



ARTIGO | ARTICLE

Caracterização e atividade farmacológica do diclofenaco-zinco (II) e do complexo de inclusão diclofenaco-zinco (II)-hidroxipropil- β -ciclodextrina

Characterization and pharmacological activity of zinc(II)-diclofenac and zinc(II)-diclofenac-hydroxypropylbeta-cyclodextrin inclusion complex

Viviane Aparecida Guilherme¹

Sílvia Mansur Scagliusi²

Eneida de Paula¹

Maria Cristina de Almeida³

Daniele Ribeiro de Araujo⁴

RESUMO

Esse estudo teve por objetivo apresentar a síntese, a caracterização físico-química e a avaliação farmacológica do complexo metálico diclofenaco-zinco (II) e, deste, incluso em hidroxipropil- β -ciclodextrina, sendo ambos comparados ao diclofenaco potássico. O complexo metálico diclofenaco-zinco (II) foi sintetizado a partir da mistura direta de soluções aquosas de sulfato de zinco (II) e diclofenaco potássico (proporção 1:2), sendo, posteriormente, incluso em hidroxipropil- β -ciclodextrina (razão molar 1:1). Os ensaios de determinação da solubilidade, do ponto de fusão e a análise espectrofotométrica mostraram alterações características da complexação do fármaco com íons metálicos. A interação com ciclodextrinas foi caracterizada por mudanças na estrutura dos cristais dos fármacos e pelo aumento da solubilidade aquosa do diclofenaco-zinco(II), após inclusão na cavidade hidrofóbica da hidroxipropil- β -ciclodextrina (constante de associação $K_s=623,6M^{-1}$). Os ensaios para avaliação farmacológica mostraram que o tratamento com diclofenaco-zinco (II) ou diclofenaco-zinco (II)-hidroxipropil- β -ciclodextrina induziu uma diminuição significativa no número de contorções abdominais e de lesões gástricas, em relação ao diclofenaco potássico ($p<0,001$), potencializando a atividade anti-inflamatória e reduzindo os efeitos adversos.

Palavras-chave: Anti-inflamatórios não-esteroidais. Diclofenaco. Ciclodextrinas. Complexos metálicos. Complexo de inclusão

¹ Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Bioquímica. Campinas, SP, Brasil.

² Faculdade de Americana. Americana, SP, Brasil.

³ Escola de Engenharia de Piracicaba, Curso de Engenharia Ambiental. Piracicaba, SP, Brasil.

⁴ Universidade Federal do ABC, Centro de Ciências Naturais e Humanas. R. Santa Adélia, 166, Bloco B, Bangu, 09210-170, Santo André, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: D.R. ARAUJO. E-mail: <daniele.araujo@ufabc.edu.br>.

ABSTRACT

This study aimed to present the synthesis, the physical/chemical characterization and the pharmacological evaluation of the metal complex zinc(II)-diclofenac and its inclusion in hydroxypropyl- β -cyclodextrin, with both of these being compared to potassium-diclofenac. The metal complex zinc(II)-diclofenac was synthesized via the direct mixture of aqueous solutions of zinc(II)-sulfate and potassium-diclofenac (molar ratio 1:2) and was subsequently included in hydroxypropyl- β -cyclodextrin (molar ratio 1:1). The trials to determine solubility and melting point showed changes characteristic of the complexation of the drug with metallic ions. On the other hand, the interaction with cyclodextrins was determined by morphological changes in the drug crystals and the enhanced zinc(II)-diclofenac aqueous solubility, after inclusion in the hydroxypropyl- β -cyclodextrin hydrophobic cavity (association constant $K_s=623.6 M^{-1}$). Pharmacological evaluation showed that treatment with zinc(II)-diclofenac or zinc(II)-diclofenac-hydroxypropyl- β -cyclodextrin brought a significant reduction in the volume of abdominal writhing and ulcers, when compared to potassium-diclofenac ($p<0.001$), enhancing the anti-inflammatory activity and reducing the adverse effects.

Key words: Non-steroidal anti inflammatory. Diclofenac. Cyclodextrins. Metal complex. Inclusion complex.

INTRODUÇÃO

Os Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais (AINE) são conhecidos há mais de cem anos e amplamente utilizados em clínica médica. Esses fármacos agem inibindo a ciclooxigenase (COX), enzima responsável pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas (PG) (Kummer & Coelho, 2002). A COX apresenta três isoformas até o momento, identificadas como COX-1, COX-2 e COX-3 (recentemente descrita), sendo de significativa importância no processo inflamatório (Kis et al., 2005).

Grande parte dos AINE, conhecidos como clássicos, não apresentam seletividade e inibem tanto COX-1 quanto COX-2. Atualmente, é possível encontrar os chamados AINE de nova geração que agem inibindo seletivamente a atividade da COX-2, interrompendo a síntese de PG e desencadeando uma redução do processo inflamatório (Pinheiro & Calixto, 2002). No entanto, tal efeito farmacológico é frequentemente associado a efeitos adversos como danos renais e gastrintestinais (Smith et al., 1998). Assim, os efeitos indesejáveis causados pelos AINE, especialmente aqueles gastro-irritantes, têm sido um desafio para as pesquisas, tanto básica quanto clínica, na tentativa de reduzi-los sem alterar a

eficácia terapêutica (Navarro et al., 1994; Tagliati et al., 1999).

