

Estudo fotofísico e fotodegradativo do cloridrato de tetraciclina em cavidades de beta-ciclodextrina

Maurício Ferreira Rosa¹, Kathia Regina Kunzler², Tiago de Oliveira Brito¹,
Reinaldo Aparecido Bariccatti¹, Viviane da Silva Lobo³

¹ GIPeFEA – Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Fotoquímica e Eletroquímica Ambiental, Unioeste/Toledo-PR

² IFPR/Assis Chateaubriand-PR

³ Tecnologia em Processos Químicos/UTFPR/Toledo-PR

kathiark@yahoo.com.br

Submetido em 11/06/2014; Versão revisada em 20/02/2015; Aceito em 24/02/2015

Resumo

Devido à ampla utilização das tetraciclina e sua facilidade em formar novos produtos sob condições físicas adversas, podendo estes apresentarem alguma toxicidade, este trabalho teve como propósito estudar o comportamento fotofísico e fotodegradativo da molécula cloridrato de tetraciclina, expondo-a a variações de pH (neutro, ácido e básico) e à irradiação ultravioleta, assim como testar a capacidade deste fármaco de ser encapsulado na cavidade da molécula de beta-ciclodextrina. Foi verificado que a presença de beta-ciclodextrina diminuiu a fotoestabilidade do fármaco, independente do pH analisado.

Palavras-chave: estruturas supramoleculares, betaciclodextrina, fotoestabilidade.

Abstract

Because of the widespread use of tetracycline and its ease to yield new products under adverse physical conditions, which may provide certain toxicity, this work studied the photophysics and the photodegradative behavior of tetracycline hydrochloride, exposed to changes in pH (neutral, alkaline or acidic), ultraviolet radiation, as well as test the ability of this drug to be encapsulated in the beta-cyclodextrin cavity. It was observed that beta-cyclodextrin lowered the molecule photostability, independently of pH analysed.

Key words: supramolecular structures, beta-cyclodextrin, photostability.

Introdução

O desenvolvimento das tetraciclina adveio de uma triagem de amostras de solos colhidas em muitas partes do mundo na pesquisa de microorganismos produtores de antibióticos. O primeiro desses compostos a ser descoberto foi a clortetraciclina e dois anos mais tarde tornou-se disponível a oxitetraciclina. Em seguida, com a caracterização da estrutura química dessas drogas confirmaram-se suas semelhanças, fornecendo, desta forma, base para a produção de um terceiro membro deste grupo, a tetraciclina (Goodman, 1987).

Segundo Pena e colaboradores (2000), a tetraciclina (TC) é um antibiótico de largo espectro utilizado para fins

médicos e veterinários, seja como fator de crescimento em doses subterapêuticas ou em doses terapêuticas no tratamento de doenças e infecções. Moreno-Cerezo e colaboradores (2001) relatam que ambos os usos resultaram no aumento da resistência bacteriana a este fármaco.

Embora o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, que sejam mais eficazes para determinadas infecções e menos tóxicos, tenham diminuído as indicações para sua utilização, as tetraciclina ainda são amplamente utilizadas tanto em formulações para tratamento humano como na farmacêutica veterinária.

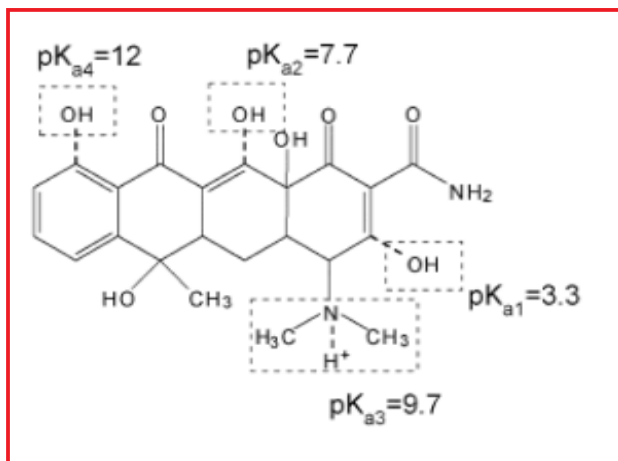


Figura 1: Estrutura da tetraciclina com seus respectivos valores de pKa's

A estrutura química das TCs (Figura 1) caracteriza-se pelo esqueleto do octaidronaftaceno, sistema formado de quatro anéis fundidos linearmente. Sua estrutura apresenta até seis carbonos quirais no sistema de anéis fundidos.

