

# Efeitos de complexos moleculares com $\beta$ -ciclodextrina e hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina na solubilidade da cafeína

## Effect of molecular complexes with $\beta$ -cyclodextrin and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin in the caffeine solubility

Marlus Chorilli<sup>1,2</sup>, Rafaela Chiarini de Mattos<sup>2</sup>, Juliana Tsukamoto<sup>2</sup>, Anselmo Gomes de Oliveira<sup>2</sup> & Maria Virgínia Scarpa<sup>2</sup>

**RESUMO** – Os complexos moleculares com ciclodextrinas (CDs) apresentam inúmeras vantagens, principalmente relacionadas com aumento de solubilidade e estabilidade de várias substâncias ativas, como a cafeína (CF). O objetivo deste trabalho foi verificar se a formação dos complexos moleculares CF/ $\beta$ CD e CF/hidroxipropil- $\beta$ CD (HP- $\beta$ CD) permitem aumento da solubilidade da CF pelo método de solubilidade de fases. Em frascos de vidro foram pesadas concentrações crescentes de  $\beta$ CD e de HP- $\beta$ CD aos quais se adicionou CF e tampão acetato de sódio. As misturas foram agitadas, centrifugadas e filtradas em membrana de policarbonato. Em seguida, a absorbância foi verificada em 273nm e a concentração de CF calculada através de curva analítica. Os valores de concentração de CF foram representados graficamente em função das concentrações de CD. Obteve-se diagrama de solubilidade de fase do tipo  $A_n$  para  $\beta$ CD e do tipo  $B_s$  para HP- $\beta$ CD. Os resultados do cálculo da constante de solubilidade evidenciaram que as formações dos complexos com  $\beta$ CD e HP- $\beta$ CD não resultaram em aumento da solubilidade da CF.

**PALAVRAS-CHAVE** – Complexos moleculares,  $\beta$ -ciclodextrina, hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina, cafeína.

**SUMMARY** – The molecular complexes with cyclodextrins (CDs) present several advantages, mainly related with solubility increase and stability of some active substances, as the caffeine (CF). The objective of this work was to verify if the formation of the molecular complexes CF/ $\beta$ CD and CF/hydroxypropyl- $\beta$ CD (HP- $\beta$ CD) allows the solubility increase of the CF by solubility phases method. In glass bottles some concentrations of  $\beta$ CD and HP- $\beta$ CD were weighed and added CF and sodium acetate buffer. The mixtures were agitated, centrifuged and filtered in polycarbonate membrane. After, the absorbance was verified in 273 nm and the CF concentration calculated through analytical curve. The values of CF concentration were represented graphically in function of the CD concentrations. Diagram of the type  $A_n$  phase solubility was gotten to  $\beta$ CD and the type  $B_s$  to HP- $\beta$ CD. The calculation results to constant solubility evidenced that the formations of the complexes with  $\beta$ CD and HP- $\beta$ CD not resulted in increase of the solubility of the CF.

**KEYWORDS** – Molecular complexes,  $\beta$ -cyclodextrin, hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, caffeine.

### INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos, tem-se verificado a presença de vários sistemas de liberação disponíveis no desenvolvimento de produtos para a pele. Todos estes sistemas possuem características que permitem melhorar as propriedades dos ativos, como a solubilidade, além de muitos deles aumentarem a absorção percutânea. Dentre esses sistemas, tem-se: emulsões óleo/água (O/A) e água/óleo (A/O), emulsões múltiplas, microemulsões, lipossomas e niossomas, sistemas particulares (micro e nanopartículas, entre outros) e complexos moleculares (ciclodextrinas) (Magdassi, 1997).

As ciclodextrinas (CDs), também denominadas dextrinas de Schardinger, cicloamiloses, ciclomalto-oligosacarídeos ou ciclomaltozes, são oligossacarídeos cíclicos formados por pelo menos 6 unidades de glicopiranosose, sendo as mais conhecidas a  $\alpha$ -CD (6 unidades),

a  $\beta$ -CD (7 unidades) e a  $\gamma$ -CD (8 unidades), as quais são conhecidas como CDs naturais. Elas são obtidas a partir da degradação do amido pela ciclodextrina-glicosil-transferase (CGT), uma enzima sintetizada por vários microrganismos (Fernandes & Veiga, 1999a; Citternesi & Sciacchitano, 1995; Amann & Dressnandt, 1993)