Em vista disso, complexos de metais de transição com AINE têm sido estudados desde os trabalhos iniciais de Sorenson (1976; 1982) demonstrando que esses fármacos complexados com cobre (II) e zinco (II) apresentavam uma atividade farmacológica superior àquela desempenhada pelos AINE não complexados, bem como uma diminuição nos efeitos gastro-irritantes (Sorenson, 1976; Sorenson, 1982; Jackson et al., 2000; Viossat et al., 2002; Nascimento et al., 2003; Lemoine et al., 2004). De acordo com os resultados apresentados, considerou-se então que a atividade farmacológica de determinados compostos pode ser modulada (inibida, modificada ou potencializada) a partir de interações com íons metálicos. Estudos divulgados por Santos et al. (2004), mostraram os efeitos anti-inflamatórios e as atividades ulcerogênicas do complexo metálico diclofenaco-zinco (DCF-Zn) em ratos, sendo preservados os efeitos anti-inflamatórios, observando-se, ainda, uma menor incidência de úlceras nos animais tratados (Abou-Mohamed et al., 1995; Santos et al., 2004). No entanto, os resultados também indicaram que a complexação com íons metálicos limita a solubilidade aquosa do

fármaco e, como alternativa para melhorar tal propriedade, propõe-se a inclusão do complexo DCF-Zn na cavidade hidrofóbica da hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD).

O novo complexo, [DCF-Zn(II)-HP-β-CD], proporciona vantagens quando comparado ao complexo metálico isolado, tais como: proteção contra oxidação, estabilização química, aumento de solubilidade aquosa e liberação modificada (De Araújo *et al.*, 2008; Mehta *et al.*, 2008; Miro *et al.*, 2009; Wieclaw *et al.*, 2009), alterando as propriedades biofarmacêuticas e farmacológicas.

Neste artigo, serão apresentados os processos de preparação, caracterização físico-química do complexo metálico DCF-Zn (II) e deste incluso em HP-β-CD, em relação ao diclofenaco potássico (DCF-K⁺), utilizado clinicamente. Tais características foram verificadas a partir de estudos de solubilidade, espectrofotométricos, determinação de pontos de fusão, bem como da avaliação farmacológica quanto às atividades anti-inflamatória e antiulcerogênica.

MATERIAL E MÉTODOS

A síntese do complexo metálico DCF-Zn (II) foi realizada a partir da mistura direta de soluções aquosas de sulfato de zinco (II) (Merck) e diclofenaco potássico (DCF-K⁺) (Pharma Nostra Ltda), na proporção molar de 1:2 (Andrade *et al.*, 2000). Após agitação da mistura durante quatro horas, observou-se o aparecimento de um precipitado branco. A mistura foi mantida à temperatura de 4°C por 24 horas, posteriormente, filtrada a vácuo e o sólido seco à temperatura de 25°C, em dessecador.

O complexo obtido por precipitação foi caracterizado por espectrofotometria (Espectrofotômetro Beckman DU-70), pela determinação do ponto de fusão (Ponto de fusão, modelo PFM II, Tecnal) e por ensaios de solubilidade em diferentes solventes (na proporção de 1:10, DCF-Zn (II):solvente): óleo mineral, óleo de milho, etanol, metanol, cloreto de metila, *tween* 80 (12%), tampão fosfato 5mM com NaCl 154mM (pH 7,4), tampão Hepes 20mM com NaCl 154mM (pH 7,4) e solução de NaCl 154mM.

Numa etapa posterior, preparou-se o complexo de inclusão entre DCF-Zn (II) e HP-β-CD, agitando-se quantidades adequadas dos compostos em água deionizada (25°C, 12 horas), o suficiente para manter a razão equimolar entre DCF-Zn(II) e HP-β-CD. Após dissolução completa, a solução foi liofilizada (Labconco-freeze dry system/Freezone® 4.5) e armazenada a -20°C, até posterior utilização. As quantidades do complexo de inclusão [DCF-Zn (II)-HP-β-CD] foram determinadas de acordo com as concentrações de DCF-Zn (II) desejadas para os ensaios físico-químicos ou farmacológicos, as quais foram solubilizadas em solução de NaCl 154mM. As misturas físicas dos compostos foram obtidas por pesagem e mistura dos cristais de DCF-Zn (II) e HP-β-CD, seguindo a mesma proporção molar utilizada para a complexação (1:1).

Para caracterizar a interação entre DCF-Zn (II) e HP-β-CD foram realizados experimentos de solubilidades de fases onde quantidades em excesso de DCF-Zn (II) (5mM) foram adicionadas em sistemas contendo diferentes concentrações de HP-β-CD (0, 5, 10 e 20 mM), sendo a constante de associação (K_s) calculada a partir da solubilidade inicial do fármaco (S₀) e da inclinação da reta de acordo com o modelo de Higuchi & Connors (1965), conforme equação:

$$K_s = \frac{\text{inclinação}}{S_0 (1 - \text{inclinação})}$$

Posteriormente, as suspensões formadas foram submetidas à agitação (25°C por 12 horas), filtradas e analisadas por espectroscopia UV (λ=284 nm).

