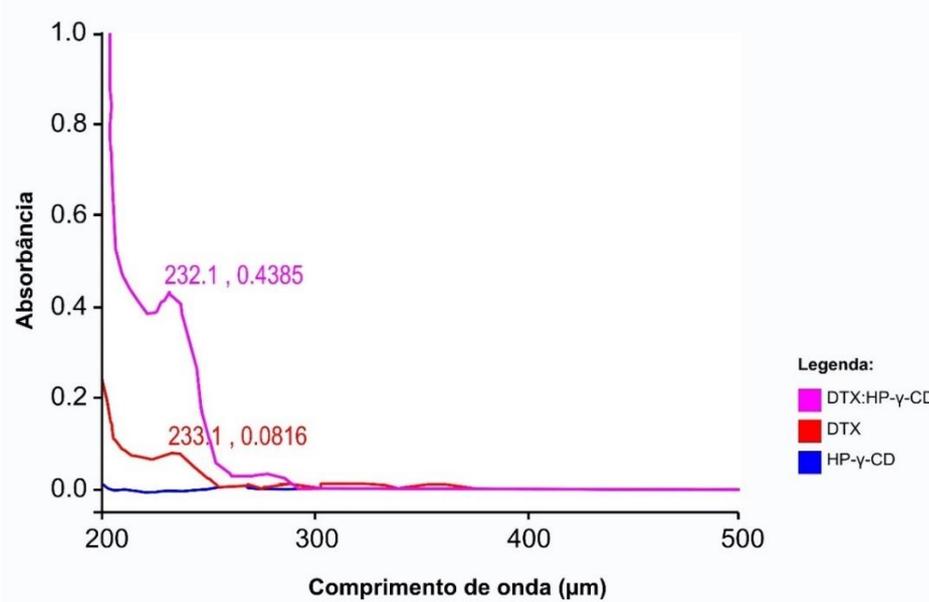
Como evidenciado na Farmacopeia Americana (USP-35), o DTX livre tem um máximo de absorção em 232 nm. Este resultado também está em consonância com demais compêndios consultados, como as Farmacopeias Britânica (2012) e japonesa (2011), validando o método empregado (USP, 2020; BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION, 2011; JAPAN, 2011).

Os espectros das amostras DTX, HP- γ -CD e complexo DTX:HP- γ -CD estão mostrados na Figura 9, sendo possível observar que a HP- γ -CD em solução não apresentou picos de absorção na região analisada (entre 200-500 nm), enquanto a

amostra DTX:HP- γ -CD apresentou aumento significativo na intensidade de absorção, quando comparada à solução de DTX, na mesma concentração.

Badi *et al.*, (2023) destacam em seu estudo que quando o metilaminobenzoato complexa com γ -CDs, também é observado um deslocamento hiperacrômico, com um aumento na absorbância.

Figura 9 – Espectro de absorção no UV-VIS do DTX, livre e complexado com HP- γ -CD (razão molar 1:2), após 6 horas de agitação. O espectro de HP- γ -CD também é dado, como controle.



Fonte: Autor (2024).

Este deslocamento hiperacrômico é um indicativo de que os elétrons cromóforos do DTX foram perturbados ao serem incluídos na cavidade da CD, o que é consistente com a formação de complexos de inclusão (SHEN *et al.*, 2012; ZHAO *et al.*, 2012; MURA, 2015). A diferença nas absorbâncias é um indicativo da formação do complexo, uma vez que o ambiente hidrofóbico da cavidade da CD influencia diretamente o comportamento eletrônico do DTX.

Além do exposto acima, o experimento foi replicado utilizando tampão acetato 0,01M (pH 5,0) e os resultados obtidos foram similares aos descritos acima, confirmando que o máximo de absorção em 232 nm é consistente, independentemente do meio utilizado.

5.2. Determinação da solubilidade aquosa DTX

A solubilidade do DTX em água foi determinada seguindo o procedimento descrito no item 4.2. O experimento foi conduzido utilizando dez concentrações diferentes de

DTX (Tabela 6) para avaliar a sua solubilidade em condições aquosas. As amostras foram preparadas em triplicata, garantindo a precisão dos resultados.

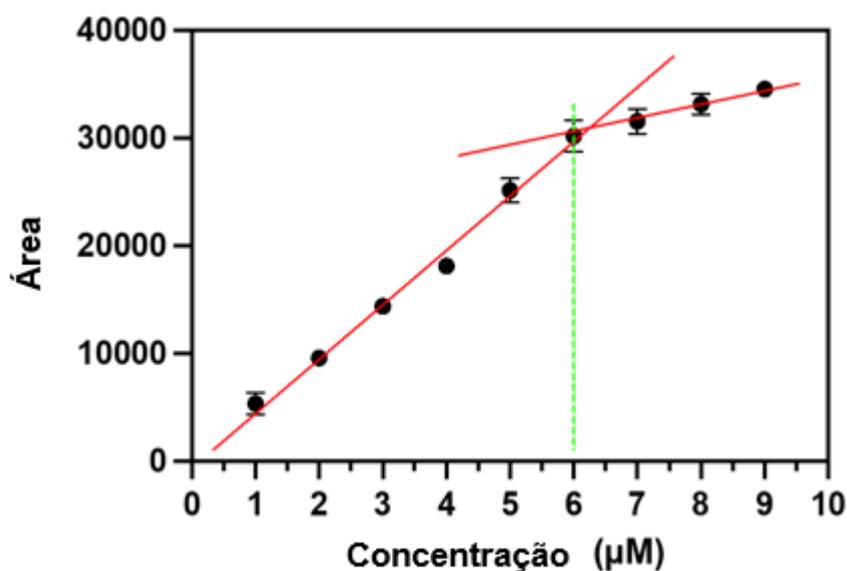
Tabela 6 – Resultados brutos do experimento de determinação de solubilidade em água do DTX puro, por CLAE.

n°	Concentração DTX (μM)	Área 1	Área 2	Área 3	$\bar{X}_{[a][b][c]}$	$\sigma_{[a][b][c]}$
1	1	4229	5753	6108	5363	9,98E+02
2	2	9711	9296	9722	9576	2,43E+02
3	3	14885	13825	14458	14389	5,33E+02
4	4	17712	18501	18162	18125	3,96E+02
5	5	26308	25010	24099	25139	1,11E+03
6	6	30095	31706	28783	30195	1,46E+03
7	7	32439	30271	31960	31557	1,14E+03
8	8	33831	32029	33554	33138	9,70E+02
9	9	34585	34178	34838	34534	3,33E+02
10	10	37322	37647	37541	37503	1,66E+02

Fonte: Autor (2024).

O limite de solubilidade do composto foi determinado no ponto de inflexão da curva de Absorção vs concentração, como mostrado na Figura 10.

Figura 10 – Determinação da solubilidade aquosa do DTX puro.



Fonte: Autor (2024).

De acordo com os dados obtidos o limite de solubilidade do DTX em água foi de 6,0 μM (ou 4,8 mg/L), o que está em boa concordância com a literatura, uma vez que, Fang *et al.* (2015) reportaram uma solubilidade de 4,93 mg/L para o DTX em água, valor muito próximo ao encontrado no presente estudo.

Mazzaferro *et al.* (2011) também observaram que a solubilidade aquosa do DTX é bastante baixa, com valores ainda menores de 2 mg/L, o que reforça a consistência dos dados.

5.2.1. Tempo de equilíbrio

A determinação do tempo mínimo necessário para atingir o equilíbrio de complexação foi crucial para otimizar a formação do complexo e garantir a reprodutibilidade do complexo de inclusão formado. Este parâmetro determina o ponto em que o complexo se estabiliza, ou seja, quando não há mais variação significativa na interação entre o fármaco e a CD, indicando que a máxima complexação possível foi atingida (BREWSTER e LOFTSSON, 2007). No experimento, o tempo de equilíbrio foi definido como o período necessário para que a absorvância, medida por espectrofotometria UV-Vis, atingisse um valor constante, refletindo a estabilização do complexo DTX:HP- γ -CD.

Durante o processo, foram realizadas medições de absorvância em intervalos de tempo pré-determinados (Tabela 7), até que os valores não variassem mais significativamente, indicando que o equilíbrio havia sido atingido.

Tabela 7 – Resultados brutos da análise de tempo de equilíbrio

Tempo (hora)	Abs (232nm)			$\bar{X}_{[a][b][c]}$	$\sigma_{[a][b][c]}$
	[a]	[b]	[c]		
1	0,1503	0,1535	0,1526	1,52E-01	1,65E-03
2	0,1672	0,1675	0,1671	1,67E-01	2,08E-04
3	0,1721	0,1724	0,1712	1,72E-01	6,24E-04
4	0,1894	0,1891	0,1902	1,90E-01	5,69E-04
5	0,2034	0,2034	0,2033	2,03E-01	5,77E-05
6	0,1718	0,1715	0,1716	1,72E-01	1,53E-04

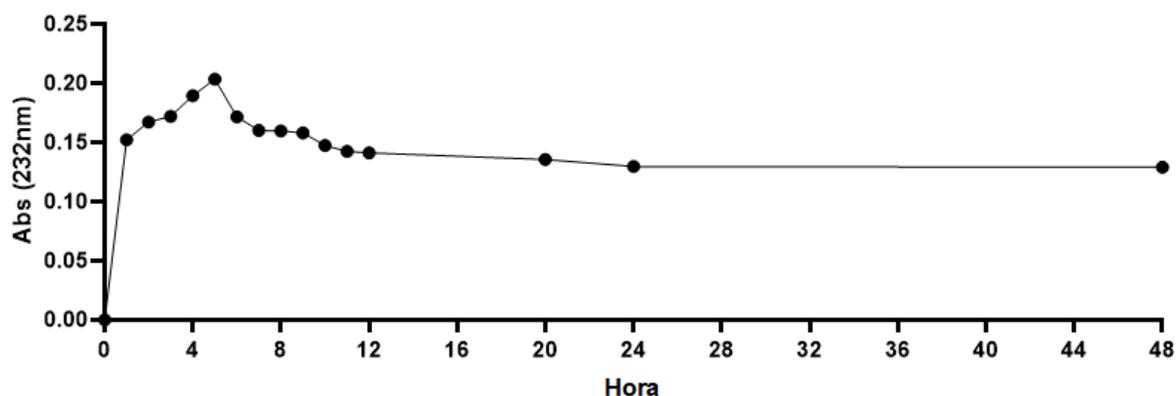
[continua]

Tabela 7 – Resultados brutos da análise de tempo de equilíbrio

Tempo (hora)	Abs (232nm)		$\bar{X}_{[a][b][c]}$	$\sigma_{[a][b][c]}$	
	[a]	[b]			
7	0,1601	0,1602	0,1602	1,60E-01	5,77E-05
8	0,1599	0,1597	0,1596	1,60E-01	1,53E-04
9	0,1582	0,158	0,1581	1,58E-01	1,00E-04
10	0,1479	0,147	0,1471	1,47E-01	4,93E-04
11	0,1421	0,1425	0,1423	1,42E-01	2,00E-04
12	0,141	0,1412	0,1412	1,41E-01	1,15E-04
20	0,1355	0,1356	0,1357	1,36E-01	1,00E-04
24	0,1299	0,1296	0,1293	1,30E-01	3,00E-04
48	0,1289	0,1299	0,1287	1,29E-01	6,43E-04

Fonte: Autor (2024).

