



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO



DESENVOLVIMENTO DE CÁPSULA ORAL A BASE DE B-LAPACHONA
COMPLEXADA COM CICLODEXTRINA PARA TERAPIA ANTINEOPLÁSICA

JOSÉ LOURENÇO DE FREITAS NETO

RECIFE

2012

JOSÉ LOURENÇO DE FREITAS NETO

**DESENVOLVIMENTO DE CÁPSULA ORAL A BASE DE B-LAPACHONA
COMPLEXADA COM CICLODEXTRINA PARA TERAPIA ANTINEOPLÁSICA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas na área de concentração: Produção e Controle de Medicamentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Miracy Muniz de Albuquerque

Co-orientador: Prof^º. Dr^º. Pedro José Rolim Neto

RECIFE

2012

Freitas Neto, José Lourenço de

Desenvolvimento de cápsula oral a base de β -lapachona complexada com ciclodextrina para terapia antineoplásica / José Lourenço de Freitas Neto. – Recife: O Autor, 2012.

118 folhas: il., fig.; 30 cm.

Orientador: Miracy Muniz de Albuquerque.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2012.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Cápsula. 2. B-lapachona. 3. HP β CD. 4. Terapia antineoplásica. I. Albuquerque, Miracy Muniz de. II. Título.

UFPE

615.32

CDD (20.ed.)

CCS2012-028



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Recife, 16 janeiro de 2012.

Defesa de Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 16 de janeiro de 2012 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E PRIMEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof^º. Dr^ª. Miracy Muniz de Albuquerque (Dept^º de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Miracy Muniz de Albuquerque

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Prof^º. Dr^ª. Mônica Felts de La Roca Soares. (Dept^º de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE).

Assinatura: Mônica Felts de La Roca Soares

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho.

(Dept^º de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPI).

Assinatura: José Lamartine Soares Sobrinho

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Dr^a. Nereide Stela Santos Magalhães

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado muita saúde e força de vontade para que conseguisse vencer mais uma etapa importante de minha vida profissional.

A minha querida e amada esposa, **Stella Maria**, pela compreensão e por ter sempre me incentivado e apoiado durante a realização desta conquista. Amor, obrigado por tudo!

A minha família, em especial a minha mãe, **Maria do Perpétuo**, ao meu pai, **José Carlos**, a minha irmã, **Aliny Freitas**, e a minha avó, **Helena Alves**, por todo amor e educação que me proporcionaram, além de sempre acreditarem no meu sucesso. Amo vocês!!!!

A minha admirável orientadora, **Prof^a. Dr^a. Miracy Muniz de Albuquerque**, por ter contribuído cientificamente para a realização desta pesquisa e sempre estar disposta a me ajudar quando era necessário.

Ao meu grande mestre e co-orientador, o **Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto**, pelos conhecimentos repassados durante toda a pesquisa e por ter me disponibilizado para a realização dos trabalhos práticos, que foram essenciais para a concretização desta obra.

Ao Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos pela disponibilização de sua estrutura física e financeira, que foram indispensáveis para a realização deste trabalho.

Aos pesquisadores e amigos **Matheus Ângelos, Larissa Rolim e Geisiane Presmich** por terem contribuído diretamente com a realização desta trabalho. Aos amigos **Danilo Fontes, Magaly Lira, Fabiana Lícia, Rosali Silva, Pablo Ataíde, Alexandre Couto e Monize Peixoto** pelo grande apoio e companheirismo.

A todos que compõem a família LTM, que direta ou indiretamente sempre me deram força durante as pesquisas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade concedida.

À amiga e ex-secretária da Pós-graduação Margarete Valdevino, por ter sido sempre prestativa e por todo o auxílio dado quando necessário.

A todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado, que torceram por mim, todo o meu carinho e eterno obrigado.

“Nós todos temos sonhos. Mas, para tornar os sonhos realidade, é preciso uma enorme quantidade de determinação, dedicação, autodisciplina e esforço”

Jesse Owens

RESUMO

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento tecnológico de um novo medicamento à base de β -lapachona vetorizada com a HP β CD para o tratamento de terapia antineoplásica. Por se tratar de um princípio ativo com limitações físico-químicas (baixa solubilidade em água e estabilidade), foi necessário o emprego de tecnologias farmacêuticas, como a formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas (β -CD, HP β CD e M β CD). Primeiramente, foi realizada a caracterização físico-química da β -lapachona e dos complexos de inclusão formados com o emprego de diferentes ferramentas analíticas, como, análise térmica, infravermelho, difração de raios X, MEV e ensaio de dissolução. Os resultados obtidos da β -lapachona comprovou as suas características cristalinas, elevado grau de pureza e baixa solubilidade em água. Já com o complexo de inclusão, pode-se observar que o melhor complexo foi o da β -lapachona:HP β CD, obtido por spray-dried, que apresentou maior eficiência de dissolução. Após esta etapa, foi realizado o estudo de compatibilidade fármaco-excipiente, com o emprego da termogravimetria e análise térmica diferencial, com a finalidade de compreender possíveis interações no estado sólido. Neste estudo, pode-se observar que não houve nenhuma incompatibilidade com os excipientes da formulação (celulose, lactose, estearato de magnésio e dióxido de silício). Além disso, foi comprovado que a formação do complexo de inclusão com a HP β CD, obtido por spray-dried, garante uma maior estabilidade térmica a β -lapachona. O desenvolvimento tecnológico da forma farmacêutica cápsula, contendo a β -lapachona complexada com a HP β CD, foi realizado através de uma planificação qualitativa de diluentes, utilizando os adjuvantes farmacêuticos (celulose, lactose, estearato de magnésio e dióxido de silício). O teste de dissolução foi desenvolvido com a aplicação do planejamento fatorial 2^3 para a seleção dos melhores parâmetros, que foram: matéria-prima, complexo de inclusão; meio, HCl; rotação, 75 rpm. O doseamento das cápsulas foi realizado por uma metodologia validada por Presmich (2010). Por meio do teste de dissolução, foi determinado o teor da β -lapachona dissolvida, que alcançou mais de 80% em menos de 15 min. Dessa forma, esta dissertação apresenta uma nova alternativa para o tratamento de câncer de próstata, especialmente para os pacientes onde as terapias tradicionais não demonstraram resultados satisfatórios.

Palavras-chaves: cápsula, β -lapachona, HP β CD, terapia antineoplásica

ABSTRACT

This paper presents the technological development of a new drug based on β -lapachone vectored for the treatment of anticancer therapies. Because of its low solubility in water, it is required the use of pharmaceutical technologies that favor its solubility, such as the formation of inclusion complex with cyclodextrins (β -CD, HP β CD e M β CD). First, we performed the physicochemical characterization of β -lapachone and the inclusion complex through the use of several analytical tools, such as thermal analysis, infrared, X-ray diffraction, SEM and dissolution test. The results of β -lapachone proved its crystalline characteristics, high purity and low solubility in water. In the results of the inclusion complex could be observed that the best complex was β -lapachone: HP β CD, obtained by spray-dried, which showed the highest dissolution efficiency. After this step, we carried out a drug-excipient compatibility study, with the use of thermogravimetric and differential thermal analysis, in order to understand the possible interactions in solid state. In this study, it could be observed that there was no incompatibility with the formulation excipients (cellulose, lactose, magnesium stearate and silicon dioxide). Furthermore, it was confirmed that the formation of an inclusion complex with HP β CD obtained by spray-dried, guarantees a better thermal stability to β -lapachone. The technological development of the capsule dosage form, containing β -lapachone vectored with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, was carried out through a qualitative planning of diluents, by using pharmaceutical adjuvants (cellulose, lactose, magnesium stearate and silicon dioxide). The dissolution test was developed with the implementation of the 2^3 factorial design to select the best parameters, which were: raw materials, inclusion complex; medium, HCl; rotation, 75 rpm. The capsules assay was conducted by a method validated by Presmich (2010). By means of the dissolution test it was determined the dissolved content of β -lapachone, which reached 80% in less than 15 min. Thus, this dissertation presents a new alternative for the treatment of prostate cancer, especially in those patients who traditional therapies do not show satisfactory results.

Keywords: capsule, β -lapachone, HP β CD, antineoplastic therapy

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AlCl_3	Cloreto de alumínio
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Reflectância total atenuada
CE	Co-evaporação
CI	Complexo de inclusão
CIM	Concentração inibitória mínima
CO_2	Dióxido de carbono
COX	Ciclooxigenase
CV	Coeficiente de Variação
DP	Desvio Padrão
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria Derivada
E.D.	Eficiência de dissolução
Ea	Energia de ativação
Endo	Endotérmico
Est. Mg	Estearato de Magnésio
FDA	Órgão Regulatório de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos
FeCl_3	Cloreto férrico
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
HBr	Ácido bórico
HCl	Ácido clorídrico
HP β CD	Hidroxipropil- β -ciclodextrina
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IV-TF	Infravermelho com transformada de fourier
KBr	Brometo de potássio

KCl	Cloreto de potássio
Ks	Constante de estabilidade
LB	Lote de bancada
LPS	Lipopolissacarídeos
LSS	Lauril sulfato de sódio
LTM	Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
M	Meio
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Mistura física
ML	Malaxagem
MP	Matéria-prima
M β CD	Metil- β -ciclodextrina
N ₂	Nitrogênio
NO	Óxido nitroso
NQ01	NAD(H):quinonaoxidoreductase
OMS	Organização Mundial de Saúde
PEG	Polietilenoglicol
PM	Peso Molecular
R	Rotação
SD	Spray-dried
SGS	Suco Gástrico Simulado
SUS	Sistema Único de Saúde
TG	Termogravimetria
Topo I	Topoisomerase
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UR	Umidade Relativa
USP	Farmacopeia dos Estados Unidos, em inglês
β CD	β -ciclodextrina
β -lap	β -lapachona

SÍMBOLOS

%	Percentual
±	Mais ou menos, aproximadamente
Δ	Delta ou Variação
ΔH	Variação da energia entálpica
ΔT	Variação de temperatura
®	Marca Registrada
°C	grau Celsius
cm ⁻¹	por Centímetro
g/mol	Gramas por quantidade de matéria
h	Horas
J	Joules
J/g	Joule por grama
K	Kelvin
Kg	Kilograma
kHz	Kilo Hertz
kJ	Kilo Joules
kJ/mol	Kilo Joules por mol
L	Litro
M	Molaridade
MHz	Mega Hertz
MM	Massa Molecular
mM	Micro Molar
mg	Miligrama
mg/mL	Miligrama por Mililitro
min	Minutos
mL	Mililitro
mL/min	Mililitro por Minuto
mm	Milímetro
mol	Quantidade de matéria

nm	Nanômetros
p/p	Peso/Peso
p/v	Peso/Volume
pH	Potencial Hidrogeniônico
pKa	Constante de dissociação ácida
psi	Libra força por polegada quadrada
r^2	Coeficiente de correlação linear
rpm	Rotações por minuto
T onset	Temperatura inicial da reação
T endset	Temperatura final da reação
UR	Umidade Relativa
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta Visível
v/v	Volume/Volume
α	Alfa
β	Beta
λ	Comprimento de onda
μg	Microgramas
μL	Microlitro
$\mu\text{L/mL}$	Microlitro por Mililitro
μm	Micrometro
μs	Microsegundo
°	Graus
θ	Teta
UFC	Unidade formadora de colônia

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO I

Figura 1- Anéis quinonoídicos.....	26
Figura 2- Reação de ciclização do lapachol em β -lapachona	27
Figura 3- Rota sintética alternativa para β -lapachona	28

ARTIGO II

Figura 1- Estrutura química da β -lapachona	41
Figura 2- Difração de raios X da β -lapachona	44
Figura 3- Espectrograma da β -lapachona no FTIR-MID	45
Figura 4- DSC da β -lapachona na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$	46
Figura 5- Curva DSC da β -lapachona obtida a $2\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ e sob atmosfera de N_2 ($50\text{ml}.\text{min}^{-1}$).....	47
Figura 6- Curvas TG, DTG e DTA da β -lapachona	48
Figura 7- Curvas TG da β -lapachona obtidas em diferentes razões de aquecimento ($2.5/5.0/7.5/10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$)	48
Figura 8- Gráfico do método de Ozawa para determinação da E_a da decomposição térmica da β -lapachona	49
Figura 9- Parâmetros cinéticos da decomposição térmica da β -lapachona de acordo com o método de Ozawa	49
Figura 10- Detalhe morfológico das partículas cristalinas da β -lapachona com um aumento de 20 e 270 vezes, respectivamente	50

ARTIGO III

Figura 1- Diagrama de solubilidade da fases dos sistemas β -lap:BCD, β -lap:HPBCD e β -lap:MBCD em água purificada	62
Figura 2- Eletromicrografias de MEV. (A) Binários com β CD, (B) Binários com HP β CD e (C) Binários com M β CD: (a) β -lapachona (b) Ciclodextrinas, (c) Mistura física, (d) Malaxado, (e) Co-evaporado e (f) Spray-drying	65
Figura 3- Curvas de DSC: (A) β -lapachona; (B) Ciclodextrina; (C) Mistura física; (D) Malaxado, (E) Co-evaporado, (F) Spray-drying	67

Figura 4- Difrátogramas: (A) β -lapachona, (B) Ciclodextrinas, (C) Mistura Física, (D) Malaxado, (E) Co-evaporado e (F) Spray-drying	69
Figura 5- Espectro de FTIR com β CD: (A) β -lapachona, (B) β CD, (C) Mistura Física, (D) Malaxado, (E) Co-evaporado e (F) Spray-drying	71
Figura 6- Espectro de FTIR com HP β CD: (A) β -lapachona, (B) HP β CD, (C) Mistura Física, (D) Malaxado, (E) Co-evaporado e (F) Spray-drying	71
Figura 7- Espectro de FTIR com M β CD: (A) β -lapachona, (B) M β CD, (C) Mistura Física, (D) Malaxado, (E) Co-evaporado e (F) Spray-drying	71
Figura 8- Perfil de dissolução da β -lapachona e binários	73

ARTIGOS IV

Figura 1- Curvas TG, DTG e DTA da β -lapachona	82
Figura 2- Curvas TG, DTG e DTA da mistura física β -lapachona e HP β CD	82
Figura 3- Curvas TG, DTG e DTA do complexo β -lapachona :HPBCD (Complexo de inclusão)	83
Figura 4- Curvas TG da β -lapachona obtidas em diferentes razões de aquecimento (5,0; 10,0; 15,0; 20°C/min). A figura inserida mostra o método de OZAWA (G(x) x min)	84
Figura 5- Curvas TG do complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) obtidas em diferentes razões de aquecimento (5,0; 10,0; 15,0; 20°C/min) A figura inserida mostra o método de OZAWA (G(x) x min)	84
Figura 6- Curvas TG e DTA do complexo de inclusão (C.I.) e excipientes	85
Figura 7- Curvas TG e DTA do complexo de inclusão e mistura física (1:1) do fármaco e excipiente	86

ARTIGOS V

Figura 1- Resultados da caracterização do complexo de inclusão, por MEV, infravermelho, raios X e DSC	98
Figura 2- Solubilidade da β -lapachona e complexo de inclusão em diferentes meios de dissolução	101
Figura 3- Cubo dos principais efeitos, em percentual (%), com suas diferenças	103

Figura 4- Perfis de dissolução dos lotes desenvolvidos e eficiência de dissolução em 15 minutos	104
---	-----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO II

Tabela 1- Percentagem de β -lapachona dissolvida após 60, 90 e 120 minutos	51
--	----

ARTIGO III

Tabela 1- Constantes de estabilidade	62
Tabela 2- Percentagem de β -lapachona dissolvido após 60, 90 e 120 minutos e eficiência de dissolução em 60 e 120 minutos obtidas a partir da β -lapachona isolada e dos sistemas binários	74

ARTIGO IV

Tabela 1- Parâmetros calorimétricos do complexo de inclusão e mistura com excipientes	88
--	----

ARTIGO V

Tabela 1- Composição dos Lotes de Bancadas Desenvolvidos	96
Tabela 2- Definição dos níveis de planejamento fatorial 2^3	101
Tabela 3- Resultados do planejamento fatorial 2^3 , em 15 minutos de dissolução	102
Tabela 4- Efeitos médios das variáveis isoladas e em combinação	103
Tabela 5- Resultados obtidos do controle de qualidade das formas farmacêuticas cápsulas desenvolvidas (LB-01 e LB-02)	105

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 CAPÍTULO I	22
3.1 Artigo I – β -lapachona : um fitofármaco promissor	22
4 CAPÍTULO II	39
4.1 Artigo II – Caracterização físico-química do fármaco antineoplásico β -lapachona.....	39
5 CAPÍTULO III.....	54
5.1 Artigo III – Desenvolvimento e caracterização físico-química dos complexos de inclusão obtidos com β -lapachona e β -ciclodextrina natural e quimicamente modificadas.....	54
6 CAPÍTULO IV.....	77
6.1 Artigo IV – Estudo termoanalítico: estabilidade térmica da β -lapachona complexada e compatibilidade com excipientes farmacêuticos usados em forma farmacêutica sólida.....	77
7 CAPÍTULO V	91
7.1 Artigo V – Desenvolvimento de um novo medicamento para o tratamento de câncer de próstata a base de β -lapachona	91
8 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	109
8.1 CONCLUSÕES.....	110
8.2 PERSPECTIVAS	111
REFERÊNCIAS	112
ANEXO	115
Anexo A - Comprovante de submissão do Artigo II: “Caracterização físico-química do fármaco antineoplásico β -lapachona” à Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada	116

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Conhecido há muitos séculos, o câncer foi amplamente considerado como uma doença dos países desenvolvidos e com grandes recursos financeiros, pois com o aumento da expectativa de vida, há uma maior incidência de câncer. Há aproximadamente quatro décadas, a situação vem mudando, e a maior parte do ônus global do câncer pode ser observada em países em desenvolvimento, principalmente aqueles com poucos e médios recursos (INCA, 2012).

Assim, nas últimas décadas, o câncer ganhou uma dimensão maior, convertendo-se em um evidente problema de saúde pública mundial. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que, no ano 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivas, anualmente, com câncer. O maior efeito desse aumento vai incidir em países de baixa e média rendas (INCA, 2012).

No Brasil, as estimativas para o ano de 2012 são válidas também para o ano de 2013 e apontam a ocorrência de aproximadamente 518.510 casos novos de câncer, incluindo os casos de pele não melanoma, reforçando a magnitude do problema do câncer no país. Sem os casos de câncer de pele não melanoma, estima-se um total de 385 mil casos novos. Os tipos mais incidentes serão os cânceres de pele não melanoma, próstata, pulmão, cólon, reto e estômago para o sexo masculino; e os cânceres de pele não melanoma, mama, colo do útero, cólon, reto e glândula tireoide para o sexo feminino (INCA, 2012).

Diante desse cenário, fica clara a necessidade de continuidade em investimentos no desenvolvimento de ações abrangentes para o controle do câncer, nos diferentes níveis de atuação, como: na promoção da saúde, na detecção precoce, na assistência aos pacientes, na vigilância, na formação de recursos humanos, na comunicação e mobilização social, na pesquisa e na gestão do Sistema Único de Saúde (SUS).

Nesse contexto, pesquisas estão sendo desenvolvidas no sentido de estabelecer mecanismos de incentivo ao desenvolvimento de fitofármacos para combate ao câncer com vistas ao fortalecimento da indústria farmacêutica nacional. Novas drogas provenientes de extratos vegetais estão sendo isoladas e descobertas a cada dia e, muitas vezes, servem de modelos para alterações moleculares que resultam em compostos mais eficazes (FÁVARO et al., 1990). Alguns compostos com estruturas químicas já elucidadas podem ser testados quanto à utilização em novos tratamentos, revelando-se agentes com eficácia terapêutica comprovada.

A β -lapachona, conhecida quimicamente como 3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-naftol[1,2-b] pirano-5,6-diano, é uma ortonaftoquina com significado potencial terapêutico de ocorrência

natural, isolada do ipê roxo, ou pau d'arco roxo (*Tabebuia avellanedae* Lor), da família Bignoneaceae (DO CAMPO et al., 1977).

Nos últimos anos, a β -lapachona vem sendo exaustivamente estudada devido ao seu excelente potencial antineoplásico. Diversos estudos realizados *in vitro* comprovam a sua atividade antitumoral, principalmente para as linhagens de câncer refratárias aos tratamentos convencionais, como o câncer de próstata, mama, ovário, leucemias, melanoma, pâncreas e cólon por um mecanismo diferente dos apresentados por antineoplásicos utilizados nos esquemas terapêuticos atuais (OUGH et al., 2005; BENTLE et al., 2006; PINK, et al., 2000; BEY et al., 2007). Devido a sua ótima atividade anticancerígena, este fitofármaco foi submetido a estudo clínico fase II para o tratamento de câncer pancreático, em solução intravenosa, com resultados bastante promissores (BENTLE et al., 2006).

Apesar de todas as comprovações de seu excelente potencial terapêutico, a β -lapachona apresenta propriedades físico-químicas que limita a sua biodisponibilidade e eficácia terapêutica. Sua deficiente solubilidade em fluidos aquosos dificulta a sua incorporação em formas farmacêuticas orais (ALVES et al., 2008). Dessa forma, foi obtido o complexo de inclusão, por atomização, com a β -lapachona e hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) na intenção de alcançar um incremento na solubilização deste fármaco (PRESMICH, 2009).

O desenvolvimento farmacotécnico da cápsula de β -lapachona vetorizada com a HP β CD visou agregar novas alternativas terapêuticas para o tratamento de pacientes com câncer de próstata, agindo por um mecanismo diferente dos apresentados por drogas antineoplásicas utilizadas nos esquemas terapêuticos atuais (OUGH et al., 2005; BENTLE et al., 2006). Durante o estudo de pré-formulação, foram realizadas as caracterizações físico-químicas da β -lapachona e do complexo de inclusão, além do estudo de compatibilidade do complexo de inclusão com os adjuvantes farmacêuticos (celulose microcristalina, lactose monohidratada, estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal) buscando-se uma forma farmacêutica estável e de qualidade. Após a obtenção da forma farmacêutica, foi desenvolvido um teste de dissolução para a seleção dos melhores parâmetros, com a aplicação do planejamento fatorial 2^3 .

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma cápsula de administração oral à base de β -lapachona complexada com ciclodextrina, destinada ao tratamento de câncer de próstata.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o estudo de caracterização físico-química da β -lapachona e do complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD), utilizados como matéria-prima para o desenvolvimento da forma farmacêutica sólida (cápsula);
- Realizar estudo de compatibilidade fármaco-excipiente, para selecionar os melhores adjuvantes farmacêuticos da formulação e evidenciar possíveis incompatibilidades;
- Realizar o desenvolvimento tecnológico para obtenção de cápsulas de β -lapachona vetorizada com HP β CD, a partir de uma planificação qualitativa de diluentes, utilizando diversos adjuvantes farmacêuticos;
- Desenvolver um método de dissolução, através da análise da solubilidade do fármaco em diferentes meios, com aplicação da técnica de planejamento fatorial 2³.

Capítulo I

3.1 Artigo I – β -lapachona : um fitofármaco promissor

Artigo a ser submetido à Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada
Qualis Capes para Farmácia: B5

β -LAPACHONA: UM FITOFÁRMACO PROMISSOR

José Lourenço de Freitas Neto¹; Larissa Araújo Rolim¹; Rosali Maria Ferreira da Silva¹; Matheus Alves Ângelos¹; Geisiane Maria Alves Presmich¹; Pedro José Rolim Neto; Miracy Muniz de Albuquerque^{2*}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá s/n, Cidade Universitária – CEP 50740-521 - Recife – PE, Brasil.

²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá s/n, Cidade Universitária – CEP 50740-521 - Recife – PE, Brasil.

*e-mail: miracy@ufpe.br

RESUMO

O importante papel dos produtos naturais como fonte alternativa de recursos terapêuticos é reconhecido desde os tempos remotos. Apesar do grande progresso científico e tecnológico no desenvolvimento de novos fármacos, os compostos ativos derivados de produtos naturais ainda têm uma enorme contribuição para a descoberta de novos princípios ativos. A β -lapachona, produto natural extraído da *Tabebuia avellanae* Lor, conhecida como ipê-roxo, tem inspirado uma série de trabalhos científicos motivados por suas várias atividades farmacológicas comprovadas, tais como: antibacteriana, antifúngica, antitripanossômica, antiviral, antiinflamatória e anticancerígena. Este ativo pode ser obtido por uma semi-síntese de um precursor natural, o lapachol, que encontra-se em maior quantidade nos extratos do ipê-roxo. Apesar do seu elevado potencial terapêutico a β -lapachona nunca chegou a ser comercializado devido à dificuldade de obtenção de uma forma farmacêutica estável, pois o fármaco é praticamente insolúvel em água, inviabilizando sua biodisponibilidade, fato que tem gerado inúmeras pesquisas na tentativa de criar microambientes que favoreçam sua solubilização. Esta revisão visa fornecer subsídios científicos sobre a importância clínica da β -lapachona, a partir de uma abordagem das químicas de obtenção, atividades farmacológicas e toxicológicas.

Palavras-chave: β -lapachona, fitofármaco, química de obtenção, propriedades farmacológicas e toxicológicas.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo de milhares de anos, a humanidade utilizava as plantas medicinais com finalidade terapêutica. O conhecimento etnofarmacológico acumulado ao longo da nossa evolução e os avanços científicos envolvendo os estudos farmacológicos culminaram com o desenvolvimento de fármacos de grande importância na terapêutica atual, como, a atropina, ácido salicílico, cafeína, pilocarpina, taxol, digoxina, morfina, vincristina, vimblastina (ALVES et al., 2001).

A utilização das plantas medicinais no Brasil foi influenciada por diversas culturas, entre elas as indígenas, africana e principalmente a européia. A influência européia teve início em 1579, com a vinda dos primeiros padres da Companhia de Jesus (MARTINS et al., 2000).

Segundo a ANVISA, os fitoterápicos são medicamentos obtidos empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança são validados através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos fase III. Já os fitofármacos são substâncias isoladas a partir da matéria-prima vegetal e utilizadas como ativo em medicamentos com propriedades paliativas, curativas ou para fins de diagnóstico (BRASIL, 2004).

A etapa inicial da elaboração de um fitofármaco ocorre com a seleção da planta. A seleção pode ser feita com auxílio da pesquisa na literatura científica, da etnobotânica, da etnofarmacologia, da toxicologia observada, além de estudos farmacológicos prévios. O passo seguinte diz respeito à coleta, identificação botânica e preparo de material, bem como estabilização e extração dos constituintes das plantas. A partir dos extratos, empregando-se métodos cromatográficos, alteração de pH, controle de temperatura, filtração tangencial, podem ser obtidos compostos isolados. Nessa fase, são realizados testes de atividade biológica e de toxicidade, e ainda a caracterização físico-química dos compostos ativos isolados. A identificação da estrutura do composto permitirá, dessa forma, estudos subsequentes da síntese total ou parcial do constituinte ativo, preparação de derivados ou análogos químicos, modulação da atividade biológica e definição da relação estrutura-atividade. A produção em escala industrial da matéria-prima ativa, o desenvolvimento tecnológico industrial e os testes clínicos completam o ciclo de desenvolvimento dos fitofármacos (RATES et al., 2001).

Nesse contexto, inúmeros trabalhos vêm sendo realizados com a β -lapachona, produto extraído da *Tabebuia avellanedae* Lor, árvore tropical conhecida como ipê roxo ou pau d'arco

roxo, da família Bignoniaceae, de ocorrência muito comum nas florestas tropicais do Brasil. Esta naftoquinona é uma substância natural que pode ser facilmente obtida por uma semi-síntese a partir do lapachol (LIMA et al., 1962).

A β -lapachona é uma substância muito importante do ponto de vista da pesquisa científica e possui inúmeros efeitos farmacológicos comprovados na literatura, sendo bastante conhecidas suas atividades antibacteriana (PEREIRA et al., 2006), antifúngica (MEDEIROS et al., 2009), antitripanossômica (MENNA-BARRETO et al., 2005), antiviral (FÁVARO et al., 1990), antiinflamatória (DONG-OH et al., 2007) e particularmente a anticancerígena (DONG-OH et al., 2010), seu principal alvo terapêutico. Devido a comprovação de seu excelente potencial terapêutico, foi realizado o estudo clínico fase II para o tratamento de câncer pancreático, com o aparecimento de resultados promissores (BENTLE et al., 2006).

Apesar dos inúmeros trabalhos que comprovam o potencial terapêutico deste fitofármaco, este ativo nunca chegou a ser comercializado devido à dificuldade de obtenção de uma forma farmacêutica estável. Um dos grandes problemas observados é a sua baixa solubilidade em água. (ALVES et al., 2004)

A solubilidade de um fármaco é um dos fatores determinantes para a sua biodisponibilidade quando administrados por via oral. Existem diversas formas de aumentar a solubilidade de um fármaco. Dentre elas pode-se citar: modificações químicas, complexação, aumento da área superficial de dissolução e dispersões sólidas (LEUNER et al., 2000).

Dentre os métodos de incremento da solubilidade da β -lapachona, temos na literatura o desenvolvimento de dispersões sólidas com PVP-K 30 e PEG 4000 e a complexação com ciclodextrinas que apresentam resultados promissores quando comparados ao fármaco isolado (PRESMICH, 2009).

Este trabalho visa fornecer subsídios para a compreensão dos pesquisadores que buscam o entendimento sobre a importância clínica da β -lapachona, a partir de uma abordagem complexa dos métodos de obtenção, atividades farmacológicas e toxicológicas, à luz das referências teóricas disponíveis na literatura.