Apesar das CDs naturais serem bastante utilizadas na investigação e desenvolvimento de formulações cosméticas, algumas propriedades se apresentam menos adequadas enquanto veículos, principalmente relacionadas com baixa solubilidade em água e maior toxicidade. Assim, pode-se recorrer a modificações químicas das ciclodextrinas, propiciando, além de uma melhora da solubilidade e menor toxicidade, um aumento na capacidade de inclusão dos seus derivados. Tais CDs são chamadas derivadas. As modificações decorrentes podem ocorrer por alterações nos grupos

Recebido em 2007

<sup>1,2</sup>Curso de Farmácia – Faculdade de Ciências da Saúde – Universidade Metodista de Piracicaba

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UNESP

hidroxila primários e/ou secundários, onde são ligados diversos grupos funcionais. Os derivados das CDs podem ser obtidos pela substituição com grupos metila, etila, carboximetila, hidroxietila, hidroxipropila, sacarídeos ou através da polimerização das ciclodextrinas (Cserháti, 1995; Pitha *et al.*, 1986; Müller & Brauns, 1985).

Duchêne & Wouessidjewe (1990) citam, por exemplo, um aumento superior a 25 vezes da solubilidade em água a 25°C utilizando um derivado hidroxipropil- $\beta$ -CD (HP- $\beta$ CD) em comparação com o  $\beta$ CD. Já Pitha & Pitha (1985) apontam para as vantagens dos derivados das CDs em relação à menor toxicidade, já que verificaram insignificância da toxicidade aguda da HP- $\beta$ CD após sua administração intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, intracraniana e tópica.

As CDs possuem uma forma de cone truncado com uma cavidade interior cujo tamanho e forma é determinado pelo número de unidades de glicopiranosose. Esse interior é relativamente apolar, comparado com a água, servindo como local para a entrada de substâncias apolares que encontram um sítio hidrofóbico adequado à formação de complexos de inclusão molecular (Frömming & Szejtli, 1994).

Segundo Szejtli (1988), para ser complexada, a substância ativa precisa apresentar algumas características, como compatibilidade geométrica – o tamanho e a geometria da molécula a ser incluída na CD devem ser adequados para a cavidade polar e polaridade – o requisito mínimo para complexação é que ocorra inclusão total (ou parcial) da substância ativa na cavidade da CD. Assim, a molécula-hóspede deve estar em solução e deve possuir certo grau de hidrofobicidade.

Na complexação, vários fenômenos estão envolvidos, como: substituição de um estado energeticamente desfavorável para um estado mais estável, causado pela saída de água e entrada da substância ativa; formação de interações de Van der Waals entre a CD e a substância ativa, além de interações dipolo-dipolo induzidas e forças de London; formação de pontes de hidrogênio entre a CD e a molécula-hóspede (Fathallah *et al.*, 1994; Szejtli, 1988).

Existem vários métodos citados na literatura para preparação de complexos com CDs. Na seleção de tais métodos, deve-se levar em consideração o rendimento, a simplicidade do método, a rapidez, os custos e a facilidade em transposição em escala (Mura *et al.*, 1999). Os métodos de preparação podem ser divididos em fase líquida, fase semi-sólida e fase sólida, sendo que os melhores resultados são os obtidos em fase líquida.

Dentre os métodos de fase líquida, tem-se: co-precipitação, neutralização, liofilização e secagem por pulverização (Duchêne & Wouessidjewe, 1990; Szejtli, 1988; Esclusa-Diaz, 1994).

O método de co-precipitação baseia-se no diagrama de solubilidade de fases. Se no estudo de solubilidade de fases determina-se a formação de complexo menos solúvel no meio (tipo Bs ou Bi), é bem possível que se possa separá-lo por precipitação. Para isso, podem-se demandar dias ou até semanas para que o equilíbrio seja alcançado e o complexo precipite espontaneamente, sob agitação (Duchêne & Wouessidjewe, 1990; Szejtli, 1988; Esclusa-Diaz, 1994).