Como mostrado na Figura 11, a intensidade de absorvância tornou-se estável após cerca de 6 horas, indicando que o complexo havia atingido o equilíbrio.

Figura 11 – Determinação do tempo de equilíbrio de formação do complexo DTX:HP- γ -CD.

Fonte: Autor (2024).

5.2.2. Determinação da estequiometria do complexo DTX:HP- γ -CD

A técnica de variação contínua (*Job plot*) foi realizada para determinar a estequiometria do complexo de inclusão. Mudanças na absorvância da DTX foram plotadas em relação à razão molar DTX:CD (r) como descrito no item 4.4.2.

O valor máximo de (r) foi determinado em 0,33, o que significa que a estequiometria de complexação foi de 1:2 (DTX:CD), como mostram a Tabela 8 e Figura 12.

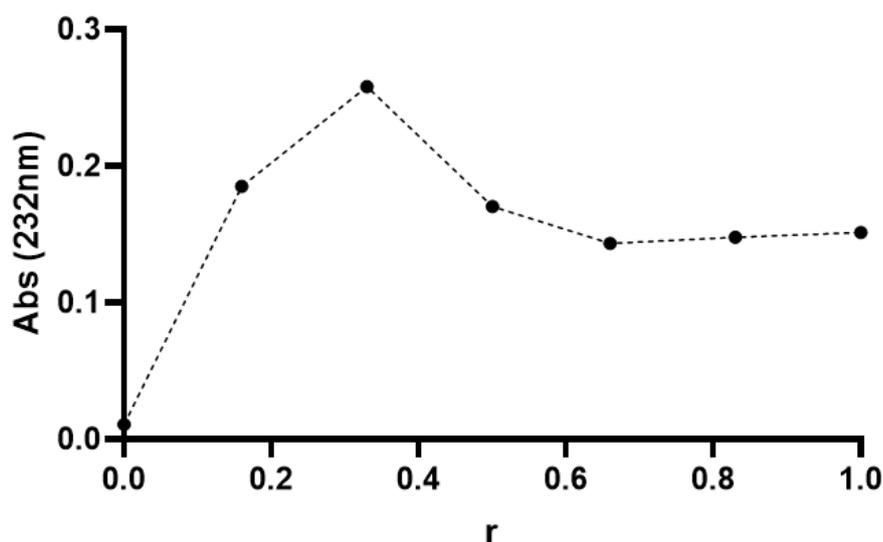
O valor 0,33 indica a fração molar (**r**) de DTX onde há máxima alteração na propriedade ótica, com a complexação com a CD. A fração molar é uma medida da proporção entre os dois componentes (DTX e CD) na mistura. Neste caso, o valor encontrado, indica que, no ponto de maior intensidade (o pico no gráfico), 1 molécula de DTX se complexa com 2 de HP- γ -CD. O gráfico de *Job* atinge o valor máximo de absorção quando a proporção ideal de formação do complexo é alcançada, e nesse caso, isso ocorre quando a fração molar de DTX é 0,33, confirmando a formação de um complexo na estequiometria 1:2.

Tabela 8 – Resultados dos testes em diferentes razões molares DTX: HP- γ -CD.

Testes	Razão molar DTX:CD	r	Abs (232nm)			$\bar{X}_{[a][b][c]}$	$\sigma_{[a][b][c]}$
			[a]	[b]	[c]		
T1	00:01	0	0,0109	0,0108	0,0109	0,0109	5,77E-05
T2	01:05	0,16	0,1847	0,1854	0,185	0,185	3,51E-04
T3	01:02	0,33	0,2577	0,2582	0,2586	0,2582	4,51E-04
T4	01:01	0,5	0,1708	0,1693	0,1712	0,1704	1,00E-03
T5	02:01	0,66	0,1436	0,1434	0,1432	0,1434	2,00E-04
T6	05:01	0,83	0,1475	0,1487	0,1478	0,148	6,24E-04
T7	01:00	1	0,1517	0,1503	0,152	0,1513	9,07E-04

Fonte: Autor (2024).

Figura 12 – Estequiometria da complexação do DTX com HP- γ -CD pelo método de variação contínua (*job plot*).



Fonte: Autor (2024)

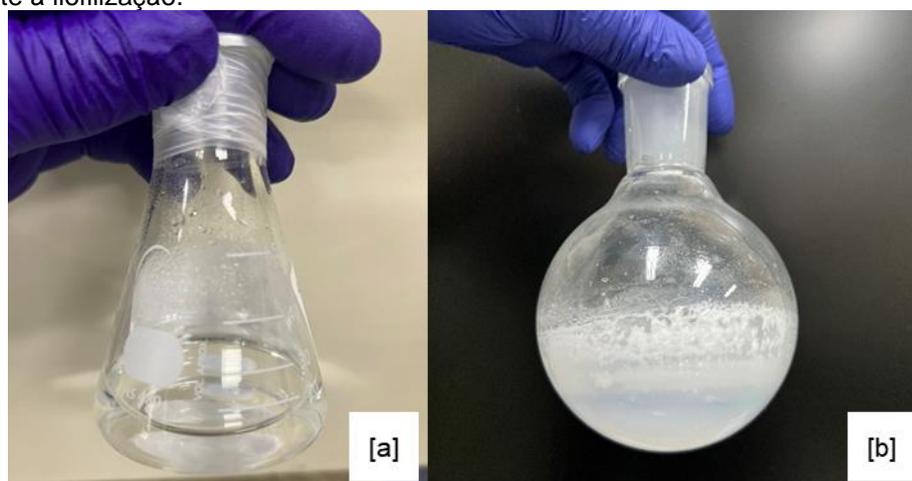
Estudos como o de Ferrati *et al.* (2015) também utilizaram o *Job Plot* para confirmar a estequiometria de complexos de inclusão entre o DTX e a HP- β -CD na razão 1:2, destacando a importância dessa técnica. Nesse estudo, a proporção de 1:2 mostrou-se eficaz para maximizar a estabilidade do complexo e aumentar a solubilidade do DTX.

5.2.3. Preparo do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD

O complexo DTX:HP- γ -CD foi preparado utilizando o método de co-solubilização, conforme descrito no item 4.3.3. Esse processo envolveu a solubilização do DTX e HP- γ -CD em solventes adequados, respeitando a proporção molar de 1:2 entre o DTX e a CD. A mistura das soluções foi mantida sob agitação constante respeitando o tempo de equilíbrio de 6 horas, o que permitiu a interação dos compostos e a formação do complexo de inclusão (Figura 13a)

Posteriormente, houve a rotaevaporação dos solventes, resultando em um sólido que foi posteriormente ressuspendido em tampão acetato 0,01 M pH 5,0 (Figura 13b). O material obtido foi então fracionado em frascos ampola e submetido a liofilização para garantir sua estabilidade.

Figura 13 – Imagens das etapas de formação do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD. [a] Complexo de inclusão após 6 h de equilíbrio, [b] Complexo de inclusão após rotaevaporação dos solventes, previamente à liofilização.



Fonte: Autor (2024).

Diversos estudos têm aplicado o método de co-solubilização para melhorar a solubilidade de fármacos de baixa solubilidade. Rao *et al.* (2006) investigaram esse método em complexos de inclusão, evidenciando sua eficácia para aumentar a solubilidade de compostos hidrofóbicos. Fraceto *et al.* (2007) também utilizaram o

método na preparação de nanopartículas contendo anestésicos locais, destacando os benefícios da técnica na formulação de sistemas controlados.

O método de co-solubilização apresenta diversas vantagens em comparação com outros métodos de formação de complexos de inclusão, uma vez que é relativamente simples e eficiente, não requerendo equipamentos sofisticados e permitindo a preparação de complexos de forma rápida e em temperatura ambiente.

Além disso, por não envolver processos agressivos, como altas temperaturas, a co-solubilização preserva a integridade química dos compostos, tornando-a ideal para formulações farmacêuticas estáveis e seguras (RASHEED *et al.*, 2008).

5.2.4. Liofilização do complexo DTX:HP- γ -CD

A liofilização é amplamente utilizada para estabilizar complexos de inclusão, especialmente devido à baixa estabilidade física e química das soluções. Esse processo, remove a água do complexo sem expor o material a temperaturas elevadas, o que preserva suas propriedades estruturais e funcionais (REN *et al.*, 2020).

No presente estudo, as amostras foram submetidas ao processo de liofilização (Figura 14), seguindo o ciclo descrito na Tabela 9, que teve uma duração total de aproximadamente 46 horas. Esse ciclo foi composto por três etapas principais: congelamento, secagem primária e secagem secundária. Na fase de congelamento, as amostras foram resfriadas para solidificar a água presente no complexo de inclusão. A secagem primária, também conhecida como sublimação, removeu a maior parte da água ao converter o gelo diretamente em vapor sob baixa pressão, preservando a estrutura do complexo.

A secagem secundária foi responsável pela eliminação da água residual, garantindo que o material estivesse completamente desidratado sem comprometer sua integridade física ou química.

Tabela 9 – Ciclo utilizado para liofilização do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD.

Etapa	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Tempo (min)
Congelamento	-40	0	300
Secagem Primária	-10	150	1980
Secagem Secundária	30	100	780

Fonte: Autor (2024).

Figura 14 – Imagem de amostras do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD liofilizado.



Fonte: Autor (2024).

5.2.5. Determinação da solubilidade do complexo DTX:HP- γ -CD

A solubilidade do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD foi determinada e os resultados de variação de área (Tabela 10) serviram para construção das curvas área vs. concentração, que apresentaram uma inflexão (Figura 15), ocasionada pela saturação (máxima solubilidade aquosa) do complexo. Na presença de HP- γ -CD a solubilidade aquosa do DTX aumentou significativamente em 25 vezes (150 μ M ou 121,18 mg/L) o que é mais uma evidência da formação do complexo de inclusão molecular entre o quimioterápico e a HP- γ -CD.

Tabela 10 – Resultados brutos do experimento de determinação de solubilidade do complexo DTX:HP- γ -CD, por CLAE.