2 QUÍMICA DE OBTENÇÃO

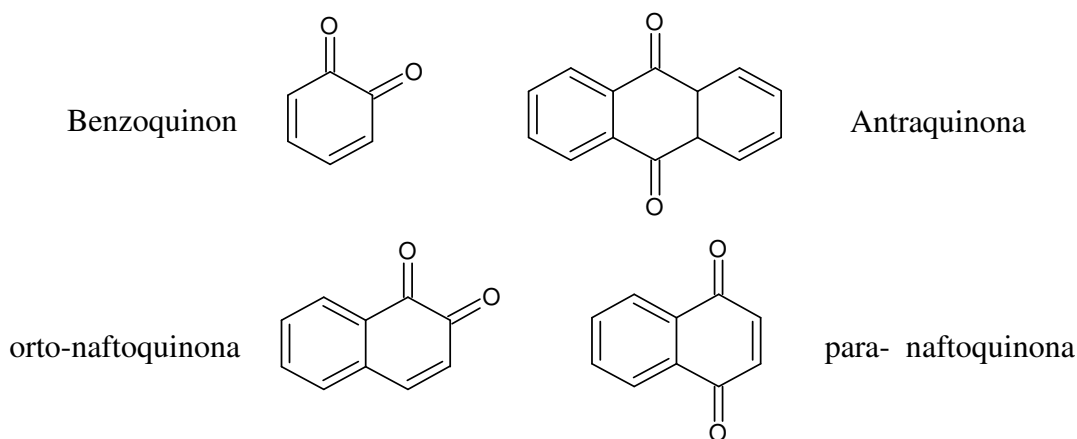
Inúmeros métodos têm sido utilizados para a descoberta de novas drogas, incluindo o isolamento de produtos naturais, semi-síntese, síntese química e modelagem molecular (LOMBARDINO et al., 2004). Apesar do recente interesse em modelagem molecular e outras técnicas de síntese química pelas indústrias farmacêuticas, a busca por produtos naturais continua a ser uma importante fonte de novos fármacos. Aproximadamente um quarto dos

novos medicamentos produzidos no mundo são originados de produtos naturais ou derivados semi-sintéticos (BALUNAS et al., 2005).

A β -lapachona, conhecida quimicamente por (3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-naftol[1,2-b]pirano-5,6-diona) é uma substância simples do grupo das naftoquinonas, com peso molecular de 242,3 e estruturalmente estável em pH variando de 3 a 9. As naftoquinonas são compostos orgânicos que possuem como principal característica a presença de dois grupos carbonílicos que formam um sistema conjugado com pelo menos duas ligações duplas C-C. Apresentam geralmente estrutura cristalina de cor amarela e vermelha, sendo amplamente distribuídas na natureza (SIMÕES et al., 2003).

Com base na sua estrutura molecular, a β -lapachona é uma naftoquinona, pois possui em sua estrutura um sistema aromático, anel naftalênico, que sustenta o anel quinonoídico. As quinonas se subdividem ainda, de acordo com tal sistema aromático, em benzoquinonas – anel benzênico e antraquinonas - anel antracênico linear ou angular. Dependendo das disposições relativas das carbonilas, com o mesmo tipo de anel, as naftoquinonas apresentam isomeria. Dessa forma, a β -lapachona é enquadrada como naftoquinona do tipo 1,2 ou orto, pois seu duplo grupamento carbonila são adjacentes. As naftoquinonas podem ainda ser 1,4 ou para-quinononas, quando as carbonilas têm entre si dois carbonos, é o caso da α -lapachona (Figura 1) (SILVA et al., 2003).

Figura 1- Anéis quinonoídicos.



A síntese de derivados quinonoídicos vem sendo descrita em vários livros publicados, em inúmeras e excelentes revisões, estando assim bem documentada sua evolução ao longo do tempo (SILVA et al., 2003). Porém a semi-síntese da β -lapachona só foi descrita pela primeira vez na comunidade científica em 1968 por D'ALBUQUERQUE, sendo posteriormente alvo de diversas publicações científicas com a síntese não só da β -lapachona,

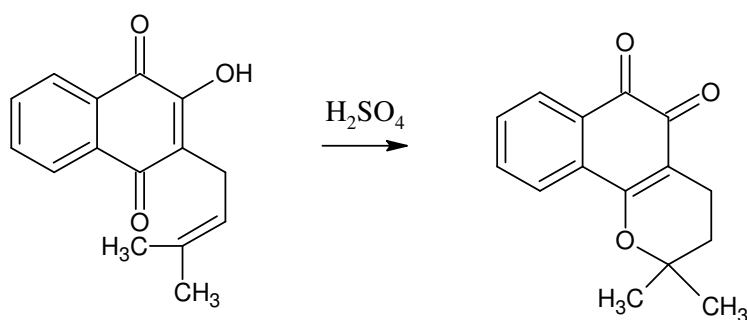
como também de análogos estruturais, visando incremento de atividade biológica e redução da toxicidade.

Em 1998 foi aprovado e divulgado o processo de semi-síntese da β -lapachona descrito detalhadamente por Boothman e colaboradores. Tal processo é descrito como uma metodologia mais simples para a síntese da β -lapachona (SILVA et al., 2003).

A síntese deste fármaco ocorre basicamente, em decorrência de uma reação de desidrogenação do lapachol, composto extraído do ipê roxo, sendo, portanto, uma semi-síntese já que o precursor sintético é um produto natural. Tal procedimento é vantajoso visto que a concentração do lapachol no tronco do ipê roxo é cerca de 70 vezes maior que a da β -lapachona, sendo ainda mais facilmente extraído, já que sua maior concentração encontra-se na parte externa do troco da árvore, enquanto que a β -lapachona encontra-se em maior concentração no cerne do tronco, sendo necessário a morte da árvore para extração de quantidades maiores desse metabólito (OLIVEIRA et al., 1990).

Detalhadamente, o que ocorre na síntese da β -lapachona, segundo a metodologia descrita como reprodução do que ocorre no metabolismo do ipê roxo, considerada metodologia mais favorável, é a ciclização do anel adjacente ao naftaleno na estrutura do lapachol após adição de ácido sulfúrico, conforme a figura 2 (SILVA et al., 2006).

Figura 2- Reação de ciclização do lapachol em β -lapachona.



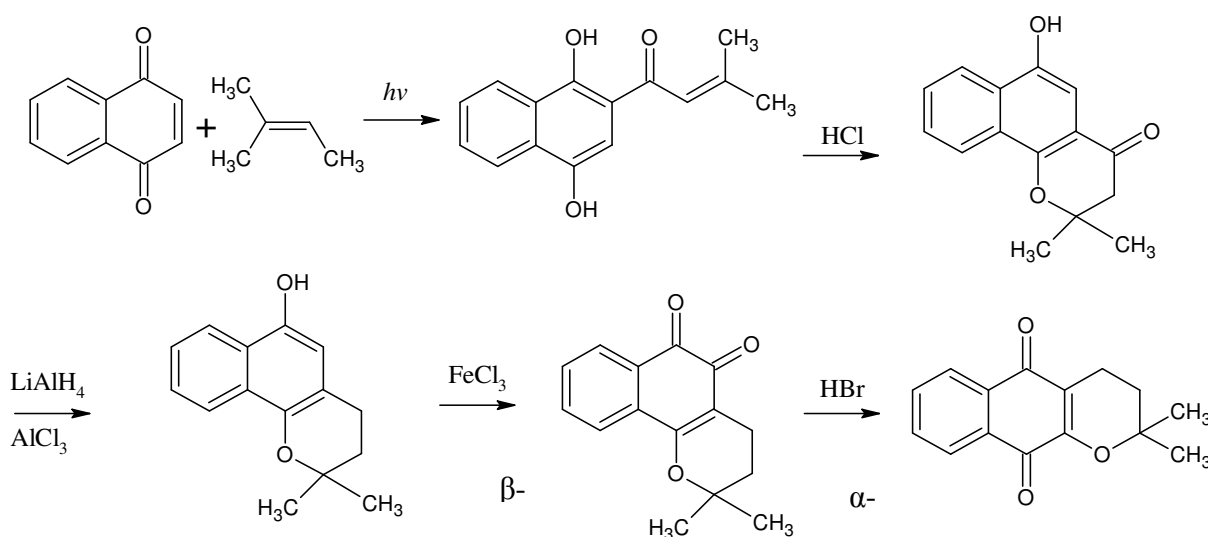
Tal reação não produz unicamente a β -lapachona, sendo o rendimento de aproximadamente 80% e o principal contaminante o seu isômero estrutural a α -lapachona (SCHAFFNER-SABBA et al., 1984; DI CHENA et al., 2001).

Métodos de purificação e caracterização foram desenvolvidos por ALVES e colaboradores em 2008, para purificação da β -lapachona através de sucessivas solubilizações

etanólicas sob aquecimento da matéria prima contaminada com posterior recristalização. Em seguida, as substâncias podem ser isoladas por cromatografia em coluna e caracterizadas.

Em 1977 foi descrito um método alternativo para obtenção da β -lapachona por reação fotoquímica específica. Por esse mecanismo de reação inicialmente a para-naftoquinona de partida é submetida a uma irradiação, sob alta pressão, de uma lâmpada de mercúrio por 20-25h para adicionar a cadeia lateral, e posteriormente é submetida à acidificação do meio para ciclização do anel, sofrendo posteriores arranjos estruturais para obtenção da β -lapachona (Figura 3) (MARUYAMA et al., 1977).

Figura 3- Rota sintética alternativa para β -lapachona.



Por fim, como citado anteriormente, a β -lapachona pode ainda ser extraída do cerne do ipê roxo por método semelhante à extração do lapachol, ou ainda uma metodologia mais eficaz com maior rendimento que é a extração por CO_2 supercrítico (VIANA et al., 2003). Outras espécies do mesmo gênero *Tabebuia* também possuem em seu tronco, casca e raízes a β -lapachona, porém em menores concentrações (SILVA et al., 2003).

3 PRINCIPAIS ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DA β -LAPACHONA

Um levantamento realizado na literatura mostrou que a β -lapachona apresenta um rol, relativamente amplo, de atividades farmacológicas, com destaque nas seguintes: antibacteriana (PEREIRA et al., 2006), antifúngica (MEDEIROS et al., 2009), antitripanossômica (FERREIRA et al., 2008), antiviral (FÁVARO et al., 1990), anti-

inflamatória (DONG-OH et al., 2007), antiespasmolítica (CAVALCANTE et al., 2008) e anticancerígena (DONG-OH et al., 2010), seu principal alvo terapêutico.

3.1 Atividade antimicrobiana

A β -lapachona possui atividade antimicrobiana mais eficiente do que o lapachol, demonstrando uma maior atividade fungicida e fungistática contra *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *T. glabrata*, *Trichophyton mentagrophytes* do que o lapachol. Outros autores encontraram β -lapachona inativa contra cepas de *Cryptococcus* (GUIRAUD et al., 1994).

ANTUNES (2006) testou frente a bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*), bactérias gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e fungos leveduriformes (*Candida albicans*), a atividade antimicrobiana e a concentração inibitória mínima (CIM) de β -lapachona. Os resultados demonstraram que a β -lapachona não apresentou atividade antimicrobiana para as cepas testadas.

Estes resultados diferem dos obtidos por PEREIRA (2006), que testou a atividade antibacteriana da β -lapachona contra cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. haemolyticus* resistente à meticilina, sendo os dois últimos heteroresistentes à vancomicina. A β -lapachona apresentou atividade bacteriostática (CIM 8 μ g/mL), mas não foi observada atividade bactericida. Embora tenha sido observado efeito tóxico em células eucarióticas, o composto demonstrou ser atóxico quando aplicada como preparações tópicas em coelhos saudáveis.

MEDEIROS (2009) demonstrou a potente atividade antifúngica da β -lapachona e aplicação na criptococose disseminada. As concentrações mínimas inibitória e fungicida foram de 4 mg/L e 64 μ g/mL, respectivamente.

SILVA (2009) determinou as atividades *in vitro* antimicobacteriana da β -lapachona isoladamente e em combinação com a isoniazida contra *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium smegmatis*, através do método da curva *Time-Kill*. A redução de 2 log₁₀ UFC/mL na cultura do *M. smegmatis* foi observado 72 h após a adição de β -lapachona na sua concentração inibitória mínima. Para *M. fortuitum*, uma redução de 1,55 log₁₀ UFC/mL ocorreu em 24 h. Ambos os micro-organismos foram resistentes à isoniazida. Em conjunto, estes dois fármacos tiveram um efeito bactericida em 96 h.

3.2 Atividade antiparasitária

O efeito da β -lapachona e seus derivados sobre o *T. cruzi* foi investigado por FERREIRA (2008) no Brasil e na Argentina. Em seus estudos foi observado que a adição da solução β -lap nas formas epimastigotas e tripomastigotas do parasita induzia a liberação do

radical superóxido e H_2O_2 . A análise ultraestrutural das formas amastigotas e tripomastigotas apresentou uma alteração na cromatina com presença de manchas, alterações da membrana nuclear e citoplasmática, e inchaço mitocondrial, inibindo a proliferação das formas do *T. cruzi*.

Corrêa e colaboradores (2009) avaliaram a ação da β -lap sobre a *Giardia lamblia*, que é um protozoário que parasita o intestino delgado dos vertebrados, causando infecções intestinais e diarreias, que infectam milhões de pessoas em todo o mundo. Os estudos comprovaram que a β -lapachona induziu a morte celular em *Giardia lamblia*, apresentando característica celular de apoptose e morte autofágica.

3.3 Atividade espasmolítica

CAVALCANTE (2008) comprovou que a β -lapachona apresenta atividade espasmolítica não seletiva em íleo de cobaia. O composto inibiu as contrações físicas induzidas tanto por carbacol quanto por histamina. Também relaxou o íleo pré-contraído com KCl, carbacol ou histamina de maneira dependente de concentração. Este efeito provavelmente ocorreu devido à inibição do influxo de Ca^{2+} através dos canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem tipo L.

3.4 Atividade antiviral

Interagindo com grupos tiol (-SH) de algumas proteínas enzimáticas, a β -lapachona inibiu *in vitro* a atividade da transcriptase reversa de alguns tipos de vírus, como o vírus mieloblástico de avícola e o vírus de leucemia de Rauscher (SCHUERCH et al., 1978).

Posteriormente, estes resultados foram comprovados *in vivo* por SHAEFFNER (1984), ao inibir a replicação de RNA de alguns retrovírus (sarcoma-vírus de Rous, vírus Fried e vírus da leucemia de Rauscher) aumentando o tempo de sobrevida de animais infectados.

3.5 Atividade anti-inflamatória

LEE (2005) investigou os possíveis mecanismos pelos quais a β -lapachona exerce a sua ação antiproliferativa em culturas de células de carcinoma de próstata humana. Nesta pesquisa, observou-se que a β -lap diminuía a síntese dos RNAm de ciclooxigenase (COX-2) e a expressão de proteínas sem alterações significativas nos níveis de COX-1, que foi correlacionado com uma diminuição da prostaglandina PGE2 sintetase. Estes resultados nos fornece informações sobre o possível mecanismo de ação da atividade anti-inflamatória deste fármaco.

Segundo DONG-OH (2007), a β -lapachona é um agente que pode inibir o óxido nítrico (NO) e NO sintetase induzível (iNOS) em macrófagos alveolares. Neste estudo, foi investigado o mecanismo molecular deste fármaco sobre os lipopolissacarídeo (LPS), em respostas inflamatórias. O tratamento com β -lap. inibiu significativamente a liberação de NO e PGE2 em LPS, estimulando a microglia BV2. A inibição da iNOS e COX-2 também foi observada, sugerindo o bloqueio a níveis de transcrição. Dessa forma, este fármaco atenua a expressão de RNAm e proteínas de citocinas pró-inflamatórias, tais como a interleucina IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF- α), de forma dose-dependente. Observou-se também a supressão da atividade do NF-kB, bloqueando a degradação do I κ B- α . Assim, os resultados mostram que este fármaco pode ser útil como um potente agente anti-inflamatório para atenuar doenças inflamatórias.

Já em 2008, BYEON demonstrou a atividade etnofarmacológica da *Tabebuia avellanedae* sob várias condições inflamatório in vivo e in vitro. Para isso, foram empregados modelos de edema de orelha estimulados pelo ácido araquidônico, um ativador de COX-II que catalisa a produção de PGE2, e óleo de cróton, um ativador de produção dos leucotrienos e lipoxigenase (LT) B4. O extrato aquoso de *Tabebuia avellanedae* diminuiu significativamente a produção de PGE2 e óxido nítrico, e bloquearam a expressão do RNAm de suas enzimas. Considerando o fato de que a β -lapachona é um importante componente desta espécie de planta, foi possível justificar que o bloqueio da síntese do RNAm da COX-2 e a redução dos níveis de PGE2 foi mediada por este ativo.

3.6 Atividade Antineoplásica

O mecanismo de ação da β -lapachona como agente antineoplásico ainda não está totalmente elucidado, embora várias pesquisas tenham sido realizadas neste sentido. Devido aos inúmeros trabalhos publicados sobre as propriedades antineoplásicas desta naftoquinona, atualmente investigações vem sendo realizados para o tratamento de tipos específicos de câncer, como os de mama, pulmão, cólon, próstata, e atualmente está em ensaios clínicos de fase II para o tratamento de câncer de pâncreas. Estudos comprovam que é particularmente promissor o sinergismo de β -lapachona com taxol e com genisteína em várias linhagens de células tumorais implantadas em camundongos. A topoisomerase I (Topo I) foi o primeiro alvo bioquímico da β -lapachona a ser relatado. Este fármaco age sobre essa enzima de maneira distinta de outros inibidores conhecidos, como a camptotecina. Há também relatos que esta naftoquinona inibe a atividade enzimática, induzindo a religação e dissociação do DNA na presença de ATP (PINTO et al., 2009).

A utilização de quimioterapia combinada de drogas com diferentes mecanismos de ação é bastante freqüente, já que diminui as chances de as células cancerosas desenvolverem resistência e atinge as células em diferentes estágios do ciclo celular. CHIANG (1999) observou que a combinação de β -lapachona e taxol proporcionou uma redução em culturas de células com carcinoma. Essa interação induzia a morte de células cancerosas cultivadas de ovário, mama, próstata, melanoma, pulmão, cólon e pâncreas. O sinergismo entre estes fármacos apresentou potente atividade antitumoral contra tumores de próstata em camundongos. Neste estudo foi comprovado que a β -lap provoca atrasos no ciclo celular na fase G1 tardia e fase S, já o taxol provoca em G2/M. Células tratadas com ambos os fármacos teve o ciclo celular adiado em vários pontos, antes de cometer a apoptose.

Como os inibidores do Topo I são conhecidos por causarem reações apoptóticas, PLANCHON (1995) investigou a possibilidade de a β -lapachona mediar a apoptose em linhagens de células humanas de leucemia pró-mielocítica (HL-60), em células de câncer de próstata e de câncer de mama. Os resultados apontam para uma inibição devido ao bloqueio do ciclo celular em G0/G1 e indução de apoptose independente da resposta da p-53, exceto para as células de câncer mamário, que nas concentrações utilizadas não resultou em apoptose detectável.

KRISNAN (2000), em suas pesquisas, sugeriu que a β -lapachona age como inibidoras das topoisomerases I e II. A incubação direta desta substância com a topoisomerase I, antes da adição de DNA como substrato, aumenta drasticamente o efeito inibitório, sugerindo a interação direta da β -lapachona com a topoisomerase I. Também foi verificada que esta ação depende da presença de NQO1-redutase. Este modo de ação difere em relação ao de outras substâncias inibidoras das topoisomerases, como, por exemplo, a camptotecina e o topotecan.

HYUN JOO WOO (2006) estudou os efeitos da β -lapachona sobre o crescimento células hepáticas cancerígenas (HepG2). Os resultados mostraram que a β -lapachona inibia a viabilidade de HepG2 pela indução de apoptose, evidenciada pela formação de corpos apoptóticos e fragmentação do DNA. A apoptose induzida foi associado com uma ativação proteolítica da caspase-3 e -9 e degradação da proteína polimerase poli (ADP-ribose). No entanto, o tratamento com este fármaco não afetou a inibição da família de proteínas de apoptose e o sistema Fas/FasL. Assim, os pesquisadores sugeram que a β -lapachona pode ser um potencial agente quimiopreventivo de câncer de fígado.

DONG-OH (2010) sugeriu que a β -lapachona inibia o crescimento de células tumorais. Neste estudo, constatou-se que a β -LAP induziu diretamente a citotoxicidade em células de leucemia humana, através da ativação de caspase-3 e posterior clivagem da

polimerase ADP-ribose. A indução da morte celular observada foi associada com a diminuição da atividade da telomerase, que foi atribuída à regulação da transcriptase reversa da telomerase. Neste estudo, foi concluído que a β -lap. possui um efeito citotóxico direto na diminuição da atividade da telomerase em células neoplásicas.

4 TOXICIDADE

HIGA (2007) afirmou em suas pesquisas que a β -lapachona causa embriotoxicidade em ratas com efeitos abortivos e quando associada ao carcinógeno metilcolantreno, aumenta o índice de tumores em ratas, comportando-se como potente promotor oncogênico, com alta toxicidade hepática e renal.

ALMEIDA (2008) avaliou a toxicologia da β -lapachona em ratos Wistar, observando os seguintes parâmetros: teratologia, histologia, hematologia e bioquímica do soro. Os dados demonstraram a ação teratogênica nas doses utilizadas, bem como alterações hematológicas em leucócitos e monócitos. Os dados bioquímicos demonstraram um aumento da λ -glutamil-transferase, fosfatase alcalina e nos níveis de glutamato-piruvato transaminase. O estudo histológico revelou alterações significativas no baço, no entanto, o fígado e o rim não apresentaram alterações significativas.

MEDEIROS (2009) avaliou a citotoxicidade da β -lapachona em camundongos Suiços imunossuprimidos. Os dados mostraram que a dose de 10 mg/Kg não produziu alterações tóxicas nos tecidos dos camundongos imunossuprimidos após uma semana de exposição crônica, observadas por exame histológico do fígado e dos rins. Nenhuma alteração significativa no comportamento foi observada durante esse experimento, respaldando que a β -lapachona poderia ser usada nesta concentração.

5 CONCLUSÃO

A β -lapachona, apesar de ainda não ser um fármaco, é uma substância muito importante do ponto de vista da pesquisa científica. Suas atividades farmacológicas contra o *Tripanossoma cruzi*, e suas ações anti-inflamatórias, antivirais, antibacterianas e antineoplásicas a distingue de outras naftoquinonas. Devido à sua citotoxicidade, a β -lapachona não pode ser utilizada no tratamento da Doença de Chagas, mas sua estrutura tem servido de inspiração para os químicos medicinais, no desenvolvimento de substâncias mais seletivas contra o *T. cruzi*. No entanto, esta citotoxicidade é importante para o controle da proliferação de diversos tipos de células cancerosas. A β -lapachona é eficaz, *in vitro*, contra linhagens de células humanas malignas de pulmão, mama, colo-retal, próstata, melanoma e

leucemia, e seu uso combinado com outros fármacos, que atuam por diferentes mecanismos de ação, pode ser uma boa alternativa para a quimioterapia e potencialização de radioterapia contra o câncer.

Avanços tecnológicos vêm sendo realizados para veiculação da β -lapachona de forma eficaz e segura, conforme descrito por ALVES 2002; ALVES 2004 e PRESMICH 2009. Com isso, pode-se inferir que num futuro próximo a β -lapachona esteja no mercado farmacêutico devido seu diverso potencial terapêutico.

6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E. R.; LUCENA, F. R. S.; SILVA, C. V. N. S.; COSTA-JÚNIOR, W. S.; CAVALCANTI, J. B.; COUTO, G. B. L.; SILVA, L. L. S.; MOTA, D. L.; SILVEIRA, A. B.; SOUSA FILHO, S. D.; SILVA, A. C. P. Toxicological assessment of beta-lapachone on organs from pregnant and non-pregnant rats. 2008. **Journal Phytotherapy Research**, v. 23, n. 9, p. 1276-1280, 2009.

ALVES, F. C. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas a partir de β -lapachona para utilização em terapias antineoplásicas**. 2002. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

ALVES, G. M. C. **Desenvolvimento de cápsula gelatinosa mole de β -lapachona para terapias antineoplásicas em humanos**. 2004. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

ALVES, G. M. C.; ROLIM, L. A.; ROLIM-NETO, P.J.; LIMA-LEITE, A.C.; BRONDANI, D.J.; MEDEIROS, F.P.M.; BIEBER, L.W.; MENDONÇA-JÚNIOR, F.J.B. Purificação e caracterização da β -lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.2, p. 413-416, 2008.

ALVES, H.M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. Plantas como fonte de fitofármacos, v.3, n. 3, p. 10-15, 2001.

ANTUNES, R.M.P.; LIMA, E.O.; PEREIRA, M.S.V.; CAMARA, C.A.; ARRUDA, T.A.; CATÃO, R.M.R.; BARBOSA, T.P.; NUNES, X.P.; DIAS, C.S.; SILVA, T.M.S. Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v.16, n.4, p. 517-524, 2006.

BALUNAS, M.J.; KINGHORN, A.D. Drug Discovery from Medicinal Plants. **Life Sciences**, v. 78, n.5, p. 431-441, 2005.

BYEON, S.E.; CHUNG, J.Y.; LEE, Y.G.; KIM, B.H.; KIM, K.H.; CHO, J.Y. *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory effects of taheebo, a water extract from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119, p. 145-152, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 48, de 16 de março de 2004, Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2004.

CAVALCANTE, F.A.; SILVA, J.L.V.; CARVALHO, V.M.N.; CAMARA, C.A.; SILVA, T.M.S.; PINTO, A.C.; VARGAS, M.D.; SILVA, B.A. Spasmolytic activity of lapachol and its derivatives, α and β -lapachone, on the guinea-pig ileum involves blockade of voltagegated calcium channels. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v.18, n.2, p. 183-189, 2008.

CORRÊA, G.; VILELA, R.; MENNA-BARRETO, R.F.S.; MIDDLEJ, V.; BENCHIMOL, M. Cell death induction in *Giardia lamblia*: Effect of beta-lapachone and starvation. **Parasitology International**, v.58, p. 424-437, 2009.

CHIANG J. LI; YOU-ZHI LI; ANTONIO VENTURA PINTO; ARTHUR B. PARDEE. Potent inhibition of tumor survival in vivo by b-lapachone plus taxol: Combining drugs imposes different artificial checkpoints. **Medical Sciences**, v. 96, n.23, p. 13369-13374, 1999.

D'ALBUQUERQUE, I. L. Termorreação da 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4 naftoquinona. **Revista do Instituto de Antibiótico**, v.8, n.1/2, p. 73-87. 1968.

DI CHENA, P. H.; BENEDITT-DOCTOROVICH, V.; BAGGIO, R. F.; GARLAND, M. T.; BURTON, G. Preparation and Cytotoxicity toward Cancer Cells of Mono (arylimino) derivatives of β -Lapachone. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, 2486-9, 2001.

DONG-OH, M.; CHOI, Y.H.; KIM, N.D.; PARK, Y.M.; KIM, G.Y. Anti-inflammatory effects of β -lapachone in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. **International Immunopharmacology**, v.7, p. 506-514, 2007.

DONG-OH, M.; CHANG-HEE, K.; MUN-OCK, K.; YOU-JIN, J.; JAE-DONG, L.; YUNG HYUN, C.; GI-YOUNG, K. β -Lapachone (LAPA) Decreases Cell Viability and Telomerase Activity in Leukemia Cells: Suppression of Telomerase Activity by LAPA. **Journal of Medicinal Food**, v.13, n.3, p.481-488, 2010.

FÁVARO, O. C. N.; OLIVEIRA, M. M.; ROSSINI, M. A. A.; KAMAKURA, C. R.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R. Seleção por meio de células KB de substâncias e extratos potencialmente ativos em quimioterapia do câncer. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.62, n.3, p. 217-24. 1990.

FERREIRA, J.G. **Estudo de compostos quinônicos com potencial atividade contra doença de Chagas**. 2008. 97 f. Tese (Doutorado em Ciências Físico-química) – Universidade de São Paulo.

FERREIRA, V.F. **β -Lapachona**. 2010. Disponível em: http://www.portaldosfarmacos.ccs.ufrj.br/resenhas_lapachona.html. Acesso em: 01/08/10.

FERREIRA, S. B.; KAISER, C. R.; FERREIRA, V. F. Organic Preparations and Procedures International. v.3, p.211, 2009.

GUIRAUD P.; STEIMAN, R.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; SEIGLE-MURANDI, F.; BUOCHBERG, M.S. Comparison of Antibacterial and Antifungal Activities of Lapachol and β -Lapachone. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.60, p.373-374, 1994.

HIGA, R.A. **Estudo da ação antineoplásica do ipê roxo na carcinogênese induzida pelo azoximetano em camundongos**. 2007. 51 f. Dissertação (Mestrado em Pós-graduação em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília.

LEE, J.H.; CHEONG, J.; PARK, Y.M.; CHOI, Y.H. Down-regulation of cyclooxygenase-2 and telomerase activity by β -lapachone in human prostate carcinoma cells. **Pharmacological Research**, v.51, p.553–560, 2005.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.50, p 47-60, 2000.

KARL SCHAFFNER-SABBA, KARL H. SCHMIDT-RUPPIN, WALTER WEHRLI, ALFRED R. SCHUERCH, AND JAN W. F. WASLEY. , β -Lapachone: Synthesis of Derivatives and Activities in Tumor Models. **Journal Medicinal Chemistry**, v.27, n.8, p. 990-994, 1984.

KRISHNAN, P.; BASTON, K.F. Novel mechanisms of DNA Topoisomerase II inhibition by pyranophthaquinone derivatives-eleutherin, α -lapachone and β -lapachone. **Biochemical Pharmacology**, v.60, n.9, p.1367-79, 2000.