Além disso, foram realizadas análises pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) avaliando-se diretamente as variações estruturais e a distribuição dos cristais formados pelas amostras de DCF-Zn (II) e HP-β-CD puras, da mistura física (DCF-Zn (II)/HP-β-CD) e do complexo de inclusão [DCF-Zn (II)-HP-β-CD] (proporção molar 1:1). A preparação das amostras consistiu da metalização com ouro, sob vácuo, durante 180 segundos e observação em microscópio eletrônico de varredura (modelo JSM 5800LV, Jeol).

Para os experimentos de avaliação farmacológica foram utilizados camundongos albinos *Swiss* adultos, machos e com peso variando entre 30 e 35 gramas. Os animais, provenientes do CEMIB (Centro de Bioterismo da Unicamp), foram submetidos a ciclos claro/escuro de 12 horas, com água e alimentação *ad libitum*, temperatura ambiente monitorada a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, alojados coletivamente (cinco animais por gaiola) e aclimatados ao local de experimentação por pelo menos sete dias. Todos os experimentos encontravam-se de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (IB-Unicamp) (protocolo nº 894-1).

A atividade anti-inflamatória do DCF-Zn (II) e do complexo de inclusão [DCF-Zn (II)-HP- β -CD] foi verificada utilizando-se o modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético. Os animais foram previamente tratados por via subcutânea (0,1mL) de acordo com as doses terapêuticas dos fármacos livres (mantendo-se as devidas proporções para os fármacos complexados). Posteriormente, administrou-se por via intraperitoneal (0,1mL/10g) de uma solução de ácido acético 0,6%. O comportamento observado como contorção foi caracterizado por contrações da parede abdominal, seguidas de torção do tronco e extensão dos membros posteriores (*writhings*) dos animais, produzidas como respostas reflexas à irritação peritoneal e à peritonite induzida por ácidos fracos (como o ácido acético) (Collier et al., 1968; Mogil et al., 1999). O número de contorções abdominais foi determinado durante um período de vinte minutos (em intervalos de cinco minutos), sendo as médias \pm desvios-padrão relacionados graficamente em função dos grupos experimentais.

Completando os ensaios farmacológicos, a atividade antiulcerogênica dos compostos foi determinada pelo modelo de úlcera por estresse, imobilização e frio, de acordo com o método descrito por Levine (1971). Inicialmente, os animais foram

mantidos em jejum de 36 horas com água *ad libitum* e tratados por via subcutânea com os fármacos. Após um período de trinta minutos, foram imobilizados em contensores de acrílico e mantidos a uma temperatura de 4°C por três horas. Em seguida, os animais foram sacrificados, os estômagos removidos e abertos através de grande curvatura para a determinação do número de lesões gástricas.

Todos os experimentos para avaliação da atividade farmacológica foram realizados de acordo com os seguintes grupos:

- Grupo Controle I: hidroxipropil- α -ciclodextrina (HP- β -CD).
- Grupo Controle II: solução de NaCl 154mM (0,9%).
- Grupo Teste I: diclofenaco potássico (DCF-K⁺), dose de 2,22mg.kg⁻¹.
- Grupo Teste II: complexo metálico diclofenaco zinco [DCF-Zn(II)], dose de 2,28mg.kg⁻¹.
- Grupo Teste III: complexo de inclusão diclofenaco zinco em hidroxipropil-beta-ciclodextrina [DCF-Zn(II)-HP- β -CD], dose de 2,28mg.kg⁻¹.

Para a análise estatística, os grupos experimentais foram comparados pelo teste de análise de variância de uma via (*One-way ANOVA*) com teste posterior de Tukey-Kramer. A significância estatística foi definida como $p < 0,05$. Os softwares utilizados foram: *Graph Pad Instat* e *Graph Pad Prism* (*Graph Pad Software Inc.* versão 3.0, 1992 - 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a preparação do complexo DCF-Zn (II), foram realizados experimentos de solubilidade na presença de solventes com características de polaridades diferentes, para demonstrar o comportamento do fármaco recém-complexado em relação ao DCF-K⁺, comercialmente disponível. A partir dos resultados obtidos pode-se verificar que o complexo DCF-Zn (II) apresentou baixo grau de solubilidade em veículos aquosos, ao contrário do observado com o DCF-K⁺ (Tabela 1). Dessa forma, pode-se verificar que a

complexação do íon Zn (II) com o DCF tornou a molécula do fármaco mais hidrofóbica. Tal fato sugere que a alteração da solubilidade deste complexo foi determinada pela síntese de um novo fármaco uma vez que, quando a solução do metal é adicionada à solução do DCF-K⁺, há, provavelmente, a formação de uma ligação entre duas moléculas do fármaco original, tornando o complexo mais apolar em relação à molécula inicial.