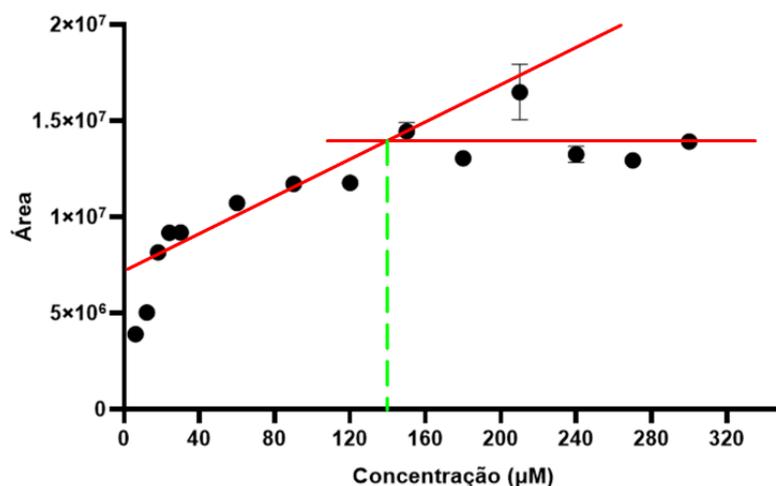
n°	Concentração (μ M)	Área 1	Área 2	Área 3	$\bar{X}_{[A1][A2][A3]}$	$\sigma_{[A1][A2][A3]}$
N1	6	3907202	3907105	3907306	3907204	100,520313
N2	12	5004201	5103202	5013403	5040269	54695,7268
N3	18	8272715	8212143	8002967	8162608	141531,828
N4	24	9290395	9229708	9020133	9180079	141801,587
N5	30	9308109	9247306	9037332	9197582	142071,736
N6	60	10648689	10896769	10645128	10730195	144268,014
N7	90	11389575	11798171	11955703	11714483	292195,122
N8	120	11616618	11718682	11971033	11768778	182440,894
N9	150	14605152	14807283	13929297	14447244	459800,018

[continua]

Tabela 10 – Resultados brutos do experimento de determinação de solubilidade do complexo DTX:HP- γ -CD, por CLAE.

n°	Concentração (μM)	Área 1	Área 2	Área 3	$\bar{X}_{[A1][A2][A3]}$	$\sigma_{[A1][A2][A3]}$
N10	180	13355453	12947101	12832237	13044930	274984,871
N11	210	18102410	16016419	15339360	16486063	1440151,19
N12	240	12849507	13690309	13228284	13256033	421087,307
N13	270	13150557	12923182	12759961	12944567	196174,124
N14	300	14120423	13977406	13666245	13921358	232218,534

Figura 15 – Determinação da solubilidade aquosa do complexo DTX:HP- γ -CD.



Fonte: Autor (2024).

Estudos de Mazzaferro *et al.* (2011) demonstraram que a utilização de diferentes derivados de ciclodextrinas pode impactar significativamente a solubilidade do docetaxel. Nesse trabalho, a Me- β -CD e a HP- β -CD promoveram aumento da solubilidade do fármaco, alcançando 998.000 mg/L e 743.000 mg/L, respectivamente, de forma complementar, Chen *et al.* (2021) avaliaram o uso de β -CDs modificadas e relataram solubilidades variando entre 41 e 48 mg/L, valores próximos aos obtidos no presente estudo com HP- γ -CD (~121 mg/L; 150 μM).

Embora a solubilidade obtida com HP- γ -CD (150 μM) seja inferior à alcançada em outros trabalhos, o aumento em relação à solubilidade do DTX puro é substancial. Isso demonstra que a HP- γ -CD é eficaz na formação de complexos de inclusão que melhoram a solubilidade e, potencialmente, a biodisponibilidade do fármaco, o que é crucial para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas otimizadas para o DTX.

Embora diferentes CDs apresentem variações nos resultados, a HP- γ -CD ainda oferece uma solução viável e eficaz para melhorar as propriedades físico-químicas do DTX.

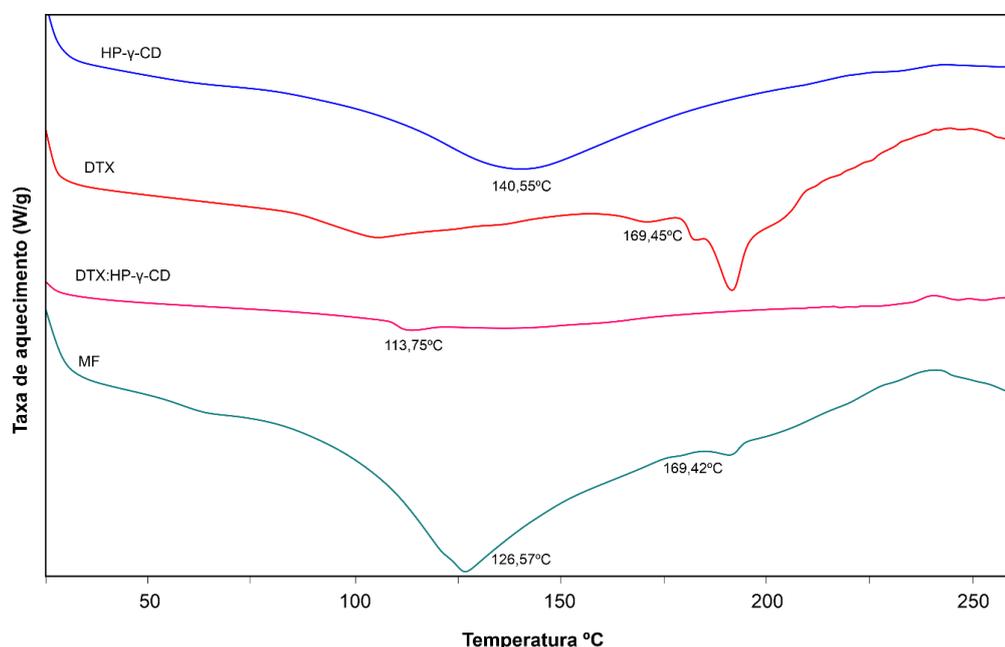
5.3. Caracterização do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD

5.3.1. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas de (DSC) do DTX, HP- γ -CD, mistura física e complexo de inclusão são apresentadas na Figura 16. A curva de HP- γ -CD exibe um evento endotérmico associado à evaporação de moléculas de água da cavidade, a 140,5 °C (DING *et al.*, 2023; TOGAMI *et al.*, 2022). O DTX apresenta um pico endotérmico característico a 169 °C (DA ROCHA *et al.*, 2020; GIRI *et al.*, 2021; LUIZ *et al.*, 2021).

A curva da mistura física de HP- γ -CD e DTX mostra o evento de desidratação da HP- γ -CD e o pico de fusão do DTX. Já o complexo de inclusão apresenta umas transições de baixa intensidade, em torno de 113 °C; o pico do DTX desaparece, evidenciando a perda de sua estrutura cristalina devido ao encapsulamento, o que indica a formação de uma nova fase como resultado da complexação entre DTX e HP- γ -CD.

Figura 16 – Termogramas de DSC, obtidos com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, de: hidroxipropil- γ -ciclodextrina (HP- γ -CD), Docetaxel (DTX), Complexo docetaxel: hidroxipropil- γ -ciclodextrina (DTX:HP- γ -CD) e Mistura física dos excipientes (MF).



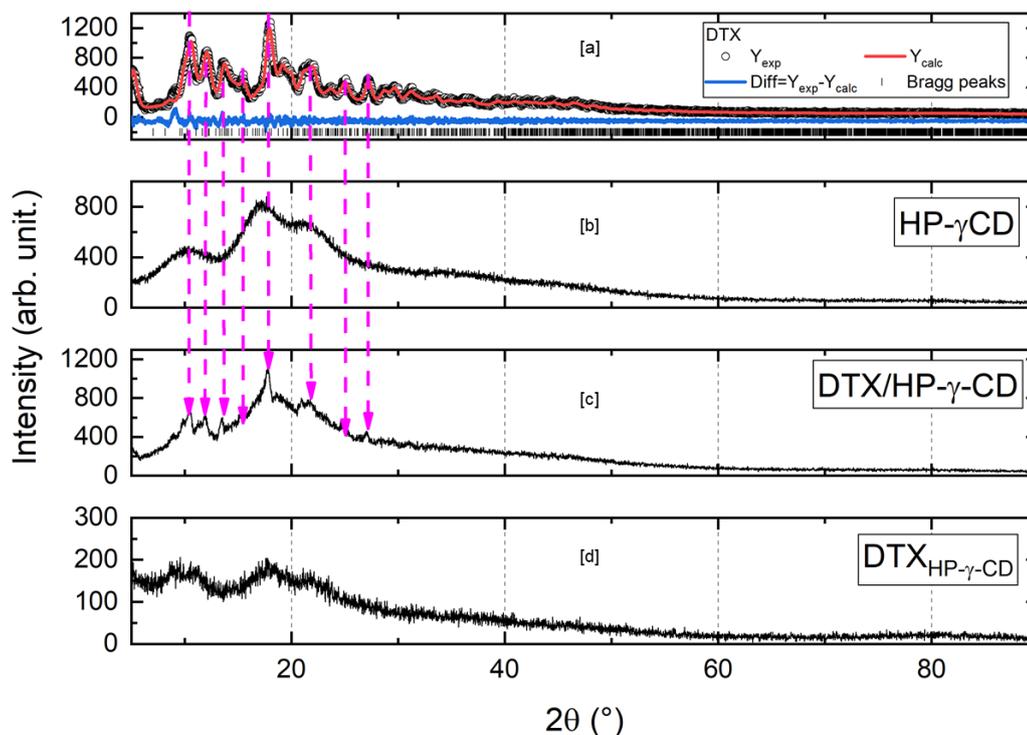
Fonte: Autor (2024).

5.3.2. Difração de Raio-X (DRX)

A difração de raios X é uma ferramenta muito poderosa para a detecção da formação de complexos de CD em pó ou em estado microcristalino. O padrão de difração confirmou a natureza cristalina da DTX (Figura 17 a). A HP- γ -CD apresentou uma estrutura amorfa, como mostra a Figura 1b. As dimensões do anel da HP- γ -CD (Figura 17 b) foram calculadas em $D=17,57$, $d=10,56$ e $h= 8,96$ Å, sendo D e dos diâmetros externos e internos do anel macrocíclico e h a altura do mesmo, em boa concordância com os dados descritos por Wüpper, 2021.

O difratograma da mistura física DTX:HP- γ -CD, assemelha-se à sobreposição do padrão cristalino do DTX e da difração do HP- γ -CD, como mostra a Figura 17c, onde se observam as posições dos picos de difração de Bragg (setas na Figura 17 [d]).

Figura 17 – Padrão de difração de raios X em pó de, [a] DTX, [b] HP- γ -CD, [c] DTX/HP- γ -CD, mistura física, [d] complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD.

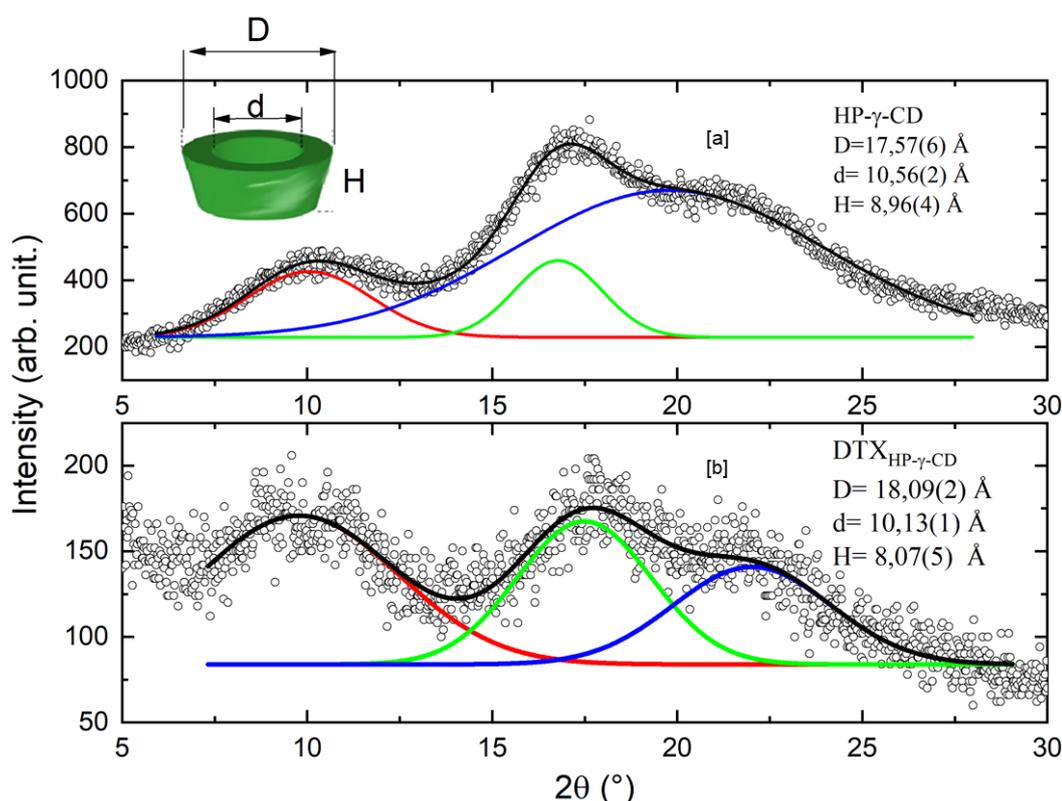


Fonte: Autor (2024).