LIMA, O.G.; ALBUQUERQUE, I.; LIMA, C.G.; MAIA, M.H. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores – Comunicação XX: Atividade antimicrobiana de alguns derivados do lapachol em comparação com a xiloidona, nova orto-naftoquinona natural isolada de extratos do cerne do “Pau d’arco roxo”, *Tabebuia avellanadae* Lor. ex Griseb. **Revista do Instituto de Antibióticos**, Recife/UFPE. 4:3-17, 1962.

LOMBARDINO, J.G.; LOWE, J.A. The role of the medicinal chemist in drug discovery - then and now. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.3, p. 853–862, 2004.

MARUYAMA, K.; NARUTA, Y. Syntheses of α - and β -lapachone and their homologues by way of photochemical side chain introduction to quinine. **Chemistry Letters**, v.13. p. 847-850, 1977.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M. ; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas Mediciniais**, Viçosa: Editora UFV, 2000, p.15-19.

MEDEIROS, C.; OLIVEIRA, P.; LEMOS, S.; BRANDÃO, O.; LEAL, A.; PONTES-FILHO, N.; CAMARA, C.; LIMA-FILHO, V.; NEVES, R. **Atividade antifúngica da betalapachona na criptococose experimental**. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R1423-1.pdf>. Acesso em: 13/07/10.

MEDEIROS, C.; OLIVEIRA, P.; LEMOS, S.; BRANDÃO, O.; LEAL, A.; PONTES-FILHO, N.; CAMARA, C.; LIMA-FILHO, V.; NEVES, R. **Avaliação experimental da toxicidade da β -lapachona**. 2009. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R1423-2.pdf>. Acesso em: 01/08/10.

MENNA-BARRETO, R.F.S.; HENRIQUES-PONS, A.; PINTO, A.V.; MORGADO-DIAZ, J.A.; SOARES, M.J.; DE CASTRO, S.L. Effect of a β -lapachone-derived naphthoimidazole on *Trypanosoma cruzi*: Identification of target organelles. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.56, p.1035-1041, 2005.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products from marine invertebrates and microbes as modulators of antitumor targets. **Current Drug Targets**, v.7, p. 279-304, 2006.

OLIVEIRA, A.B.; RASLAN, D. S.; MIRAGLIA, M. C. M.; MESQUITA, A. A. L.; ZANI, C. L.; FERREIRA, D. T.; MAIA, J. G. S. Estrutura química e atividade biológica de naftoquinonas de Bignoniáceas brasileiras. **Química Nova**, v. 13, n.4, p. 302-307, 1990.

PEREIRA, E.M.; MACHADO, T.B.; LEAL, I.C.R.; JESUS, D.M.; DAMASO, C.R.A.; PINTO, A.V.; DE-MARVAL, M.G.; KUSTER, R.M.; SANTOS, K.R.N. *Tabebuia avellanedae* naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and *in vivo* dermal irritability analysis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v.5, n.5, p.1-7, 2006.

PINTO, A.V.; CASTRO, S.L. The Trypanocidal Activity of Naphthoquinones: A Review. **Molecules**, v.14, p.4570-4590, 2009.

PLANCHON, S.M.; WURZBERGER, S.; FRYDMAN, B.; WITIAK, D.T.; HUTSON, P.; CHURCH, D.R.; WILDING, G.; BOOTHMAN, D.A. β -Lapachone-mediated apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) and human prostate cancer cells: A p53-independent response. **Cancer Research**, v. 55, p. 3706-3711, 1995.

PRESMICH, G.M.A. **Incremento da solubilidade/ dissolução da β -lapachona utilizando tecnologias de dispersões sólidas e complexos de inclusão**. 2009. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

RATES, S.M.K.; Plants as source of drugs. **Toxicon**, v.39, p.603-613, 2001.

SILVA, R.S.F.; COSTA, E.M.; TRINDADE, U.L.T.; TEIXEIRA, D.V.; PINTO, M.C. F. R.; SANTOS, G.L.; MALTA, V.R.S.; SIMONE, C.A.; PINTO, A.V.; CASTRO, S.L. Synthesis of naphthofuranquinones with activity against *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 526-530, 2005.

SILVA, J.L.; MESQUITA, A.R.C.; XIMENES, E.A. *In vitro* synergic effect of β -lapachone and isoniazid on the growth of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium smegmatis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n.4, p. 580-582, 2009.

SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na beta-lapachona e derivados. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 407-416, 2003.

SILVA, R.P. **Estudo da ação da B-Lapachona sobre as Membranas biológicas e artificiais**. 1997. 52 f. Dissertação (Mestrado em Biofísica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **FARMACOGNOSIA: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Editora UFSC, p.133, 2003.

SCHAEFFNER-SABBA, K.; WEHRLI, W.; SCHUERCH, A.R.; WASLEY, J.W.F. β -lapachone: synthesis of derivatives and activities in tumor models. **Journal Medicinal Chemistry**, v.27, n.8, p. 990-994, 1984.

SCHUERCH, A.R.; WEHRLI, W. β -lapachone, an inhibitor of oncornavirus reverse transcriptase and eukaryotic DNA polymerase- α . **European Journal of Biochemistry**, v. 84, n.1, p. 197-205, 1978.

VIANA, L.M.; FREITAS, M.R.; RODRIGUES, S.V.; BAUMANN, W. Extraction of lapachol from *Tabebuia avellanedae* wood with supercritical CO₂: an alternative to Soxhlet extraction? **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.20, n.3, p.317-325, 2003.

WOO, H.J.; PARK, K.Y.; RHU, C.H.; LEE, W.H.; CHOI, B.T.; KIM, G.Y.; PARK, Y.M.; CHOI, Y.H. Beta-lapachone, a quinine isolated from *Tabebuia avellanedae*, induces apoptosis in HepG2 hepatoma cell line through induction of Bax and activation of caspase. **Journal of Medicinal Food**, v. 9, n. 2, p. 161-8, 2006.

Capítulo II

4.1 Artigo II – Caracterização físico-química do fármaco antineoplásico β -lapachona

Artigo submetido à Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada

Qualis Capes para Farmácia: B5

(Anexo A)

Caracterização físico-química do fármaco antineoplásico β -lapachona

José Lourenço de Freitas Neto¹, Geisiane Maria Alves Presmich¹, Larissa Araújo Rolim¹, Lariza Darlene Santos Alves¹, Miracy Muniz de Albuquerque², Pedro José Rolim Neto^{1*}

¹Laboratório de Tecnologia Farmacêutica - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá s/n, Cidade Universitária – CEP 50740-521 - Recife – PE, Brasil.

²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos - Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá s/n, Cidade Universitária – CEP 50740-521 - Recife – PE, Brasil.

*e-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

RESUMO

A β -lapachona é uma substância com importância relevante do ponto de vista científico, tendo em vista os inúmeros estudos farmacológicos relatados na literatura, que comprovam suas atividades antibacteriana, antifúngica, antitripanossômica, antiviral, anti-inflamatória e antineoplásica. Devido a sua potente atividade anticancerígena, este fármaco encontra-se, atualmente, em estudo clínico de fase II para o tratamento de câncer pancreático. O objetivo deste estudo foi determinar as propriedades físico-químicas deste ativo com o emprego de diversas ferramentas analíticas, como, difração de Raios X, infravermelho, análises térmicas, microscopia eletrônica de varredura e ensaio de dissolução. Os resultados obtidos na difração de raios X revelaram o padrão policristalino do fármaco; o infravermelho identificou os principais grupos funcionais da β -lapachona; os dados das análises térmicas apresentaram características de um produto cristalino e de alta pureza; a eletromicrografia demonstrou sua forma cristalina, como cristais acidulares bem definidos de tamanho regular, corroborando com os dados do difratograma. No estudo de dissolução comprovamos que a β -lapachona é praticamente insolúvel em água, sendo necessário o desenvolvimento de estratégias tecnológicas destinadas a melhorar a sua solubilidade em meio aquoso. Dessa forma, a determinação das principais características físico-químicas da β -lapachona será extremamente útil na identificação de problemas que possam vir a surgir durante a formulação e auxiliará no desenvolvimento de formas farmacêuticas mais eficazes e com qualidade.

Palavras-chave: β -lapachona, caracterização físico-química e antineoplásico

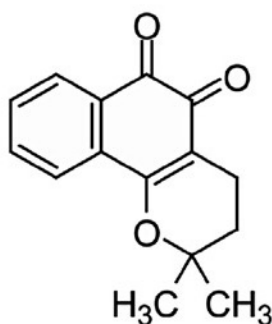
INTRODUÇÃO

Antes do desenvolvimento de uma forma farmacêutica é essencial que certas propriedades físicas e químicas fundamentais do fármaco sejam elucidadas, pois estas informações são de extrema importância para o delineamento racional das etapas envolvidas no desenvolvimento de uma formulação. Assim, os conhecimentos prévios das características físico-químicas do princípio ativo são determinantes para garantir a qualidade de uma formulação farmacêutica (AULTON, 2005).

A caracterização físico-química de um fármaco tem duas finalidades: a identificação e a avaliação da pureza do material a ser analisado. Estas informações quando não presentes em compêndios oficiais, permitem criar a sua carta de identidade, possibilitando sua padronização e avaliação de sua pureza, essenciais para o desenvolvimento de estudos de pré-formulação. Diversas ferramentas analíticas são utilizadas para caracterizar um fármaco, entre as quais, podemos citar difração de raios X, técnica espectroscópica vibracional no infravermelho, análises térmicas - calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise térmica diferencial (DTA), termogravimetria (TG), microscopia eletrônica de varredura, avaliação do perfil de dissolução, dentre outras.

A β -lapachona, conhecida quimicamente como 3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-naftol[1,2-b] pirano-5,6-diano (Figura 1), é uma ortonaftoquina com significado potencial terapêutico de ocorrência natural, isolada do ipê roxo, ou pau d'arco roxo (*Tabebuia avellanedae* Lor), da família Bignoneaceae (DO CAMPO et al., 1977).

Figura 1- Estrutura química da β -lapachona.



Nos últimos anos, a β -lapachona vêm sendo exaustivamente estudada devido ao seu excelente potencial terapêutico frente a algumas doenças. Inúmeros estudos publicados na literatura comprovam as suas atividades antibacteriana (PEREIRA et al., 2006), antifúngica (MEDEIROS et al., 2010), antitripanossômica (FERREIRA et al., 2008) antiviral (FÁVARO

et al., 1990), anti-inflamatória (MOON et al., 2007), e particularmente a anticancerígena (OUGH et al., 2005), seu principal alvo terapêutico. Com relação a esta última ação, a β -lapachona exibe *in vitro* variados tipos de atividades contra diferentes linhagens de células, principalmente células malignas humanas dos cânceres de melanoma, leucemias, pâncreas, pulmão, mama e próstata (OUGH et al., 2005; BENTLE et al., 2006; PINK et al., 2000; BEY et al., 2007).

Devido a sua importância farmacológica e presença de estudos clínicos de fase II para o tratamento do câncer no pâncreas, é de extrema relevância o conhecimento de suas características físico-químicas, visto que, este aspecto está intimamente relacionado à possibilidade de veiculação da β -lapachona em uma forma farmacêutica com eficácia terapêutica (OUGH et al., 2005). Essa caracterização é ainda mais importante quando se leva em consideração a sua solubilidade aquosa, que se apresenta como um fator determinante, já que segundo o sistema de classificação biofarmacêutica, a β -lapachona é classificada como classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade). Dessa forma, apresenta-se como um fármaco fracamente solúvel em água e fluidos aquosos, levando a uma absorção limitada devido à baixa velocidade de dissolução (CUNHA-FILHO et al., 2007).

Diante disso, baseando-se no contexto apresentado e na ausência da monografia da β -lapachona em compêndios oficiais, este estudo pretende caracterizar a β -lapachona, quanto à avaliação das propriedades físico-química.

MATERIAIS E MÉTODOS

A β -lapachona matéria-prima, lote 103, foi semi-sintetizada e doada pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

Difração de raios X

O difratograma foi obtido no difratômetro SIEMENS[®] (X-Ray Diffractometer, D-5000), equipado com anodo de cobre. A amostra foi analisada no intervalo de ângulo 2θ de 5-50°.

Infravermelho por Transformada de Fourier (IV-TF)

O espectro de absorção na região do infravermelho médio foi obtido utilizando o equipamento PerkinElmer[®] (Spectrum 400) com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de selênio. A análise foi realizada com 16 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹ na região compreendida entre 4000 a 650 cm⁻¹.

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A curva de DSC da β -lapachona foi obtida em Calorímetro de Varredura Shimadzu[®] DSC-60 interligado ao software Shimadzu[®] TA-60WS (Kyoto, Japão) com atmosfera de

nitrogênio de 50 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, numa faixa de temperatura de 25 a 350°C. A amostra foi colocada em cadinho de alumínio hermeticamente fechado com massa de 2 mg ± 0.2. Utilizou-se Índio (99.98%, mp 156.65°C, Aldrich®, Milwaukee, USA) para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia. Para determinar a pureza da β-lapachona foram realizadas três análises utilizando as mesmas condições acima, na faixa de 25 a 180°C e razão de aquecimento de 2°C.min⁻¹.

Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas TG, DTG e DTA da β-lapachona foram obtidas mediante a termobalança modelo DTG-60H Shimadzu®, na faixa de temperatura entre 30 e 600°C, sob atmosfera dinâmica de N₂ a um fluxo de 50 mL.min⁻¹, numa razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, utilizando cadinho de platina e massa da amostra de 5 mg ± 0.2.

O estudo cinético não-isotérmico da decomposição térmica da β-lapachona foi realizado sob as mesmas condições apresentadas anteriormente, mas em diferentes razões de aquecimento (β) 2.5°C, 5.0°C, 7.5°C e 10.0°C. A seleção do modelo cinético para o cálculo da energia de ativação (E_a), constante de velocidade (k) e ordem da reação, foi realizado por simulação computacional utilizando o método de OZAWA do TA-60H.

A termobalança foi previamente calibrada com uma amostra de oxalato de cálcio monohidratado (Merck®) com pureza de 99.999%.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A amostra de β-lapachona foi montada em *stub*, fixada em fita dupla face de carbono e metalizada com ouro por 5 min (Metalizador Desk II/Denton Vacuum®). A morfologia da amostra foi verificada em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol® 5600 LV, onde foi obtida a eletromicrografia em uma câmara com tensão de excitação de 10KV com fatores de aumento de 20x.

Ensaio de Dissolução

A cinética de liberação da β-lapachona foi avaliada pelo perfil de dissolução *in vitro*, realizado segundo as especificações do Food and Drug Administration (FDA, 1997) para fármacos pouco solúveis em água, de acordo com o método preconizado pela Farmacopéia Americana. Tal estudo foi realizado em dissolutor Varian® VK 7010 (*UNITED STATES PHARMACOPEIA*, 2010).

O ensaio foi realizado a 37 ± 0.5°C, utilizando 900 mL da água purificada como meio de dissolução com aparato 2 (pá) e velocidade de rotação de 75 rpm. Além deste, foi realizado outro ensaio nas mesmas condições com acréscimo de 1 % de lauril sulfato de sódio (LSS) ao meio de dissolução.

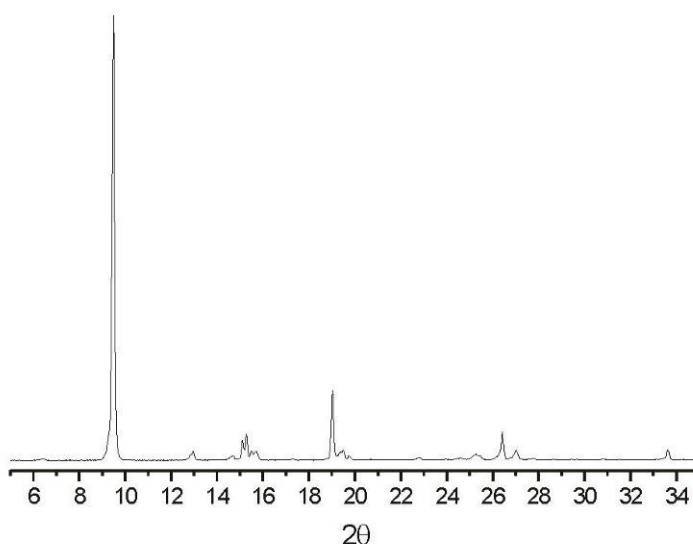
Com a finalidade de manter as condições *sink*, foram usadas amostras de 25 mg de β -lapachona. Em intervalos de tempo predefinidos de 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 e 120 min as amostras foram coletadas, filtradas em membranas de 0.45 μm e posteriormente diluídas para quantificação de β -lapachona dissolvida por espectrofotometria no UV a 256 nm utilizando metodologia validada (Espectrômetro Varian®, Unity plus-300MHz) (PRESMICH, 2009). Os ensaios foram efetuados em quadruplicata, com reposição do meio. Os perfis de dissolução foram avaliados e comparados em relação à percentagem de fármaco dissolvido em 60, 90 e 120 min ($Q_{60\text{min}}$, $Q_{90\text{min}}$ e $Q_{120\text{min}}$).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Difração de Raios X

O perfil difratográfico da β -lapachona apresenta uma série de picos de difração intensos e bem definidos, revelando o típico padrão de um produto policristalino com pico principal de $9,5^\circ$ (2θ) e picos secundários em 12.95, 16.30, 19.03, 26.40 e 34.98° (2θ) (Figura 2).

Figura 2- Difração de raio-X da β -lapachona.



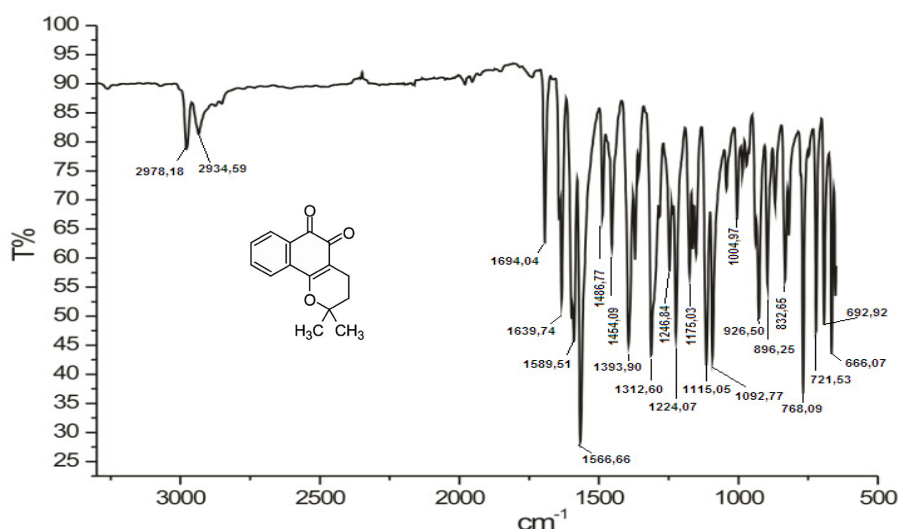
Levando-se em consideração o estado cristalino desse fármaco, pode-se determinar que esta característica influencie diretamente o seu perfil de dissolução e, conseqüentemente, a sua biodisponibilidade. Isso porque o seu arranjo cristalino diminui a superfície de contato do fármaco, o que poderá vir a reduzir a sua solubilidade (BRANDÃO et al., 2008).

Infravermelho por Transformada de Fourier (IV-TF)

A espectroscopia de infravermelho constitui hoje uma das principais ferramentas analíticas para identificação e elucidação estruturais de substâncias orgânicas. Na área farmacêutica, suas principais aplicações encontram-se no controle de qualidade de matérias primas e excipientes, caracterização de fármacos, identificação de polimorfismos, entre outras. Além disso, constitui uma técnica valiosa para a identificação de grupos funcionais das estruturas analisadas (BURNS et al., 2001).

O espectro de absorção da β -lapachona na região do infravermelho médio (FTIR-MID), representado na figura 3, foi registrado no intervalo de 4000 a 450 cm^{-1} . A presença das bandas de absorção de média intensidade em 2978 e 2934 são características das deformações axiais assimétricas e simétricas, respectivamente, da ligação C(sp³)-H da metila. A região entre 2000 e 1800 cm^{-1} correspondem às bandas fracas de combinação e de harmônicas, características das estruturas aromáticas. As bandas em 1589 e 1566 cm^{-1} correspondem às vibrações C=C do anel aromático. A presença da banda de forte intensidade na região de 1694 cm^{-1} refere-se à vibração do estiramento da carbonila. Já a ligação C-O-C apresenta bandas de deformação axial assimétrica e simétrica, respectivamente, nas regiões de 1115 e 1092 cm^{-1} . Os dados espectrais observados no espectro FTIR-MID são concordantes com os descritos na literatura (ALVES et al., 2008).

Figura 3- Espectrograma da β -lapachona no FTIR-MID.

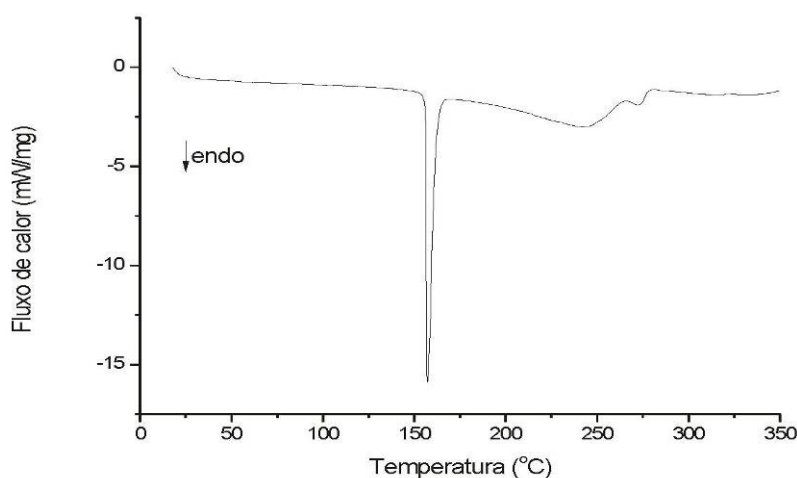


Além de ser considerada uma identificação importante na caracterização de ativos e excipientes, esta técnica é vastamente utilizada na verificação da formação de complexos de inclusão utilizando ciclodextrinas com fármacos hidrofóbicos (LYRA et al., 2010).

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A curva DSC da β -lapachona isolada apresentou características típicas de um produto anidro no estado cristalino com alto grau de pureza. Observa-se um pico endotérmico característico do processo de fusão do fármaco, numa faixa de 154,0 a 156,0 °C, com temperatura *end set* de 156,46°C e elevada energia envolvida no processo ($\Delta H = 91,01$ J/g) (Figura 4).

Figura 4- DSC da β -lapachona na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹.



Ao analisar a curva de DSC, observa-se que há dois processos endotérmicos, posteriores a fusão, correspondente a degradação do fármaco. Esse fenômeno foi confirmado a partir da curva termogravimétrica, onde foi detectada uma perda de massa de 64,9 %.

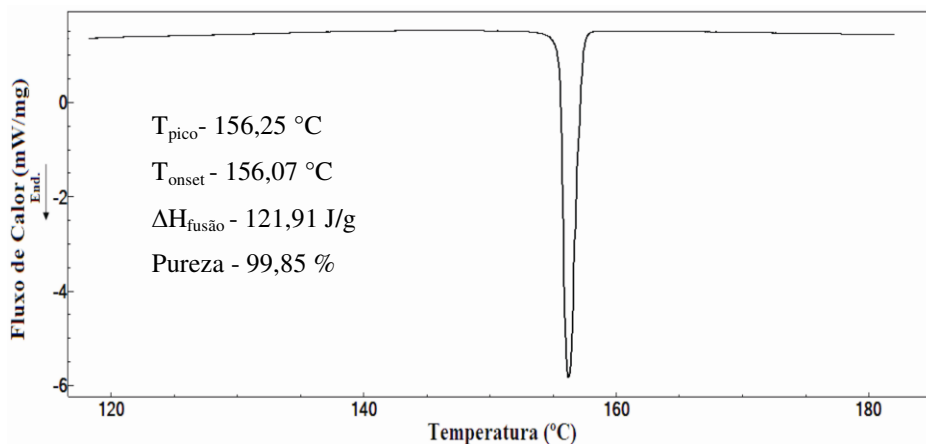
Um outra aplicabilidade do DSC é a determinação da pureza. Esta técnica vem sendo bastante utilizada para materiais farmacêuticos e apresenta como vantagens, rapidez, exatidão, precisão e facilidade de execução, sem a necessidade de utilizar padrões certificados (STORPIRTIS et al, 2009).

A avaliação da pureza de um fármaco vem sendo bastante empregada através da aplicação da equação de Van't Hoff, na qual é possível determinar a fração molar de impurezas contidas no material. A determinação da pureza por DSC pode ser explicada pela teoria da não linearidade, ou seja, a área onde normalmente é iniciado o evento decorrente da fusão das impurezas, justificando o processo não linear (RODRIGUES et al., 2005).

A figura 5 apresenta a curva DSC, em que se determina a porcentagem de pureza da β -lapachona, numa razão de aquecimento de 2,0 °C.min⁻¹. Baseando-se nesta curva, pode-se inferir que a faixa de fusão da β -lapachona tem início em 156,07 °C, com consumo de energia

de 121,91 J/g. A pureza deste fármaco foi calculada através da equação de Van't Hoff do evento de fusão, realizada em triplicata. O lote sintetizado pelo Departamento de Antibióticos da UFPE apresentou elevada pureza, estimada em torno de $99,85\% \pm 0,05\%$.

Figura 5- Curva DSC da β -lapachona obtida a $2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e sob atmosfera de N_2 ($50\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$).



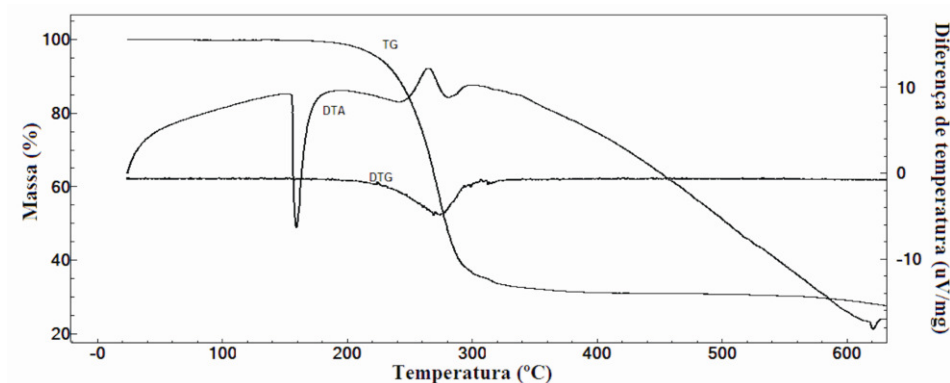
A determinação da pureza da β -lapachona representa grande importância do ponto de vista toxicológico, pois as impurezas provenientes da sua síntese não são investigadas quanto a sua toxicidade.

Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial

O fármaco β -lapachona foi submetido a um programa de temperatura na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até a temperatura de $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ na atmosfera de nitrogênio, a fim de se verificar o comportamento de perda de massa e diferença de temperatura despreendida.

As curvas TG e DTA da β -lapachona em atmosfera de nitrogênio podem ser vistas na figura 6. A curva termogravimétrica da β -lapachona indica que a forma cristalina deste fármaco foi termicamente estável até $186,4^{\circ}\text{C}$ e o processo de decomposição térmica ocorreu em um único evento. O perfil de perda de massa ocorreu entre $186,4$ e $328,7^{\circ}\text{C}$, com perda de $64,9\%$ da substância. Na curva DTA do fármaco, foram observados dois eventos térmicos. No primeiro evento, observa-se um pico endotérmico em $156,9\text{ }^{\circ}\text{C}$, com ΔT ($156,4 - 159,3^{\circ}\text{C}$) e energia despreendida de ΔH $138,6\text{ J/g}$, que corresponde ao processo de fusão do composto, confirmando a sua estrutura cristalina, pois este evento é característico de compostos com arranjo estrutural organizado. Já o segundo, apresentou um pico exotérmico em $256,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, com ΔT ($244,8 - 281,7^{\circ}\text{C}$) e ΔH $69,4\text{ J/g}$, referente à decomposição do fármaco, concordante com a perda de massa observada pela curva TG.

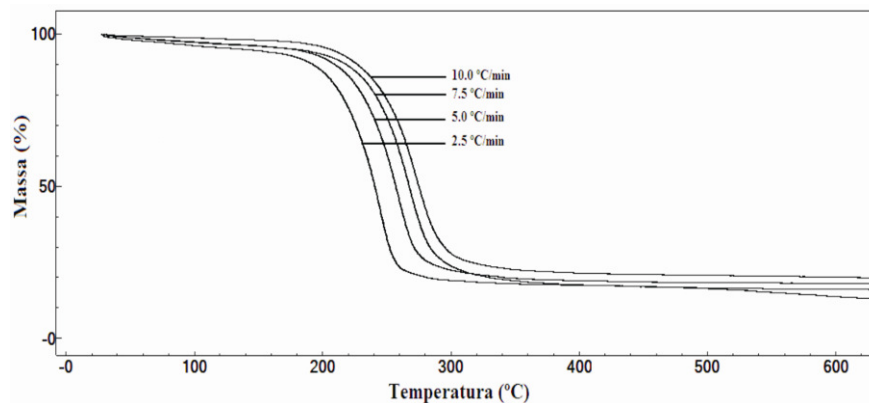
Figura 6- Curvas TG, DTG e DTA da β -lapachona.