As principais aplicações das CDs são: aumento da

estabilidade da substância ativa contra hidrólise, oxidação e fotólise (Loftsson & Brewster, 1996); aumento da solubilidade de ativos (Bekers *et al.*, 1991); aumento da biodisponibilidade de princípios ativos (Smith & Maibach, 1995); conversão de substâncias voláteis e Citernesi & Sciacchitano (1995) cita várias vantagens da complexação de cosméticos com CDs, dentre elas: inclusão total ou parcial da substância ativa na cavidade, isolando-a do ambiente externo e protegendo-a da oxidação e da degradação; inibição da decomposição natural da substância ativa inclusa, reforçando seu efeito ao longo do tempo; liberação controlada; estabilização de componentes; complexação de fragrâncias.

Há vários relatos na literatura sobre aumento de solubilidade de substâncias ativas utilizando CDs (Kaukonen *et al.*, 1997; Pitha *et al.*, 1986). A cafeína (CF), ativo muito utilizado em formulações anti-celulite, apresenta baixa solubilidade em água (1g/46mL de água). Todavia, não há relatos na literatura de possível aumento de solubilidade deste ativo utilizando CDs.

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar se a formação dos complexos moleculares CF/ $\beta$ CD e CF/hidroxipropil- $\beta$ CD (HP- $\beta$ CD) permitem aumento da solubilidade da CF pelo método de solubilidade de fases.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Curva analítica de CF em tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5**

Para a construção da curva analítica, foi utilizada uma solução-mãe de CF a 10 $\mu$ g/mL. Alíquotas da solução mãe foram adicionadas a 2mL de tampão em cubeta do espectrofotômetro UV/VIS Hitachi – mod. U-2000. Cada solução resultante foi agitada e em seguida procedeu-se leitura no comprimento de onda de 273nm.

### **Curva de solubilidade da CF em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,5**

Para a construção da curva de solubilidade, foi utilizada uma solução-mãe de CF a 10 $\mu$ g/mL. Alíquotas da solução mãe foram adicionadas a 2mL de tampão em cubeta do espectrofotômetro UV/VIS Hitachi – mod. U-2000. Cada solução resultante foi agitada e em seguida procedeu-se leitura no comprimento de onda de 273nm. As leituras foram conduzidas até se observar graficamente a existência de um platô, indicando não haver grandes variações da absorbância a partir de uma determinada concentração do fármaco.

### **Obtenção de complexos moleculares pelo método de solubilidade de fases**

O método mais comum no estudo da complexação é o método de solubilidade de fases, o qual foi descrito por Higuchi & Connors (1965). Fundamenta-se nas alterações de solubilidade da substância ativa pela adição da CD. A substância-hóspede é adicionada em excesso a várias soluções de CD de concentrações crescentes. As diferentes amostras são submetidas à agitação e, após ter sido alcançado o equilíbrio, é filtrado e a concentração da substância hóspede determinada.

O diagrama de solubilidade de fases é construído com a representação gráfica da concentração da subs-

tância-hóspede em função das concentrações de CD. Conforme o gráfico obtido, classifica-se o complexo formado em A (aumento de solubilidade) e B (queda na solubilidade). Mediante valores matemáticos determinados pelas curvas obtidas pode-se determinar a constante de solubilidade ( $k_s$ ) do complexo em questão.

Em frascos de vidro foram pesadas concentrações crescentes de  $\beta$ CD (0 a 16mM) e de HP- $\beta$ CD (0 a 100mM) aos quais adicionou-se 300mg de CF e 10mL de tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,5,  $\mu = 0,1M$ . As misturas foram agitadas por 72h a 25°C, centrifugadas a 3900rpm por 15min e filtradas em membrana de polícarbonato 0,22 $\mu$ m. Após diluição do filtrado, a absorbância foi verificada em 273nm e a concentração de CF calculada utilizando-se curva analítica ( $r^2 = 0,9998$ ). Os valores de concentração de CF foram representados graficamente em função das concentrações de CD.