Segundo Jiao e colaboradores (2008), as TCs são moléculas anfotéricas apresentando valores de pKa de 3,3; 7,7; 9,7 e 12, conforme apresentado na Figura 1. As moléculas de tetracilinas existem nas formas neutra e catiônica em solução de pH 4,0 e na forma aniônica em solução de pH 9,0.

Segundo Korolkovas & Burckhalter (1988), muitas tetracilinas formam sais hidrossolúveis com ácidos e bases fortes. Os sais ácidos formam-se por protonização do grupo dimetilamino no átomo do carbono C-4 e são estáveis. Os sais básicos são formados por reação com hidróxidos de cálcio, sódio ou potássio, e são instáveis em soluções aquosas.

De acordo com Moreno-Cerezo e colaboradores (2001), alguns produtos de degradação das tetracilinas podem aparecer quando o cloridrato de tetraciclina é armazenado em condições adversas, especialmente

quando expostas a luz, altas temperaturas e umidade. Algumas dessas reações podem também realizar-se no estômago, devido ao pH ácido, com formação de epímeros como o epianidrotetraciclina. Alguns produtos de degradação formados pelas tetracilinas estão apresentados na Figura 2.

Segundo Pena e colaboradores (2000), estes produtos de degradação formados sob condições adversas são inativos como antibióticos ou ainda podem apresentar determinada toxidez. Assim, concentrações destas impurezas em produtos farmacêuticos devem ser estritamente controladas.

Para Fraceto e colaboradores (2007) uma alternativa que se tem mostrado capaz de promover a longa duração e conseqüentemente diminuição da toxicidade de fármacos é a liberação modificada destes, através da formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas.

As ciclodextrinas (CD) (Figura 3) são produtos cíclicos obtidos na hidrólise enzimática do amido efetuada por alguns microorganismos.

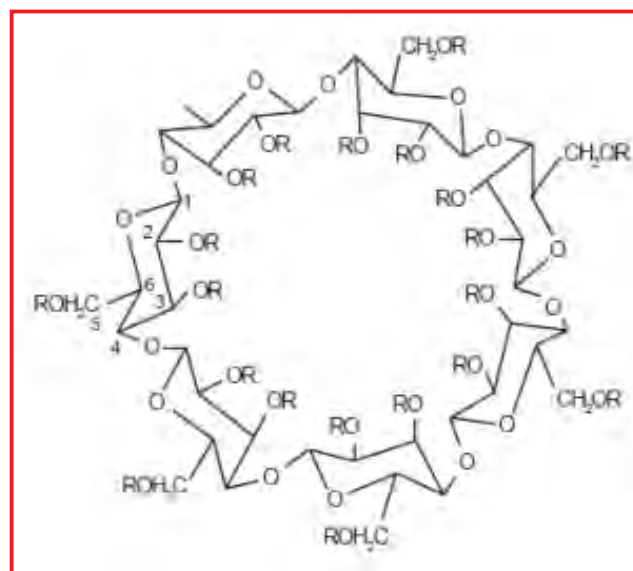


Figura 3: Estrutura geral das ciclodextrinas, onde R = H

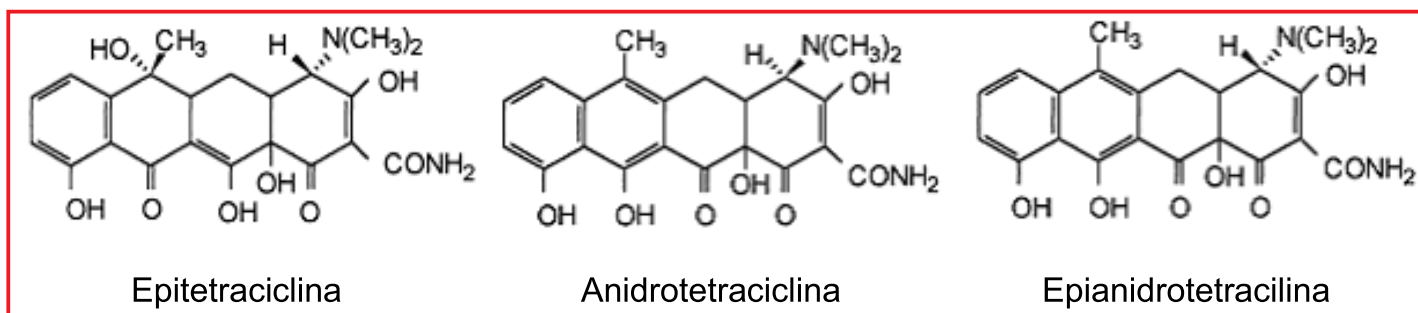


Figura 2: Produtos de degradação formados pela TC exposta a condições adversas

As três ciclodextrinas naturais são denominadas alfa, beta e gama, e são compostas respectivamente, por seis, sete ou oito unidades de D-(+)-glicopiranosose unidas por ligações glicosídicas α -1,4. Estes compostos possuem em sua estrutura grupos hidroxila primários e secundários orientados para o exterior possuindo assim caráter hidrofílico e uma cavidade interna hidrofóbica. Esta cavidade permite as ciclodextrinas complexarem moléculas que apresentarem dimensões compatíveis.