Estudo cinético de Decomposição da β -lapachona

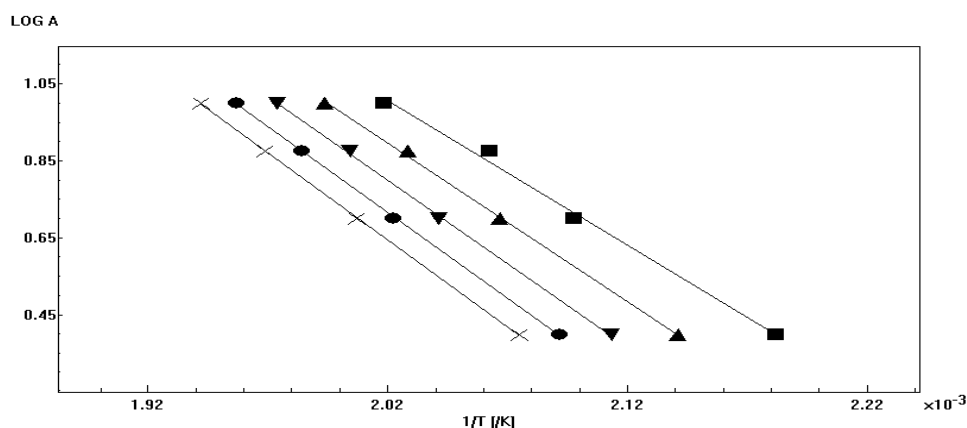
Há na literatura inúmeros estudos cinéticos baseados em termogravimetria (TG) com o intuito de elucidar mecanismos de reação no estado sólido, como: decomposição térmica, oxidação, cristalização (RODRIGUES et al., 2005). Uma das técnicas empregadas é o método não-isotérmico, que é muito utilizado para determinar a energia de ativação e a ordem da reação de decomposição no estado sólido. A sobreposição das curvas TG da β -lapachona sob diferentes razões de aquecimento ($2.5/5.0/7.5/10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$) são mostradas na figura 7. Os resultados demonstram que o início da decomposição da β -lapachona é deslocado para uma maior temperatura à medida que se aumenta a razão de aquecimento. Após a obtenção das curvas TG, foi aplicado o método de OZAWA, para a determinação da energia de ativação (E_a) no início do primeiro evento de perda de massa, que corresponde à etapa de decomposição térmica na faixa de $186,4$ a $328,7^{\circ}\text{C}$.

Figura 7- Curvas TG da β -lapachona obtidas em diferentes razões de aquecimento ($2.5/ 5.0/ 7.5/10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$).



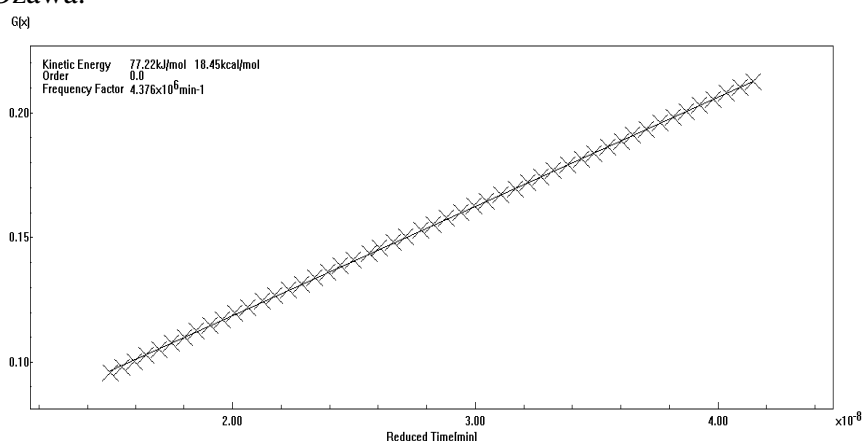
No método de OZAWA, a energia de ativação é obtida a partir da plotagem do logaritmo A das diferentes razões de aquecimento, em função do inverso da temperatura ($1/T$), onde a inclinação da reta determinará o valor da energia de ativação (Figura 8).

Figura 8- Gráfico do método de ozawa para determinação da E_a da decomposição térmica da β -lapachona.



A figura 9 corresponde ao gráfico da função $G(X)$ do inverso da temperatura em função do tempo, demonstrando uma boa correlação nas quatro razões de aquecimento das curvas TG da β -lapachona. Ao analisar a figura, observa-se que a primeira etapa de decomposição da β -lapachona teve uma energia de ativação de 77,22 kJ/mol, com ordem da reação zero e fator de frequência de $4,376 \times 10^6 \text{ min}^{-1}$.

Figura 9- Parâmetros cinéticos da decomposição térmica da β -lapachona de acordo com o método de Ozawa.



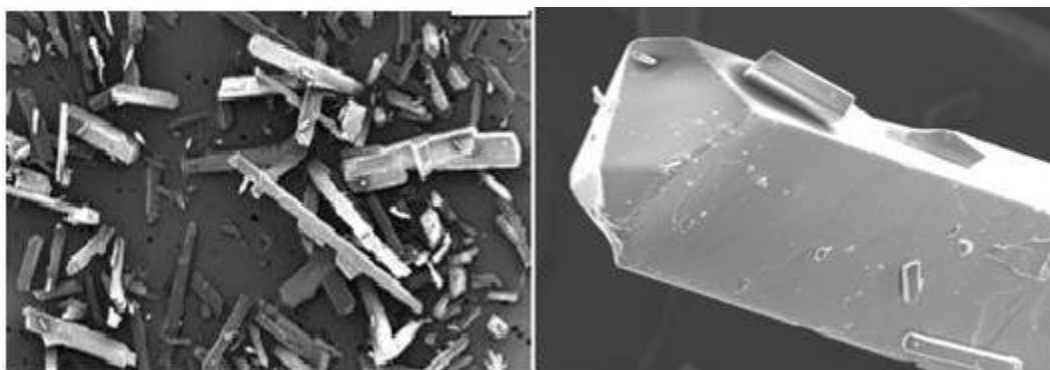
Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O uso desta técnica vem se tornando mais freqüente, na aplicação farmacêutica, por fornecer informações detalhada, com aumentos de até 300.000 vezes, do arranjo estrutural do

fármaco. O conhecimento detalhado da microestrutura dos materiais permite o entendimento e, em muitos casos, até a previsão das propriedades e do comportamento dos mesmos.¹⁸

A eletromicrografia obtida da β -lapachona demonstra sua forma cristalina, visível macroscopicamente, como cristais aciculares bem definidos de tamanho regular (Figura 10), confirmando os resultados obtidos com a difração de Raio X e DSC. Além disso, o aspecto cristalino observado contribui na compreensão dos resultados dos estudos de dissolução, já que a cristalinidade e o tamanho de partícula estão diretamente relacionados ao perfil de dissolução e solubilização apresentada pelo fármaco.

Figura 10- Detalhe morfológico das partículas cristalinas da β -lapachona com um aumento de 20 e 270 vezes, respectivamente.



Ensaio de dissolução

Substâncias cristalinas, como a β -lapachona, nas quais apresentam suas moléculas dispostas em um arranjo cristalino definido, são caracterizadas por propriedades peculiares no que diz respeito a sua solubilização, sendo possível correlacionar a estrutura do retículo cristalino com o ponto de fusão e a velocidade de dissolução (AULTON, 2005).

Para os perfis de dissolução da β -lapachona obtidos, observa-se que há um leve incremento do teor dissolvido do fármaco em água e em solução com LSS 1%, que pode ser explicado com base na redução tensão interfacial e molhabilidade entre a β -lapachona e o meio de dissolução, proporcionado pela característica surfactante do LSS (Tabela 2). Para estudos de dissolução, o uso do LSS é justificado, pois para fármacos da classe II, como β -lapachona, recomenda-se o uso de surfactantes com o objetivo de atingir a condição *sink* (FDA, 1997). Contudo, a escolha do meio deve ser realizada de forma criteriosa, já que a alguns meios propostos são claramente não fisiológicos, o que pode ser aceitável para controle de qualidade, mas não quando se deseja fazer alguma inferência sobre o comportamento *in vivo*.

Tabela 1- Percentagem de β -lapachona dissolvido após 60, 90 e 120 minutos.

Forma estrutural/Meio de dissolução	Q60min	Q90min	Q120min
cristal/água purificada	4,94 $\pm$ 6,54	5,88 $\pm$ 8,41	7,21 $\pm$ 6,41
cristal/LSS 1 %	8,81 $\pm$ 8,85	9,3 $\pm$ 9,67	9,88 $\pm$ 5,10

Levando-se em consideração a percentagem dissolvida do fármaco, observamos que o mesmo apresenta-se como insolúvel em meio aquoso, sendo esta característica intrínseca da molécula a qual é determinada de acordo com sua forma no estado sólido. Para fármacos com alta faixa de fusão, como a β -lapachona, o processo de dissolução requer um grande consumo de energia para a remoção das suas moléculas, devido à presença de um retículo cristalino rígido. Logo, a solubilidade e conseqüentemente a dissolução do fármaco, torna esse aspecto extremamente crítico, já que a dissolução nos fluidos gastrintestinais é um pré-requisito para que ocorra a absorção e distribuição do fármaco na circulação sistêmica, influenciando diretamente sua ação terapêutica.

Assim, a avaliação do perfil de dissolução da matéria prima a ser utilizada na manipulação de produtos farmacêuticos, tem papel fundamental na garantia de qualidade do produto final devendo, portanto, ser realizada adequadamente, durante o processo de controle de qualidade (STEGEMANN et al., 2007).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados, pode-se observar através do estudo de dissolução, que será necessária a implantação de tecnologias farmacêuticas, como a formação de complexo de inclusão, na tentativa de aumentar a sua velocidade de dissolução e percentual de princípio ativo solubilizado, tendo em vista que a β -lapachona apresenta uma estrutura cristalina rígida, que corrobora para a sua baixa solubilidade em água. Este arranjo estrutural foi comprovado através das análises de MEV e difração de raios-X. Paralelamente, a análise térmica por DSC e o infravermelho comprovam a pureza do fármaco, requerida para a obtenção de uma forma farmacêutica com altos padrões de qualidade.

AGRADECIMENTOS

À UFPE, CAPES e CNPq

REFERÊNCIAS

- ALVES, G.M.C.; ROLIM, L.A.; ROLIM-NETO, P.J.; LEITE, A.C.L.; BRONDANI, D.J.; MEDEIROS, F.P.M.; BIEBER, L.W.; MENDONÇA-JUNIOR, F.J.B. Purificação e caracterização da β -lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Quim Nova**, v.31, n.2, p. 413-6, 2008.
- AULTON, M.E. **Pré-formulação farmacêutica. Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- BENTLE, M.S.; BEY, E.A.; DONG, Y.; REINICKE, K.E.; BOOTHMAN, D.A. New tricks for old drugs: the anticarcinogenic potential of DNA repair inhibitors. **Journal of Molecular Histology** 2006; 37(5-7): 203-18.
- BEY, E.A.; et al. An NQ01-and PARP-1-mediated cell death pathway induced in non-small-cell lung cancer cells by β -lapachone. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 28, p. 11832-7, 2007.
- BRANDÃO, F.C.; TAGIARI, M.P.; SILVA, M.A.S.; BERTI, L.F.; STULZER, H.K. Structure of chemical compounds, methods of analysis and process control. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v.42, n.6, p.368-76, 2008.
- BURNS DA, CIURCZAK EW. **Handbook of near-infrared analysis**. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker; 2001.
- CUNHA-FILHO, M.S.S.; DACUNHA-MARINHO, B.; TORRES-LABANDEIRA, J.J.; MARTINEZ-PACHECO, R.; LANDÍN, M. Characterization of β -Lapachone and Methylated β -Cyclodextrin Solid-state Systems. **AAPS PharmSciTech**, v.8, n.3, p.E1-10, 2007.
- DO CAMPO, R.; LOPES, J.N.; CRUZ, F.S.; SOUZA, W. *Trypanosoma cruzi*: ultrastructural and metabolic alterations of epimastigotes by beta-lapachone. **Experimental Parasitology**, v.42, n.1, p.142-9, 1977..
- FÁVARO, O.C.N.; OLIVEIRA, M.M.; ROSSINI, M.A.A.; KAMAKURA, C.R.; PINTO, A.V.; PINTO, M.C.F.R. Seleção por meio de células KB de substâncias e extratos potencialmente ativos em quimioterapia do câncer. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.62, n.3, p.217-24, 1990.
- FDA (1997) “**Guidance for Industry Dissolution Testing of Intermediate Release Solid Oral Dosage Forms**”, US Department of Health and Human Services.
- FERREIRA, J.G. **Estudo de compostos quinônicos com potencial atividade contra doença de Chagas**. 2008. 88 f. Tese (Doutorado em Ciências Físico-Química). Universidade de São Paulo, São Carlos.
- LYRA, M.A.M.; ALVES, L.S.D.; FONTES, D.A.F.; SOARES-SOBRINHO, J.L.; ROLIM-NETO, P.J. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 31, n.2, p.117-24, 2010.

MEDEIROS, C.S.; PONTES-FILHO, N.T.; CAMARA, C.A.; LIMA-FILHO, J.V.; OLIVEIRA, P.C.; LEMOS, S.A.; LEAL, A.F.G.; BRANDÃO, J.O.C.; NEVES, R.P. Antifungal activity of the naphthoquinone beta-lapachone against disseminated infection with *Cryptococcus neoformans* in dexamethasone-immunosuppressed Swiss mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.43, n.4, p.345-9, 2010.

MOON, D.O.; CHOI, Y.H.; KIM, N.D.; PARK, Y.M.; KIM, G.Y. Anti-inflammatory effects of beta-lapachone in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. **International immunopharmacology**, v.7, n.4, p.506-14, 2007.

OUGH, M.; LEWIS, A.; BEY, E.A.; GAO, J.; RITCHIE, J.M.; BORNMANN, W.; BOOTHMAN, D.A.; OBERLEY, L.W.; CULLEN, J.J. Efficacy of beta-lapachone in pancreatic cancer treatment: exploiting the novel, therapeutic target NQO1. **Cancer Biology Therapy**, v.4, n.1, p.95-102, 2005.

PEREIRA, E.M.; MACHADO, T.B.; LEAL, I.C.R.; JESUS, D.M.; DAMASO, C.R.A.; PINTO, A.V.; DE-MARVAL, M.G.; KUSTER, R.M.; SANTOS, K.R.N. *Tabebuia avellanedae* naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and *in vivo* dermal irritability analysis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v.5, n.5, p.1-7, 2006.

PINK, J.J.; WUERZBERGER-DAVIS, S.; TAGLIARINO, C.; PLANCHON, S.M.; YANG, X.; FROELICH, C.J.; BOOTHMAN, D.A. Activation of cysteine protease in MCF-7 and T47D breast cancer cells during β -lapachone mediated apoptosis. **Experimental Cell Research**, v.255, n.2, p.144-55, 2000.

PRESMICH, G.M.A. **Incremento da solubilidade/dissolução da β -lapachona utilizando tecnologias de dispersões sólidas e complexo de inclusão**. 2009. 160 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

RIBEIRO, A.; FIGUEIRAS, A.; SANTOS, D.; VEIGA, F. Preparation and Solid-State Characterization of Inclusion Complexes Formed Between Miconazole and Methyl- β -Cyclodextrin. **AAPS PharmSciTech**, v.9, n.4, p.1102-9, 2008.

RODRIGUES, P.O.; CARDOSO, T.F.M.; SILVA, M.A.S.; MATOS, J.R. Aplicação de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização, Determinação da Pureza e Cinética de Degradação da Zidovudina (AZT). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.24, n.3, p.383-7, 2005.

STEGEMANN, S.; LEVEILLER, F.; FRANCHI, D.; JONG, H.; LINDEN, H. When poor solubility becomes an issue: from early stage to proof of concept. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.31, n.5, p. 249-61, 2007.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. **Biofarmacotécnica**, 1ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara; 2009.

UNITED STATES PHARMACOPEIA, 33th ed., **United States Pharmacopeial Convention**: Rockville, 2010.

Capítulo III

5.1 Artigo III – Desenvolvimento e caracterização físico-química dos complexos de inclusão obtidos com β -lapachona e β -ciclodextrina natural e quimicamente modificadas.

Artigo a ser submetido ao Journal AAPS PharmSciTech

Qualis Capes para Farmácia: B1

Desenvolvimento e caracterização físico-química dos complexos de inclusão obtidos com β -lapachona e β -ciclodextrina natural e quimicamente modificada

José Lourenço de Freitas Neto¹, Geisiane Maria Alves Presmich¹, Larissa Araújo Rolim¹, Miracy Muniz de Albuquerque¹, Pedro José Rolim Neto^{1*}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá s/n, Cidade Universitária – CEP 50740-521 - Recife – PE, Brasil.

²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos - Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá s/n, Cidade Universitária – CEP 50740-521 - Recife – PE, Brasil.

*e-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização das propriedades físico-químicas de complexos de inclusão de β -lapachona com as ciclodextrinas β CD, HP β CD e M β CD no estado sólido. Os complexos de inclusão foram preparados pelas técnicas de malaxagem, co-evaporação e secagem por atomização, utilizando uma estequiometria de 1:1 (mol:mol) definida no ensaio de solubilidade de fases realizado em água purificada. Uma mistura física na mesma proporção estequiométrica foi obtida para a avaliação das interações ocorridas entre a β -lapachona e as ciclodextrinas em um estudo comparativo. Foi comprovada através das análises de caracterização físico-química, a perda da forma cristalina da β -lapachona nos complexos obtidos por secagem por pulverização com todas as ciclodextrinas estudadas, além dos complexos co-evaporados com HP β CD e M β CD. O incremento no teor dissolvido de β -lapachona mais acentuado foi observado no composto obtido por secagem por atomização com HP β CD, atingindo praticamente 100% de teor dissolvido após o término do ensaio realizado.

Palavras-Chave: β -lapachona; Complexo de Inclusão; β -ciclodextrina; Hidroxipropil- β -ciclodextrina, Metil- β -ciclodextrina.

INTRODUÇÃO

A β -lapachona ($C_{15}H_{14}O_3$, MM 242,3) é uma ortonaftoquinona, obtida com pequeno rendimento dos extratos alcoólicos e acetônicos da *Tabebuia avellanedae* Lor, popularmente conhecida como ipê roxo. Outra via de obtenção mais eficaz por obter um maior rendimento é sua semi-síntese a partir da hidrólise ácida do seu isômero lapachol, encontrado de forma mais abundante na natureza (OLIVEIRA et al., 1990; CARVALHO et al., 2002).

Através de pesquisas *in vitro* e *in vivo* foi comprovado que a β -lapachona apresenta diversas propriedades farmacológicas como antiinflamatória, antiviral, antiparasitária, antifúngica e em particular um excelente potencial antineoplásico. A maioria destas atividades está ligada à capacidade de formação de espécies reativas de oxigênio (PARDEE et al., 2002). Diferentes estudos em ratos albinos, camundongos e culturas de células comprovam a excelente atividade antineoplásica da β -lapachona, principalmente para as linhagens de câncer refratárias aos tratamentos convencionais, como o câncer de próstata, mama, ovário, leucemias e colón agindo por um mecanismo diferente dos apresentados por drogas antineoplásicas utilizadas em esquemas terapêuticos atuais (LI et al., 1999; FÁVARO et al., 1990).

O primeiro alvo intracelular da β -lapachona em células tumorais definido foi devido a sua bioativação pela expressão da enzima NAD(H):quinonaoxidoreductase (NQO1), que atua ativando a cisteína protease. Sabe-se que ela inibe a transcriptase reversa e a DNA topoisomerase I e II impedindo a replicação de células cancerosas e que induz a apoptose por um mecanismo particular, independente da expressão das proteínas p53, p21 e bcl-2. Esta inibição provavelmente é mediada por uma interação direta de β -lapachona com a DNA topoisomerase no lugar da estabilização de um complexo (BOOTHMAN et al., 1989; PINK et al., 2000).

Apesar de todas as comprovações de seu excelente potencial antineoplásico, através dos estudos já divulgados, a natureza lipofílica da β -lapachona é responsável por sua baixa solubilidade na água e compostos polares, tornando-se facilmente solúvel em compostos apolares e oleosos, característica que dificulta o desenvolvimento farmacotécnico industrial (ALVES et al., 2008). Com o intuito de melhorar o teor de dissolução da β -lapachona o presente trabalho vem mostrar o desenvolvimento de complexos de inclusão com ciclodextrinas.

As Ciclodextrinas são moléculas hospedeiras típicas obtidas da hidrólise enzimática do amido que resulta em oligossacarídeos cíclicos constituídos por várias unidades de α -D-

glicopirranose (glicose) unidas por ligações α -(1,4) (SZEJTLI, 1988). Devido à ausência de rotação livre das ligações glicosídicas por causa da conformação em cadeia das unidades de glicose, as ciclodextrinas apresentam uma forma peculiar tronco-cônica formando um microambiente heterogêneo com características hidrófilas em sua superfície externa e cavidade central hidrófoba, decorrente da densidade eletrônica relativamente elevada. Esta estrutura molecular permite a inclusão completa ou parcial de fármacos apolares, designados de moléculas hóspedes, em sua cavidade central, com formação de complexos de inclusão fármaco/ciclodextrina, sem o estabelecimento de ligações covalentes, que originam determinadas modificações nas propriedades físicas, químicas e biológicas da molécula incluída, melhorando a dissolução em meio aquoso de compostos de baixa solubilidade (LOFTSSON et al., 1997).

Para a obtenção dos complexos de inclusão com a β -lapachona as ciclodextrinas utilizadas neste trabalho foram β -ciclodextrina (β CD), 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) e a 2-O-metil- β -ciclodextrina (M β CD) por diferentes técnicas de obtenção.

MATERIAIS E MÉTODOS

Substâncias e Reagentes

As ciclodextrinas β -ciclodextrina (β CD; Kleptose[®], MM = 1135), 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD; Kleptose[®]HP, MM = 1390) e 2-O-Metil- β -ciclodextrina (M β CD; CRYSMEB[®], MM = 1190 e DS = 0,5) foram gentilmente doadas pela Roquette[®] (Lestrem, França). A β -lapachona (β -lap; lote: 103; MM = 242,3) utilizada foi produzida pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE, Pernambuco, Brasil). Como solventes foram utilizados álcool etílico absoluto da Merck[®] (Portugal) e água purificada pelo sistema de osmose reversa. Todos os reagentes (produtos químicos e solventes) foram de qualidade analítica.

Determinação da constante de estabilidade aparente (Ks)

O estudo de solubilidade de fases para a determinação da constante de estabilidade aparente e estequiometria ideal de complexação da β -lap com cada ciclodextrina foi realizado de acordo com o método de Higuchi e Connors (HIGUCHI et al., 1965).

Um excesso de β -lap (aproximadamente 20 mM) foi adicionado em soluções aquosas contendo concentrações crescentes das ciclodextrinas (β CD 0 a 24 mM; HP β CD 0 a 200 mM e M β CD 0 a 50 mM). As suspensões obtidas foram submetidas à agitação constante em

agitador oscilante, protegidas da luz, à 25°C durante 14 dias, com posterior repouso de 24 h para que fosse estabelecido o equilíbrio dinâmico. As amostras foram filtradas através de filtros de nylon 0,45 µm (Millipore® HA) e volumetricamente diluídas. A quantificação foi feita por espectrofotometria de ultravioleta com comprimento de onda de 256 nm e sistema de solventes álcool etílico:água purificada (60:40, v/v), seguindo metodologia validada anteriormente pelo nosso grupo (Shimadzu® UV-1603, Japão) (PRESMICH et al., 2010).

As constantes de estabilidade (K_S) dos complexos de inclusão foram calculadas a partir da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados da porção linear das curvas dos diagramas de solubilidade de fases de cada ciclodextrina, utilizando a equação (1):

$$K_S = \text{Declive} / S_0 (1 - \text{Declive}) \quad (1)$$

Onde S_0 representa a solubilidade da β -lap na ausência de ciclodextrina.

Foi realizado um estudo comparativo para verificar a influência das ciclodextrinas na absorbância obtida nas amostras. Foram feitas leituras usando como branco para zerar o equipamento o sistema de solvente preconizado pelo método analítico, álcool etílico:água purificada (60:40), e leituras usando um sistema onde a fase aquosa foi composta por uma solução da ciclodextrina em análise. As soluções das ciclodextrinas foram manipuladas com as maiores concentrações utilizadas no estudo de solubilidade de fases. Os experimentos foram realizados em triplicata de amostras e os dados foram tratados por análise de variância one-way com $p < 0,05$.

Obtenção dos sistemas sólidos binários de β -lap:ciclodextrinas

Os sistemas sólidos binários de β -lap: β CD, β -lap:HP β CD e β -lap:M β CD foram preparados com relação molar de 1:1, de acordo com o resultado do estudo de solubilidade de fases, utilizando três métodos distintos: malaxagem, co-evaporação e secagem por atomização. Foram preparadas misturas físicas de cada binário para o efeito de comparação.

Preparação das Misturas Físicas (MF)

Foram preparadas misturas físicas da β -lap com as três ciclodextrinas contendo quantidades estequiométricas de 1:1 (mol:mol), exatamente pesadas. O método de diluição geométrica foi utilizado de forma a garantir a homogeneidade do produto, manipulado em almofariz de porcelana com o auxílio de um pistilo, com posterior tamisação em malha de 200 µm para uniformização do tamanho das partículas. As misturas físicas foram acondicionadas

em frascos ampolas protegidas da luz.

Preparação por Malaxagem (ML)

Os binários malaxados foram preparados em almofariz com o auxílio de um pistilo a partir de misturas físicas equimolares da β -lap com cada ciclodextrina pela adição de pequenos volumes de uma solução álcool etílico:água (1:2, v/v) sob trituração contínua para obtenção de uma pasta. Esta pasta foi malaxada durante 60 minutos sempre com a adição da solução hidroalcoólica na quantidade equivalente a 30% do peso dos pós para manter a consistência pastosa. Após o tempo de malaxagem os produtos foram colocados em estufa à 40°C por 36 horas para secagem. Depois de secos foram tamisados em malha de 200 μ m e acondicionados em frascos ampolas protegidos da luz.

Preparação por Co-evaporação (CE)

Quantidades equimolares de β -lap e das ciclodextrinas foram pesadas e solubilizadas separadamente sob agitação mecânica. A β -lap foi solubilizada em álcool etílico e as ciclodextrinas foram solubilizadas em água purificada. Após completa solubilização dos compostos as soluções alcoólicas de β -lap foram vertidas nas soluções aquosa das ciclodextrinas, sob agitação mecânica. As soluções hidroalcoólicas de fármaco:ciclodextrina foram deixadas em agitador oscilante durante 24h antes de serem submetida à evaporação sob pressão reduzida (-800 ± 20 mbar) a $50 \pm 5^\circ\text{C}$ em evaporador rotativo (Heidolph-Laborota 4001). Após a evaporação dos solventes os produtos foram colocados em estufa à 40°C por 36 horas para secagem. Depois de secos foram tamisados em malha de 200 μ m e acondicionados em frascos ampolas protegidos da luz.

Preparação por Secagem por Atomização – Spray-drying (SD)

Quantidades equimolares de β -lap e das ciclodextrinas foram pesadas e solubilizadas separadamente sob agitação mecânica. A β -lap foi solubilizada em álcool etílico e as ciclodextrinas foram solubilizadas em água purificada. Após completa solubilização dos compostos as soluções alcoólicas de β -lap foram vertidas nas soluções aquosa das ciclodextrinas, sob agitação mecânica. As soluções hidroalcoólicas de fármaco:ciclodextrina foram deixadas em agitador oscilante durante 24h antes de serem secas por atomização em spray drier (LabPlant SD-O5). As soluções obtidas foram secas por atomização nas seguintes condições: temperatura de entrada de 145°C, temperatura de saída de $80 \pm 5^\circ\text{C}$, velocidade do fluxo de ar de 40 - 50 m³/h, velocidade do fluxo da solução de 400 mL/h e pressão de ar de

atomização de $1,1 \pm 2$ bar. Os sólidos resultantes foram tamisados em malha de 200 μm e acondicionados em frascos ampolas protegidos da luz.

CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS SÓLIDOS BINÁRIOS

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras dos compostos isolados (β -lap, β CD, HP β CD e M β CD), misturas físicas e complexos de inclusão foram montadas em stub, fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro por 5 minutos (Metalizador Desk II/Denton Vacuum). A morfologia das amostras foi verificada em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol® 5600 LV, onde foram obtidas as eletromicrografias. As tensões de excitação e fatores de aumento, respectivamente, foram: β -lap 10KV e 20x, β CD 6KV e 80x, compostos binários com β CD 6KV e 1.400 a 1.500x, HP β CD 10KV e 500x, compostos binários com HP β CD 10KV e 140x, 2.000 a 3.000x, M β CD 30KV e 550x, compostos binários com M β CD 30KV e 430x, 1.000 a 1.200x.

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC dos compostos isolados e sistemas binários da β -lap:ciclodextrinas foram obtidas em Calorímetro de Varredura Shimadzu® DSC-50 interligado ao software Shimadzu® TA-60WS/TA-50WS (Kyoto, Japão) com atmosfera de nitrogênio de 20 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, numa faixa de temperatura de 25 - 200°C. As amostras foram colocadas em células de alumínio hermeticamente fechadas com massa de 2 mg $\pm$ 0,2. Foi utilizado Índio (99.98%, mp 156.65°C, Aldrich®, Milwaukee, USA) para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

Difração de Raios X

Os difratogramas de raios-X dos produtos isolados e binários foram obtidos num difratômetro SIEMENS (X-Ray Diffractometer, D-5000), equipado com anodo de cobre. As amostras foram analisadas no intervalo de ângulo 2θ de 5-50°.

Espectroscopia vibracional no Infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR foram obtidos em um espectrômetro Burker FT-IR / IFS 66. As amostras foram preparadas na concentração de 1% em pastilhas de KBr. A região espectral estudada foi de 4000 a 400 cm⁻¹ com resolução de 4 cm⁻¹.

Ensaio de dissolução

O comportamento de dissolução dos diferentes sistemas binários contendo β -lapachona foi avaliado pelos perfis de dissolução *in vitro* realizados em dissolutor Varian VK 7010 de acordo as especificações do FDA (Food and Drug Administration) para drogas pouco solúveis utilizando o método preconizado pela Farmacopéia Americana (USP, 2006).