A constante de solubilidade foi obtida pela equação de Higuchi & Connors (1965), onde  $\alpha$  = coeficiente angular da reta e C = coeficiente linear da reta:

$$k_s = \frac{\alpha}{C \times (1 - \alpha)}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Curva analítica de CF em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,5

Na Tabela I encontram-se os valores médios empregados na construção da curva analítica (n=3) de CF em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,5. Já a Figura 1

TABELA I  
Valores médios empregados na construção da curva analítica de CF em tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5

Concentração de CF ( $\mu$ g/mL)	Absorbância (nm)
0,625	0,029
1,25	0,057
2,5	0,119
5	0,229
7,5	0,344
10	0,459
15	0,697
20	0,934

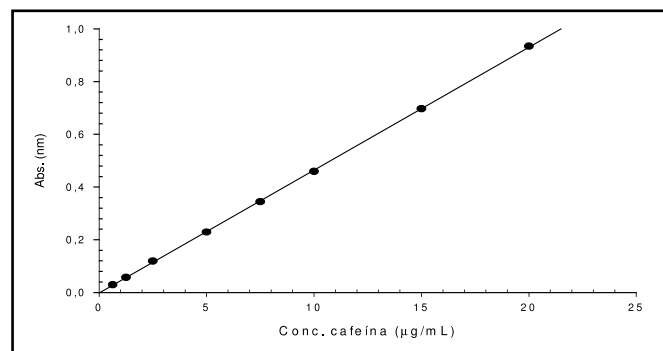


FIG. 1 - Curva analítica de CF em tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5;  $y = 0,0466x - 0,002$ ;  $r^2 = 0,9998$ ;  $\lambda = 273nm$ .

apresenta a curva analítica de CF em tampão acetato de sódio 0,1M pH5,5.

Observa-se na Figura 1 que a curva-padrão obedeceu à lei de Lambert-Beer nas concentrações analisadas, apresentando ótimo coeficiente de correlação ( $r^2 = 0,9998$ ).

### Curva de solubilidade da CF em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,5

Na Tabela II encontram-se os valores empregados na construção da curva de solubilidade da CF em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,5. Já a Figura 2 apre-

TABELA II  
Valores empregados na construção da curva de solubilidade da CF em tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,5

Concentração de CF ( $\mu$ g/mL)	Absorbância (nm)	Concentração de CF ( $\mu$ g/mL)	Absorbância (nm)
0,99	0,048662	27,273	1,3662
1,478	0,073377	28,058	1,4018
2,439	0,12106	29,577	1,4455
3,382	0,17134	30,07	1,4835
3,846	0,1917	31,973	1,5792
4,306	0,21331	32,886	1,6392
5,213	0,26194	33,775	1,7011
5,66	0,28063	35,484	1,8122
6,103	0,30109	36,508	1,878
7,042	0,34604	37,5	1,9379
7,834	0,38899	38,462	2,0001
8,676	0,43095	39,394	2,0541
9,502	0,4732	40,299	2,1048
10,314	0,51467	42,029	2,1924
11,111	0,55615	43,662	2,2696
11,894	0,59996	45,205	2,3451
12,664	0,63861	46,666	2,4055
13,42	0,67522	48,052	2,4636
14,53	0,73379	49,367	2,5409
15,612	0,78742	50,617	2,5779
16,318	0,82302	51,22	2,6044
17,012	0,85927	52,381	2,6223
17,695	0,89605	53,488	2,63445
18,367	0,92638	54,545	2,63999
19,028	0,96074	55,556	2,64322
19,679	0,99226	56,522	2,65
20,319	1,0237	57,447	2,6599
20,949	1,0573	57,627	2,6806
21,569	1,08	58,071	2,6843
22,179	1,1208	58,16	2,6896
23,954	1,23	58,246	2,6921
25,094	1,2696	58,333	2,6958
26,199	1,3128		

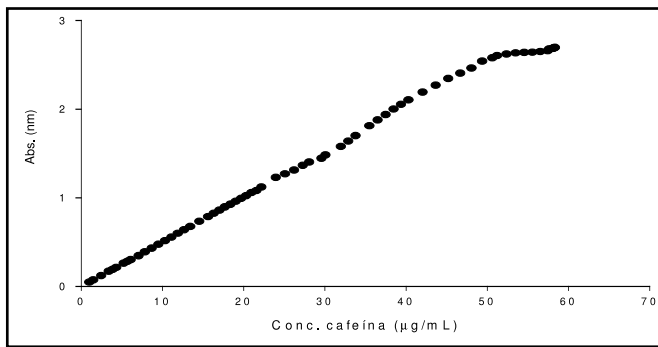


FIG. 2 - Curva de solubilidade da CF em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,5.