Por outro lado, o difratograma do complexo DTX:HP- γ -CD mostrou que o padrão cristalino do DTX foi perdido no complexo de inclusão. Este resultado indica uma estrutura não cristalina, em que as 3 posições de pico representam dimensões da estrutura do complexo DTX:HP- γ -CD, conforme detalhado na Figura 18. Pelos

picos de difração, as dimensões do complexo DTX:HP- γ -CD foram calculadas em $D=18,09 \text{ \AA}$, $d=10,13 \text{ \AA}$ e $h=8,07 \text{ \AA}$. A comparação entre as dimensões do anel no complexo DTX:HP- γ -CD com as da HP- γ -CD pura indica que a presença do DTX aumenta ligeiramente o tamanho da cavidade externa da HP- γ -CD e diminui tanto o diâmetro da cavidade interna quanto a altura do cone da HP- γ -CD. Da mesma forma, registrou-se uma perda na intensidade do pico (da mistura física para o complexo). Em conjunto, estes dados corroboram com os obtidos por DSC e FTIR, indicando a complexação entre o fármaco antineoplásico e a γ -CD modificada.

Figura 18 – DRX: Detalhe dos difratogramas, comparando [a] HP- γ -CD e [b] DTX:HP- γ -CD quanto ao diâmetro interno (d), externo (D) e altura (h) do cone da ciclodextrina. Os valores entre parêntesis indicam erro experimental.



Fonte: Autor (2024).

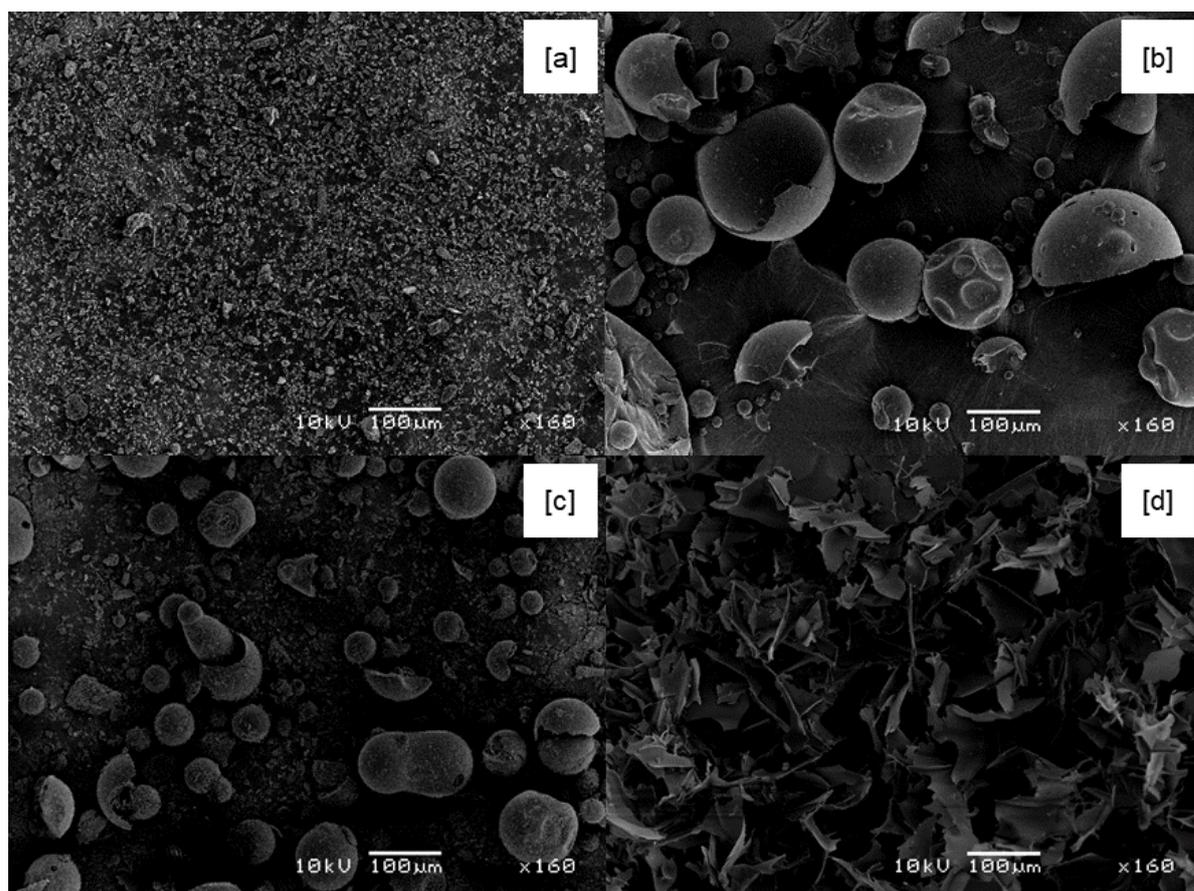
Estudos semelhantes, como o de Ren *et al.* (2020), também observaram a perda de cristalinidade do DTX após a complexação com diferentes CDs. No estudo deles, houve uma redução na intensidade dos picos de difração de raios X no complexo formado, confirmando que o DTX foi encapsulado na cavidade da CD, resultando em uma estrutura menos cristalina.

5.3.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das amostras de DTX, HP- γ -CD, mistura física e complexo DTX:HP- γ -CD foi avaliada por MEV (Figura 19). A micrografia do DTX (Fig. 19 a), revela arranjo cristalino, típico do fármaco e de acordo com o descrito na literatura (GIRI *et al.*, 2021). Já na amostra de HP- γ -CD (Fig. 19 b) foram observadas partículas esféricas amorfas, características de CDs, que formam estruturas menos ordenadas (DING *et al.*, 2023).

Na micrografia da mistura física DTX/HP- γ -CD (Fig, 19c) observam-se partículas esféricas (da HP- γ -CD) misturadas a uma distribuição mais irregular de partículas menores, dos cristais de DTX. Diferentemente na micrografia do complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD (Fig. 19 d), a mudança acentuada na aparência das partículas e ausência das estruturas cristalinas do DTX refletem a ocorrência de uma interação molecular, pela formação do complexo de inclusão.

Figura 19 – Micrografias (MEV) das amostras de: [a] DTX; [b] HP- γ -CD, [c] Mistura física DTX:HP- γ -CD, [d] complexo DTX:HP- γ -CD. Ampliação de 160 x.



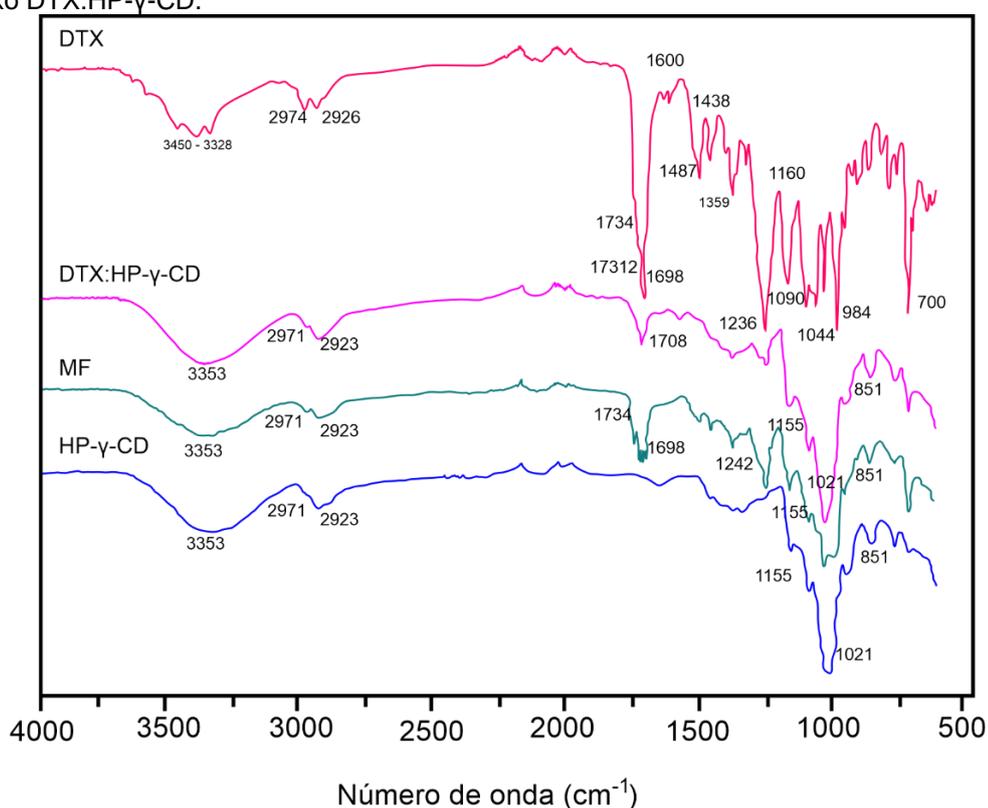
Fonte: Autor (2024).

5.3.4. Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Foram realizadas as análises de FTIR do DTX, da HP- γ -CD, da mistura física DTX/HP- γ -CD e do complexo DTX:HP- γ -CD, para assim identificar as principais bandas de absorção de cada amostra.

Os resultados obtidos, apresentados na Figura 20 e na Tabela 11, revelam alterações significativas nas bandas de absorção, especialmente nas regiões correspondentes ao estiramento C=O, ao anel benzênico e às vibrações flexionais C-O, evidenciando mais uma vez a formação do complexo de inclusão.

Figura 20 – Espectros de absorção no ATR-FTIR de: DTX, HP- γ -CD, mistura física DTX/HP- γ -CD e complexo DTX:HP- γ -CD.



Fonte: Autor (2024).

Tabela 11 – Frequências das bandas de absorção de amostras de: DTX, HP- γ -CD, mistura física DTX/HP- γ -CD (MF) e complexo DTX:HP- γ -CD.

Atribuição das bandas	DTX (cm ⁻¹)	HP- γ -CD (cm ⁻¹)	MF (cm ⁻¹)	DTX:HP- γ -CD (cm ⁻¹)
Estiramento O-H	3450-3328	3353	3353	3353
Estiramento C-H	2974-2969	2971-2923	2971-2923	2971-2923
Estiramento C=O	1734 - 1712	-	1734 - 1712	-

[continua]

Tabela 11 – Frequências das bandas de absorção de amostras de: DTX, HP- γ -CD, mistura física DTX/HP- γ -CD (MF) e complexo DTX:HP- γ -CD.