Os ensaios de dissolução decorreram a uma velocidade de 75 rpm, com aparato 2 (pá), temperatura de $37 \pm 0,5$ °C, utilizando 900 mL da água purificada como meio de dissolução. Foi realizado também um estudo de dissolução com a β -lapachona matéria-prima na forma de cristais e pó pulverizado e atomizado nas mesmas condições dos produtos binários para serem utilizados como parâmetros comparativos de incremento de solubilidade do fármaco.

A quantidade da amostra foi o equivalente a 25 mg de β -lapachona da matéria-prima, misturas físicas e dispersões sólidas, mantendo as condições sink do estudo. Alíquotas foram coletadas nos intervalos de 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos, filtradas em filtro de membrana 0,45 μ m e devidamente diluídas para quantificação do teor dissolvido de β -lapachona por espectroscopia no UV a 256 nm utilizando metodologia anteriormente validada (Espectrômetro Varian®, Unity plus-300MHz) (PRESMICH, 2010). Foi efetuada a reposição do meio de dissolução com o mesmo volume retirado em cada tempo. Todos os ensaios foram efetuados em quadruplicata.

Os perfis de dissolução foram avaliados e comparados em relação à percentagem de fármaco dissolvido em 60, 90 e 120 minutos (Q_{60min} , Q_{90min} e Q_{120min}) e à eficiência de dissolução aos 60 e 120 min (ED_{60min} e ED_{120min}) calculada a partir da área sob a curva de dissolução do produto no intervalo de tempo compreendido entre zero e 60 minutos ($ASC_{0-60minutos}$) e zero e 120 minutos ($ASC_{0-120minutos}$), de acordo com o método de Khan (KHAN et al., 1975). A determinação da ED permite avaliar não apenas a quantidade de fármaco liberada no meio de dissolução após determinado tempo, mas a própria cinética de liberação ao longo de todo o tempo em questão.

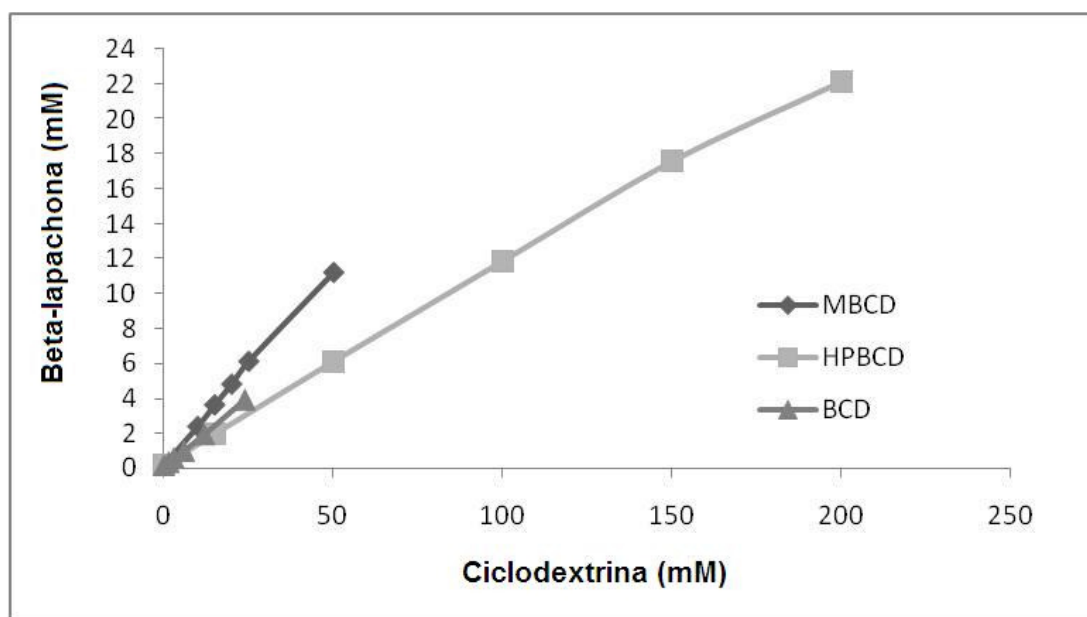
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da constante de estabilidade aparente (Ks)

De acordo com os resultados do ensaio de solubilidade de fases, representados na Figura 1, foi possível verificar os efeitos das ciclodextrinas utilizadas na solubilidade aquosa da β -lap (0,154 mM). O incremento da solubilidade da β -lap foi completamente dependente do tipo de ciclodextrina, porém, em todos os casos, esta solubilidade aumentou linearmente em função da concentração de ciclodextrina ao longo do intervalo de concentração estudado

com declives inferiores a 1 (Tabela 1). Desta forma, foi possível admitir um perfil linear, com curvas tipo A_L , para as três ciclodextrinas utilizadas, admitindo uma estequiometria de 1:1 (mol:mol), fármaco-CD, para a obtenção dos complexos de inclusão (HIGUCHI et al., 1965).

Figura 1- Diagrama de solubilidade de fases dos sistemas β -lap: β CD, β -lap:HP β CD e β -lap:M β CD em água purificada.



Com base nos diagramas de solubilidade obtidos foram estimados também os valores dos coeficientes de determinação (R^2) e as constantes de estabilidade (K_s) (Tabela 1). Os valores de K_s calculado para os complexos β -lap: β CD e β -lap:HP β CD estão de acordo com os resultados informados na literatura (NASONGKLA et al., 2003). A magnitude da constante K_s varia geralmente entre 0 e 10^5 M^{-1} , onde, quanto maior este valor mais estável é a formação do complexo.

Tabela 1- Constantes de Estabilidade.

Ciclodextrina	Declive	R^2	$K_s (\text{mol}^{-1})$
β CD	0,1345	0,9987	1008,91
HP β CD	0,1115	0,9982	814,73
M β CD	0,2214	0,9980	1846,12

A M β CD, na forma não randomizada, apresentou uma constante de estabilidade quase 2 vezes maior do que os outros complexos, sugerindo uma maior afinidade de complexação desta ciclodextrina com a β -lap provavelmente devido a presença dos grupos metila que proporciona um prolongamento da região hidrofóbica da cavidade da ciclodextrina,

favorecendo a inclusão da molécula do fármaco. Um efeito semelhante ocorre também com a M β CD randomizada (CUNHA-FILHO et al., 2007)

Ficou comprovado pelo estudo comparativo realizado com as soluções de branco utilizadas para zerar o equipamento que não há interferência significativa das ciclodextrinas, no intervalo de confiança avaliado, na quantificação da β -lap por espectrofotometria no UV no comprimento de onda especificado para as amostras do estudo de solubilidade de fases.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise de MEV apresenta uma grande importância por evidenciar a ocorrência de complexação através da morfologia dos binários, explicando o comportamento de melhora da solubilidade e teor dissolvido por correlação entre a estrutura morfológica e tamanho de partícula. As eletromicrografias dos produtos isolados e seus binários estão apresentadas na Figura 2.

A β -lapachona apresenta-se na forma cristalina, visível macroscopicamente, com cristais aciculares bem definidos de tamanho regular. As partículas de β CD apresentam uma forma poliédrica, com superfícies planas e tamanho considerável, enquanto que a HP β CD e a M β CD apresentam-se como compostos de partículas esféricas, com superfícies lisas, relativamente ocas com caráter não cristalino.

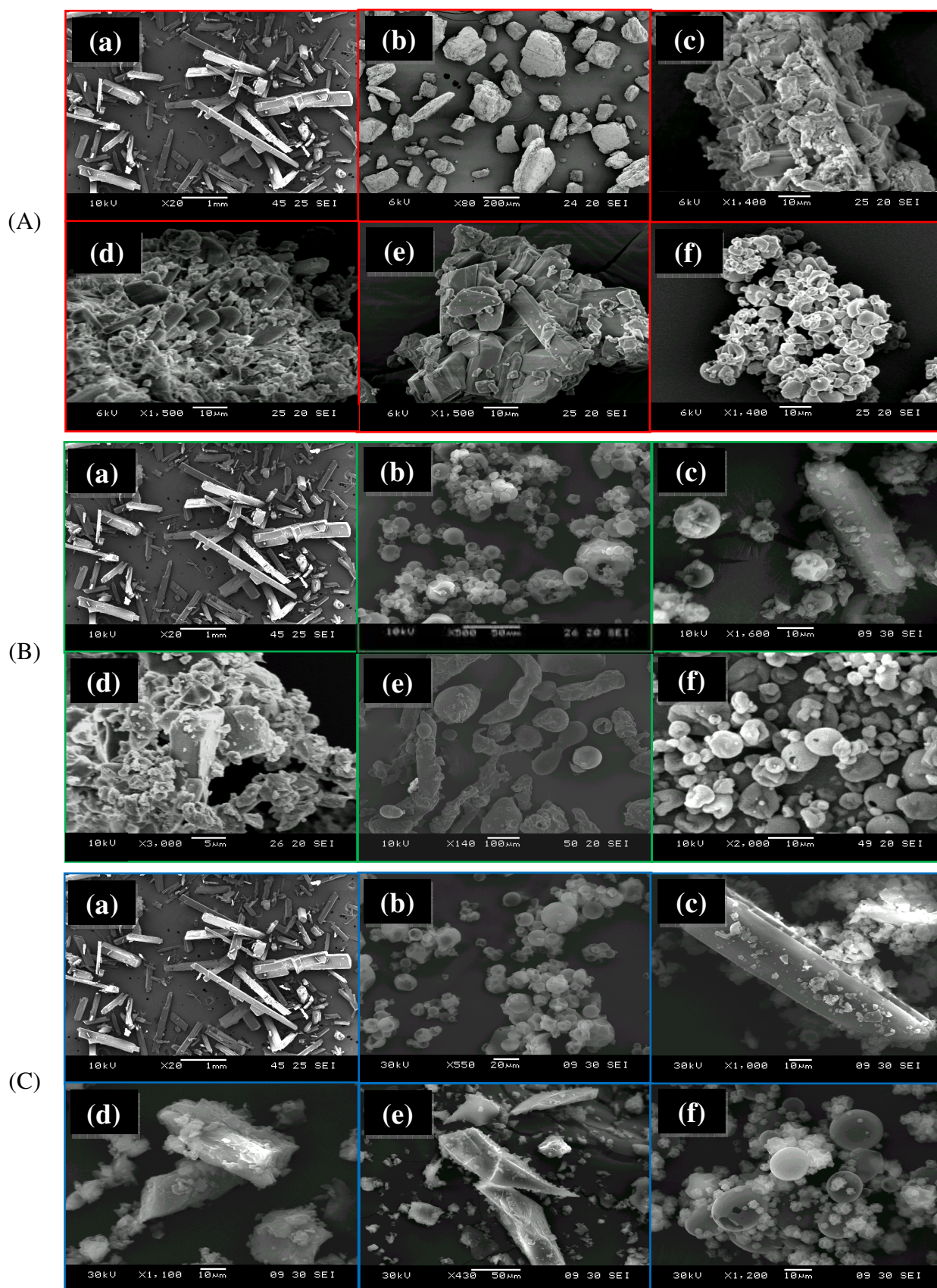
As eletromicrografias das misturas físicas com as três ciclodextrinas demonstraram que houve uma redução no tamanho das partículas com conservação das propriedades físicas dos compostos, sendo de fácil identificação cristais de β -lapachona misturados as ciclodextrinas ou com partículas das ciclodextrinas adsorvidas em seus cristais, não havendo interações entre o fármaco e as ciclodextrinas no estado sólido.

Nos complexos de β -lap: β CD obtidos pelos processos de malaxagem e co-evaporação houve a formação de um produto denso com cristais de β -lapachona enovelados por partículas da ciclodextrina, indicando uma baixa eficiência por interação química entre fármaco-CD no processo de complexação. Os cristais de β -lapachona também foram visíveis nos complexos malaxados com HP β CD e de forma menos evidente com a M β CD. Porém, nestes casos houve uma significativa alteração morfológica nas características das ciclodextrinas que perderam, após o processo de malaxagem, suas formas esféricas surgindo com estruturas tridimensionais pseudolaminares e irregulares. Mesmo assim, não é possível afirmar se houve algum tipo de interação entre as ciclodextrinas e o fármaco, pois há relatos na literatura que o processo de malaxagem pode resultar em modificações nas ciclodextrinas semelhantes ao observado em nosso estudo (VEIGA et al., 1998)

Observou-se uma alteração considerável na morfologia geral do sistema obtido por co-evaporação com a HP β CD, com redução no tamanho das partículas. Esta técnica originou um produto de aparência peculiar lombricóide sem vestígios das características individuais dos produtos de partida demonstrando a existência de uma nova e única fase sólida, com consequente possível formação de complexos de inclusão. O binário β -lap:M β CD, obtido pela mesma técnica, também demonstrou possível formação de complexos de inclusão já que não foi evidenciada a morfologia original da ciclodextrina nem da β -lapachona apresentando-se como raspas de produto.

Os binários secos por atomização com as três ciclodextrinas originaram produtos heterogêneos de aparência não cristalina com a presença de partículas na forma tipicamente esférica, completamente diferentes das partículas isoladas dos compostos iniciais, com elevada tendência para aglomeração e tamanho reduzido, não sendo possível a diferenciação entre as ciclodextrinas e o fármaco. Estas características indicam a existência de uma nova fase sólida devido às possíveis interações químicas ocorridas entre fármaco e as ciclodextrinas originando os complexos de inclusão.

Figura 2- Eletromicrografias de MEV. (A) Binários com β CD, (B) Binários com HP β CD e (C) Binários com M β CD: (a) β -lapachona (b) Ciclodextrinas, (c) Mistura física, (d) Malaxado, (e) Co-evaporado e (f) Spray-drying.



Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os perfis térmicos dos produtos isolados e sistemas binários da β -lapachona, β CD, HP β CD e M β CD estão representados na Figura 3.

O termograma da β -lapachona isolada apresentou características típicas de um produto anidro no estado cristalino com alto grau de pureza. O pico endotérmico bem definido decorrente do processo de fusão do princípio ativo com temperatura de fusão em 156,46°C e elevada energia desprendida, está de acordo com a literatura (ALVES et al., 2008). As curvas de DSC das ciclodextrinas isoladas, β CD, HP β CD e M β CD, apresentaram fenômenos endotérmicos alargados em torno de 50°C e 125°C, associados à perda de cristais de água das moléculas.

As curvas das misturas físicas para as três ciclodextrinas apresentaram um somatório dos eventos encontrados nos termogramas dos compostos isolados, com pico de fusão característico da β -lapachona bem definido e picos referentes ao fenômeno de desidratação das ciclodextrinas, sugerindo que não há formação de complexos de inclusão estáveis nestes binários uma vez que o fármaco manteve sua cristalinidade original, o que foi verificado anteriormente através das análises de MEV.

Os efeitos encontrados nos termogramas dos malaxados com β CD, HP β CD e M β CD, são irrelevantes, apesar dos binários com β CD e HP β CD terem sofrido uma discreta redução de intensidade do pico característico do fármaco e um certo alargamento no evento referente as ciclodextrinas, não é correto dizer que houve complexação. Estas pequenas alterações podem ser explicadas por uma melhor dispersão dos microcristais da β -lapachona na matriz das ciclodextrinas e/ou ativação mecânica do processo de obtenção, sem a ocorrência de interações químicas.

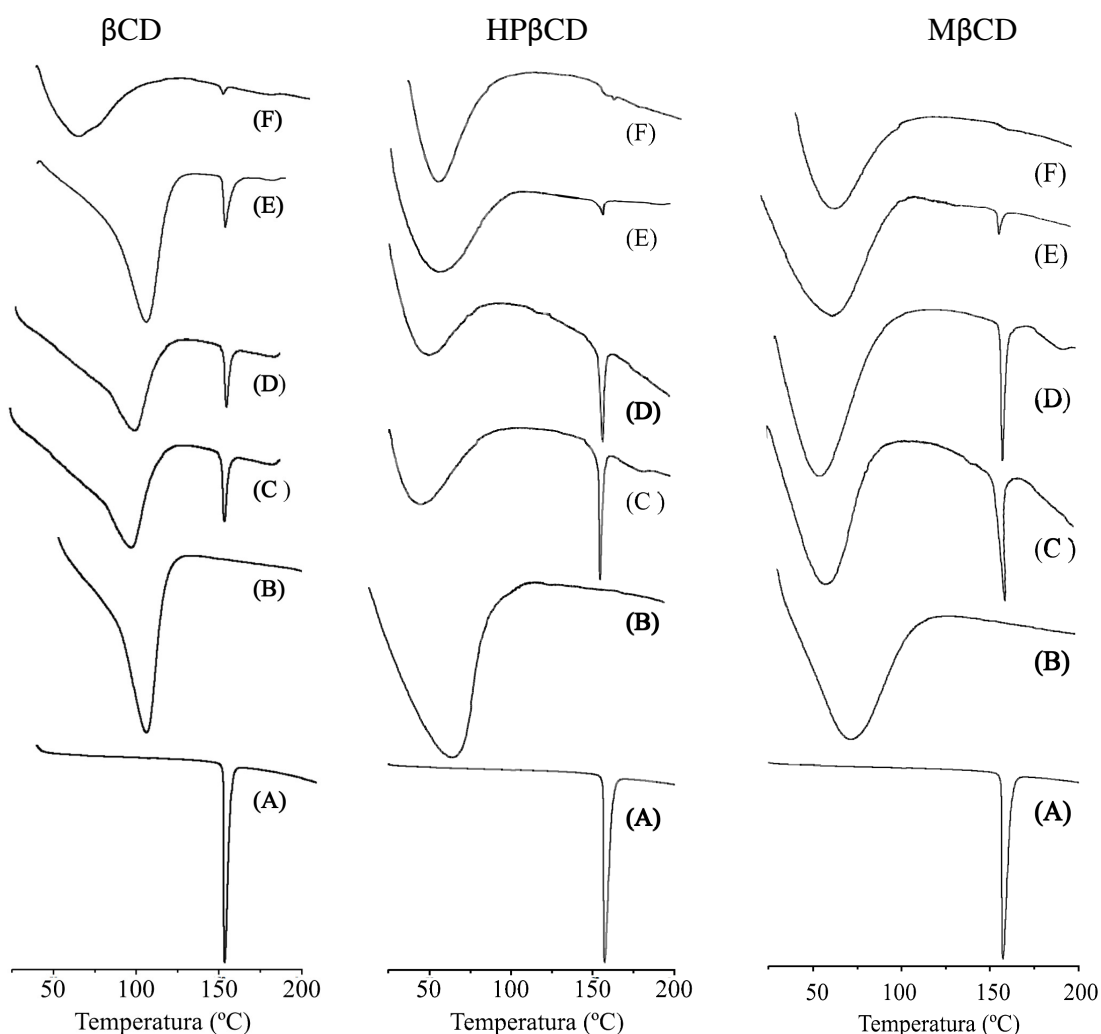
Em todos os sistemas obtidos por co-evaporação houve uma expressiva diminuição da intensidade energética desprendida no processo de fusão da β -lapachona, com deslocamento térmico para temperaturas inferiores, sugerindo a perda do estado cristalino definido. O complexo β -lap:HP β CD apresentou de forma mais pronunciada estas alterações com desaparecimento quase total do pico da β -lapachona, seguido do β -lap:M β CD e por último o β -lap: β CD, ficando evidente a interação ocorrida entre o fármaco e as ciclodextrinas.

Houve o desaparecimento completo do pico endotérmico correspondente à transição sólido-líquido da β -lapachona nos produtos obtidos por secagem por atomização com as ciclodextrinas HP β CD e M β CD. Para a β CD houve um aparecimento muito discreto do que seria o pico de fusão do fármaco, provavelmente devido à microcristais que permaneceram em quantidades irrelevantes. Ocorreram também alterações no fenômeno endotérmico

característico da desidratação das ciclodextrinas, o que contribui para evidenciar a existência de um processo de inclusão, uma vez que o fármaco ao penetrar na cavidade da ciclodextrina provoca a substituição de algumas moléculas de água acomodadas no interior da molécula hospedeira (WINTERS et al., 1998). Estes resultados indicam a formação de uma fase sólida não cristalina com provável inclusão molecular da β -lapachona na cavidade das três ciclodextrinas, confirmando o que foi visualizado no MEV.

Os resultados obtidos sugerem a existência de fortes interações intermoleculares, envolvendo a β -lapachona e as ciclodextrinas, caracterizando a provável formação de complexos de inclusão mais estáveis na seguinte ordem: β -lap:M β CD (SD) > β -lap:HP β CD (SD) > β -lap: β CD (SD) > β -lap:HP β CD (CE) > β -lap:M β CD (CE) > β -lap: β CD (CE) > β -lap:HP β CD (ML) > β -lap: β CD (ML).

Figura 3- Curvas de DSC: (A) β -lapachona; (B) Ciclodextrina; (C) Mistura física; (D) Malaxado, (E) Co-evaporado, (F) Spray-drying.



Difração de Raios X

A formação de complexos de inclusão no estado sólido está frequentemente associada ao aumento do grau de amorfização das substâncias envolvidas, dependendo do método de obtenção, podendo, desta forma, ser monitorizado pela técnica de difração de raios X através da comparação dos difratogramas de um suposto complexo de inclusão com o de uma mistura física e compostos isolados, onde deverá haver diferenças significativas nas posições e intensidades dos principais picos dos compostos, com possibilidade de desaparecimento de alguns dos picos de difração característicos. Os difratogramas dos compostos isolados e respectivos produtos binários estão apresentados na Figura 4.

O perfil difratográfico da β -lapachona põe em evidência o seu caráter cristalino, apresentando uma série de picos de difração de elevada intensidade e definição com pico principal de $9,5^\circ$ (2θ) e picos secundários em $12,95$, $16,30$, $19,03$, $26,40$ e $34,98^\circ$ (2θ). O difratograma da β CD revelou também o seu caráter cristalino, com picos de difração mais importantes em $7,31^\circ$, $10,39^\circ$, $12,39^\circ$, $14,59^\circ$, $17,91^\circ$, $21,84^\circ$ e $22,84^\circ$ (2θ). Padrões completamente difusos foram obtidos com as outras duas ciclodextrinas, HP β CD e M β CD, indicando a natureza amorfa das mesmas.

A comparação dos perfis de difração dos componentes isolados com suas misturas físicas demonstrou a inexistência de variações expressivas, com sobreposições dos difratogramas, indicando que não ocorreu a formação de uma nova estrutura.

Os produtos malaxados e co-evaporados obtidos com β CD e HP β CD ostentaram um caráter cristalino com padrões de difração muito semelhantes entre si, dentro do mesmo grupo de ciclodextrina, e em comparação com a relacionada mistura física, sugerindo que não houve formação de um composto completamente não cristalino em nenhum dos casos. Porém, as intensidades do pico principal da β -lapachona foram significativamente diminuídas nos compostos obtidos com HP β CD seguindo a seguinte ordem decrescente: mistura física, malaxado e co-evaporado, sugerindo uma perda significativa de cristalinidade da β -lapachona influenciada pelo processo de obtenção dos complexos.

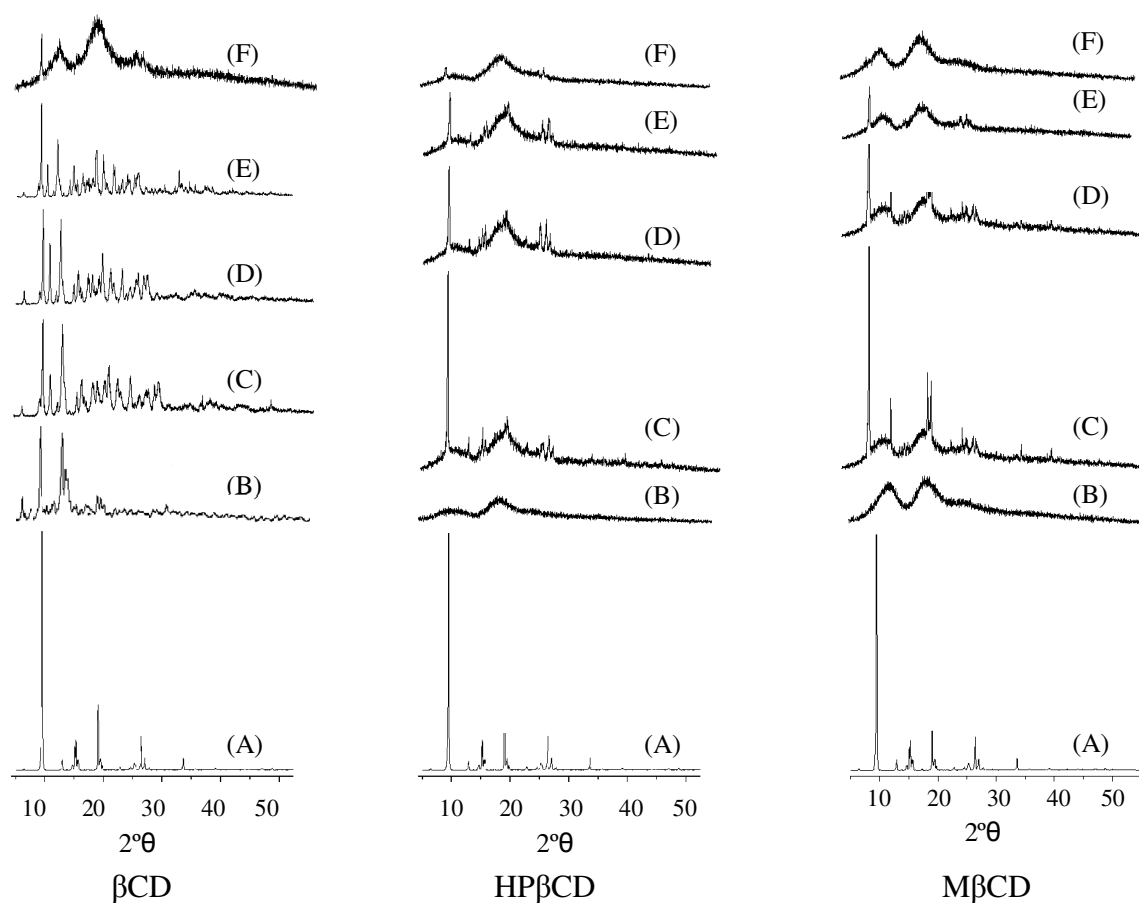
Nos casos dos produtos malaxados e co-evaporados com M β CD observou-se uma perda expressiva de cristalinidade, com diminuições pronunciadas do pico principal e picos secundários da β -lapachona, chegando ao completo desaparecimento de alguns picos secundários, sugerindo a ocorrência de um fenômeno de desordem conseqüente da complexação, fenômenos mais evidentes no produto co-evaporado.

No complexo obtido por atomização com a β CD, houve uma redução expressiva do pico principal da β -lapachona com diminuição, alargamentos e desaparecimentos dos picos

secundários do fármaco e ciclodextrina utilizada, caracterizando a perda da forma cristalina original dos produtos de partida com formação de um complexo de inclusão.

Os produtos obtidos por atomização com as ciclodextrinas HP β CD e M β CD apresentaram difratogramas totalmente difusos indicando a natureza não cristalina dos produtos formados. Desta forma, pode-se afirmar que houve a formação de complexos de inclusão estáveis devido às possíveis interações ocorridas entre o fármaco e as ciclodextrinas decorrentes do maior poder de complexação do fármaco com as referidas ciclodextrinas.

Figura 4- Difratogramas: (A) β -lapachona, (B) Ciclodextrinas, (C) Mistura Física, (D) Malaxado, (E) Co-evaporado e (F) Spray-drying.



Espectroscopia vibracional no Infravermelho (FTIR)

A utilização da técnica de espectroscopia de FTIR permite não só evidenciar a formação de complexos de inclusão, como avaliar quais os grupos funcionais do fármaco ou da ciclodextrina estão envolvidos no processo de complexação no estado sólido. Os espectros de FTIR dos sistemas β -lap: β CD, β -lap:HP β CD e β -lap:M β CD estão apresentados nas figuras 5, 6 e 7, respectivamente.

Os espectros FTIR das misturas físicas correspondem ao simples resultado da adição dos espectros da β -lapachona e da respectiva ciclodextrina. A diminuição geral da intensidade das diferentes bandas características da β -lapachona foi atribuída à presença de uma quantidade proporcionalmente inferior de fármaco nas pastilhas de KBr dos sistemas binários, o que resulta na diluição da β -lapachona pelas ciclodextrinas.

Nos espectros dos produtos malaxados e co-evaporados obtidos com as três ciclodextrinas não se verificam diminuições de intensidade ou desvios significativos das bandas de absorção no infravermelho características da β -lapachona quando comparados com suas respectivas misturas físicas.

Os espectros FTIR dos sistemas binários β -lap:HP β CD e β -lap:M β CD atomizados apresentaram quase que total desaparecimento da banda em 2977 cm^{-1} característica de deformação axial de C-H aromático. No composto β -lap: β CD obtido pela mesma técnica houve uma diminuição significativa de intensidade desta banda. Esta alteração permite confirmar que as compostos obtidos por secagem por atomização possuem uma modificação do ambiente químico do fármaco caracterizando a formação de complexos de inclusão estáveis na forma sólida.

Os sinais na região 1694 cm^{-1} , atribuído à banda de deformação axial de C=O, 1591 cm^{-1} , referente à deformação axial C-C do anel e $313,7\text{ cm}^{-1}$, referente à deformação axial assimétrica de C-O-C, não foram observado no composto atomizado β -lap:HP β CD. Houve ainda redução extrema da intensidade das bandas 1694 cm^{-1} e 1591 cm^{-1} no atomizado β -lap:M β CD.

O somatório dos efeitos encontrados nos espectros de FTIR dos atomizados identifica uma maior interação entre as ciclodextrinas e a β -lapachona quando esta técnica de obtenção é utilizada.