Como segundo método para caracterização físico-química, foi determinado o ponto de fusão sendo de 282 a 295 °C para o DCF-K⁺ e de 250 a 253 °C para o DCF-Zn(II). A partir dos valores apresentados, foi possível observar a variação nos pontos de fusão do complexo em relação ao fármaco livre correspondente. Assim, assumindo que o fármaco original (DCF-K⁺) é uma substância pura, as variações nos pontos de fusão indicam a ocorrência de uma modificação estrutural, sendo tal mudança atribuída à complexação com íons metálicos.

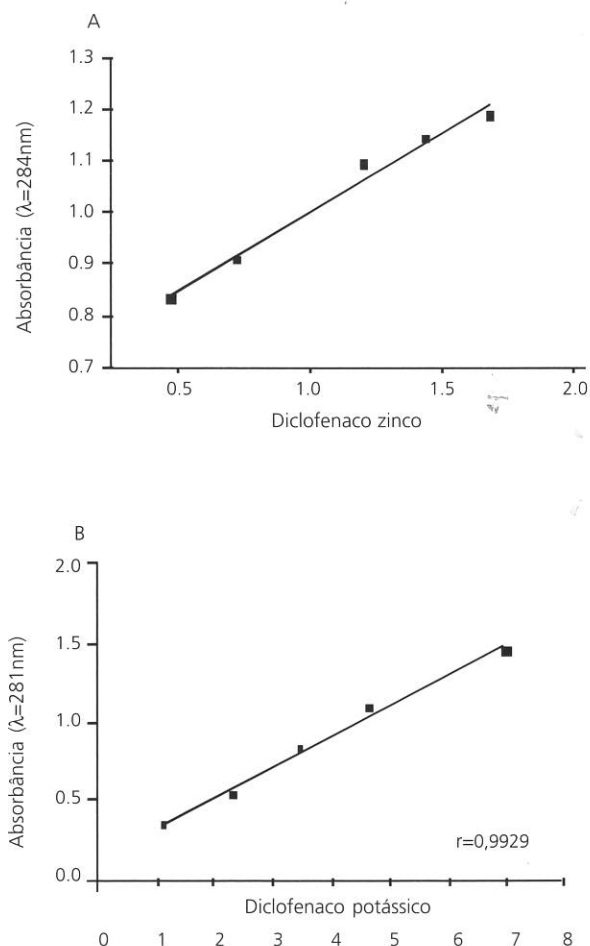
Os espectros de absorção provenientes dos estudos de caracterização espectrofotométrica mostraram um deslocamento para a esquerda da banda de maior absorvidade, λ_{284} , característica do DCF-K⁺, quando quelado a íons Zn (II). No caso de complexo DCF-Zn, o deslocamento foi verificado de 284nm para 281nm. Esse tipo de comportamento é comumente observado quando há formação de complexos com metais de transição (Andrade et al., 2000).

A partir dos valores de concentração e absorvância, foi possível o cálculo das correspondentes absorvidades molares (ϵ) para o DCF-K⁺ ($\epsilon = 1,13 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) e para o DCF-Zn (II) ($\epsilon = 2,10 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), cujos valores dos coeficientes angulares e de correlação foram obtidos a partir das curvas mostradas nas Figuras 1A e 1B. Analisando comparativamente os valores de ϵ para as duas espécies descritas observou-se que a absorvidade para o complexo DCF-Zn (II) mantém uma proporção de cerca de 2:1 em relação ao DCF-K⁺. Assim, sugere-se a formação de um complexo binuclear de Zn (II) e a base livre do DCF, com duas moléculas de água de coordenação, cuja fórmula proposta é $[\text{Zn}(\text{DCF})_2]\text{OH}_2$, em uma estrutura quadrado plana, como impõe a

Tabela 1. Ensaios de solubilidade para o complexo metálico diclofenaco-zinco (II) [DCF-Zn (II)] e diclofenaco-potássico (DCF-K⁺) em solventes de diferentes polaridades.

Solventes	DCF- K ⁺	DCF- Zn (II)
Óleo mineral	N	N
Óleo de milho	+++	+++
Nujol	N	N
Etanol	+++	+++
Metanol	+++	+++
Cloreto de metila	N	+++
Tween 80 (12%)	+++	++
Tampão fosfato 5mM pH 7,4	+++	N
Hepes 20Mm pH 7,4	+++	N
NaCl 0,9%	+++	N

N: não solúvel; ++: pouco solúvel; +++: muito solúvel.



configuração dos orbitais 3d do Zn (II), conforme proposição de estrutura molecular mostrada na Figura 2.

Para estudar a interação e a formação do novo complexo DCF-Zn (II) com HP- β -CD, foram realizados estudos de solubilidade de fases, cujo diagrama é mostrado na Figura 3. O diagrama de solubilidade de fases do sistema mostra um aumento linear (cerca de duas vezes) na solubilidade do DCF-Zn (II), em função das concentrações de HP- β -CD testadas, sugerindo que o complexo formado é de primeira ordem (considerando-se uma estequiometria de complexação 1:1). O valor da constante de associação (Ks) determinada para o DCF-Zn (II) foi de $623,6M^{-1}$.