Atribuição das bandas	DTX (cm^{-1})	HP- γ -CD (cm^{-1})	MF (cm^{-1})	DTX:HP- γ -CD (cm^{-1})
	-	-	-	1708
C=O ácido carboxílico	1698	-	1698	-
Anel benzeno	1487	-	1487	-
Vibração flexional -C-O éster	1269-1070	1269-1070	1269-1070	-
C-O	-	1155	1155	1155
Acoplamento δ (C-C-H), ν(C-O), ν(C-C) de anel aromático		1021	1021	1021
-C-H deformação	700	700	700	

Fonte: Autor (2024).

A banda de estiramento **C=O** do DTX, observada em 1712-1734 cm^{-1} no espectro, desaparece no espectro do complexo DTX:HP- γ -CD, sendo substituída por uma nova banda em **1708 cm^{-1}** . Essa alteração indica uma forte interação entre o grupo carbonílico do DTX e a HP- γ -CD.

De maneira similar, Ren *et al.* (2020) observaram uma perda das bandas associadas ao estiramento C=O em complexos de DTX com CDs, corroborando os dados deste trabalho.

A banda associada ao anel benzênico do DTX, presente em 1487 cm^{-1} , também sofreu uma redução na intensidade e deslocamento no espectro do complexo DTX:HP- γ -CD. Esses resultados sugerem que o anel aromático do DTX está envolvido na interação com a cavidade da CD, o que pode indicar que parte da molécula aromática foi encapsulada no interior da HP- γ -CD.

Estudos como o de Liu *et al.* (2024) relataram interações semelhantes entre CDs e compostos aromáticos, como hexaconazol, onde o encapsulamento do anel benzênico resultou em deslocamentos e diminuições na intensidade das bandas no espectro de FTIR. Esse comportamento pode ser atribuído à interação da estrutura aromática com o ambiente hidrofóbico da cavidade da CD, reduzindo a intensidade de absorção.

Ao comparar o espectro de FTIR do DTX puro com o da mistura física DTX/HP- γ -CD, observa-se a presença das bandas características do fármaco na mistura, conforme esperado. Por exemplo, a banda de estiramento C=O aparece na região de 1698-1734 cm^{-1} , que é atribuída ao grupo carbonílico presente na estrutura do DTX.

Além disso, as bandas correspondentes ao anel benzênico do DTX, localizadas em 1487 cm^{-1} , juntamente com outras vibrações como as de 1359 cm^{-1} e 1236 cm^{-1} , que podem estar associadas às vibrações do esqueleto da molécula e às vibrações de flexão C-O, também são observadas na mistura física.

Essas observações confirmam que, na mistura física, os dois componentes (DTX e HP- γ -CD) mantêm suas características individuais, sem indicações claras de interação direta entre eles. As bandas do DTX permanecem praticamente inalteradas, sugerindo que não há formação de complexo de inclusão nessa etapa. Portanto, as mudanças mais significativas nas bandas de absorção ocorrerão somente quando houver uma interação direta entre o DTX e a HP- γ -CD, como será observado no complexo DTX:HP- γ -CD.

Esse comportamento foi igualmente descrito por Puskás *et al.* (2023), em um estudo que investigou a complexação de fármacos antineoplásicos com CDs, onde os espectros das misturas físicas não mostraram interação significativa, enquanto os complexos de inclusão apresentaram mudanças claras nos espectros de FTIR.

Ao comparar o espectro do complexo DTX:HP- γ -CD com o da HP- γ -CD pura, verifica-se que o espectro da HP- γ -CD não apresenta bandas associadas ao fármaco, como era esperado, uma vez que a CD pura não contém DTX em sua estrutura. Além disso, ambos os espectros (HP- γ -CD e complexo) compartilham uma banda característica em 1021 cm^{-1} , que é atribuída às vibrações associadas aos grupos C-O-C da estrutura da CD. Esta banda está presente tanto na CD pura quanto no complexo, o que indica que a estrutura do anel da CD se mantém intacta após a formação do complexo.

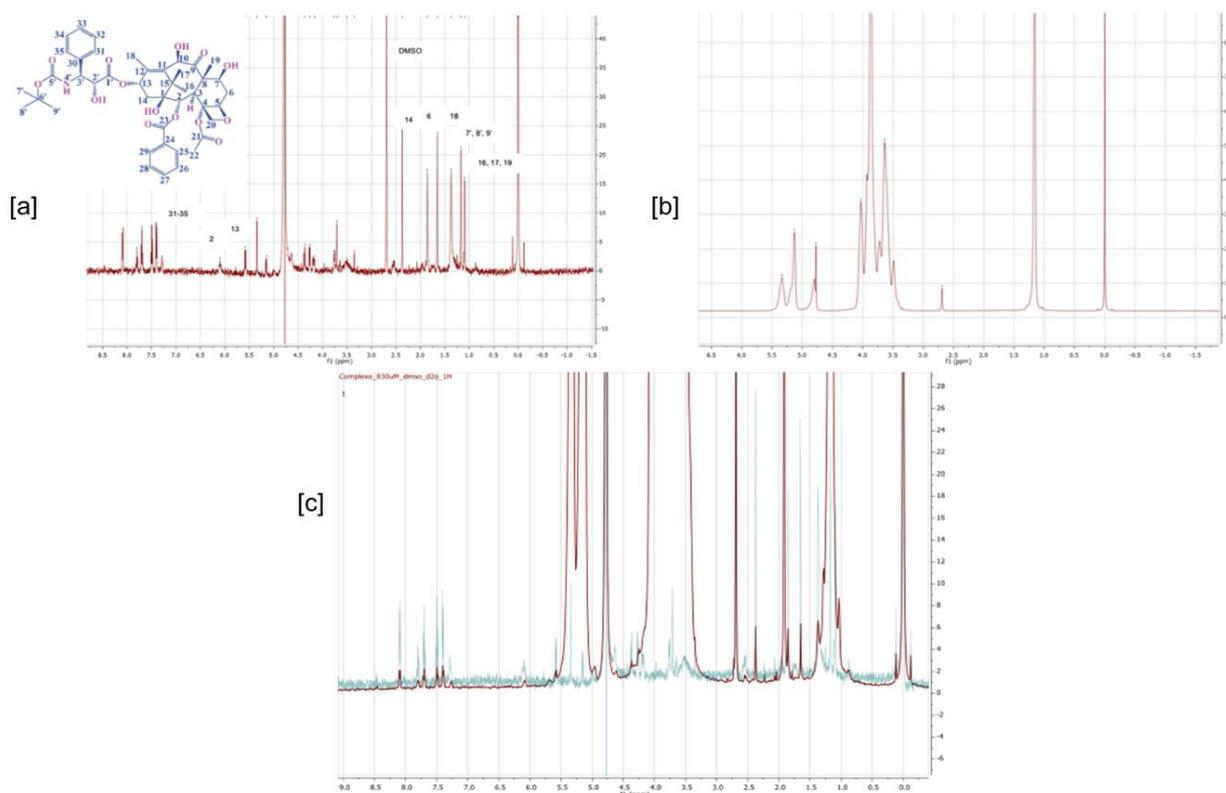
A literatura também descreve essa banda em torno de 1021 cm^{-1} como sendo típica das vibrações do anel glicosídico das CDs. Moraes *et al.* (2007) destacam que a banda C-O-C em CDs permanece praticamente inalterada após a complexação com fármacos, sugerindo que a formação do complexo não afeta significativamente o esqueleto glicosídico da CD.

Da mesma forma, Liu *et al.* (2024) relataram que as CDs mantêm sua estrutura base após a formação de complexos de inclusão, com a banda de 1021 cm^{-1} aparecendo de forma consistente nos espectros de CD pura e complexada. Os resultados de FTIR apresentados confirmam a formação do complexo de inclusão entre o DTX e a HP- γ -CD, com base nas alterações significativas observadas.

5.3.5. Ressonância Magnética Nuclear (^1H -RMN)

Através da análise de ^1H -RMN da amostra de DTX, HP- γ -CD e do complexo DTX:HP- γ -CD, não foi possível observar mudanças nos deslocamentos químicos dos hidrogênios do fármaco ou da CD (Figura 21). A baixa solubilidade aquosa do DTX e a sobreposição espectral, podem ter dificultado essas medidas (Figura 21).

Figura 21 – Espectros de ^1H -RMN do: [a] DTX em mistura de DMSO-água, [b] da HP- γ -CD e [c] sobreposição espectral da amostra de DTX (azul) e do complexo DTX:HP- γ -CD (marrom). Notar a não variação nos deslocamentos químicos dos hidrogênios do fármaco (eg – aromáticos entre 7,25-8,25 ppm) e a grande sobreposição espectral que dificultou a análise dos deslocamentos químicos individuais.



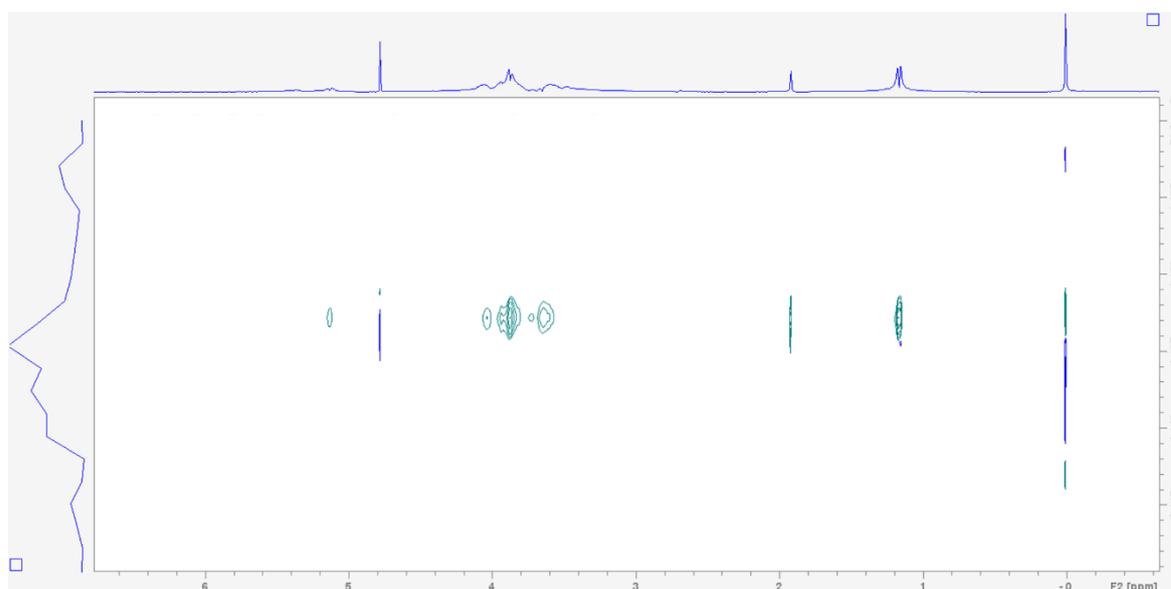
Fonte: Autor (2024).