Figura 5- Espectro de FTIR com β CD: (A) β -lapachona, (B) β CD, (C) Mistura Física, (D) Malaxado, (E) Co-evaporado e (F) Spray-drying.

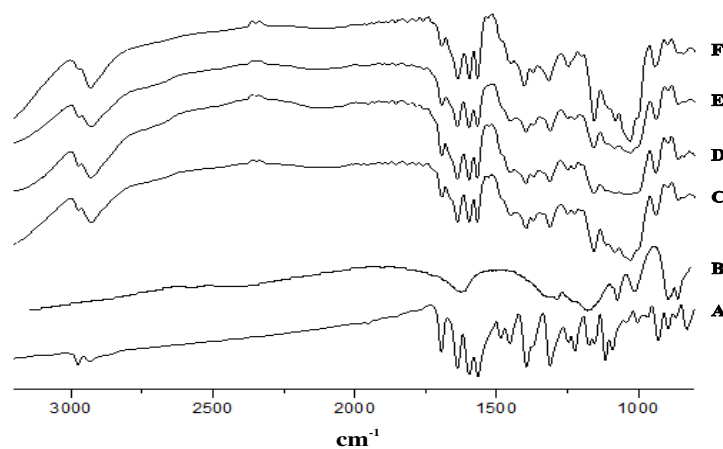


Figura 6- Espectro de FTIR com HP β CD: (A) β -lapachona, (B) HP β CD, (C) Mistura Física, (D) Malaxado, (E) Co-evaporado e (F) Spray-drying.

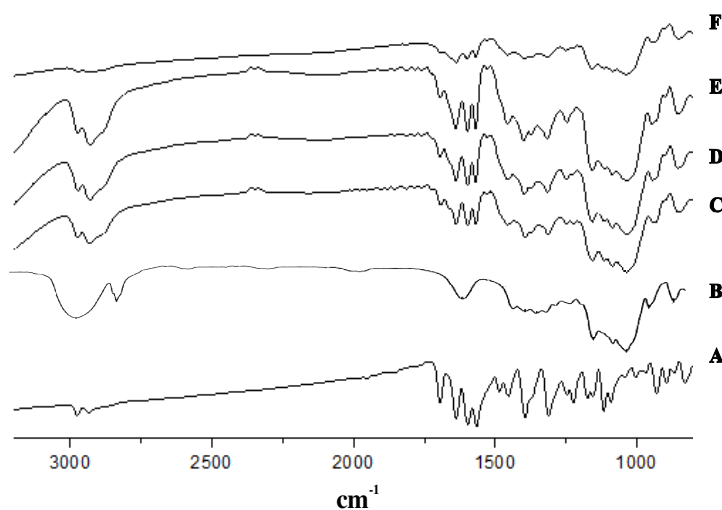
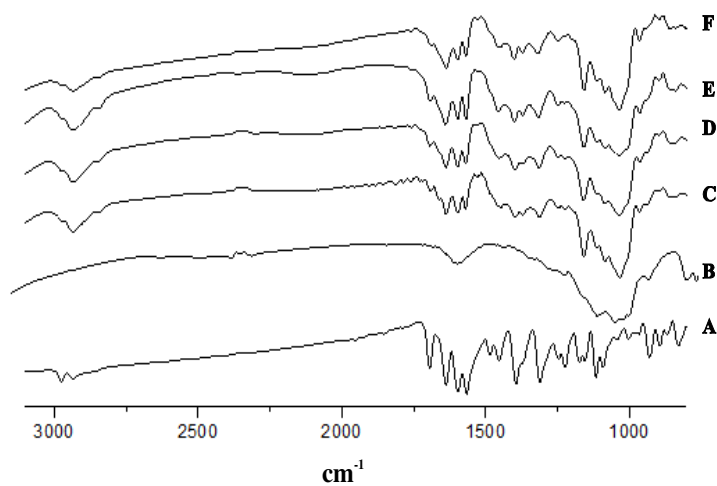


Figura 7- Espectro de FTIR com M β CD: (A) β -lapachona, (B) M β CD, (C) Mistura Física, (D) Malaxado, (E) Co-evaporado e (F) Spray-drying.



Ensaio de dissolução

Os perfis de dissolução da β -lapachona e sistemas β -lap: β CD, β -lap:HP β CD e β -lap:M β CD em água purificada estão representados na Figura 9.

Como pode ser observado não ocorreu à dissolução completa da β -lapachona na forma de cristais, pó pulverizado ou atomizada, após o período total do ensaio, ou seja, 120 minutos. No entanto, todos os sistemas binários com as três ciclodextrinas, inclusive as misturas físicas, apresentaram melhores propriedades de dissolução.

Este incremento no teor dissolvido de β -lapachona e na velocidade de dissolução dos diferentes produtos pode ser explicado com base na redução da cristalinidade do fármaco com prevalência do estado não cristalino, menor tensão interfacial entre a β -lapachona e o meio de dissolução. Outro aspecto que deve ser observado é a ação solubilizante local das ciclodextrinas, ao nível do microambiente da camada hidrodinâmica que se forma após a rápida dissolução das ciclodextrinas que ocorre na fase inicial do processo de dissolução provocando um aumento da solubilidade e/ou molhabilidade da β -lapachona. A formação de complexos solúveis no meio de dissolução com a inclusão do fármaco na cavidade da ciclodextrina ou apenas através de interações da molécula hóspede com os grupos exteriores das ciclodextrinas são fatores que também influenciam bastante na dissolução das misturas físicas e binários obtidos por malaxagem, nos quais, devido ao atrito mecânico existe um contato mais íntimo entre a β -lapachona e as ciclodextrinas, não necessariamente na cavidade das mesmas. A soma destes fatores propiciaram um incremento de dissolução nos produtos malaxados, com mais de 75% de teor dissolvidos em 60 minutos para o binário β -lap: β CD e mais 85% para os binários β -lap:HP β CD e β -lap:M β CD (Tabela 2).

Os perfis de dissolução encontrados para os produtos avaliados estão em concordância com os resultados dos estudos de caracterização físico-química descrito neste trabalho, sendo os produtos atomizados, os quais apresentam melhores resultados, atingindo mais de 80% de teor dissolvido em 15 minutos e mais que 90% após 60 minutos (Tabela 2).

Figura 8- Perfil de dissolução da β -lapachona e binários.

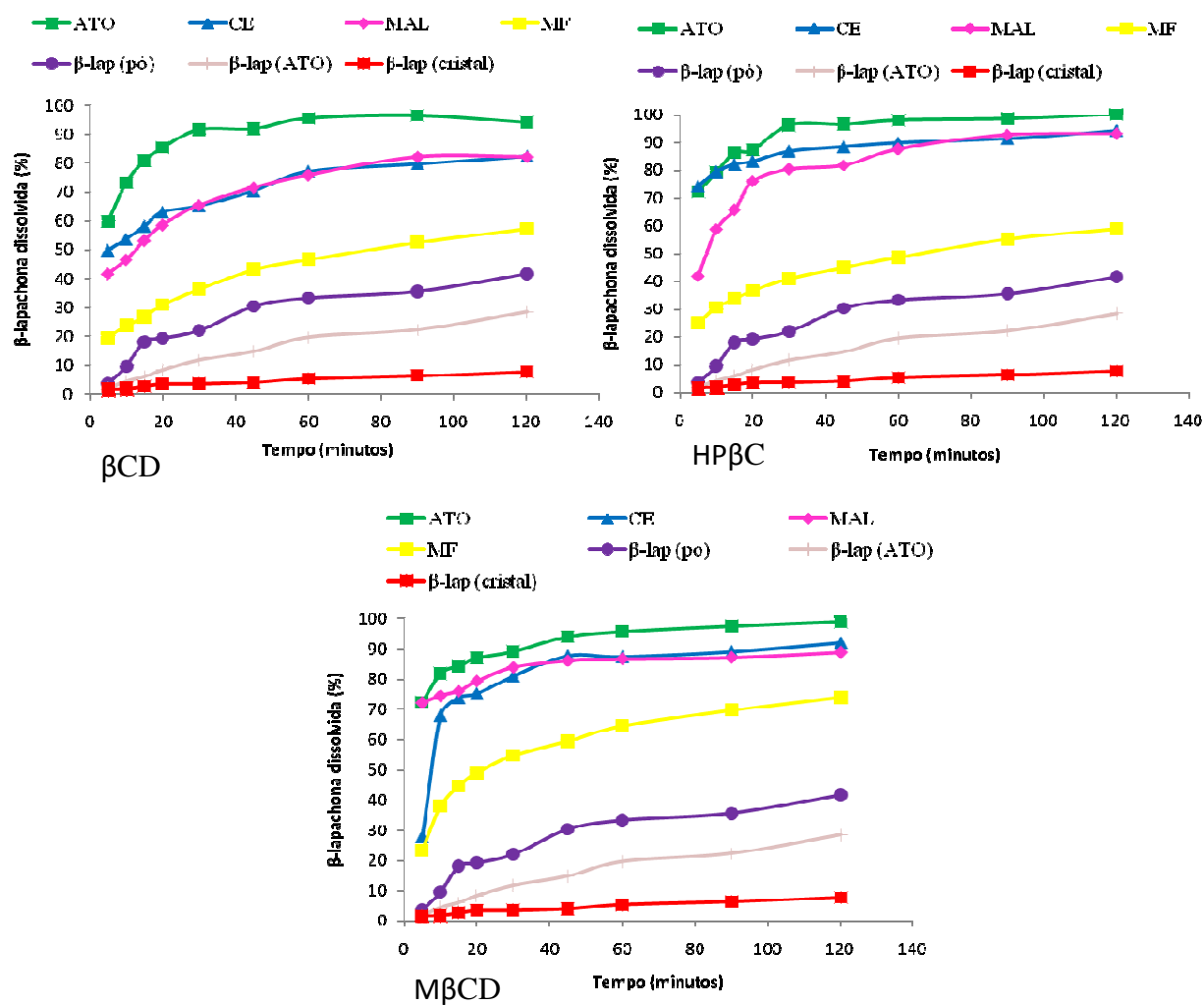


Tabela 2- Percentagem de β -lapachona dissolvido após 60, 90 e 120 minutos e eficiência de dissolução em 60 e 120 minutos obtidas a partir da β -lapachona isolada e dos sistemas binários.

Produto	Q_{60min}	Q_{90min}	Q_{120min}	ED_{60min}	ED_{120min}
β -lapachona (cristal)	5,21 $\pm$ 6,54	6,19 $\pm$ 8,41	7,60 $\pm$ 6,51	3,23	4,77
β -lapachona (pó)	33,21 $\pm$ 8,67	35,49 $\pm$ 3,10	41,56 $\pm$ 4,09	21,25	28,85
β -lapachona (atomizada)	19,47 $\pm$ 7,46	22,14 $\pm$ 8,14	28,29 $\pm$ 7,52	10,47	16,74
βCD					
Mistura física	46,50 $\pm$ 2,40	52,52 $\pm$ 1,58	57,25 $\pm$ 3,42	33,77	42,98
Malaxado	75,87 $\pm$ 1,72	82,25 $\pm$ 1,05	82,23 $\pm$ 2,30	60,04	70,35
Co-evaporado	77,01 $\pm$ 2,70	79,59 $\pm$ 3,79	82,30 $\pm$ 5,93	62,03	70,82
Atomizado	95,50 $\pm$ 4,42	96,40 $\pm$ 4,99	94,05 $\pm$ 3,48	82,42	89,00
HPβCD					
Mistura física	48,57 $\pm$ 0,30	55,18 $\pm$ 0,56	58,85 $\pm$ 0,60	37,82	46,13
Malaxado	87,61 $\pm$ 2,07	92,73 $\pm$ 0,42	93,22 $\pm$ 0,35	71,43	81,50
Co-evaporado	89,85 $\pm$ 0,92	91,40 $\pm$ 0,41	94,39 $\pm$ 0,99	81,50	86,63
Atomizado	97,93 $\pm$ 0,64	98,44 $\pm$ 0,38	99,98 $\pm$ 0,15	87,07	92,88
MβCD					
Mistura física	64,42 $\pm$ 2,08	69,62 $\pm$ 1,51	73,93 $\pm$ 1,92	49,17	59,29
Malaxado	86,60 $\pm$ 0,21	87,07 $\pm$ 0,78	88,74 $\pm$ 0,88	78,17	82,77
Co-evaporado	87,29 $\pm$ 0,29	88,91 $\pm$ 0,40	91,79 $\pm$ 0,48	73,14	81,18
Atomizado	95,69 $\pm$ 1,72	97,46 $\pm$ 1,18	98,87 $\pm$ 1,37	84,71	91,04

Cada valor de Q representa a média (%) $\pm$ coeficiente de variação. ED (%).

Os valores obtidos da eficiência de dissolução (Tabela 2) para cada hora de ensaio possibilitam inferir que os melhores perfis de dissolução seguem a seguinte ordem decrescente: β -lap:HP β CD atomizado, β -lap:M β CD atomizado, β -lap: β CD atomizado, β -lap:HP β CD co-evaporado, β -lap:M β CD malaxado, β -lap:M β CD co-evaporado, β -lap:HP β CD malaxado, β -lap: β CD co-evaporado, β -lap: β CD malaxado, β -lap:M β CD mistura física, β -lap:HP β CD mistura física, β -lap: β CD mistura física, β -lapachona pó, β -lapachona atomizada e β -lapachona cristais.

CONCLUSÃO

A possibilidade de formação dos complexos de inclusão binários entre a β -lapachona, β CD, HP β CD e M β CD, foi confirmada através do ensaio de solubilidade de fases que demonstrou um perfil linear com constantes de estabilidade satisfatórias para as três ciclodextrinas avaliadas, estabelecendo uma proporção estequiométrica de 1:1 (mol/mol) de β -lapachona:ciclodextrina. Através da caracterização físico-química comparativa entre os

compostos isolados, misturas físicas e complexos de inclusão, para as três ciclodextrinas, foi observado que os complexos β -lap: β CD, β -lap:HP β CD e β -lap:M β CD obtidos por secagem por atomização e os complexos β -lap:HP β CD e β -lap:M β CD obtidos por co-evaporação apresentaram, além da redução no tamanho de partículas, uma conversão do estado cristalino ao estado não cristalino devido às possíveis interações químicas ocorridas entre o fármaco e as ciclodextrinas, processo comprovado pelo ensaio de dissolução. Estes resultados indicam que o uso de ciclodextrinas, pode melhorar a solubilidade da β -lapachona, que possui baixa solubilidade em água, por aumentar a área superficial de contato e originar um composto de forma não cristalina com face exterior de encapsulamento hidrossolúvel.

REFERÊNCIAS

- ALVES, G.M.C.; ROLIM, L.A.; LEITE, A.C.L.; BRONDANI, D.J.; MEDEIROS, F.P.M.; BIEBER, L.W.; MENDONÇA-JÚNIOR, F.J.B. & ROLIM-NETO, P.J. Purificação e caracterização da β -lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, v.31, n.2, p. 413-16, 2008.
- BOOTHMAN, D. A.; TRASK, D. K.; PARDEE, A. B. Inhibition of potentially lethal DNA damage repair in human tumor cells by β -lapachone, an activator of topoisomerase I. **Cancer Research**, v.49, n.3, p. 605-12, 1989.
- CARVALHO, C. E. M.; FERREIRA, V. F.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R.; HARRISON, W. Heterocyclic derivatives from natural occurring naphthoquinones: synthesis, characterization and X-ray structure of beta-lapachone hydrazo compounds. **Dyes and Pigments**, v.52, n.3, p. 209-14, 2002.
- CUNHA-FILHO, M.S.S.; DACUNHA-MARINHO, B.; TORRES-LABANDEIRA, J.J.; MERTÍNEZ-PACHECO, R.; LANDÍN, M. Characterization of β -lapachone and methylated B-cyclodextrin solid-state systems. **AAPS Pharm. Sci. Tech.**, v. 8, n. 3, p. E1-E10.
- FÁVARO, O. C. N.; OLIVEIRA, M. M.; ROSSINI, M. M. A.; KAMAKURA, C. R.; PINTO, A. V. & PINTO, M. C. F. R. Seleção por meio de células KB de substâncias e extratos potencialmente ativos em quimioterapia do câncer. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.62, n.3, p. 217-24, 1990.
- HIGUCHI, T.; CONNORS, K. Phase-solubility techniques. **Advances in analytical chemistry and instrumentation**, v.4, p. 117-212, 1965.
- KHAN, KA.; RHODES, C.T. The concept of dissolution efficiency. **Journal Pharmaceutical Pharmacology**, v.27, p. 48-49, 1975.
- LI, C. J.; LI, Y.; PINTO, A. V.; PARDEE, A. B. Potent inhibition of tumor survival *in vivo* by beta-lapachone plus taxol: combining drugs imposes different artificial checkpoints, **PNAS**, v.96, n.23, p.13369-74, 1999.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M.E. Cyclodextrins as pharmaceutical excipients. **Pharmaceutical Technology Europe**, v.9, n.5, p.26-34, 1997.

NASONGKLA, N; WIEDMANN, A.F.; BRUENING, A; BEMAN, M; RAY, D.; BORNMANN, W.G.; BOOTHMAN, D.A.;GAO, J. Enhancement of solubility and bioavailability of β -lapachone using cyclodextrin inclusion complexes. **Pharmaceutical Research**, v.20, n.10, p.1626-33, 2003.

OLIVEIRA, A. B., RASLAN, D. S.; MIRAGLIA, M. C. M.; MESQUITA, A. A. L.; ZANI, C. L.; FERREIRA, D. T. & MAIA, J. G. S. Estrutura química e atividade biológica de naftoquinona de bignoniáceas brasileiras. **Química Nova**, v.13, n.2, p. 302-7, 1990.

PARDEE, A.B.; LI, Y.Z.; LI, C.J. Cancer therapy with β -lapachone. **Current Cancer Drug Targents**, v.2, n.3, p.227-42, 2002.

PINK, J. J.; PLANCHON, S. M.; TAGLIARINO, C.; VARNES, M. E.; SIEGEL, D.; BOOTHMAN, D. A. NAD(P)H:Quinone oxidoreductase activity is the principal determinant of beta-lapachone cytotoxicity. **Journal Biological Chemistry**, v. 275, n. 8, p. 5416-24, 2000.

PRESMICH, G.M.A.; ROLIM, L.A.; CAVALCANTI, O.R.B.R.; SILVA, KER; ROLIM-NETO, P.J. Desenvolvimento e validação de um método analítico por espectrofotometria no UV para determinação quantitativa do anti-neoplásico β -lapachona. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 5, p. 645-50, 2010.

SZEJTLI, J. **Cyclodextrin Technology**. Dordrecht: Kluwer,1988.

United States Pharmacopeia 29 (1225): 2006.

VEIGA, M.D.; DIAZ, P.J.; ASHAN, F. Interactions of griseofulvin with cyclodextrins in solid binary systems. **Journal Pharmaceutical. Sciences**, v. 87, p. 891-900, 1998.

WINTERS, C.S.; YORK, P.; TIMMINS, P. Solid state examination of a glicazide:beta-cyclodextrin complex. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 4, p. 209-14, 1997.

Capítulo IV

6.1 Artigo IV – Estudo termoanalítico: estabilidade térmica da β -lapachona complexada e compatibilidade com excipientes farmacêuticos usados em forma farmacêutica sólida

Artigo a ser submetido ao Journal of Thermal Analysis and Calorimetry

Qualis Capes para Farmácia: B1

Estudo termoanalítico: estabilidade térmica da β -lapachona complexada e compatibilidade com excipientes farmacêuticos usados em forma farmacêutica sólida

José Lourenço de Freitas Neto¹, Rosali Maria Ferreira da Silva², Geisiane Maria Alves Presmich¹, Larissa Araújo Rolim¹, Pedro José Rolim Neto, Miracy Muniz de Albuquerque^{3*}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

²Laboratório de P&D Farmacotécnico e Cosmético, Faculdade de Farmácia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará.

³Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

*e-mail para correspondência: miracy@ufpe.br

RESUMO

A β -lapachona é uma ortonaftoquinona de ocorrência natural no ipê roxo ou pau d'arco roxo (*Tabebuia avellanedae* Lor), da família Bignoniaceae, que apresenta um excelente potencial antineoplásico. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito termoprotetor da hidróxi-propil- β -ciclodextrina (HP β CD) sobre a β -lapachona e a compatibilidade térmica entre o complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) e os excipientes celulose microcristalina, lactose monohidratada, estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal. Os estudos termoanalíticos para avaliar a compatibilidade entre as misturas do complexo de inclusão com excipientes usados em formas farmacêuticas sólidas, foram realizados utilizando termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA). Os resultados mostraram que a mistura física entre a β -lapachona e a HP β CD não é o melhor método para proteger termicamente a β -lapachona. Já a formação do complexo de inclusão, por atomização, entre esses dois compostos comprovou ser um método adequado para garantir a estabilidade térmica do fármaco. Não houve incompatibilidade térmica quando utilizadas as misturas, na proporção 1:1 (p/p), do complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) e os excipientes propostos, indicando que estes podem ser associados no desenvolvimento farmacotécnico de formas farmacêuticas sólidas.

Palavras-chave: β -lapachona, hidróxi-propil- β -ciclodextrina, complexo de inclusão, compatibilidade térmica.

INTRODUÇÃO

A β -lapachona (β -lap) é uma ortonaftoquinona, obtida a partir da *Tabebuia avellanedae* Lor, uma árvore nativa da América do Sul, conhecida popularmente como ipê-roxo ou pau d'arco. Esta naftoquinona tem demonstrado um excelente potencial antineoplásico, atuando por um mecanismo particular de apoptose em diversos tipos de câncer, em especial algumas linhagens de próstata, mama, ovário e leucemias, refratárias aos tratamentos convencionais. Apesar de sua excelente atividade antineoplásica, este fármaco apresenta propriedades físico-químicas que limita a sua solubilidade em água, e consequentemente, a sua biodisponibilidade (LIMA et al., 1962; PRESMICH et al., 2009).

Recentemente, vários sistemas poliméricos biodegradáveis foram desenvolvidos na tentativa de criar microambientes que favoreçam a solubilidade de fármacos pouco solúveis em água, como a β -lapachona. Entre estes sistemas, podemos destacar o uso das ciclodextrinas, que têm sido bastante utilizadas no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, particularmente devido às suas propriedades complexantes, que favorece a solubilização em água de fármacos hidrofóbicos. O ambiente lipofílico da cavidade interna das CDs propicia condições favoráveis para a formação de complexos de inclusão (CI) com compostos hidrófobos (SÁ-BARRETO et al., 2008; GUEDES et al., 2008; LYRA et al., 2010).

O estudo de compatibilidade fármaco-excipiente compõe uma das principais etapas do estudo de pré-formulação de uma forma farmacêutica sólida, pois a presença de incompatibilidades pode alterar a estabilidade e a biodisponibilidade dos fármacos, afetando a sua segurança e eficácia (AULTON, 2005). Este estudo deve ser considerado como o ponto de partida para o desenvolvimento de uma formulação farmacêutica. Pequenas variações nos eventos térmicos são interpretadas como sugestivas de interação e/ou possível incompatibilidade (KISS et al., 2006; VIANA et al., 2008).

As técnicas termoanalíticas possibilitam identificar e caracterizar possíveis incompatibilidades e interações entre os componentes de uma determinada formulação farmacêutica. A aplicação destas técnicas em procedimentos de rotina tem se mostrado rápida, sensível e de fácil operação. Através das curvas termoanalíticas é possível, inicialmente, avaliar o comportamento térmico das substâncias isoladas (fármaco e excipiente) e posteriormente analisar o comportamento da mistura, seja esse processo realizado de modo mecânico ou físico, após a compressão, malaxagem, liofilização, entre outros. Apesar das vantagens, as técnicas termoanalíticas apresentam certas limitações. A extrapolação dos

resultados em altas temperaturas, nem sempre são de acordo com a realidade do processo produtivo de uma formulação (VERMA et al., 2005).

As curvas TG/DTG e DTA fornecem informações relevantes sobre as propriedades físicas das substâncias, tais como, estabilidade, compatibilidade, polimorfismo e análise cinética. Parâmetros cinéticos, como, energia de ativação, fator de frequência e ordem da reação podem ser medidos por métodos termooanalíticos de acordo com a cinética da reação (BURNHAM et al., 2002; CIDES et al., 2006).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito termoprotetor da hidróxi-propil- β -ciclodextrina (HP β CD) sobre a β -lapachona e a compatibilidade térmica entre o complexo de inclusão β -lapachona:HP β CD e os excipientes celulose microcristalina, lactose monohidratada, estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Foram utilizadas as matérias-primas β -lapachona lote 103, semi-sintetizada pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco; celulose microcristalina 101, lote 1743/05 Blanver[®]; lactose monohidratada 80, lote 0722 Meggle[®]; estearato de magnésio, lote 2009121200 Opção Fênix[®]; dióxido de silício coloidal, lote 3158071326 Degussa[®]; e hidróxi-propil- β -ciclodextrina (HP β CD), lote Y1470-185 Kleptose[®]HP. Como solventes foram utilizados álcool etílico absoluto da Merck[®] (Portugal) e água purificada pelo sistema de osmose reversa.

Métodos

O complexo de inclusão β -lap:HP β CD utilizado foi obtido pelo método de solventes onde quantidades equimolares 1:1 (mol/mol) de β -lap e ciclodextrina foram pesadas e solubilizadas separadamente sob agitação mecânica. A β -lap foi solubilizada em álcool etílico e a HP β CD, em água purificada. Após completa solubilização dos compostos, as soluções foram misturadas sob agitação mecânica e posteriormente deixadas em agitador oscilante durante 24h antes de serem secas por atomização em *spray drier* (LabPlant SD-O5). As soluções obtidas foram secas por atomização nas seguintes condições: temperatura de entrada de 145°C, temperatura de saída de $80 \pm 5^\circ\text{C}$, velocidade do fluxo de ar de 40 - 50 m³/h, velocidade do fluxo da solução de 400 mL/h e pressão de ar de atomização de $1,1 \pm 2$ bar. Os

sólidos resultantes foram tamizados em malha de 200 μm e acondicionados em frascos ampolas protegidos da luz (PRESMICH, 2009).

Os estudos termooanalíticos para avaliar a proteção térmica da β -lap na mistura física, mistura mecânica de β -lap e HP β CD na proporção 1:1 (p/p), e do complexo de inclusão β -lapachona:HP β CD, e compatibilidade do complexo (potencial matéria prima) com os excipientes, foram realizados utilizando termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA).

As curvas TG e DTA foram obtidas mediante a termobalança modelo DTG-60H Shimadzu[®], na faixa de temperatura entre 30 e 600°C, sob atmosfera dinâmica de N₂ a um fluxo de 50 mL.min⁻¹, numa razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, utilizando cadinho de platina e massa da amostra de 5 mg.

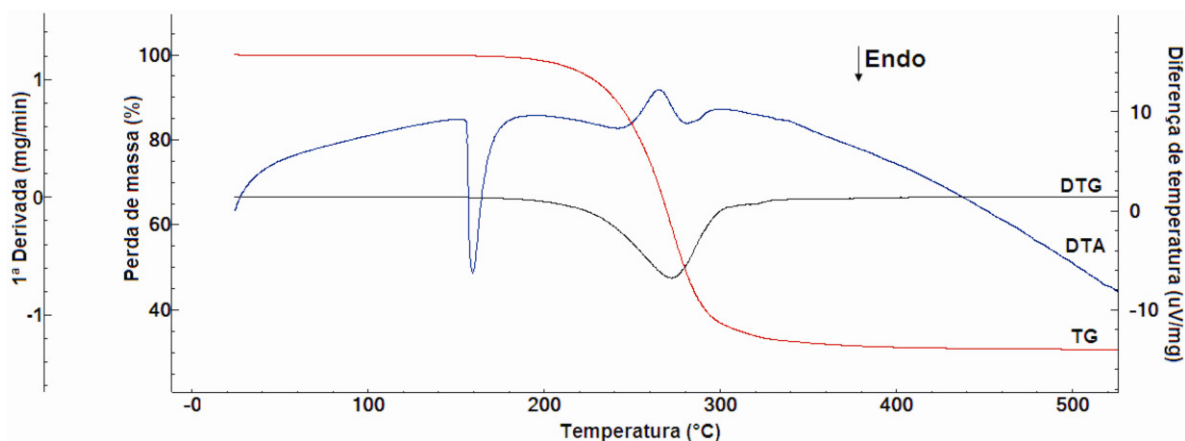
O estudo cinético não-isotérmico da decomposição térmica da β -lapachona e do complexo de inclusão foi realizado sob as mesmas condições apresentadas anteriormente, mas em diferentes razões de aquecimento (β) 5,0 °C, 10,0 °C, 15,0 °C e 20 °C.min⁻¹. A seleção do modelo cinético para o cálculo da energia de ativação (E_a), constante de velocidade (k) e ordem da reação, foi realizado por simulação computacional utilizando o método de OZAWA do TA-60H.