Sabe-se que a formação de complexos de inclusão com CDs pode exercer alguns efeitos sobre a molécula complexada como melhorar a solubilidade, acelerar ou retardar a absorção e estabilizar a molécula em solução. Existe uma correlação direta entre a estabilidade do complexo e o melhoramento da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água (Frömring & Szejtli, 1994; Loftsson & Másson, 2001). Sendo assim, o aumento na solubilidade aquosa do complexo metálico DCF-Zn (II) é de grande utilidade para facilitar a administração desse fármaco, uma vez que a HP- β -CD é um derivado sintético da β -CD próprio para uso parenteral.

As análises por MEV facilitaram a observação dos cristais das amostras isoladas livres e complexadas. A Figura 4 mostra os cristais de HP- β -CD (4A), DCF-Zn(II) (4B), da mistura física (DCF-Zn (II)/HP- β -CD) (4C) e do complexo de inclusão [DCF-Zn (II)-HP- β -CD] (4D). Para a HP- β -CD, as micrografias revelaram uma estrutura arredondada (~60nm de

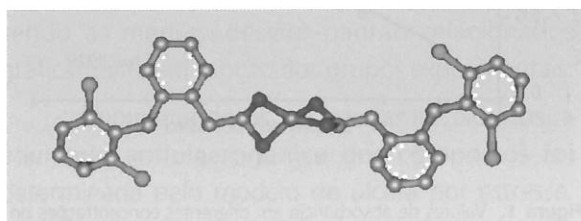


Figura 2. Estrutura conformacional proposta para o complexo metálico diclofenaco zinco (II) [DCF-Zn(II)].

diâmetro) e bem definida. Com relação ao DCF-Zn(II) foram observadas estruturas pequenas e cúbico - retangulares (~15 μ m de comprimento por 20 μ m de largura). Já a amostra da mistura física apresentou características tanto dos cristais de DCF-Zn(II) quanto de HP- β -CD, isoladamente, indicando a ausência de complexação. No entanto, a análise do complexo sólido mostrou alterações evidentes nas quais a morfologia original dos cristais de DCF-Zn(II) e de HP-CD foi perdida, observando-se aglomerados de menor tamanho (< 10 μ m) e estrutura pouco definida. Dessa forma, a comparação com as micrografias do complexo de inclusão não indicou qualquer similaridade com as estruturas correspondentes aos compostos isolados, indicando que a complexação altera a estrutura original dos cristais dos fármacos.

Os ensaios para avaliação da atividade anti-inflamatória mostraram que o número de contorções abdominais foi reduzido após o tratamento dos animais com o complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP- β -CD], sendo estatisticamente significativa em relação aos grupos tratados com DCF-Zn(II) e DCF-K⁺ ($p < 0,001$) (Figura 5). Com relação à atividade antiulcerogênica, tanto o complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP- β -CD] quanto o DCF-Zn(II) reduziram o número de úlceras, mostrando-se estatisticamente diferentes quando comparados ao DCF-K⁺ ($p < 0,001$) (Figura 6).

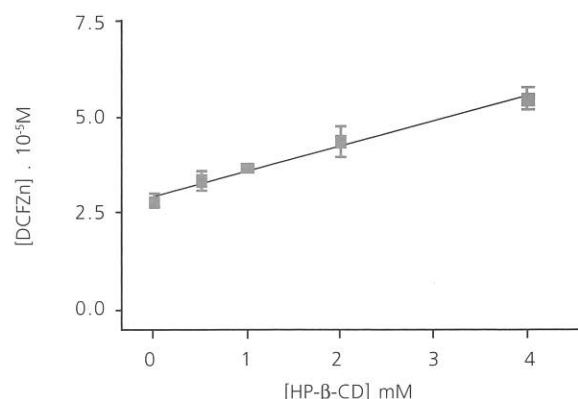


Figura 3. Ensaios de solubilidade de fases para o diclofenaco-zinco [DCF-Zn(II) a 1 mM] frente a diferentes concentrações de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD, 0,5 a 4 mM).

Nota: Dados apresentados como média, desvio-padrão (n=3).