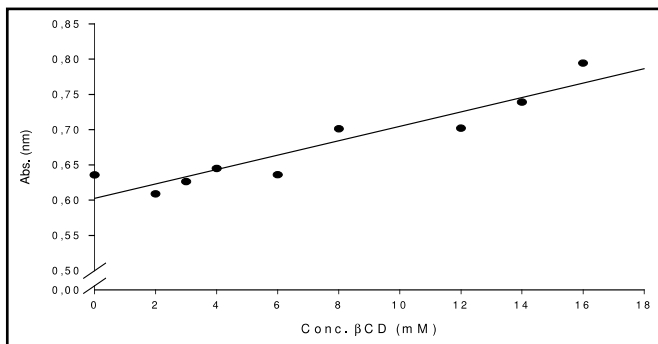


FIG. 3 - Diagrama de solubilidade de fases para  $\beta$ CD;  $y = 0,0102x + 0,6026$ ;  $r^2 = 0,8754$ ;  $\lambda = 273\text{nm}$ .

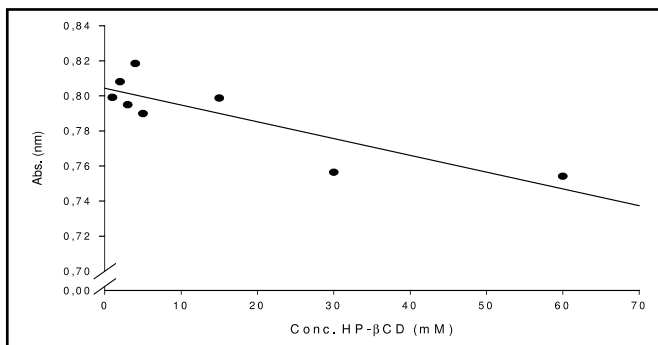


FIG. 4 - Diagrama de solubilidade de fases para HP  $\beta$ CD;  $y = -0,001x + 0,804$ ;  $r^2 = 0,7304$ ;  $\lambda = 273\text{nm}$ .

senta a curva de solubilidade da CF em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,5.

#### Obtenção de complexos moleculares pelo método de solubilidade de fases

Para  $\beta$ CD (Figura 3), obteve-se diagrama de solubilidade de fase do tipo  $A_n$ , com desvio negativo da linearidade, o que reflete a formação de complexo de maior ordem molecular, significando que mais de uma molécula de CD foi complexada com uma molécula de cafeína (Fernandes & Veiga, 1999b). Os resultados do cálculo da constante de solubilidade ( $k_s$ ) evidenciaram, porém, que a formação do complexo com  $\beta$ CD não resultou em aumento da solubilidade da cafeína ( $k_s = 0,017M^{-1}$ ). Já para HP- $\beta$ CD (Figura 4), observou-se diagrama de solubilidade de fase do tipo  $B_s$ , apresentando dois pontos: o ponto A, que significa que a solubilidade do complexo atingiu o seu limite, e o ponto B, que demonstra que toda a molécula-hóspede sólida foi consumida e a molécula em solução foi transformada em complexo de inclusão sólido por aumento da concentração de CD (Fernandes & Veiga, 1999b). Os resultados do cálculo da constante de solubilidade evidenciaram, porém, que a formação do complexo com

HP- $\beta$ CD também não resultou em aumento da solubilidade da cafeína ( $k_s = 0,0012M^{-1}$ ).

## CONCLUSÃO

Diante das condições experimentais, pode-se concluir que ocorreu a formação dos complexos moleculares cafeína/ $\beta$ CD e cafeína/HP  $\beta$ CD; todavia, a formação dos complexos não resultou em aumento da solubilidade da cafeína.

## AGRADECIMENTOS

Ao PADC -FCF-UNESP e DS-CAPES.