O equipamento foi previamente calibrado com uma amostra de oxalato de cálcio monohidratado (Merck[®]) com pureza de 99,999%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

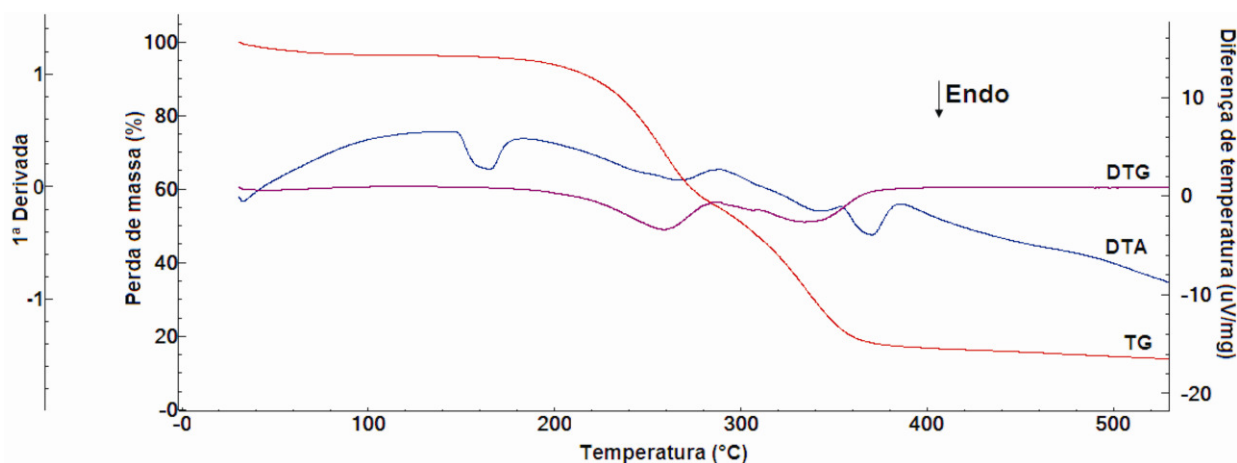
As curvas TG, DTG e DTA da amostra de β -lapachona estão ilustradas na figura 1. A curva TG indica que a forma cristalina deste fármaco foi termicamente estável até 186,4°C e a decomposição térmica ocorreu em um único evento. Este evento ocorreu entre 186,4 e 328,7°C, com perda de massa de 64,9%. Na curva calorimétrica do DTA, foram observados dois eventos térmicos. O primeiro evento (endotérmico), característico da fusão, apresentou ΔT (156,4 – 166,4°C), T_{pico} 156,9 °C e ΔH 124,4 J/g. Já o segundo (exotérmico) apresentou ΔT (250,8 – 277,3°C), T_{pico} 265,3 °C e ΔH 68,18 J/g, concordando com a perda de massa indicada na curva do TG, decorrente da degradação do fármaco.

Figura 1- Curvas TG, DTG e DTA da β -lapachona.



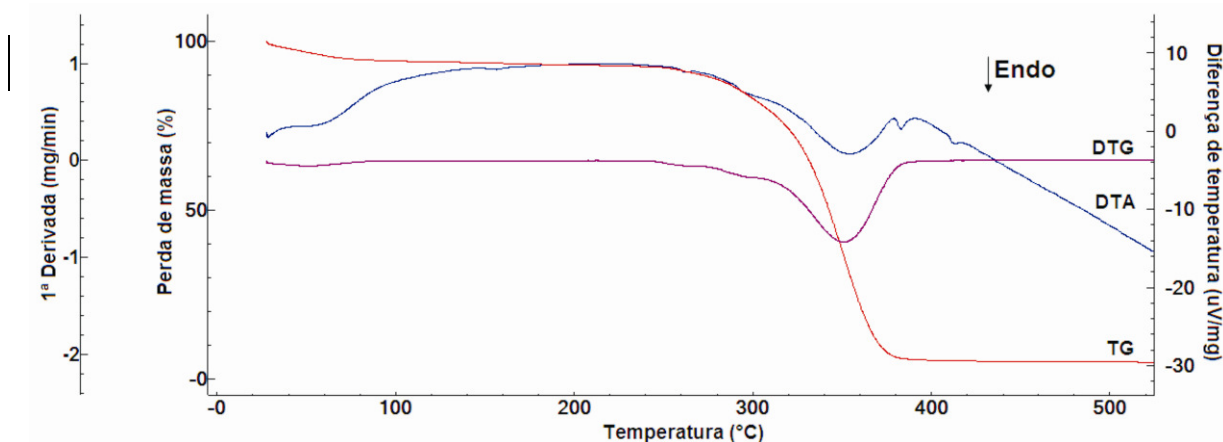
As curvas TG e DTA da mistura física entre a β -lapachona e a HP β CD estão demonstrados na figura 2. A curva TG mostra que houve uma antecipação na degradação do fármaco, em 181,5°C, e a decomposição térmica ocorreu em dois eventos. O primeiro se processou entre 181,5 e 284,4°C, com perda de massa de 39,7%. Já o segundo ocorreu entre 285,4 e 373,0°C, com perda de 37,9%. Isso mostra que a mistura física não é um método apropriado para proteger termicamente a β -lapachona. Na análise térmica diferencial da mistura binária, observa-se uma concordância com a faixa de fusão da β -lapachona, apresentando ΔT (156,2 – 166,0°C), T_{pico} 157,1 e ΔH 68,84 J/g. O pico de fusão apresenta-se em menor intensidade e entalpia porque o fármaco encontra-se em menor proporção na mistura. O segundo evento endotérmico observado coincide com o processo de degradação térmica da ciclodextrina, com ΔT (362,0 – 376,5°C), T_{pico} 367,47 e ΔH 73,17 J/g. Isso mostra que há um efeito somático das curvas DTA dos dois compostos.

Figura 2- Curvas TG, DTG e DTA da mistura física β -lapachona e HP β CD.



Os eventos térmicos observados no complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) estão demonstrados na figura 3. A curva TG indica claramente a proteção térmica proporcionada pela HP β CD, quando complexada com a β -lapachona. A curva termogravimétrica sugere que o complexo garante uma estabilidade térmica à β -lapachona até 252,9°C e a decomposição térmica ocorreu em um único evento. Foi observado que, até 105°C, houve uma perda de massa de 4,9%, correspondendo ao processo de desidratação do composto. O evento correspondente a decomposição térmica do complexo se processou entre 252,9 a 384,8 °C, com perda significativa de massa de 86,3%. A curva DTA do complexo não evidencia a fusão do composto, o que comprova a perda do estado cristalino da β -lapachona quando complexada (β -lapachona:HP β CD). Além disso, os eventos térmicos da decomposição térmica do complexo observados na curva DTA estão de acordo com as perdas de massa indicados no TG.

Figura 3- Curvas TG, DTG e DTA do complexo β -lapachona:HP β CD (Complexo de Inclusão).



Estudo cinético da decomposição térmica da β -lapachona

O método termogravimétrico não-isotérmico é comumente utilizado para determinar a energia de ativação e a ordem da reação de decomposição no estado sólido. A superposição das curvas TG da β -lapachona e do complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) sob diferentes razões de aquecimento são mostradas nas figura 4 e 5, respectivamente. A energia de ativação aparente calculada foi de 62,57 kJ/mol para a β -lapachona isolada e 154,50 kJ/mol para o complexo, na primeira etapa de decomposição térmica. Isso comprova o efeito termoprotetor da HP β CD quando complexada com a β -lapachona, pois será necessário um maior desprendimento de energia para a degradação deste fármaco. Além disto, ambas as

reações de decomposição são de ordem zero, ou seja, são reações em que a velocidade de decomposição é uma constante.

Figura 4- Curvas TG da β -lapachona obtidas em diferentes razões de aquecimento (5,0; 10,0; 15,0; 20°C/min). A figura inserida mostra o método de OZAWA ($G(x) \times \min$).

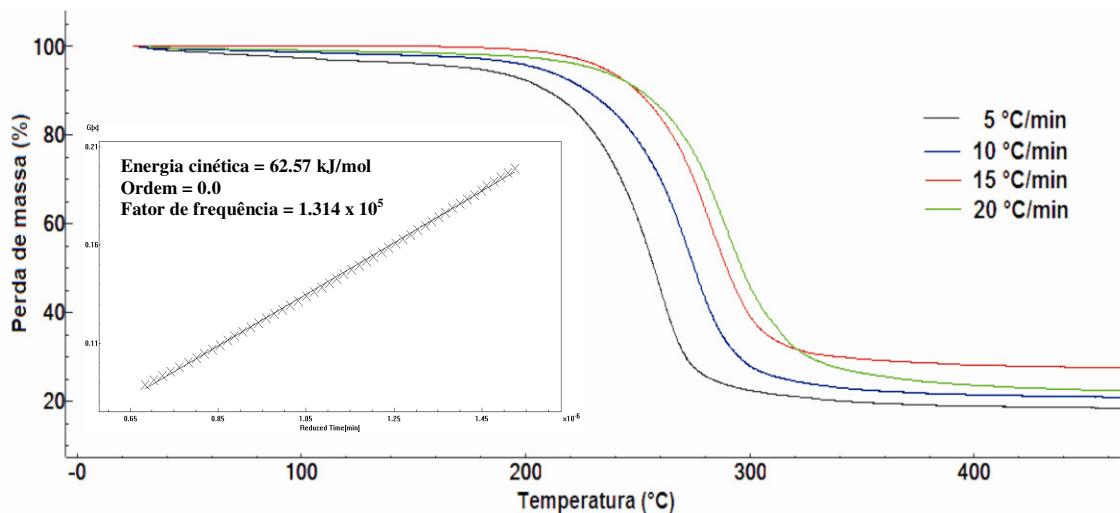
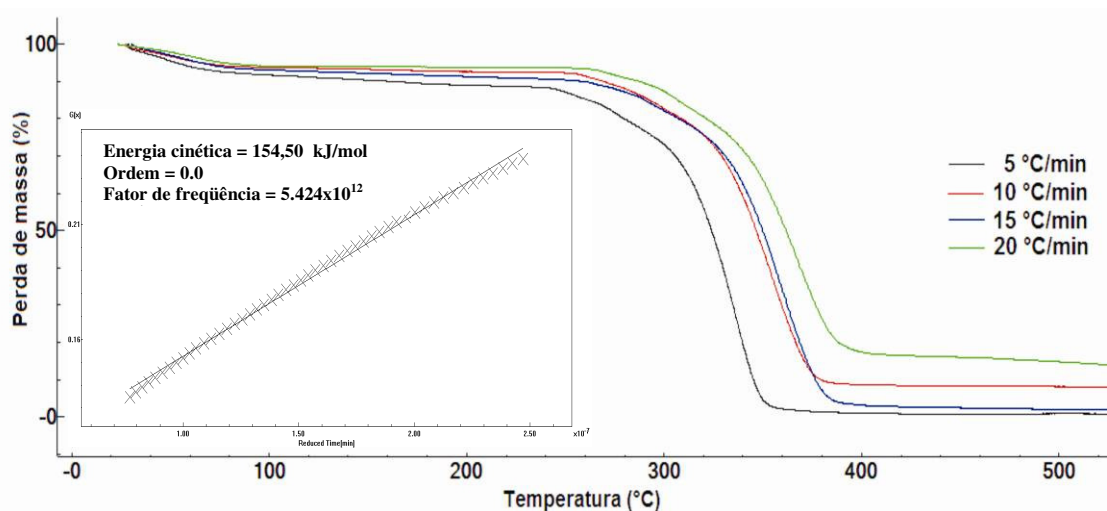


Figura 5- Curvas TG do complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) obtidas em diferentes razões de aquecimento (5,0; 10,0; 15,0; 20°C/min) A figura inserida mostra o método de OZAWA ($G(x) \times \min$).



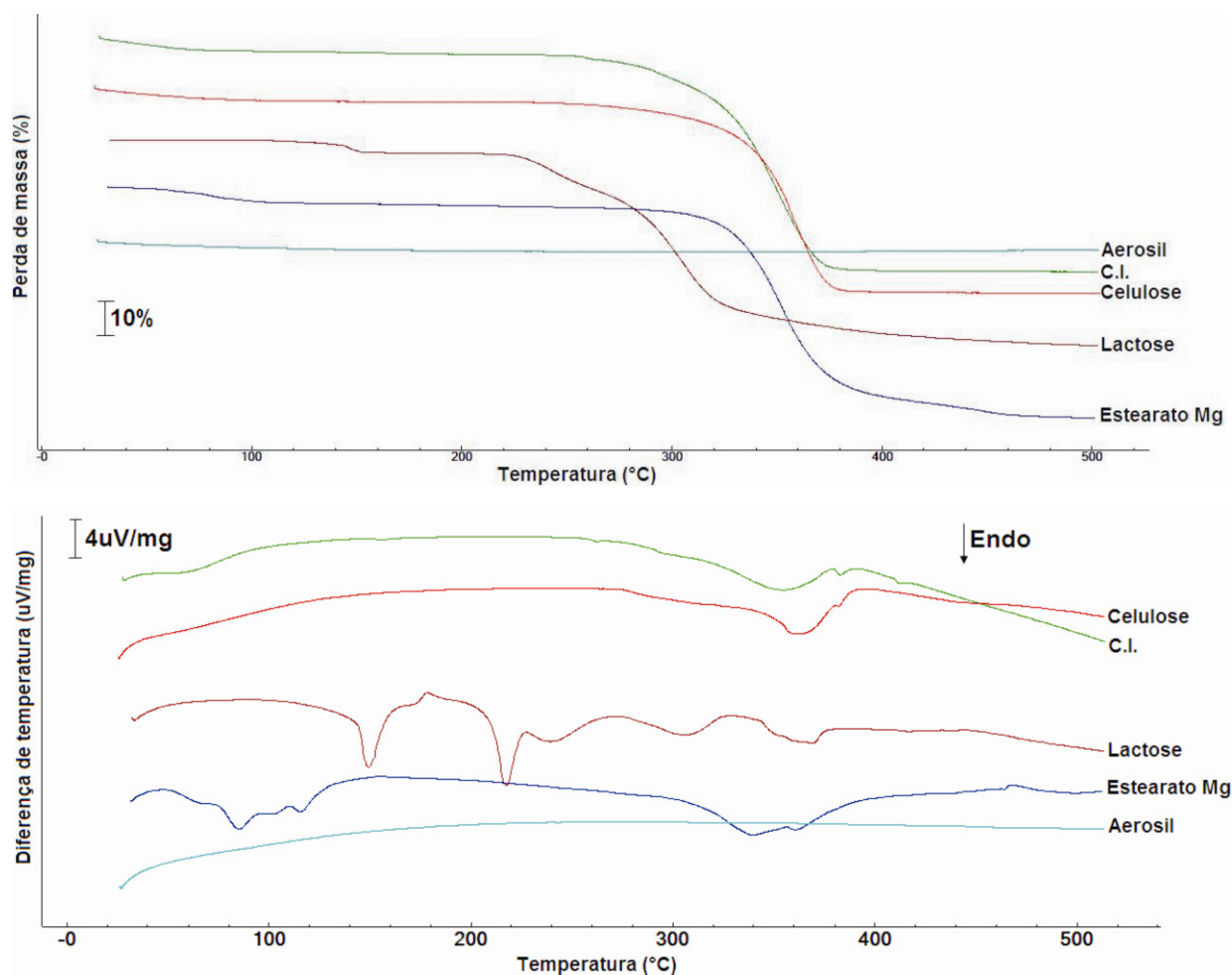
Estudo de compatibilidade entre o complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) e excipientes

Foi realizado o estudo de compatibilidade entre o complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) e os excipientes celulose microcristalina, lactose monohidratada, estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal. Foram obtidas as curvas TG e DTA do complexo

de inclusão (β -lapachona:HP β CD), de cada excipiente e das misturas complexo de inclusão:excipientes (1:1, p/p).

A figura 6 mostra a sobreposição das curvas termogravimétricas e da análise térmica diferencial do complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD) e excipientes isolados.

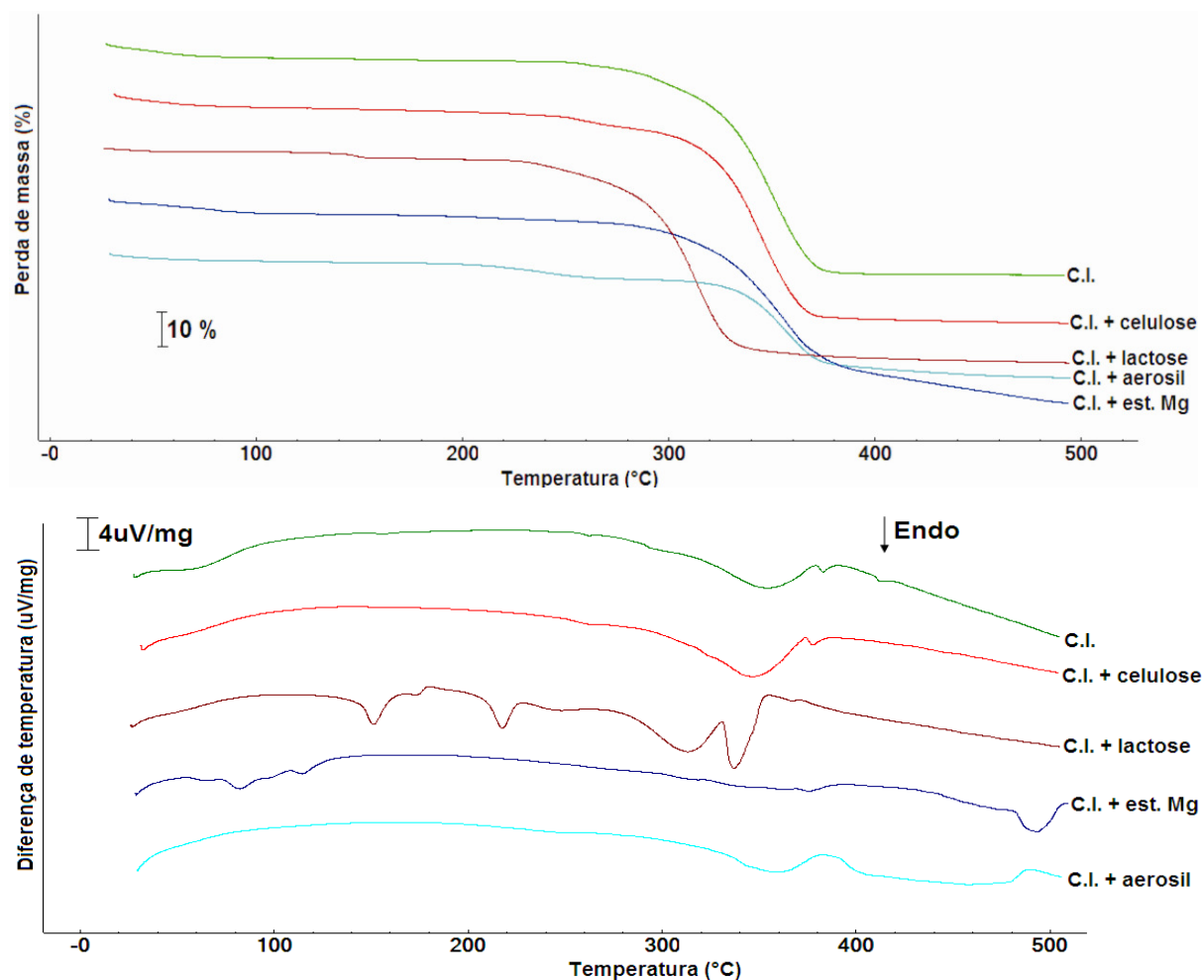
Figura 6- Curvas TG e DTA do complexo de inclusão (C.I.) e excipientes.



Como pode ser visto na figura 6, a curva TG da celulose microcristalina mostrou uma transição endotérmica na faixa de temperatura de 30°C a 105°C, que corresponde à eliminação da água superficial do excipiente, com perda de massa de 4,1%. Após a desidratação, a amostra apresenta-se termicamente estável até 300 °C e a decomposição térmica ocorre em um único evento endotérmico. Este evento ocorre entre 300 a 386,2°C, com perda de massa de 74,6%. A curva DTA da celulose microcristalina apresenta dois eventos térmicos característicos. O primeiro evento corresponde ao evento endotérmico de perda de água superficial, que ocorre entre 30 e 105°C, confirmado pelo TG. O segundo evento corresponde à degradação térmica do excipiente, que ocorre exotermicamente, corroborando com os dados

do TG. As curvas TG e DTA da mistura do complexo e celulose (Figura 7) correspondem ao somatório dos componentes puros. Estes resultados mostram que a interação dos componentes físicos não ocorre dentro da mistura.

Figura 7- Curvas TG e DTA do complexo de inclusão e mistura física (1:1) do fármaco e excipiente.



As curvas TG e DTA da lactose monohidratada estão apresentadas na figura 6. A curva TG da lactose monohidratada apresenta três eventos térmicos característicos de decomposição. O evento que ocorre na faixa de 108 a 172°C, com perda de massa de 4,9%, corresponde à evaporação da água de cristalização, que estequiometricamente contém 5% de água (ROWE et al., 2009). O primeiro evento de decomposição endotérmica da lactose anidra ocorre na faixa de 221,4 a 271,1°C, com perda de massa de 16,8%. Em seguida, ocorre a segunda degradação, na faixa de 271,1 a 349,9 °C, com perda de 49,9%. A perda de massa no terceiro evento foi de 13,8%, na faixa de 349,9 a 500 °C. O comportamento termogravimétrico da mistura do complexo de inclusão com a lactose mostra eventos de perda

de massa característicos do fármaco, indicando a presumível compatibilidade entre as substâncias.

Ao analisar o DTA da lactose, observa-se um pico endotérmico na faixa de 108 a 172 °C ($T_{\text{pico}} = 149,2^{\circ}\text{C}$) com ΔH 103,4 J/g, que corresponde à perda de água de cristalização, evidenciada no TG. Na faixa de 172 a 200°C, observa-se a presença de um evento exotérmico, no entanto não há variação de massa no TG. Esse processo corresponde à transição cristalina da α -lactose na forma β . Após a transição cristalina, ocorre a fusão da β -lactose, na faixa de 210,6 a 217,4 °C ($T_{\text{pico}} = 217,4^{\circ}\text{C}$) e ΔH 128,7 J/g. Os eventos de decomposição térmica ocorrem acima de 225 °C, onde se observa três processos endotérmicos. A primeira decomposição se processa na faixa de 227,5 a 270,2 °C ($T_{\text{pico}} = 239,1^{\circ}\text{C}$) e ΔH 62,1 J/g. O segundo evento ocorre entre 272,6 a 328,4 °C ($T_{\text{pico}} = 305,9^{\circ}\text{C}$) e ΔH 131,0 J/g. Já o terceiro, ocorre entre 333,6 a 379,7 °C ($T_{\text{pico}} = 369,3^{\circ}\text{C}$) e ΔH 112,0 J/g. Ao analisar a curva DTA da mistura complexo de inclusão com a lactose, observa-se que surge um novo evento endotérmico na faixa de 331,09 a 353,75 °C ($T_{\text{pico}} = 336,83^{\circ}\text{C}$) e ΔH 158,57 J/g. Pode-se sugerir que este evento corresponde a uma mudança na rota degradativa do complexo, mas não podemos afirmar que houve incompatibilidade entre as amostras, tendo em vista que a faixa de fusão da α - e β -lactose na mistura permanece a mesma e os outros eventos térmicos são mantidos.

Na curva TG do estearato de magnésio (figura 6), observa-se que na faixa de temperatura de 30 a 105°C, há uma perda de massa de 6%, que corresponde à perda da água de cristalização das formas cristalinas do composto (trihidratada, dihidratada e monohidratada). Após a desidratação, o composto mantém-se termicamente estável até 304,0°C e, a partir desta temperatura, ocorre um único evento de decomposição térmica até 461°C, com perda de massa de 81,8 %. Ao analisar a curva TG da mistura complexo de inclusão/estearato de magnésio (figura 7), observa-se que o estearato proporciona um aumento na estabilidade térmica da mistura, pois a decomposição térmica da mistura inicia-se em 284,7°C, contra os 252,9°C apresentados pelo complexo de inclusão. Isso representa um retardamento de cerca de 30°C na decomposição térmica do complexo. A curva DTA do estearato de magnésio (figura 6) mostra vários eventos endotérmicos entre 50 e 148 °C referentes aos processos de perda da água das formas cristalinas do estearato. A partir de 302°C observa-se um evento endotérmico que chega até 400,4°C ($T_{\text{pico}} = 339,7^{\circ}\text{C}$ e $\Delta H = 454,4$ J/g), que corresponde à decomposição térmica do composto, conforme a perda de massa comprovada pelo TG. Na análise da curva DTA da mistura complexo/estearato de magnésio, observa-se que surge um novo evento endotérmico na faixa de 481,0 a 507,3 °C ($T_{\text{pico}} = 493,3$

°C e $\Delta H = 87,59$ J/g). Esse evento ocorre após a decomposição do composto, logo sugerir-se que seja uma alteração na rota degradativa da mistura, e não uma incompatibilidade.

As figuras 6 e 7 mostram o comportamento térmico do dióxido de silício (aerosil) isolado e o presente na mistura, respectivamente. A partir da curva TG observa-se um único evento térmico característico, que ocorre na faixa de 30 a 105 °C, com perda de massa de 2,3 %. Esse evento corresponde à evaporação da água de hidratação do dióxido de silício coloidal, que possui uma característica adsorvente. Ao analisar a curva TG da mistura complexo de inclusão/dióxido de silício coloidal, observam-se dois eventos de decomposição térmica. O primeiro evento, com perda de massa de 5,6 %, corresponde à decomposição da β -lapachona não complexada, pois o início da decomposição coincide com o da β -lapachona isolada, que é de 186,4 °C. No segundo evento, com perda de massa de 34,57%, observa-se que há um aumento na estabilidade térmica do complexo, pois há um deslocamento da curva TG para a direita, com início da decomposição térmica em 307,8 °C. Isso representa um retardamento na etapa de decomposição de aproximadamente 63°C, quando comparado com o complexo de inclusão isolado. A curva DTA do dióxido de silício coloidal apresenta características de um composto não cristalino, pois não há nenhum pico endotérmico característico de estruturas cristalinas. O comportamento térmico da mistura (complexo e aerosil) mostra que não há incompatibilidade entre os componentes, porém há uma discreta interação física em 186 °C, onde há uma perda de 5,6% de massa. No entanto, a proporção utilizada deste adjuvante na formulação de uma cápsula varia de 0.1 a 1.0 % (p/p), de acordo com o Handbook (2009), sendo esta proporção muito inferior aos 50% utilizados no estudo de compatibilidade. Assim, não há nenhum impedimento para a utilização do aerosil na formulação.

Os valores da temperatura inicial da decomposição térmica e perdas de massa do complexo de inclusão após a mistura com os excipientes são listados na tabela 1.

Tabela 1- Parâmetros calorimétricos do complexo de inclusão e mistura com excipientes.

Amostras	TG		Perda de massa (%)	
	T _{inicial dec.} TG (°C)	T _{pico dec.} DTG (°C)	1° evento	2° evento
Fármaco				
Complexo de inclusão	252,9	350,75	86,3	-
Fármaco/excipiente				
Celulose Microc.	251,51	344,23	82,0	-
Lactose Mono.	226,43	314,57	77,6	-
Estearato de Mg	267,70	353,83	61,41	12,10
Dióxido de silício	307,8	356,38	34,57	-

CONCLUSÃO

A mistura física entre a β -lapachona e a HP β CD demonstrou não ser o método mais apropriado para proteger termicamente a β -lapachona, sendo comprovado que o complexo de inclusão formado entre esses dois compostos proporciona maior estabilidade térmica.

Não houve incompatibilidade térmica quando utilizadas as misturas, na proporção 1:1 (p/p), do complexo de inclusão com as matérias-primas, celulose microcristalina 101, lactose 80, estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal, indicando que estes excipientes podem ser utilizados no desenvolvimento farmacotécnico de formas farmacêuticas sólidas, em associação com o complexo de inclusão.

REFERÊNCIAS

- AULTON, M.E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed editora, 2005, p. 410.
- BURNHAM, L.; DOLLIMORE, D.; ALEXANDRE, K.S.. Kinetic study of the drug acetazolamide using thermogravimetry. **Thermochimica Acta**, v. 392, p.127-33, 2002.
- CIDES, L.C.S.; ARAÚJO, A.A.S.; SANTOS-FILHO, M.; MATOS, J.R. Thermal behaviour, compatibility study and decomposition kinetics of glimepiride under isothermal and non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 84, n. 2, p. 441-5, 2006.
- GUEDES, F.L.; ALVES, G.M.C.; SANTOS, F.L.A.; LIMA, L.F.; ROLIM, L.A.; ROLIM NETO, P.J. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.89, n.3, p. 220-25, 2008.
- KISS, D.; ZELKO, R.; NOVÁK, C.; ÉHEN, Z. Application of DSC and NIRS to study the compatibility of metronidazole with different pharmaceutical excipients. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 84, n.2, p.447-451, 2006.
- LIMA, O.G.; ALBUQUERQUE, I.; LIMA, C.G.; MAIA, M.H. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores – comunicação XX: atividade antimicrobiana de alguns derivados do lapachol em comparação com a xoloidona, nova ortonaftoquinona natural isolada de extratos do cerne do “Pau d’arco roxo”, *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. **Revista do Instituto de Antióticos/UFPE**, v. 4, p.3-17, 1962.
- LYRA, M.A.M.; ALVES, L.D.S.; FONTES, D.A.F.; SOARES-SOBRINHO, J.L.; ROLIM-NETO, P.J. 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.
- PRESMICH, G.M.A. **Incremento da Solubilidade/Dissolução da β -lapachona utilizando Tecnologias de Dispersões Sólidas e Complexos de Inclusão**. 2009. 167f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; OWEN, S.C. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 5^a ed. London: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, p. 185-8, 2009.

SÁ-BARRETO, L.C.L.; CUNHA-FILHO, M.S.S. Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, n.4, p.629-36, 2008.

VERMA, R.K.; GARG, S. Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug-excipient compatibility testing. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n.4, p. 633-44, 2005.

VIANA, O.S.; ARAÚJO, A.A.S.; SIMÕES, R.A.; SOARES, J.L.; MATOS, C.R.S.; GRANJEIRO-JÚNIOR, S.; LIMA, C.M.; ROLIM-NETO, P.J. Kinetic analysis of the thermal decomposition of efavirenz and compatibility studies with selected excipients. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n.2, p. 211-6, 2008.