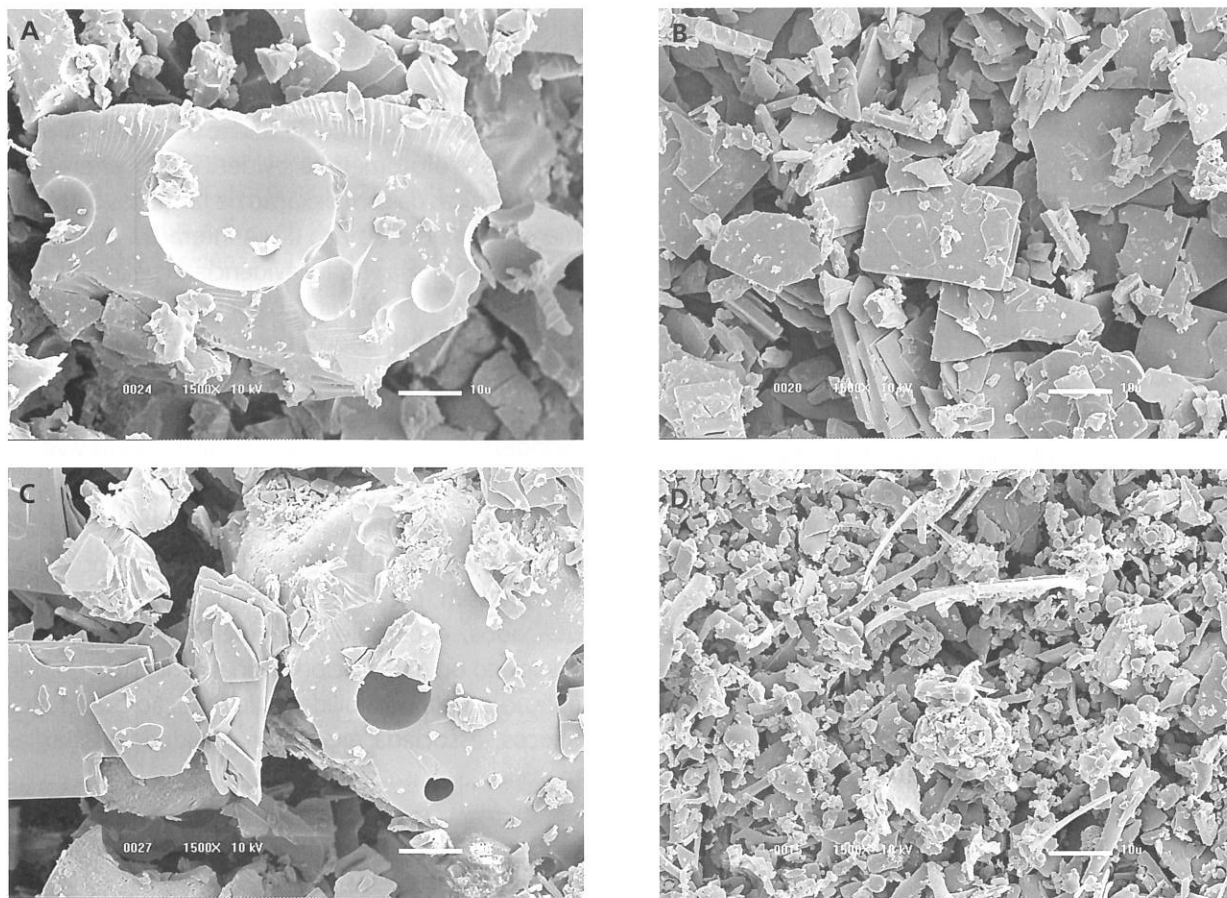


Figura 4. Análise por microscopia eletrônica de varredura dos cristais de hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD) (A), diclofenaco-zinco(II) [DCF-Zn(II)] (B), da mistura física (DCF-Zn(II)/HP-β-CD) (C) e do complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] (D). Aumento de 1500x.

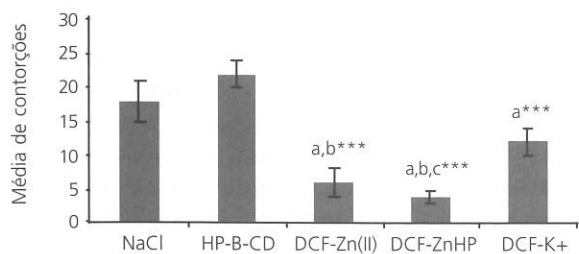


Figura 5. Número de contorções abdominais observadas após tratamento com solução de NaCl (0,9%), hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD), diclofenaco potássico (DCF-K⁺), diclofenaco-zinco (II) [DCF-Zn(II)] ou com o complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP-β-CD].

Nota: Dados apresentados como média, desvio-padrão (n=5-6 animais/grupo). **a-** DCF-K⁺, [DCF-Zn(II)] ou [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] vs. HP-β-CD ou solução de NaCl 0,9 %; **b-** [DCF-Zn(II)] ou [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] vs. DCF-K⁺; **c-** [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] vs. DCF-K⁺, ou [DCF-Zn(II)]. *** $p < 0,001$.

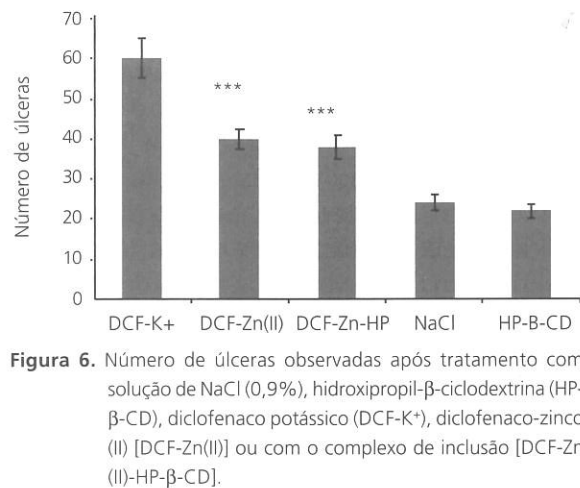


Figura 6. Número de úlceras observadas após tratamento com solução de NaCl (0,9%), hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD), diclofenaco potássico (DCF-K⁺), diclofenaco-zinco (II) [DCF-Zn(II)] ou com o complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP-β-CD].