## REFERÊNCIAS

- Amann, M.; Dressnandt, G. Solving problems with cyclodextrins in cosmetics. *Cosm. Toil.* 1993 108(11): 90-95.
- Bekers, O.; Uijtendaal, E.V.; Beijnen, B. Cyclodextrins in the pharmaceutical field. *Drug Dev. Ind. Pharmaceutical* 1991 (17): 1503-1549.
- Citernes, U.; Sciacchitano, M. Ciclodextrinas em dermocosméticos funcionais. *Cosm. Toil.* 1995 7(3): 50-55.
- Cserhádi, T. Interaction of some anticancer drugs with carboxymethyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* 1995 (124): 205-11.
- Duchêne, D.; Wouessidjewe, D. Physicochemical characteristics and pharmaceutical uses of cyclodextrin derivatives. Part I. *Pharm. Tech.* 1990 (6): 26-34.
- Esclusa-Díaz, M.; Torres-Labandeira, J.J.; Kata, M.; Vila-Jato, J.L. Inclusion complexation of glibenclamide with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin in solution and in solid state. *Eur. J. Pharm. Sci.* 1994 (1): 291-296.
- Fathallah, M.; Fotiadu, F.; Jaime, C. Cyclodextrin inclusion complexes. MM2 calculations reproducing bimodal inclusions. *J. Org. Chem.* 1994 (59): 1288-93.
- Fernandes, C.M.; Veiga, F.J.B. As ciclodextrinas na tecnologia farmacêutica. I. Produção, estrutura e propriedades. *Rev. Ciências Farm.* 1990a 20(2): 335-351.
- Fernandes, C.M.; Veiga, F.J.B. As ciclodextrinas na tecnologia farmacêutica. II. Formação e detecção dos complexos de inclusão em solução. *Rev. Ciências Farm.* 1990b 20(2): 353-373.
- Frömming, K.H.; Szejtli, J. *Cyclodextrins in Pharmacy*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994.
- Higuchi, T.; Connors, K.A. Phase-solubility techniques. *Adv. Anal. Inst.* 1965 (4): 117-212.
- Loftsson, T.; Brewster, M. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J. Pharm. Sci.* 1996 (85): 1017-25.
- KAUKONEN, A.M.; KILPELÄINEN, I.; MANNERMAA, J.P. Water-soluble  $\beta$ -cyclodextrins in paediatric oral solutions of spironolactone: solubilization and stability of spironolactone in solutions of  $\beta$ -cyclodextrin derivatives. *International Journal of Pharmaceutics* 1997 (159): 159-170.
- Lopez, R.F.V.; Collett, J.H.; Bentley, M.V.L.B. Influence of cyclodextrin complexation on the in vitro permeation and skin metabolism of dexamethasone. *International Journal of Pharmaceutics* 2000 (200): 127-132.
- Magdassi, S. Delivery systems in cosmetics. *Colloids and Surfaces A: Physico-chemical and Engineering Aspects* 1997 (123-124): 671-679.
- Mitragotri, S. Synergistic effect of enhancers for transdermal drug delivery. *Pharmaceutical Research* 2000 17(11): 1354-1359.
- Motwani, M.; Zatz, J.L. Applications of cyclodextrins in skin products. *Cosm. Toil.* 1997 (112): 39-47.
- Müller, B.; Brauns, V. Solubilization of drugs by modified  $\beta$ -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* 1985 (26): 77-88.
- Mura, P.; Faucci, M.T.; Parrini, P.L.; Furlanetto, S.; Pinzanti, S. Influence of the preparation method on the physico-chemical properties of ketoprofen - cyclodextrin binary systems. *Int. J. Pharm.* 1999 (179): 117-128.
- Pitha, J.; Milecki, J.; Fales, H.; Pannell, L.; Uekama, K. Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin: preparation and characterization, effects on solubility of drugs. *Int. J. Pharm.* 1986 (29): 73-82.
- Pitha, J.; Pitha, J. Amorphous water-soluble derivatives of cyclodextrins: nontoxic dissolution enhancing excipients. *J. Pharm. Sci.* 1985 (74): 987-90.
- Smith, W.W.; Maibach, H.I. Percutaneous penetration enhancers: the fundamentals. In: SMITH, E.W.; Maibach, H.I. *Percutaneous penetration enhancers*. Boca Raton: CRC Press, 1995. p.1-4.
- Szejtli, J. Cyclodextrin inclusion complexes. In: SZEJTLI, J. *Cyclodextrin technology*. London: Kluwer Academic Publ., 1988. p.1-185.

#### Endereço para correspondência

Marlus Chorilli  
Faculdade de Ciências da Saúde - Curso de Farmácia  
Universidade Metodista de Piracicaba  
Rodovia do Açúcar, km 156 - Campus Taquaral -  
CEP 13400-911 - Caixa Postal 68  
E-mail: mlchoril@unimep.br