5.3.5.1. Medidas de difusão (DOSY- ^1H -RMN).

Os resultados de ^1H -RMN obtidos utilizando-se a sequência de DOSY (*Diffusion Ordered Spectroscopy*) foram mais satisfatórios. O resultado de DOSY apresenta-se como pseudo-espectros de duas-dimensões com deslocamentos químicos de ^1H -RMN em um eixo e o gradiente de campo magnético no outro eixo (GILARD *et al.*, 2008) como mostra a Figura 22. Através destas medidas foi possível

calcular a fração complexada (f_{comp}) e a constante de associação (K_a) DTX:HP- γ -CD, como mostra a Tabela 12.

Figura 22 – Espectros de 2D DOSY- ^1H -RMN para docetaxel (DTX) e o complexo DTX:HP- γ -CD.



Fonte: Autor (2024).

Tabela 12 – Coeficientes de difusão do DTX, HP- γ -CD e DTX:HP- γ -CD, fração molar do complexo e constante de associação DTX:HP- γ -CD (K_a), conforme determinado por DOSY- ^1H -RMN.

Composto	E ($10^{-10}\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)	Fração molar complexada (%)	K_a (L/mol)
DTX	4,29	-	-
HP- γ -CD	1,68	-	-
DTX-:HP- γ -CD	3,84	17	746

Fonte: Autor (2024).

O experimento DOSY- ^1H -RMN indicou que uma pequena fração do DTX (17%) teve sua velocidade de difusão diminuída em função da complexação com HP- γ -CD, mostrando uma interação de força intermediária (K_a) de 746 L/mol, mas o suficiente para aumentar a solubilidade aquosa do DTX.

No estudo realizado por Franco de Lima, *et al.* (2012) utilizando a HP- β -CD complexada com a tetracaína o valor de K_a foi de 845 L/mol, semelhante ao do presente trabalho. Esse intervalo de K_a demonstrou uma boa estabilidade do complexo sem impedir a liberação do fármaco, o que torna a estratégia de

complexação promissora para aumentar a solubilidade e, conseqüentemente, a eficácia terapêutica do DTX.

Sadaquat e Akhtar (2020), observaram uma redução significativa nos coeficientes de difusão do DTX quando complexado com β -CDs modificadas. No estudo deles, o coeficiente de difusão do DTX livre foi determinado como $4,12 \times 10^{-10}$ m²/s, enquanto os complexos com β -CDs modificadas apresentaram coeficientes variando de $3,15 \times 10^{-10}$ m²/s a $3,45 \times 10^{-10}$ m²/s, comprovando que o encapsulamento contribuiu substancialmente para a melhoria da solubilidade do fármaco.

Além disso, a técnica DOSY-¹H-RMN tem sido amplamente utilizada na caracterização de complexos de inclusão entre fármacos e CDs, oferecendo informações valiosas sobre as interações moleculares e os coeficientes de difusão, permitindo a avaliação da formação de complexos estáveis e suas implicações nas propriedades físico-químicas dos fármacos (BEZAMAT, 2020). Um exemplo é a caracterização do complexo entre ropivacaína (RVC) e β -CD, onde a constante de associação foi determinada em 55,5 M⁻¹, com 54% das moléculas de RVC encapsuladas, resultando na diminuição da mobilidade molecular e, portanto, confirmando o encapsulamento na cavidade da CD (FRACETO *et al.*, 2007).

Estudos semelhantes demonstraram a eficácia de DOSY-¹H-RMN na análise de complexos de anestésicos locais, como bupivacaína e lidocaína com HP- β -CD (MORAES *et al.*, 2007), assim como na complexação da quercetina com HP- β -CD, onde o coeficiente de difusão foi reduzido de $3,55 \times 10^{-10}$ m²/s para $3,09 \times 10^{-10}$ m²/s, evidenciando o encapsulamento (BAŞARAN *et al.*, 2022).

No estudo de Sadaquat e Akhtar (2020) o coeficiente de difusão do DTX após a complexação com SBE7- β -CD foi reduzido para $3,45 \times 10^{-10}$ m²/s, enquanto o valor inicial do DTX livre era $4,15 \times 10^{-10}$ m²/s, confirmando o encapsulamento e o aumento da solubilidade do fármaco.

Esses exemplos demonstram o valor da técnica DOSY-¹H-RMN na caracterização de complexos de inclusão e na melhoria das propriedades de fármacos, particularmente no que se refere à solubilidade e segurança, aspectos críticos no desenvolvimento de formulações farmacêuticas eficazes.

De fato, os resultados comprovam que os complexos de inclusão em CDs são mantidos por interações fracas como ligações de *van der Waals*, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (BREWSTER e LOFTSSON, 2007) e a dinâmica

de sua formação é rápida, o que pode ser uma vantagem para a liberação rápida do ativo.

CONCLUSÃO

Neste estudo, investigou-se a complexação do quimioterápico docetaxel (DTX) com hidroxipropil- γ -ciclodextrina (HP- γ -CD) como uma estratégia para melhorar sua solubilidade aquosa, um desafio crucial, dado que o DTX pertence à classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica. O complexo de inclusão DTX:HP- γ -CD foi preparado pelo método de co-solubilização seguido de liofilização, com uma estequiometria de 1:2. As técnicas de caracterização utilizadas, incluindo calorimetria diferencial de varredura (DSC), difração de raios-X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho (FTIR) e ^1H -RMN com variação de gradiente de campo (DOSY- ^1H -RMN), confirmaram a formação do complexo de inclusão e demonstraram melhorias significativas nas propriedades físico-químicas do DTX.

A complexação aumentou a solubilidade aquosa do DTX em 25 vezes, atingindo 150 μM . Os resultados de DSC e DRX indicaram a perda da estrutura cristalina do DTX, enquanto a análise de FTIR revelou alterações nas bandas da carbonila, compatíveis com interações entre o fármaco e a ciclodextrina. Adicionalmente, a análise de ^1H -RMN com variação de gradiente de campo mostrou que 17% do DTX foi complexado com a HP- γ -CD, indicando uma constante de afinidade intermediária (K_a de 746 L/mol).

Esses achados indicam que a complexação do DTX com HP- γ -CD representa uma estratégia promissora para superar a limitação de solubilidade deste quimioterápico. A formação do complexo de inclusão não apenas aumentou a solubilidade aquosa do DTX, mas também sugere potencial para reduzir os efeitos colaterais associadas as formulações comerciais, que contém excipientes conhecidos por desencadear reações adversas significativas, como o polissorbato 80 e o etanol. A substituição desses excipientes pela ciclodextrina modificada pode resultar em uma formulação mais segura e tolerável, aumentando a adesão dos pacientes ao tratamento e melhorando a qualidade de vida durante a quimioterapia.

Além disso, a maior solubilidade obtida pode abrir portas para a administração oral do DTX, algo atualmente inviável devido às suas características físico-químicas

desfavoráveis. Com isso, novas vias de administração poderão ser exploradas, facilitando o uso do fármaco em diferentes cenários clínicos.

Contudo, para que essas descobertas sejam plenamente consolidadas, estudos adicionais são imprescindíveis. Testes de citotoxicidade serão fundamentais para avaliar se a eficácia antitumoral do DTX é mantida ou aprimorada na forma complexada, sem aumentar os riscos de toxicidade para células saudáveis. Ensaio de liberação controlada e perfil farmacocinético também serão necessários para entender se o complexo DTX:HP- γ -CD pode oferecer um perfil de liberação mais estável e previsível, além de garantir uma biodisponibilidade otimizada.

Vale destacar que, até o momento, não foram encontrados estudos na literatura sobre a complexação do DTX com HP- γ -CD, o que confere a este trabalho um caráter inovador e de grande relevância no desenvolvimento de novas formulações de quimioterápicos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, volume 1. Brasil, 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Taxotere®. 2023. Disponível em; < <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/q/?nomeProduto=taxotere>>. Acesso em: 12/08/2023.

AGÜEROS, M. et al. Combined hydroxypropyl- β -cyclodextrin and poly (anhydride) nanoparticles improve the oral permeability of paclitaxel. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n. 4, p. 405-413, 2009.

AHMAD, A. et al. Therapeutic efficacy of a novel nanosomal docetaxel lipid suspension compared with taxotere in locally advanced or metastatic breast cancer patients. **Clinical Breast Cancer**, v. 14, n. 3, p. 177-181, 2014.

AMIDON, Gordon L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ARAUJO, M. V. G. et al. Characterization, phase solubility and molecular modeling of α -cyclodextrin/pyrimethamine inclusion complex. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 72, n. 1, p. 165-170, 2009.

ARRUDA, T. R.; MARQUES, C. S.; SOARES, N. F. F. Native cyclodextrins and their derivatives as potential additives for food packaging: A review. **Polysaccharides**, v. 2, n. 4, p. 825-842, 2021.

ASHRAFIZADEH, M. et al. Chitosan-based advanced materials for docetaxel and paclitaxel delivery: Recent advances and future directions in cancer theranostics. **International journal of biological macromolecules**, v. 145, n. s.n., p. 282-300, 2020.

BADI, Sonia et al. Effect of cyclodextrins inclusion complexes into absorption and emission spectra of P-methylaminobenzoate derivatives: A DFT and TD-DFT investigation. **Journal of Fluorescence**, v. 33, n. 4, p. 1457-1467, 2023.

BAŞARAN, E. B. R. U. et al. Quercetin, rutin and quercetin-rutin incorporated hydroxypropyl β -cyclodextrin inclusion complexes. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 172, p. 106153, 2022.

BEHESHTIZADEH, Nima et al. Boosting antitumor efficacy using docetaxel-loaded nanoplateforms: from cancer therapy to regenerative medicine approaches. **Journal of Translational Medicine**, v. 22, n. 1, p. 520, 2024.

BELANI, C. P.; ECKARDT, J. Development of docetaxel in advanced non-small-cell lung cancer. **Lung cancer**, v. 46, n. s.n., p. S3-S11, 2004.

BÉNI, S. et al. Cyclodextrin/imatinib complexation: binding mode and charge dependent stabilities. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 30, n. 2, p. 167-174, 2007.

BEZAMAT, J. M. et al. Complexation of the local anesthetic pramoxine with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin can improve its bioavailability. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 55, n. s. n., p. 101475-101482, 2020.

BHALANI, D. V. et al. Bioavailability Enhancement Techniques for Poorly Aqueous Soluble. Drugs and Therapeutics. **Biomedicines**, v. 10, n. 9, p. 2055–2087, 2022.

BRADSHAW-PIERCE, Erica L.; ECKHARDT, S. Gail; GUSTAFSON, Daniel L. A physiologically based pharmacokinetic model of docetaxel disposition: from mouse to man. **Clinical Cancer Research**, v. 13, n. 9, p. 2768-2776, 2007.

BRAGA, S. S. Cyclodextrins: emerging medicines of the new millennium. **Biomolecules** 9: 801. 2019.

BRANDÃO, H. N. et al. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced drug delivery reviews**, v. 59, n. 7, p. 645-666, 2007.

BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. **British Pharmacopoeia 2012**. London: The Stationery Office, 2011.

BURGUIN, A; DIORIO, C; DUROCHER, F. Breast cancer treatments: updates and new challenges. **Journal of personalized medicine**, v. 11, n. 8, p. 808-861, 2021.