Nota: *** $p < 0,001$ referem-se às diferenças estatísticas para [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] vs. DCF-K⁺ ou [DCF-Zn(II)]. Dados apresentados como média, desvio-padrão (n=5-6 animais/grupo).

Nos ensaios de nocicepção química, como o teste das contorções abdominais, uma substância nociva é injetada no interior da cavidade peritoneal ativando diretamente os nociceptores (localizados nas vísceras) ou produzindo inflamação visceral (órgãos subdiafragmáticos) e subcutânea (músculos da parede abdominal) (Mogil et al., 1999). Nesse contexto, o teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético representa um modelo amplamente utilizado para avaliar a atividade farmacológica de novos compostos com potencial atividade anti-inflamatória.

Os resultados aqui apresentados mostram uma potencialização da atividade anti-inflamatória do DCF após a complexação com íons metálicos, como o Zn(II). Tais achados também foram descritos por Andrade et al. (2000) após complexação de ibuprofeno com outros metais como cobre ou rutênio. No entanto, a posterior inclusão do complexo DCF-Zn(II) em HP- β -CD permitiu um aumento na solubilidade do fármaco e, com isso, uma melhora nas propriedades biofarmacêuticas, facilitando a disponibilização da molécula para exercer sua atividade biológica.

Além da atividade anti-inflamatória, é importante ressaltar o potencial de indução de lesões gastrintestinais, um dos efeitos adversos mais importantes da classe das AINE. A toxicidade gástrica tem motivado o desenvolvimento de fármacos com menor capacidade de induzir lesões severas, como os inibidores altamente seletivos de COX-2 (celecoxib, rofecoxib e parecoxib). No entanto, por serem fármacos de alto custo, torna-se fundamental uma correta avaliação para o uso adequado dos mesmos (Kummer & Coelho, 2002). Dessa forma, os complexos de fármacos AINEs com íons metálicos, associados ou não a ciclodextrinas, encontram grande aplicação pela possibilidade de redução dos efeitos tóxicos, como observado nos testes de atividade antiulcerogênica, e potencialização da atividade anti-inflamatória.

CONCLUSÃO

O presente artigo mostrou a síntese, a caracterização físico-química e a avaliação

farmacológica do complexo metálico diclofenaco-zinco (II) e, deste, após inclusão em hidroxipropil- β -ciclodextrina. Os ensaios de determinação da solubilidade e do ponto de fusão, bem como a análise espectrofotométrica evidenciaram alterações características da complexação de fármacos com íons metálicos, como o zinco (II). A interação com ciclodextrinas, por sua vez, foi evidenciada pela alteração da estrutura morfológica, característica dos cristais dos fármacos estudados, bem como pelo aumento da solubilidade aquosa do diclofenaco-zinco(II) após inclusão na cavidade hidrofóbica da hidroxipropil- β -ciclodextrina, facilitando a administração *in vivo*.

Ambos os complexos reduziram o número de contorções abdominais e o número de lesões gástricas, quando comparados ao diclofenaco-potássio. Sendo assim, considerando-se os modelos animais utilizados, o complexo de diclofenaco-zinco (II) associado ou não a ciclodextrinas, encontra grande aplicação pela possibilidade de redução dos efeitos tóxicos, associada à potente atividade anti-inflamatória.

REFERÊNCIAS

- Abou-Mohamed, G.; El-Kashef, H.A.; Salem, H.A. & Elmazar, M.M. (1995). Zinc-naproxen complex: synthesis, physicochemical and biological evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 260(2):217-27.
- Andrade, A.; Namora, S.F.; Woisky, G.; Najjar, R.; Sertié, J. & Oliveira-Silva, D. (2000). Synthesis and characterization of a diruthenium-ibuprofenato-complex comparing its antiinflammatory activity with that of a Cooper (II)-ibuprofen complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 81:23-7.
- Collier, H.O.J.; Dinneen, L.C.; Johnson, C.A. & Schneider, C. (1968). The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal Pharmacology and Chemotherapy*, 32:295-310.
- De Araujo, D.R.; Tsuneda, S.S.; Cereda, C.M.; Carvalho, F.G.; Preté, P.S.C., Fernandes, S.A.; Yokaichiya, F.; Franco, M.K.; Mazzaro, I.; Fraceto, L.F.; Braga, A.F.A. & De Paula, E. (2008). Development and pharmacological evaluation of ropivacaine-2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complex. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33(1):60-71.
- Frömming, K.-H. & Szejtli, J. (1994). *Topics in inclusion science: cyclodextrins in pharmacy*. Hungria: Kluwer Academic Publishers.