São escassos os trabalhos na literatura que reportem o encapsulamento de TC em beta-CD e seus possíveis efeitos na sua fotoestabilidade. Sousa e colaboradores (2008), utilizando a técnica de FTIR-ATR, propuseram uma estequiometria de 2:1 para o complexo de inclusão beta-CD/TC. Chen e colaboradores (2008) reportam que TC geram $^1\text{O}_2$ e H_2O_2 em solução sob irradiação solar simulada em pH natural.

Dada a ampla utilização das TCs e a sua facilidade em formar novos produtos sob condições físicas adversas, realizou-se um estudo fotofísico e fotodegradativo da molécula cloridrato de tetraciclina expondo a mesma a diversas variáveis e realizando-se um acompanhamento espectrofotométrico de absorção UV-vis para verificação da degradação desta e verificar a influência agente encapsulante beta-CD na fotoestabilidade da TC em solução aquosa em diferentes valores de pH.

Material e Métodos

2.1 Reagentes

Para realização deste estudo foram utilizadas amostras do medicamento genérico Cloridrato de Tetraciclina em cápsula adquirido no comércio local.

Para o preparo das amostras utilizaram-se água destilada, soluções tampões de ácido acético-acetato de sódio (pH 3,5), fosfato de potássio-hidróxido de sódio (pH 8,0) e beta-CD Aldrich 99,7%.

2.2 Preparo das soluções amostras

Para os estudos de encapsulamento foram preparadas soluções nos pH de 3,5, 7,0 e 8,0. Para cada pH empregado foram preparadas 11 soluções variando-se

para cada uma delas a proporção TC/beta-CD de 1:0 até 1:10. Para este procedimento foi preparada uma solução-mãe de TC na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Desta foram retiradas onze alíquotas de 0,5 mL que foram transferidas para 11 balões volumétricos de 10 mL. Nestes foram adicionados volumes crescentes, variando-se de zero a 5 mL, de uma solução de beta-CD de mesma concentração. O volume final foi completado com solução tampão no pH desejado ou água destilada.

Para os experimentos de fotodegradação foi inicialmente preparada uma solução-mãe de TC $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Os gases dissolvidos no meio foram extraídos em banho ultrassônico e a solução mantida ao abrigo da luz. Também foi preparada uma solução de beta-CD em igual concentração ($5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) que foi submetida ao mesmo tratamento.

Para as soluções submetidas à irradiação foi transferida uma alíquota de 1mL da solução-mãe de TC para balão volumétrico de 50 mL completando-se o volume com água destilada. O mesmo procedimento foi utilizado para a preparação das soluções nos pH 3,5 e 8,0.

As soluções contendo beta-CD foram preparadas adicionando uma alíquota de 1 mL da solução-mãe de TC e igual volume da solução de beta-CD, levando-se o volume a 50 mL em balão volumétrico com as soluções-tampões anteriormente mencionadas.

2.3 Equipamentos

Os testes de estabilidade do medicamento foram realizados colocando-se as soluções em uma cubeta de quartzo e expondo-as à radiação ultravioleta, em um fotorreator modelo Rayonet RPR100 (Southern New England Ultraviolet Company) adaptado com 8 lâmpadas com máximo de emissão na região de 350 nm.

Foi acompanhada a variação espectral da amostra em intervalos de 15 minutos pelo tempo máximo de 210 minutos de irradiação. Os espectros de absorção foram obtidos em um espectrofotômetro Shimadzu UV1601-PC.

Resultados e Discussão

Os espectros de absorvância da TC em função da

concentração de beta-CD adicionada não mostraram comportamento linear. Para a solução em água destilada (Figura 4) se observa um pequeno aumento da absorvância com o aumento da concentração de beta-CD, o que pode sugerir a ocorrência de encapsulamento. Porém nos pH 3,5 e 8,0 o comportamento não foi conclusivo.