CARRIER, R. L.; MILLER, L. A.; AHMED, I. The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. **Journal of Controlled Release**, v. 123, n. 2, p. 78-99, 2007.

CARVALHO, F. D. G. F. **Avaliação biológica de uma pre-formulação de ropivacaina em hidroxipropil-beta-ciclodextrina produzida em processo escalonavel**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas, p. 126, 2007.

CARVALHO, F. V. **Desenvolvimento e caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados contendo docetaxel para o tratamento do câncer de mama**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas, p. 87, 2023.

CHAURASIA, M. et al. A review of FDA approved drugs and their formulations for the treatment of breast cancer. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, n. s. n., p. 1184472-1184496, 2023.

CHEN, Huabing et al. Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs. **Drug discovery today**, v. 16, n. 7-8, p. 354-360, 2011.

CHEN, X. et al. Solubility and biological activity enhancement of docetaxel via formation of inclusion complexes with three alkylenediamine-modified β -cyclodextrins. **RSC advances**, v. 11, n. 11, p. 6292-6303, 2021.

CID-SAMAMED, A. et al. Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. **Food Chemistry**, v. 384, n. s. n., p. 132467-132480, 2022.

COOMBES, R. C. et al. Personalized detection of circulating tumor DNA antedates breast cancer metastatic recurrence. **Clinical Cancer Research**, v. 25, n. 14, p. 4255–4263, 2019.

CRINI, G.; ALEYA, L. Cyclodextrin applications in pharmacy, biology, medicine, and environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. s.n., p. 167-170, 2022.

DA ROCHA, M. C. O. et al. Docetaxel-loaded solid lipid nanoparticles prevent tumor growth and lung metastasis of 4T1 murine mammary carcinoma cells. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 18, n. 1, p. 1–20, 2020.

DAS, O.; GHATE, V. M.; LEWIS, S. A. Utility of Sulfobutyl Ether β -Cyclodextrin Inclusion Complexes in Drug Delivery: A Review. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, n. 4, p. 589-600, 2019.

DAS, T.; MEHTA, C. H.; NAYAK, U. Y. Multiple approaches for achieving drug solubility: an in silico perspective. **Drug discovery today**, v. 25, n. 7, p. 1206-1212, 2020.

DAŞKIN, Demet et al. Oral docetaxel delivery with cationic polymeric core-shell nanocapsules: In vitro and in vivo evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 80, n. s.n, p. 104163-104174, 2023.

DE FREITAS, Camila Auad Beltrão et al. Obtenção E Caracterização De Complexo De Inclusão De β -Ciclodextrina E Eugenol. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 33056-33070, 2021.

DE OLIVEIRA SANTOS, M. et al. Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, p.1 -12, 2023.

DE PAULA, E.; RIBEIRO DE ARAUJO, D.; FRACETO, L. F. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy tools for the physicochemical characterization of cyclodextrins inclusion complexes. **ChemInform**, v. 42, n. 52, p. no-no, 2011.

DE VARGAS, M. R. W. et al. Strategies used for to improve aqueous solubility of simvastatin: a systematic review. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 497-507, 2012.

DEZENA, R. M. B. et al. Cancer: A problem of public health in Brazil. **J Anal Pharm Res**, v. 12, n. 1, p. 6-7, 2023.

DING, Yili et al. Improvement of solubility and pharmacokinetic profile of hepatoprotector icariin through complexation with HP- γ -cyclodextrin. **Frontiers in pharmacology**, v. 14, n. s.n., p. 1138686-1138697, 2023.

DOMINGUES, J. S. F. D., Desenvolvimento e avaliação de uma nova formulação de bupivacaína complexada em sulfobutileter-beta-ciclodextrina. Dissertação (Mestrado em Ciências). Programa de Pós-Graduação em Enfermagem. Universidade Guarulhos, p. 48, 2020.

DONATI, A.; CASTRO, L. G. M. Efeitos colaterais cutâneos de quimioterapia com taxanos: O ponto de vista do dermatologista. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 755-758, 2011.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Taxotere 20 mg concentrate and solvent for solution for infusion: Summary of product characteristics**. 2024. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu>. Acesso em: 20/07/2024.

FANG, G. et al. Cysteine-Functionalized Nanostructured Lipid Carriers for Oral Delivery of Docetaxel: A Permeability and Pharmacokinetic Study. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 7, p. 2384–2395, 2015.

FARHA, Nicole G.; KASI, Anup. Docetaxel. In: **StatPearls [Internet]**. Publicação StatPearls, 2024.

FENG, Y. et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. **Genes and Diseases**, v. 5, n. 2, p. 77–106, 2018.

FERNÁNDEZ, M. A. et al. Complex systems that incorporate cyclodextrins to get materials for some specific applications. **Carbohydrate research**, v. 480, n.s.n. p. 12-34, 2019.

FERRATI, Silvia et al. Docetaxel/2-hydroxypropyl β -cyclodextrin inclusion complex increases docetaxel solubility and release from a nanochannel drug delivery system. **Current drug targets**, v. 16, n. 14, p. 1645-1649, 2015.

FERREIRA, L. et al. Cyclodextrin-based delivery systems in parenteral formulations: A critical update review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 178, n. s.n., p. 35-52, 2022.

FERRIS, J. S. et al. Risk Factors for Developing Both Primary Breast and Primary Ovarian Cancer: A Systematic Review. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 190, n. s. n., p. 104081-104099, 2023.

FIGUEIRAS, A. et al. Solid-state characterization and dissolution profiles of the inclusion complexes of omeprazole with native and chemically modified β -cyclodextrin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, n. 2, p. 531-539, 2007.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **FDA Adverse Event Reporting System (FAERS)**: case reports of intoxication associated with docetaxel formulation containing ethanol. Silver Spring, MD: FDA, 2014. Disponível em: <https://www.fda.gov/>. Acesso em: 10/05/2024.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Inactive Ingredients in Approved Drug Products Search: Frequently Asked Questions*. 2022. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/inactive-ingredients-approved-drug-products-search-frequently-asked-questions#what%20is%20inactive%20ing>>. Acesso em 12/08/2023.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *M9 Biopharmaceutics Classification System Based Biowaivers Guidance for Industry*. 2022. Disponível em: <<https://www.fda.gov/media/148472/download>>. Acesso em 13/08/2023.

FRACETO, L. F. et al. Caracterização do complexo de inclusão ropivacaína: beta-ciclodextrina. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1203-1207, 2007.

FRANCO DE LIMA, R. A. et al. Improvement of tetracaine antinociceptive effect by inclusion in cyclodextrins. **Journal of drug targeting**, v. 20, n. 1, p. 85-96, 2012.

GAO, H. et al. Preparation, characterization and anti-glioma effects of docetaxel-incorporated albumin-lipid nanoparticles. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 11, n. 12, p. 2137-2147, 2015.

GARCIA-OLIVEIRA, P. et al. Status and Challenges of Plant-Anticancer Compounds in Cancer Treatment. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 2, p. 157–184, 2021.

GHADI, R.; DAND, N. BCS class IV drugs: Highly notorious candidates for formulation development. **Journal of Controlled Release**, v. 248, n. s.n., p. 71–95, 2017.

GILARD, V. et al. DOSY NMR for drug analysis. In: **NMR spectroscopy in pharmaceutical analysis**. Elsevier, 2008. p. 269-289.

GIRI, B. R. et al. Docetaxel/dimethyl- β -cyclodextrin inclusion complexes: preparation, in vitro evaluation and physicochemical characterization. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 47, n. 2, p. 319–328, 2021.

GOMES, T. A. et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 2, p. 239-249, 2015.

GRAY, J. E. et al. Real-world outcomes in patients with KRAS G12C–mutated advanced non-small cell lung cancer treated with docetaxel in second-line or beyond. **Lung Cancer**, v. 181, n. s.n., p. 107260-107269, 2023.

GRILLO, R. et al. Caracterização físico-química de complexo de inclusão entre hidroximetilnitrofurazona e hidroxipropil-beta-ciclodextrina. **Química nova**, v. 31, n. 2, p. 290-295, 2008.

GUPTA, R. et al. The interactions of docetaxel with tumor microenvironment. **International Immunopharmacology**, v. 119, n. s.n., p. 110214-110224, 2023.

HAGER, Avery et al. Comparative study of dexamethasone premedication regimens with docetaxel chemotherapy in early HER-2 positive breast cancer: A safety net hospital experience. **Journal of Oncology Pharmacy Practice**, v. 0, n. s. n., p.1-9, 2024.

HAIDER, M. et al. Nanostructured Lipid Carriers for Delivery of Chemotherapeutics: A Review. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 3, p. 288–313, 2020.

HARBECK, N. et al. Breast cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, n. 1, p. 66–96, 2019.

HOU, Yue et al. Effect of docetaxel on mechanical properties of ovarian cancer cells. **Experimental Cell Research**, v. 408, n. s.n, p. 112853-112861, 2021.

HUANG, Xing-Xing et al. Pharmacokinetics, efficacy, and safety evaluation of docetaxel/hydroxypropyl-sulfobutyl- β -cyclodextrin inclusion complex. **AAPS pharmscitech**, v. 12, n.2, p. 665-672, 2011.

IMRAN, M. et al. Docetaxel: An update on its molecular mechanisms, therapeutic trajectory and nanotechnology in the treatment of breast, lung and prostate cancer. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 60, n. s.n., p. 101959–101976, 2020.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Conceito e Magnitude. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-de-mama/conceito-e-magnitude>>. Acesso em: 10/06/2023.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro. 2022. Disponível em <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>>. Acesso em 10/07/2023.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. O que é câncer? 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer>>. Acesso em 10/06/2023.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Parâmetros técnicos para detecção precoce do câncer de mama. 2022. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/parametros-tecnicos-para-deteccao-precoce-do-cancer-de-mama>>. Acesso em 05/08/2023.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Tratamento do câncer de mama. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-de-mama/acoes/tratamento>>. Acesso em: 10/06/2023.

JANSOOK, P.; LOFTSSON, T. Self-assembled γ -cyclodextrin as nanocarriers for enhanced ocular drug bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 618, n. s.n., p. 121654-121665, 2022.

JANSOOK, P.; LOFTSSON, T. γ CD/HP γ CD: synergistic solubilization. **International journal of pharmaceutics**, v. 363, n. 1-2, p. 217-219, 2008.

JAPAN. **The Japanese Pharmacopoeia, Sixteenth Edition (JP XVI)**. Tokyo: Ministry of Health, Labour and Welfare, 2011.

JUG, M.; MURA, P. A. Grinding as solvent-free green chemistry approach for cyclodextrin inclusion complex preparation in the solid state. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 189-210, 2018.

KIPP, J. E. The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly water-soluble drugs. **International journal of pharmaceuticals**, v. 284, n. 1-2, p. 109-122, 2004.

KÖNCZÖL, Árpád; DARGÓ, Gergő. Brief overview of solubility methods: Recent trends in equilibrium solubility measurement and predictive models. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 27, n. s.n., p. 3-10, 2018.

KUBOTA, D. et al. **Estudo físico-químico do complexo de inclusão do fármaco Trimetoprim com a β ciclodextrina aleatoriamente metilada**. Dissertação (Mestrado em Química). Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Sergipe, p.87, 2010.

KUMAR, G.; PRASHANTH, N.; KUMARI, B. C. Fundamentals and applications of lyophilization. **J Adv Pharm Res**, v. 2, n. 4, p. 157-169, 2011.