- Higuchi, T. & Connors, K.A. (1965). Phase-solubility techniques. *Advances in Analytical Chemistry and Instruments*, 4:117-212.
- Jackson, G.E.; Mkhonta-Gama, L.; Voyé, A. & Kelly, M. (2000). Design of copper-based anti-inflammatory drugs. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 79(1-4):147-52.
- Kis, B.; Snipes, J.A. & Busija D.W. (2005). Acetaminophen and the cyclooxygenase-3 puzzle: sorting out facts, fictions, and uncertainty. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 315(1):1-7.
- Kummer, C.L. & Coelho, T.C.R.B. (2002). Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 52(4):498-512.
- Lemoine, P.; Viossat, B.; Dung, N.H.; Tomas, A.; Morgant, G.; Greenaway, F.T. & Sorenson, J.R. (2004). Synthesis, crystal structures and anti-convulsant activities of ternary [Zn(II)(3,5-diisopropylsalicylate)(2)], [Zn(II)(salicylate)(2)] and [Zn(II)(aspirinate)(2)] complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 98(11):1734-49.
- Levine, R.J. (1971). A method for rapid production of stress ulcer in rats. In: Pfeifer, C.J. (ed.). *Peptic ulcers*. Copenhagen: Munksgaard. p.92-7.
- Loftsson, T. & Másson, M. (2001). Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *International Journal of Pharmaceutics*, 225(1-2):15-30.
- Mehta, S.K.; Bhasin, K.K. & Dham, S. (2008). Energetically favorable interactions between diclofenac sodium and cyclodextrin molecules in aqueous media. *Journal of Colloid and Interface Science*, 326(2):374-81.
- Miro, A.; Rondinone, A.; Nappi, A.; Ungaro, F.; Quaglia, F. & La Rotonda, M.I. (2009). Modulation of release rate and barrier transport of diclofenac incorporated in hydrophilic matrices: role of cyclodextrins and implications in oral drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72(1):76-82.
- Mogil, J.S.; Wilson, S. G.; Bom, K.; Lee, S.E.; Chung, K.; Raber, P.; Pieper, J.O.; Hain, H.S.; Belknap, J.K.; Hubert, L.; Elmer, G.I.; Chung, J.M. & Devor, M. (1999). Heritability of nociception I: responses of 11 inbred mouse strains on 12 measures of nociception. *Pain*, 80(1):67-82.
- Nascimento, J.W.; Santos, L.H.; Nothenberg, M.S.; Coelho, M.M.; Oga, S. & Tagliati C.A. (2003). Anti-inflammatory activity and gastric lesions induced by zinc-tenoxicam. *Pharmacology*, 68(2):64-9.
- Navarro, C.; Bravo, M.L.; Carulla, C. & Bulbenna O. (1994). Gastrotoxic activity and inhibitory effects on gastric mucosal PGE2 production with different non-steroidal anti-inflammatory drugs: modifications induced by pretreatment with zinc aceexamate. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids*, 50(6):305-10.
- Pinheiro, R.M. & Calixto, J.B. (2002). Effect of the Selective COX-2 inhibitors, celecoxib and rofecoxib in rat acute models of inflammation. *Inflammation Research*, 51(12):603-10.
- Santos, L.H.; Feres, C.A.O.; Melo, F.H.; Coelho, M.M.; Nothenberg, M.S.; Oga, S. & Tagliati, C.A. (2004). Anti-inflammatory, antinociceptive and ulcerogenic activity of a zinc-diclofenac complex in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37(8):1205-13.
- Smith, C.J.; Zhang, Y.; Koboldt, C.M.; Muhammad, J.; Zweifel, B.S.; Shaffer, A.; Talley, J.J.; Masferree, A.L.; Seibert, K. & Isakson, P.C. (1998). Pharmacological Analysis of cyclooxygenase-1 in inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(22):13313-18.
- Sorenson, J.R. (1976). Copper chelates as possible active forms of the antiarthritic agents. *Journal of the Medicinal Chemistry*, 19(1):135-48.
- Sorenson, J.R. (1982). The anti-inflammatory activities of copper complexes. *Metal Ions in Biological Systems*, 12:77-124.
- Tagliati, C.A.; Kimura, E.; Nothenberg, M.S.; Santos, S.R. & Oga, S. (1999). Pharmacokinetic profile and adverse gastric effect of zinc-piroxicam in rats. *General Pharmacology*, 33(1):67-71.
- Viossat, B.; Morgant, G.; Sorenson, J.R.; Roch-Arveiller, M.; Daran, J.C.; Greenaway, F.T. & Nguyen, H.U.Y.D. (2002). Crystallochemistry of copper (II) and zinc (II) chelates by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 60(2):102-14.
- Wieclaw, K.; Korchowiec, B.; CORVIS, Y.; Korchowiec, J.; Guermouche, H. & Rogalska, E. (2009). Meloxicam and meloxicam-beta-cyclodextrin complex in model membranes: effects on the properties and enzymatic lipolysis of phospholipid monolayers in relation to anti-inflammatory activity. *Langmuir*, 25(3):1417-26.

Recebido em: 3/3/2010

Aprovado: 25/3/2010