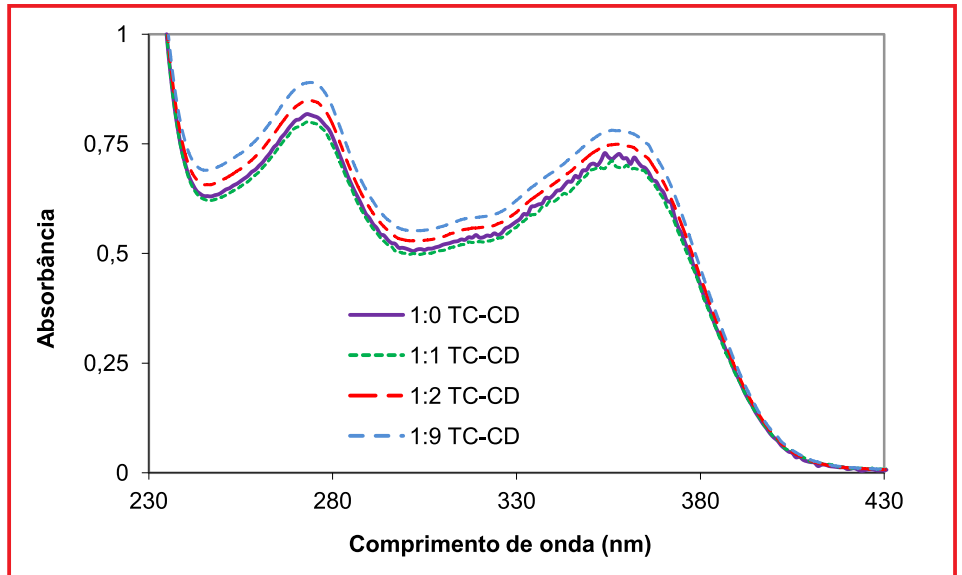
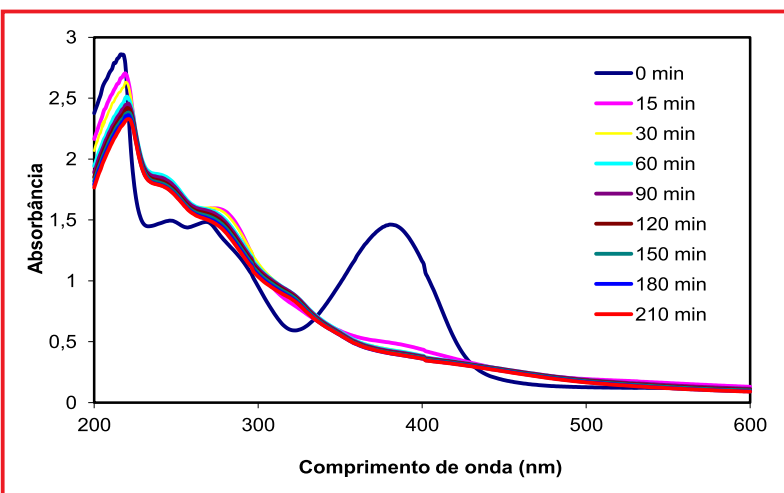