LIU, Bo et al. Preparation and characterization of hexaconazole/hydroxypropyl-gamma-cyclodextrin inclusion complex nanofibers for sustainable agriculture: improved physicochemical properties and antifungal activity of hexaconazole. **Journal of Molecular Structure**, v. 1299, p. 137195, 2024.

LIU, Xiaowen et al. Improving solubility of poorly water-soluble drugs by protein-based strategy: A review. **International journal of pharmaceuticals**, v. 634, n. s. n., p. 122704-122718, 2023.

LOFTSSON, Thorsteinn; DUCHENE, Dominique. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International journal of pharmaceuticals**, v. 329, n. 1-2, p. 1-11, 2007.

LU, Angela et al. Hydroxypropyl-Beta Cyclodextrin Barrier Prevents Respiratory Viral Infections: A Preclinical Study. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 4, p. 2061, 2024.

LUIZ, M. T. et al. Docetaxel-loaded folate-modified TPGS-transfersomes for glioblastoma multiforme treatment. **Materials Science and Engineering: C**, v. 124, n. s.n., p. 112033–112043, 2021.

LYRA, M. A. M. et al. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 2, p. 117-124, 2010.

MACEDO, Osmir FL et al. Physicochemical study and characterization of the trimethoprim/2-hydroxypropyl- γ -cyclodextrin inclusion complex. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 86, n. s.n., p. 101-106, 2012.

MATENCIO, A. et al. Applications of cyclodextrins in food science. A review. **Trends in food science & technology**, v. 104, n. s. n., p. 132-143, 2020.

MAZZAFERRO, S. et al. Bivalent sequential binding of docetaxel to methyl- β -cyclodextrin. **International journal of pharmaceutics**, v. 416, n. 1, p. 171-180, 2011.

MELO, N. et al. Preparação e caracterização inicial de complexo de inclusão entre nitrofurazona e 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 35-44, 2007.

MIHOUB, A. B. et al. Use of cyclodextrins in anticancer photodynamic therapy treatment. **Molecules**, v. 23, n. 8, p. 1936-2004, 2018.

MISIUK, W. Investigation of inclusion complex of HP- γ -cyclodextrin with ceftazidime. **Journal of Molecular Liquids**, v. 224, n. s.n., p. 387-392, 2016.

MISIUK, W.; JASIUK, E. Study of the inclusion interaction of HP- γ -cyclodextrin with bupropion and its analytical application. **Journal of Molecular Structure**, v. 1060, n. s.n., p. 272-279, 2014.

MOKHTAR, Maali Saad; SULIMAN, FakhrEldin O.; ELBASHIR, Abdalla A. Experimental and molecular modeling investigations of inclusion complexes of imazapyr with 2-hydroxypropyl (β/γ) cyclodextrin. **Journal of Molecular Liquids**, v. 262, n. s.n., p. 504-513, 2018.

MONNAERT, V. et al. Effects of γ -and hydroxypropyl- γ -cyclodextrins on the transport of doxorubicin across an in vitro model of blood-brain barrier. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 311, n. 3, p. 1115-1120, 2004.

MORAES, C. M. et al. Preparação e caracterização físico-química de complexos de inclusão entre anestésicos locais e hidroxipropil-beta-ciclodextrina. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 777-784, 2007.

MURA, P. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 113, n. s.n., p. 226-238, 2015.

NERIS, R. R. et al. Indução da dor pelo quimioterápico docetaxel em mulheres com câncer de mama. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 29, n. 4, p. 397-404, 2016.

NICOLETTI, D. N. Ciclodextrinas no desenvolvimento de fármacos: estratégias de formação de complexos de inclusão. 1. Ed. – Rio de Janeiro: Interciência, 2023.

NOLAN, E; LINDEMAN, G J.; VISVADER, Jane E. Deciphering breast cancer: from biology to the clinic. **Cell**, v. 186, n. 8, p. 1708-1728, 2023.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. 2020. Cancer. 2020. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>>. Acesso em: 15/06/2023.

PATIL, Suyash M. et al. Solubility enhancement and inhalation delivery of cyclodextrin-based inclusion complex of delamanid for pulmonary tuberculosis treatment. **AAPS PharmSciTech**, v. 24, n. 1, p. 49-61, 2023.

PESSINE, F. B. T.; CALDERINI, A.; ALEXANDRINO, G. L. Review: Cyclodextrin Inclusion Complexes Probed by NMR Techniques. Magnetic Resonance Spectroscopy, Prof. Dong-Hyun Kim (Ed.), ISBN: 978-953-51-0065-2, InTech. 2012.

PÉTRONILLE, Roy et al. Comparative analysis of docetaxel: Physical and chemical characterisation of Taxotère® and generics. **European Journal of Cancer**, v. 135, n. s.n., p. 183-191, 2020.

PUBCHEM. Docetaxel. 2023. Disponível em:<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Docetaxel>>. Acesso em 10/06/2023.

PUBCHEM. Hydroxypropyl-gamma-cyclodextrin. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydroxypropyl-gamma-cyclodextrin>. Acesso em: 20/09/2024.

PUSKÁS, István et al. Recent list of cyclodextrin-containing drug products. **Periodica Polytechnica Chemical Engineering**, v. 67, n. 1, p. 11-17, 2023.

RAJBANSHI, Biplab et al. Exploring 2: 1 inclusion complexes of cyclodextrins and antispasmodics, Alverine citrate for enhancing bioavailability and sustained dischargement. **Journal of Molecular Liquids**, v. 370, n. s.n., p. 121036-121044, 2023.

RAO, V. M. et al. Co-solubilization of poorly soluble drugs by micellization and complexation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 319, n. 1-2, p. 98-106, 2006.

RASHEED, Arun et al. Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review. **Scientia Pharmaceutica**, v. 76, n. 4, p. 567-598, 2008.

REN, L. et al. Inclusion complex of docetaxel with sulfobutyl ether β -cyclodextrin: preparation, in vitro cytotoxicity and in vivo safety. **Polymers**, v. 12, n. 10, p. 2336-2254, 2020.

RIBEIRO, L. et al. Investigation and physicochemical characterization of vinpocetine-sulfobutyl ether β -cyclodextrin binary and ternary complexes. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 51, n. 8, p. 914-922, 2003.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química nova**, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004.

SADAQUAT, H. et al. Biodegradable and biocompatible polymeric nanoparticles for enhanced solubility and safe oral delivery of docetaxel: In vivo toxicity evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 598, n. s. n., p. 120363-120373, 2021.

SADAQUAT, Hadia; AKHTAR, Muhammad. Comparative effects of β -cyclodextrin, HP- β -cyclodextrin and SBE7- β -cyclodextrin on the solubility and dissolution of

docetaxel via inclusion complexation. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 96, n. 3, p. 333-351, 2020.

SAHA, Subhadeep et al. Study to explore the mechanism to form inclusion complexes of β -cyclodextrin with vitamin molecules. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2016.

SANTOS, P. et al. Cyclodextrins as complexation agents to improve the anti-inflammatory drugs profile: a systematic review and meta-analysis. **Current pharmaceutical design**, v. 23, n. 14, p. 2096-2107, 2017.

SARABIA-VALLEJO, Álvaro et al. Cyclodextrin inclusion complexes for improved drug bioavailability and activity: synthetic and analytical aspects. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 9, p. 2345-2397, 2023.

SCIFINDER-n. Ciclodextrinas. Disponível em: <https://scifinder-n.cas.org/>. Acesso em: 21/06/2024.

SHALABY, K. S.; ISMAIL, M. I.; LAMPRECHT, A. Cyclodextrin complex formation with water-soluble drugs: Conclusions from isothermal titration calorimetry and molecular modeling. **AAPS PharmSciTech**, v. 22, n. 7, p. 232-240, 2021.

SHEN, Yan-Bing et al. Influence of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on phytosterol biotransformation by different strains of *Mycobacterium neoaurum*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 9, p. 1253-1259, 2012.

SHITYAKOV, Sergey et al. Solubility profiles, hydration and desolvation of curcumin complexed with γ -cyclodextrin and hydroxypropyl- γ -cyclodextrin. **Journal of Molecular Structure**, v. 1134, n. s.n., p. 91-98, 2017.

SIEGEL, R. L. et al. Cancer statistics, 2023. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 73, n. 1, p. 17- 48, 2023.

SIEGEL, R. L.; GIAQUINTO, A. N.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2024. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 74, n. 1, p. 12–49, 2024.

SINGLA, A. K.; GARG, A.; AGGARWAL, D. Paclitaxel and its formulations. **International journal of pharmaceutics**, v. 235, n. 1-2, p. 179-192, 2002.

SOUZA, M. V. N. Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtúbulos, um importante alvo no combate ao câncer. **Química Nova**, v. 27, n.2, p. 308-312, 2004.

TOGAMI, K. et al. Improvement of the pharmacokinetics and antifibrotic effects of nintedanib by intrapulmonary administration of a nintedanib–hydroxypropyl- γ -cyclodextrin inclusion complex in mice with bleomycin-induced pulmonary fibrosis. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 172, n. s. n., p. 203–212, 2022.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Docetaxel Injection USP. USP 43 – NF 38, v. I, P. 1474, 2020.

VASAN, A S. et al. Docetaxel-induced lung injury. **Medical Journal Armed Forces India**, v. s. v., n. s. n., p.1-4, 2023.

VENNIN, C. et al. Taxanes trigger cancer cell killing in vivo by inducing non-canonical T cell cytotoxicity. **Cancer Cell**, v. 41, n. 6, p. 1170-1185, 2023.

VENTURINI, C. G. et al. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 360-368, 2008.

WAKS, A. G.; WINER, E. P. Breast cancer treatment: a review. **Jama**, v. 321, n. 3, p. 288-300, 2019.

WANG, D. et al. Oral docetaxel plus encequidar—A pharmacokinetic model and evaluation against IV docetaxel. **Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics**, v. 51, n. s. n., p. 335-352, 2024.

WANG, Q. et al. Cyclodextrin-based ocular drug delivery systems: A comprehensive review. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 476, n. s.n., p. 214919-214943, 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Breast cancer now most common form of cancer: WHO taking action. 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/pt/news/item/03-02-2021-breast-cancer-now-most-common-form-of-cancer-who-taking-action>>. Acesso em 11/07/2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Model List of Essential Medicines - 23rd list, 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2023.02>>. Acesso em: 12/08/2023.

WÜPPER, Svenja; LÜERSEN, Kai; RIMBACH, Gerald. Cyclodextrins, natural compounds, and plant bioactives—a nutritional perspective. **Biomolecules**, v. 11, n. 3, p. 401-421, 2021.

XU, P. W. et al. Preparation, characterization, and physicochemical property of the inclusion complexes of Cannabisin A with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Journal of Molecular Structure**, v. 1272, n. s.n., p. 134168-134178, 2023.

YANG, J. et al. Improving the solubility of vorinostat using cyclodextrin inclusion complexes: The physicochemical characteristics, corneal permeability and ocular pharmacokinetics of the drug after topical application. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 168, n. s.n., p. 106078-106088, 2022.

ZHAO, Pengxiang; ASTRUC, Didier. Docetaxel nanotechnology in anticancer therapy. **ChemMedChem**, v. 7, n. 6, p. 952-972, 2012.