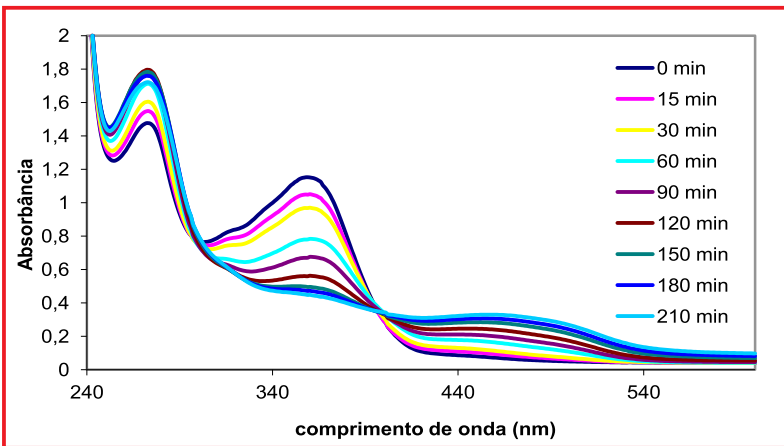
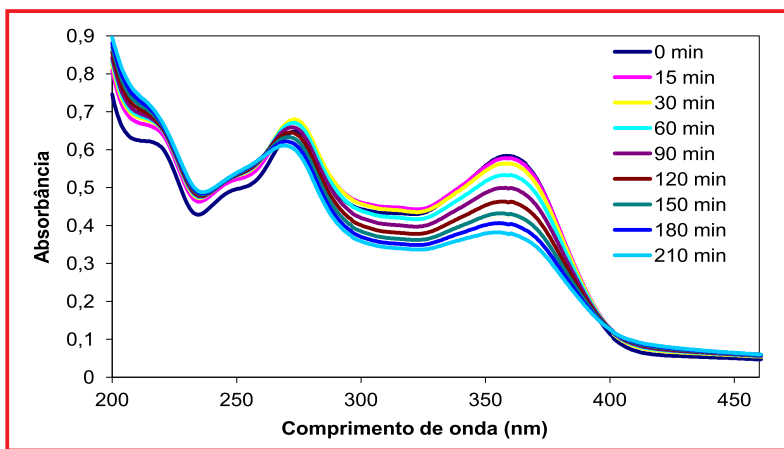
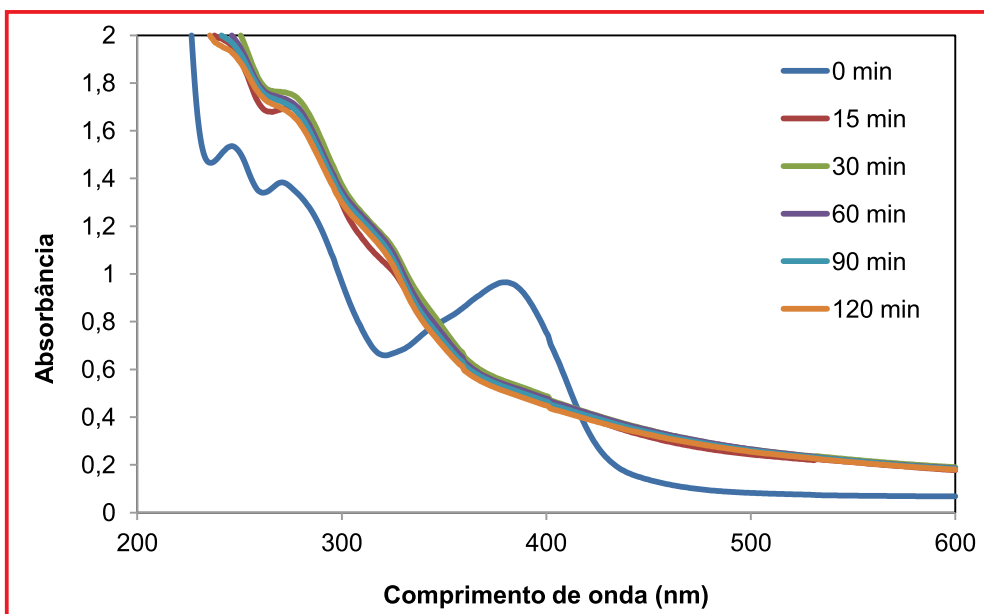
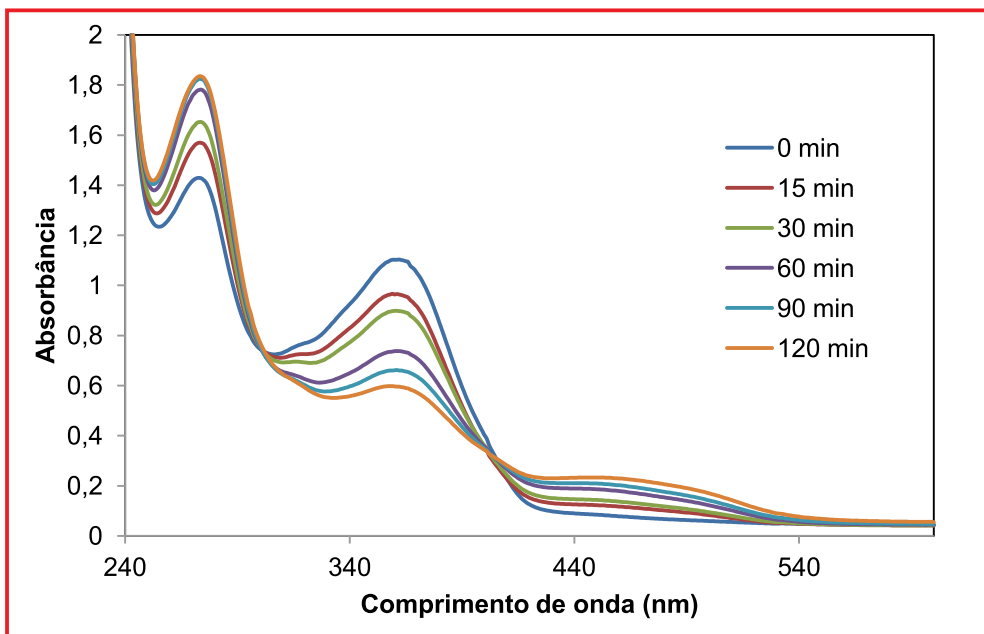
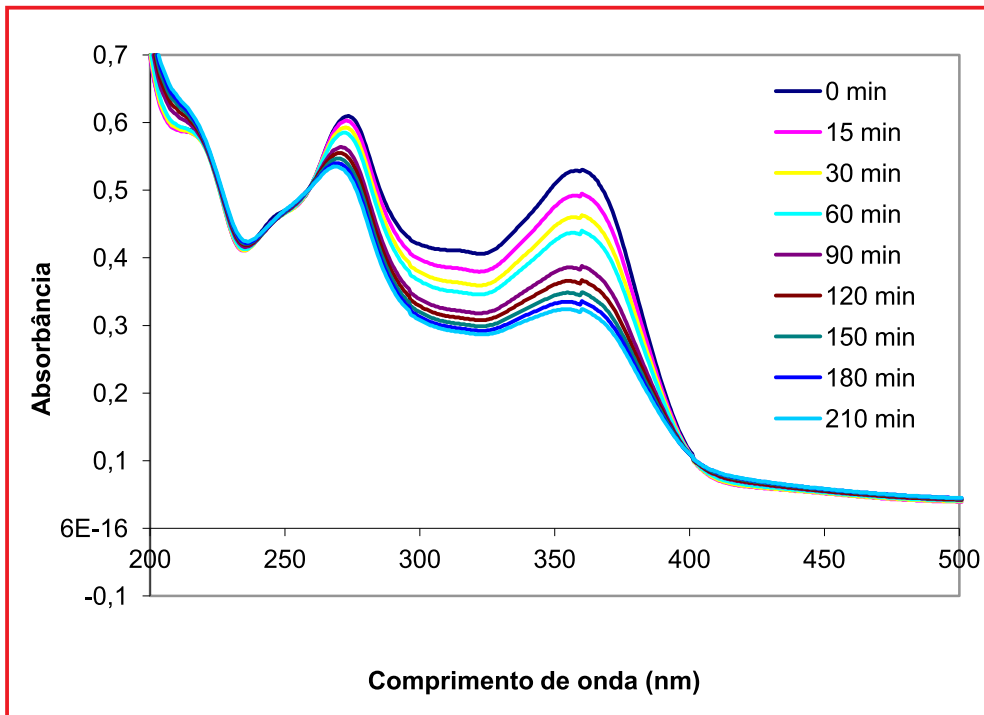


Figura 4 – Espectros de absorção da TC em solução aquosa em função da concentração de beta-CD



Figuras 5A, 5B e 5C (de cima para baixo): Espectro de degradação da solução de Cloridrato de Tetraciclina sem adição da solução de beta-ciclodextrina em (A) meio neutro (pH = 7,0), (B) meio ácido (pH = 3,5) e (C) meio alcalino (pH = 8,0)



Os mesmos ensaios de degradação foram realizados submetendo-se as soluções de TC às mesmas condições anteriores, porém com a adição de beta-CD. Os espectros do TC obtidos são mostrados nas Figuras 6A, 6B e 6C. São observados os mesmos comportamentos já descritos anteriormente para os experimentos realizados sem beta-CD, ou seja, surgimento de uma nova banda em pH ácido (Figura 6B) e rápida degradação em pH alcalino (Figura 6C).

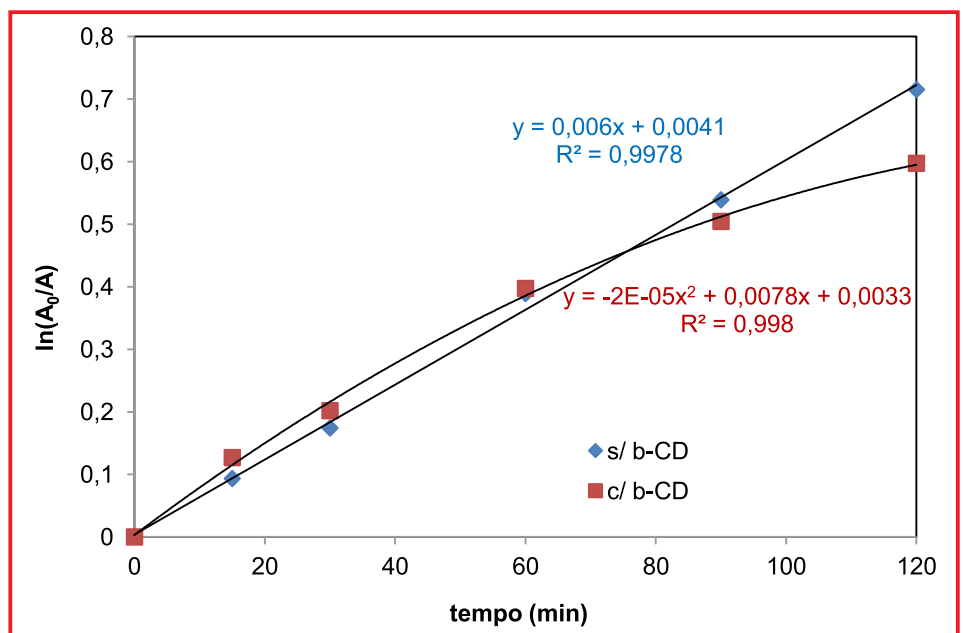
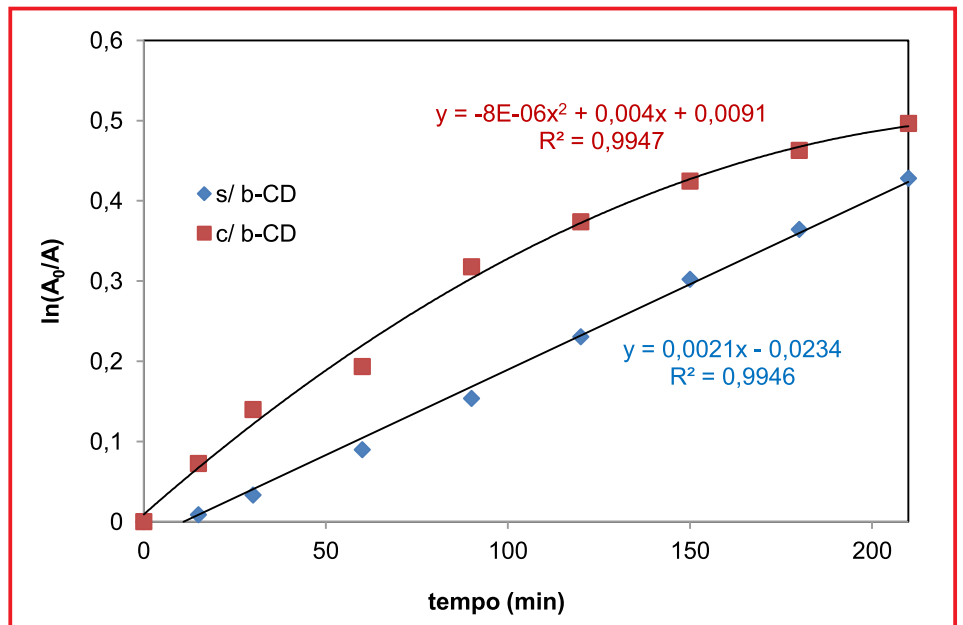
A simples inspeção visual dos espectros de absorção não nos permite afirmar que a presença de beta-CD tenha exercido qualquer influência significativa na estabilização do fármaco frente à irradiação.

Com objetivo de acompanhar a cinética da reação foram construídos gráficos de $\ln(A_0/A)$ vs. tempo para os experimentos nos meios neutro e ácido. Para a construção dos gráficos foram escolhidas as bandas em 358 nm em meio neutro e em 355 nm em meio ácido.

Figuras 6A, 6B e 6C
(de cima para baixo):
Espectro de degradação
da solução de TC após adição
da solução de beta-CD em
(A) meio neutro (pH = 7,0),
(B) meio ácido (pH = 3,5) e
(C) meio alcalino (pH = 8,0)

Comparando-se os experimentos realizados sob as mesmas condições de pH observaram-se comportamentos distintos. Em meio neutro (Figura 7A) a degradação sem adição de beta-CD segue uma cinética de primeira ordem, enquanto que com a adição de beta-CD este comportamento não é mais observado. A razão A_0/A para todos os tempos analisados sempre foi maior para as amostras contendo beta-CD. Isto nos indica que está ocorrendo maior degradação do fármaco nas amostras contendo este aditivo.

Em soluções ácidas (Figura 7B), independente da presença ou não de beta-CD os experimentos não seguiram uma cinética de primeira ordem. Entretanto, à semelhança do que foi observado anteriormente em meio neutro, a presença de beta-CD acelerou o processo fotodegradativo.



Figuras 7A e 7B (de cima para baixo): Cinética das reações para as soluções analisadas (A) solução neutra e (B) solução ácida

Apesar de comumente as ciclodextrinas serem empregadas com o objetivo de aumentar a fotoestabilidade de moléculas, no experimento realizado foi observado exatamente o oposto.

Entretanto estes resultados não são tão surpreendentes. Jiménez e colaboradores (1997) em experimentos com o naproxeno observaram o mesmo comportamento. Kamiya & Nakamura (1995), em experimentos de fotodegradação de pesticidas organofosforados, relatam que para o parathion a presença de beta-CD inibiu a fotodegradação, mas que o efeito inverso foi observado para o paraoxon. Os autores justificam que neste último caso está ocorrendo inclusão moderada o qual permite a proximidade suficiente do RQI - 1º trimestre 2015

sítio de reação do paraoxon (o átomo de fósforo do grupo éster fosfórico) com os grupos hidroxila da estrutura toroidal da beta-CD.

Wang e colaboradores (2007), na fotodegradação do bis(4-hidroxifenil)etano, também observaram o efeito do aumento da fotodegradação. Os autores justificam este aumento na cinética de fotodegradação devido à inclusão parcial da molécula hóspede na cavidade da beta-CD. Desta forma existe uma proximidade entre as hidroxilas secundárias da beta-CD e a molécula hóspede, os quais sob condições de irradiação podem ser convertidos em radicais hidroxilas e, devido à proximidade, reagirem com a molécula alvo. Este mecanismo também pode estar ocorrendo no caso da TC.

CONCLUSÃO

Neste estudo foi verificado que a degradação do TC ocorreu de forma gradativa em soluções neutra e ácida, conforme o aumento do tempo de exposição das soluções à radiação. Em pH ácido foi observado o surgimento de uma nova banda mais deslocada para o vermelho associada a formação da espécie epianidrotetraciclina.

A maior degradação foi observada em meio alcalino, no qual após os primeiros 15 minutos de irradiação os espectros obtidos não mais apresentaram a banda com máximo em 378nm observada no tempo zero, comprovando a instabilidade dos sais básicos formados em soluções aquosas conforme citado em literatura.

O estudo cinético da fotodegradação das soluções em diferentes condições de pH mostrou que a presença de beta-CD diminui a fotoestabilidade do fármaco.

REFERÊNCIAS

CHEN, Y.; HU, C.; QU, J.; YANG, M., Photodegradation of tetracycline and formation of reactive oxygen species in aqueous tetracycline solution under simulated sunlight irradiation. *J. Photochem. Photobiol. A*; Amsterdã, v. 197: p. 81-7, 2008.

FRACETO, L. F.; GONÇALVES, M. M.; MORAES, C. M.; ARAÚJO, D. R., ZANELLA, L.; PAULA, E.; PERTINHEZ, T. A., Caracterização do complexo de inclusão ropivacaína: -ciclodextrina. *Quim. Nova*, São Paulo, v. 30: p. 1203-7, 2007.

GOODMAN, A. G., **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 7ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1987.

JIAO, S.; ZHENG, S.; YIN, D.; WANG, L.; CHEN, L., Aqueous photolysis of tetracycline and toxicity of photolytic products to luminescent bacteria. *Chemosphere*, Amsterdã, v. 73, p. 377-82, 2008.

JIMÉNEZ, M. C.; MDA, M. A.; TORMOS, R., Photochemistry of naproxen in the presence of β -cyclodextrin. *J. Photochem. Photobiol. A*, Amsterdã; v. 104: p. 119-21, 1997.

KAMIYA, M.; NAKAMURA, K., Cyclodextrin inclusion effects on photodegradation rates of organophosphorus pesticides, *Environ. Intern.*, Amsterdã, v. 21, p. 299-304, 1995.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J., **Química Farmacêutica**. 1ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1988.

MORENO-CEREZO, J. M.; CÓRDOBA-DIAZ, M.; CÓRDOBA-DIAZ, D.; CÓRDOBA-BORREGO, M., A stability study of tetracycline and tetracycline cyclodextrins in tablets using a new HPLC method. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, Amsterdã, v. 26, p. 417-426, 2001.

PENA, A.; PALILIS, L. P.; LINO, C. M.; SILVEIRA, M. I.; CALOKERINOS, A. C., Determination of tetracycline and its major degradation products by chemiluminescence. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdã, v. 405, p. 51-6, 2000.

SOUSA, F. B.; OLIVEIRA, M. F.; LULA, I. S.; SANSIVIERO, M. T. C.; CORTÉS, M. E.; SINISTERRA, R. D., Study of inclusion compound in solution involving tetracycline and -cyclodextrin by FTIR-ATR *Vibrat. Spectroscopy*, Amsterdã, v. 46, p. 57-62, 2008.

WANG, G.; XUE, X.; LI, H.; WU, F.; DENG, N., β -Cyclodextrin-enhanced photodegradation of bis(4-hydroxyphenyl)ethane under UV irradiation. *J. Mol. Catal. A*, Amsterdã, v. 276, p. 143-9, 2007.