Capítulo V

7.1 Artigo V – Desenvolvimento de um novo medicamento para o tratamento de câncer de próstata a base β -lapachona

Artigo a ser submetido ao Journal AAPS PharmSciTech

Qualis Capes para Farmácia: B2

Desenvolvimento de um novo medicamento para o tratamento de câncer de próstata a base de β -lapachona

José Lourenço de Freitas Neto¹, Geisiane Maria Alves Presmich¹, Danilo Fontes¹, Larissa Araújo Rolim¹, Pedro José Rolim Neto¹, Miracy Muniz de Albuquerque^{2*}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

*e-mail para correspondência: miracy@ufpe.br

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um medicamento inovador utilizando a microencapsulação da β -lapachona para terapias antineoplásicas refratárias. A β -lapachona é um fármaco bastante promissor, com atividade antineoplásica diferenciada para neoplasias de ciclo celular lento, no entanto possui baixíssima solubilidade em água, o que dificulta a sua veiculação em formas farmacêuticas sólidas. Essa limitação foi revertida com a formação do complexo de inclusão com a hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), que favoreceu a sua solubilização. Atualmente, este fármaco encontra-se em estudo clínico fase II no tratamento de câncer pancreático. Os objetivos deste trabalho foram a obtenção do complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD), o desenvolvimento farmacotécnico de uma forma farmacêutica sólida e a seleção dos melhores parâmetros de dissolução para a formulação desenvolvida por planejamento fatorial. Os resultados demonstraram que a formulação selecionada correspondeu às especificações físico-químicas, além de apresentar ótima viabilidade econômica. Dessa forma, o desenvolvimento deste novo medicamento apresenta grande importância científica e tecnológica, devido à possibilidade de tornar-se uma nova alternativa terapêutica para o tratamento de diversas linhagens de câncer humano, especialmente naqueles pacientes onde as terapias tradicionais não demonstram resultados satisfatórios.

Palavras-chave: forma farmacêutica sólida, β -lapachona, complexo de inclusão, antineoplásico.

INTRODUÇÃO

As neoplasias malignas constituem, no Brasil, a segunda causa de morte, representando quase 17 % dos óbitos de causa conhecida, notificados em 2007 no sistema de informação sobre mortalidade. As estimativas para o ano de 2012 serão válidas também para o ano de 2013 e apontam a ocorrência de aproximadamente 518.510 casos novos de câncer no país. Os tipos mais incidentes, à exceção do câncer de pele do tipo não melanoma, serão os cânceres de próstata e de pulmão no sexo masculino e os cânceres de mama e do colo do útero no sexo feminino, acompanhando o mesmo perfil da magnitude observada para a América Latina (INCA, 2011).

Diante desse cenário, fica clara a necessidade de continuidade em investimentos no desenvolvimento de ações abrangentes para o controle do câncer, nos diferentes níveis de atuação, como: na promoção da saúde, na detecção precoce, na assistência aos pacientes, na vigilância, na formação de recursos humanos, na comunicação e mobilização social, na pesquisa científica e na gestão do Sistema Único de Saúde (INCA, 2011).

No campo da pesquisa, inúmeros trabalhos vêm sendo realizados com a β -lapachona ($C_{15}H_{14}O_3$, M.M. 242,3), um novo agente antineoplásico com seletividade contra certos tipos de cânceres. Este ativo é uma naftoquinona de caráter lipofílico, obtida a partir da *Tabebuia avellanedae* Lor, uma árvore nativa da América do Sul, conhecida popularmente como ipê-roxo ou pau d'arco. Estudos realizados *in vitro* e *in vivo* comprovam que a β -lapachona apresenta diversas atividades farmacológicas, incluindo, atividades bacterianas (PEREIRA et al., 2006), antifúngica (MEDEIROS et al., 2010), antitripanossômica (FERREIRA et al., 2008), antiinflamatória (MOON et al., 2007) e antineoplásica (OUGH et al., 2005).

Diversos estudos *in vitro* demonstram a excelente atividade antineoplásica da β -lapachona, principalmente para as linhagens de câncer refratárias aos tratamentos convencionais, como o câncer de próstata, mama, ovário, leucemias, melanoma, pâncreas e colón agindo por um mecanismo diferente dos apresentados por drogas antineoplásicas utilizadas nos esquemas terapêuticos atuais (OUGH et al., 2005; BENTLE et al., 2006; PINK et al., 2000; BEY et al., 2007). Atualmente, este fármaco encontra-se em estudo clínico de fase II para o tratamento de câncer pancreático (BENTLE et al., 2006).

Estudos recentes têm demonstrado que o mecanismo de ação da β -lapachona é altamente específico e dependente da expressão da enzima NAD(H):quinonaoxidorredutase (NQO1). Esta enzima é uma flavoproteína encontrada numa concentração 20 vezes superior em células neoplásicas quando comparada com tecidos normais adjacentes em uma variedade de tumores, tais como, os de pâncreas, pulmão, mama e próstata. Este mecanismo particular

de ação a diferencia de todos os outros tradicionais agentes quimioterápicos (OUGH et al., 2005; BEY et al., 2007; BENTLE et al., 2006).

Apesar de todas as comprovações de seu excelente potencial antineoplásico, a β -lapachona apresenta propriedades físico-químicas que limita a sua biodisponibilidade e eficácia terapêutica. Este fármaco, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica pertence à classe II (alta permeabilidade e baixa solubilidade). Sua deficiente solubilidade em fluidos aquosos dificulta a sua incorporação em formas farmacêuticas orais (ALVES et al., 2008). Recentemente, vários sistemas poliméricos biodegradáveis foram desenvolvidos com a esperança de criar microambientes que favoreçam a solubilidade de fármacos pouco solúveis em água, entre os quais, podemos destacar a formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas (GUEDES et al., 2008).

Baseando-se neste contexto, foram desenvolvidas duas formulações contendo β -lapachona complexada com ciclodextrinas, na intenção de alcançar um incremento na solubilidade deste fármaco. Além disso, foi desenvolvido um método de dissolução, através da análise da solubilidade do fármaco em diferentes meios, com a aplicação do planejamento fatorial 2^3 e realização de todos os controles de qualidade preconizados pela Farmacopéia Brasileira 5ª edição para forma farmacêutica cápsula (BRASIL, 2010).

Para a obtenção do complexos de inclusão com a β -lapachona foi utilizada a 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), de acordo com estudos anteriores realizados por Presmich em 2009.

MATERIAIS E MÉTODOS

Substâncias e Reagentes

A β -lapachona (β -lap; lote: 103; MM = 242,3) utilizada foi produzida pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (Brasil). Como solventes foram utilizados álcool etílico absoluto da Merck® e água purificada miliQ. Todos os reagentes (Solução de ácido clorídrico 0,1 M e cloreto de sódio todos marca Vetec®) foram de qualidade analítica. Os excipientes utilizados para obtenção das formas farmacêuticas foram: 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD; Kleptose® HP, lote Y1470-185, MM = 1390), celulose microcristalina (Microcrystalline Cellulose, lote 1743/05, Microcel®), Lactose Monohidratada (Tablettose® 80, lote 0722, Meggle®), estearato de Magnésio (lote 2009121200, Opção Fênix®) e dióxido de silício coloidal (DSColoidal®, lote 3158071326, Degussa®).

Obtenção e caracterização do complexo de inclusão por Secagem por Atomização

O complexo de inclusão β -lapachona:HP β CD foi obtido utilizando-se a proporção estequiométrica de 1:1. O fármaco e a ciclodextrina foram solubilizados, respectivamente, em álcool etílico e água purificada, em seguida, as soluções foram reunidas em um mesmo recipiente e submetidas à agitação constante, por um período de tempo de 24h, a fim de se atingir o equilíbrio termodinâmico da encapsulação. A secagem de complexo formado foi realizada por atomização em spray-drier (LabPlant SD-O5). Os parâmetros utilizados neste procedimento foram os seguintes: temperatura de entrada de 145°C, temperatura de saída de 80 $\pm$ 5°C, velocidade de fluxo de ar de 40-50m³/h, velocidade do fluxo da solução de 400 mL/h e pressão de ar de atomização de 1,1 $\pm$ 2,0 bar.

Para avaliar a formação do complexo de inclusão foi utilizado um conjunto de ferramentas analíticas. Foram empregados os seguintes ensaios para sua caracterização: microscopia eletrônica de varredura (Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol[®] 5600 LV), calorimetria exploratória diferencial (DSC) em Calorímetro de Varredura Shimadzu[®] DSC-50 interligado ao software Shimadzu[®] TA-60WS/TA-50WS (Kyoto, Japão), difração de raios-X obtidos num difratômetro SIEMENS (X-Ray Diffractometer, D-5000), equipado com anodo de cobre, e espectroscopia vibracional no infravermelho (FTIR) em um espectrômetro Burker[®] FT-IR / IFS 66. As amostras foram preparadas na concentração de 1% em pastilhas de KBr.

Desenvolvimento Farmacotécnico das Cápsulas

As cápsulas foram planejadas para conter 25 mg de β -lap complexada com HP β CD, pelo método de atomização por spray-dried. Foram desenvolvidos dois lotes de bancada (peso médio 300mg, cápsula tamanho 1) variando-se apenas os diluentes nas formulações, que continham os seguintes excipientes: celulose microcristalina (diluente), lactose monohidratada (diluente), estearato de magnésio (lubrificante) e dióxido de silício coloidal (antiaderente).

Os limites considerados de cada componente na formulação foram definidos de acordo com o Handbook de excipientes e as quantidades normalmente empregadas nas formulações (ROWE, 2009). A percentagem do complexo de inclusão nas cápsulas foi fixada de 56,49%; a lactose e a celulose foram de 41,51%; e o estearato de magnésio e o dióxido de silício, 1%, conforme a tabela 1.

Tabela 1. Composição dos Lotes de Bancadas desenvolvidos.

Componentes da Formulação	LB-01 (%)	LB-02 (%)
Complexo de inclusão (β -lapachona:HP β CD)	56,49	56,49
Lactose monohidratada	—	41,51
Celulose microcristalina	41,51	—
Estearato de Magnésio	1,0	1,0
Dióxido de silício coloidal	1,0	1,0

O tamanho definido para cada lote foi de 50 cápsulas (lote de bancada), totalizando 15g por lote. O processo de obtenção das formulações foi realizado em duas etapas de mistura, utilizando um misturador em “V”. Na primeira etapa, foram homogeneizados o complexo de inclusão e o diluente, durante dez minutos. Em seguida, foi adicionado e homogeneizado o estearato de magnésio e o dióxido de silício coloidal por cinco minutos. O produto foi encapsulado em invólucro “1” transparente (Capsugel®) e acondicionado em recipiente de polietileno hermeticamente fechado. Durante a realização da preparação farmacêutica, as condições ambientais foram controladas com um termohidrômetro. A temperatura ambiente ficou em $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa $30\% \pm 5\%$.

Os controles de qualidade físico-químicos dos lotes de bancadas desenvolvidos foram realizados de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5^a ed. utilizando os seguintes equipamentos: balança analítica (Bioprecisa, FA2104N); desintegrador (Nova Ética, 301-AC); balança de infravermelho (Sartorius, MA 35); espectrofotômetro Uv-visível (Shimadzu, UVmini-1240) e dissolutor (Varian, VK7010).

Peso Médio, Desintegração e Umidade das cápsulas

Para avaliar o peso médio, a desintegração e a umidade das cápsulas foram seguidas as especificações da Farmacopeia Brasileira 5^a edição (BRASIL, 2010).

Determinação do teor de β -lapachona nas cápsulas desenvolvidas

Para quantificação da β -lapachona nos ensaios foram obtidas curvas de calibração a partir de uma solução mãe de β -lapachona em álcool etílico absoluto na concentração de 100 $\mu\text{g/ml}$ (com sonicação por 10 min). Posteriormente, sucessivas diluições foram realizadas, utilizando o sistema de solventes etanol:água (60:40), para a construção das curvas de calibração, nas seguintes concentrações: 0,5, 1, 2, 4 e 5 $\mu\text{g/mL}$. Os espectros de absorção da

β -lap no espectrofotômetro UV-Vis foram obtidos a 256 nm, utilizando como branco o sistema de solventes. A metodologia utilizada para quantificação dos percentuais de β -lapachona solubilizados foi desenvolvida e validada por Presmich e colaboradores em 2010, para o controle de qualidade das cápsulas desenvolvidas.

Estudo de Solubilidade

O estudo de solubilidade foi realizado em duplicata, utilizando o banho-maria sob agitação, para comparar a solubilidade da β -lapachona e do complexo de inclusão em diferentes meios de dissolução e avaliar o melhor meio. Os meios previamente selecionados foram: água purificada, suco gástrico simulado (SGS) e HCl 0,1 M, preparados de acordo com a Farmacopeia Americana (USP, 2010). As amostras foram colocadas em tubos de ensaios juntamente com os meios de dissolução, e submetidas a uma agitação constante a 37 °C, por um período de 24h, até completa saturação do meio. Em seguida, as amostras foram filtradas, em papel de filtro 0,28 μ m, diluídas de 1 para 100 e analisadas no ultra-violeta em um comprimento de onda de 256 nm, de acordo com metodologia validada (PRESMICH et al., 2010).

Desenvolvimento do Método de Dissolução

Por se tratar de um ensaio que envolve um grande número de variáveis, o teste de dissolução exige um conhecimento prévio das propriedades físico-químicas da substância ativa e de todos os parâmetros fisiológicos relevantes mimetizados no ensaio.

Através da aplicação do planejamento fatorial foi determinado o grau de influência das variáveis sobre o percentual de β -lapachona dissolvido e qual a combinação entre elas para se obter os melhores parâmetros da dissolução.

Após a seleção dos melhores meios de dissolução, pelo estudo de solubilidade, realizou-se um planejamento fatorial com as seguintes variáveis para o ensaio de dissolução: forma da matéria prima (β -lapachona na forma cristalina e a complexada com HP β CD por spray-drier), velocidade de rotação do aparato pá (75 e 100 rpm) e meio de dissolução (suco gástrico simulado e HCl 0,1 M), portanto um planejamento fatorial 2^3 . Os ensaios foram realizados em triplicatas, sendo possível ter uma estimativa mais efetiva do desvio padrão de cada variável, podendo-se definir com mais segurança se uma variável ou combinação era ou não significativa e digna de interpretação para certo nível de confiança.

Com a seleção dos parâmetros de dissolução, foram realizados os perfis de dissolução dos dois lotes desenvolvidos no laboratório (LB-01 e LB-02). O estudo foi avaliado no

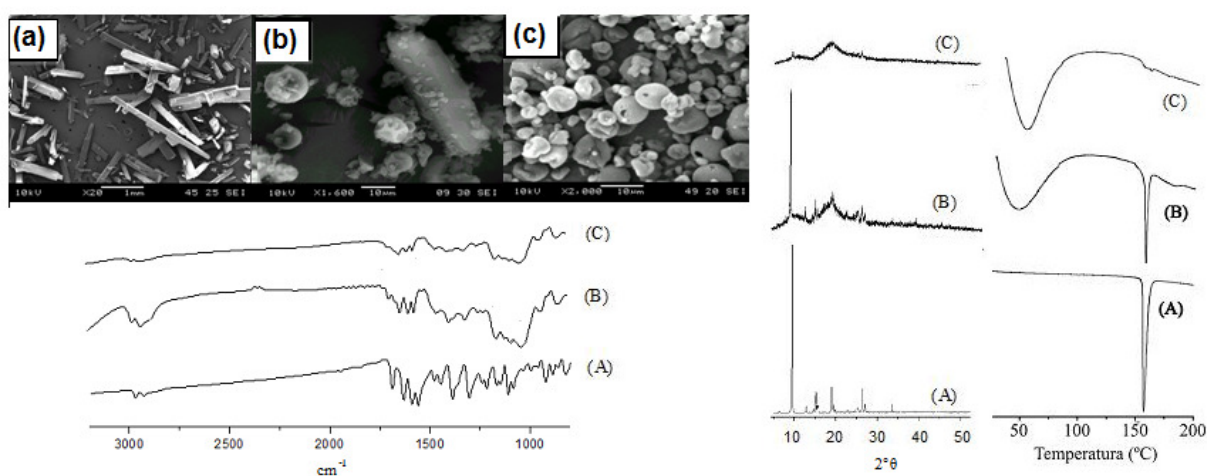
dissolutor Varian VK 7010 com uma duração de 60 minutos, coletando-se alíquotas nos tempos de 5, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos. As amostras coletadas foram adequadamente diluídas e analisadas em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 256 nm até o tempo de 60 min. Para avaliar o perfil de dissolução das duas formulações foi empregada a eficiência de dissolução em 15 minutos (ED_{15min}).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Caracterização do complexo de inclusão β -lap:HP β CD

O complexo de inclusão obtido foi caracterizado para confirmação dos dados referentes a estudos anteriores que avaliaram o melhor método de obtenção e ciclodextrina a ser utilizada para o incremento da solubilidade deste fármaco. Os resultados estão descritos na figura 1, sendo (a) = fármaco isolado, (b) = mistura física e (c) = complexo de inclusão atomizado.

Figura 1- Resultados da caracterização do complexo de inclusão, por MEV, infravermelho, raios X e DSC.



A análise de MEV fornece informações sobre o grau de interação entre componentes e permitem relacionar as propriedades morfológicas dos complexos de inclusão com a solubilidade ou seu perfil de dissolução. A eletromicrografia obtida da β -lapachona permitiu identificar a sua forma cristalina, visível macroscopicamente, com cristais aciculares bem definidos de tamanho regular. Já na mistura física (MF), observa-se que houve uma redução no tamanho das partículas, no entanto não houve a interação do fármaco com a ciclodextrina, o que mostra que a técnica de obtenção não é a ideal para a formação do complexo de inclusão. No complexo obtido por atomização, houve uma redução drástica no tamanho das

partículas, originando-se um produto heterogêneo com aparência esférica, o que facilita a sua solubilidade por aumentar a sua área superficial. Estas características particulares indicam a existência de uma nova fase sólida, com possíveis interações entre o fármaco e a ciclodextrina.

No difractograma da β -lapachona, observa-se um perfil tipicamente de compostos policristalinos, com picos principais bem definidos em $9,5^\circ$ (2θ) e picos secundários em 12.95 , 16.30 , 19.03 , 26.40 e 34.98° (2θ). Na mistura física, observa-se ainda a presença do pico principal, no entanto há um alargamento e diminuição dos picos secundários, sugerindo-se que não houve a formação de um composto completamente não cristalino. Nos produtos obtidos por atomização com a HP β CD, observa-se que há o desaparecimento do pico principal, com o desaparecimento e alargamento de alguns picos secundários, o que caracteriza a formação de um composto amorfo. A ausência de picos bem definidos pode representar a formação do complexo de inclusão, com a formação das possíveis interações ocorridas entre a β -lapachona e a ciclodextrina.

A caracterização térmica do fármaco isolado apresentou características típicas de um produto cristalino com elevado grau de pureza e pico de fusão bem definido ($T_{\text{end set}}=156,46^\circ\text{C}$ e $\Delta H=91,01$ J/g). A curva DSC obtida para a MF apresenta um pico de fusão semelhante ao da β -lapachona isolada, indicando que não houve a formação do complexo de inclusão, uma vez que não houve o desaparecimento ou redução do pico. Tal resultado está de acordo com os demonstrados na difração de raio-x e MEV, onde se comprova que não houve a formação do complexo. Já nos produtos obtidos por secagem por atomização com a HP β CD, observa-se que houve o desaparecimento do pico de fusão do fármaco, o que contribui para evidenciar a formação do complexo de inclusão.

Através da análise por espectrofotometria no infravermelho, foi possível identificar as principais interações dos complexos sólidos obtidos por diferentes métodos de obtenção. Ao analisar a figura 1, observa-se que o espectro de infravermelho da mistura física corresponde à sobreposição dos espectros da β -lapachona e da ciclodextrina isolados. A diminuição geral da intensidade das diferentes bandas características da β -lapachona foi atribuída à presença de uma quantidade proporcionalmente inferior de fármaco nas pastilhas de KBr dos sistemas binários, o que resulta na diluição da β -lapachona pela ciclodextrina. No espectro do complexo de inclusão atomizado, observa-se uma redução quase que total da banda (2977 cm^{-1}) vibracional correspondente à deformação axial da ligação C-H do anel aromático. Esta alteração permite confirmar que o composto obtido por secagem por atomização possui uma

modificação do ambiente químico do fármaco, caracterizando a formação do complexo de inclusão estáveis na forma sólida.

Os sinais na região 1694 cm^{-1} , atribuído à banda de deformação axial de C=O, 1591 cm^{-1} , referente à deformação axial C-C do anel e $313,7\text{ cm}^{-1}$, referente à deformação axial assimétrica de C-O-C, não foram observado no composto atomizado β -lapachona:HP β CD. O somatório dos efeitos encontrados no espectro de FTIR da amostra atomizada identifica uma real interação entre a ciclodextrina e a β -lapachona, podendo-se afirmar que houve a formação de complexos de inclusão estáveis devido às possíveis interações ocorridas entre o fármaco e a ciclodextrina.

Estudo de Solubilidade

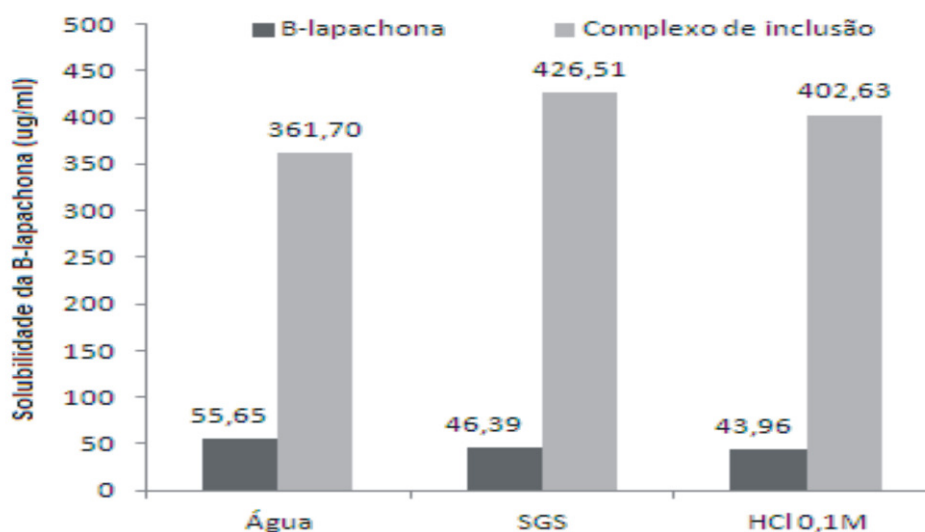
Para o desenvolvimento de um teste de dissolução é necessário a compilação dos dados referentes às principais propriedades físicas e químicas do princípio ativo da formulação em questão. Entre as quais podemos destacar, o pK_a , a solubilidade e a estabilidade da substância em solução.

O volume do meio de dissolução pode variar de 500 a 1000 mL, sendo 900 mL o volume mais utilizado (USP, 2010). Deve-se assegurar, no entanto, que a condição *sink* seja mantida, para evitar que a velocidade de dissolução seja influenciada pela saturação durante a realização do teste (MARQUES et al., 2002).

Em virtude da ausência de metodologias relacionadas à dissolução da β -lapachona, foi necessário, inicialmente, avaliar a solubilidade do referido composto em diferentes meios de dissolução, de modo a selecionar o conjunto de parâmetros mais adequados para ser adotado no ensaio de dissolução.

Dessa forma, realizou-se um estudo comparativo da solubilidade da β -lapachona isolada e do complexo de inclusão, na intenção de comprovar que a HP β CD cria um microambiente que favorece a solubilização do fármaco. Os resultados obtidos em diferentes meios de dissolução são apresentados na figura 2.

Figura 2- Solubilidade da β -lapachona e do Complexo de inclusão em diferentes meios de dissolução.



Os resultados da solubilidade da β -lapachona em soluções aquosas mostram que a obtenção do complexo de inclusão com a HP β CD por atomização favoreceu o incremento da sua solubilidade. Este aumento pode ser justificado pela redução da cristalinidade do fármaco e pelas propriedades tensoativas das ciclodextrinas, que reduzem a tensão interfacial entre a β -lapachona e o meio de dissolução, levando a uma solubilidade maior do composto.

Na figura 2, observa-se que os melhores meios de dissolução para o complexo foram o suco gástrico simulado e a solução de HCl a 0,1M, que serão utilizados no desenvolvimento do teste de dissolução.

Desenvolvimento do Teste de Dissolução

Após a seleção dos melhores meios de dissolução, através do estudo de solubilidade, realizou-se um planejamento fatorial 2^3 com alguns parâmetros importantes da dissolução. Cada parâmetro apresentou dois níveis de variação, sendo atribuído o sinal (+) para um e (-) para outro. Estes sinais foram atribuídos aleatoriamente, não sendo indicativo de melhor, ou pior condição (Tabela 2) (Leal et al., 2008).

Tabela 2- Definição dos níveis de planejamento fatorial 2^3 .

Sinal	Rotação (rpm)	Meio	Matéria prima
+	100	HCl 0,1 M	β -lapachona:HP β CD atomizada
-	75	SGS	β -lapachona cristalina

Através deste estudo foram investigadas as influências das seguintes variáveis: velocidade de rotação, tipo de meio e forma da matéria prima, em dois níveis de variação.

Foram realizadas oito combinações diferentes, através da permutação dos três parâmetros selecionados, sendo possível estabelecer uma correlação simultânea com todos os níveis de variáveis. Todo o experimento foi realizado em triplicata. No planejamento proposto buscou-se determinar a influência direta de cada variável isolada e dos seus cruzamentos. Os resultados estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3- Resultados do planejamento fatorial 2^3 , em 15 minutos de dissolução.

Rotação (R)	Meio (M)	Matéria prima (MP)	Média±DP
-	-	-	2,89±0,15
+	-	-	2,20±0,09
-	+	-	2,05±0,43
+	+	-	1,82±0,23
-	-	+	90,40±3,31
+	-	+	83,67±4,73
-	+	+	96,53±1,64
+	+	+	85,55±1,19

Ao analisar a média de cada combinação, observa-se que há uma grande diferença no percentual de β -lapachona dissolvida quando se compara a forma cristalina (-) com a complexada (+) da matéria prima. Isso é comprovada pela formação do complexo de inclusão do fármaco com a HP β CD, o que cria um microambiente que favorece a sua solubilização do mesmo (NASONGKLA et al., 2003).

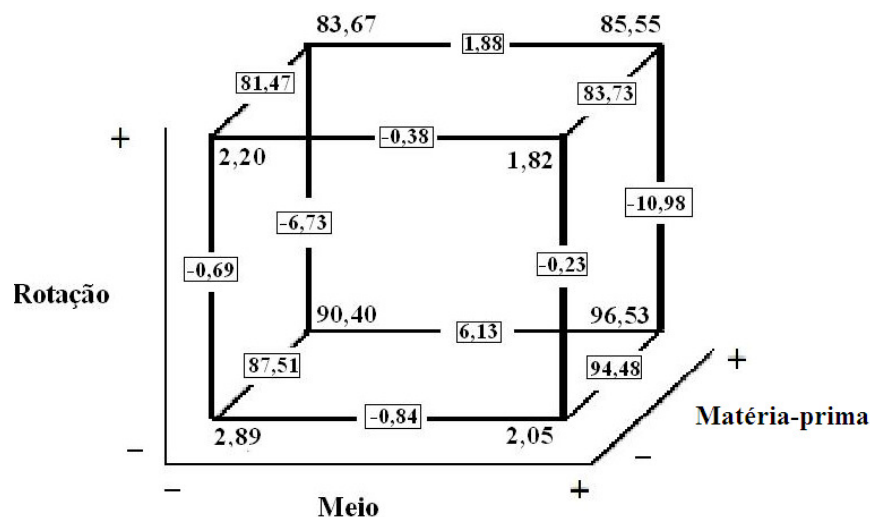
Para avaliar se os resultados do planejamento são estatisticamente diferentes de zero, foi empregado o teste t de Student. O valor do t tabelado foi de 2,12 para um intervalo de confiança de 95% e 16 graus de liberdade. Serão considerados estatisticamente significativos os valores dos efeitos que excederem o intervalo de confiança (1,30). Os efeitos cujos valores forem menores que o intervalo de confiança não serão estatisticamente significativos, e serão provenientes de erros aleatórios que são inerentes ao sistema.

A tabela 4 representa os efeitos principais das variáveis isoladas e suas combinações. Se a diferença for positiva, significará que o nível superior (+) é o responsável pelo efeito, mas se a diferença for negativa, o nível inferior (-) será o responsável. A figura 3 representa de forma gráfica a influência destas variáveis no percentual de β -lapachona dissolvida no meio de dissolução.

Tabela 4- Efeitos médios das variáveis isoladas e em combinação.

Variáveis	%	Significância
Matéria-prima (MP)	86,79	☑
Rotação (R)	-4,65	☑
Meio (M)	1,69	☑
R x M	-0,95	---
MP x M	2,3	☑
R x MP	-4,19	☑
MP x R x M	-1,18	---

Figura 3- Cubo dos principais efeitos, em percentual (%), com suas diferenças.



O efeito principal da forma da matéria prima, quando partimos do seu nível (-) para o (+) mostrou-se significativo, obtendo-se um aumento médio de 86,79% na dissolução. Este valor comprova a importância do complexo de inclusão no incremento da solubilidade aquosa da β -Lapachona. Em todos os casos a diferença entre as técnicas superou 80%, como pode ser visto no cubo (figura 3) (NASONGKLA et al., 2003).

Ao analisar o efeito da rotação, a passagem do nível (-) para o (+) causa um decréscimo na porcentagem de dissolução do fármaco de 4,65%. Esta diminuição torna-se ainda mais pronunciada quando se utiliza o complexo de inclusão (-10,98% e -6,73%) e, menos pronunciada quando se utiliza o fármaco isolado (-0,23% e -0,69%). Isso ocorre porque o aumento da rotação desestabiliza a complexação do fármaco, fazendo com que o ativo fique menos solúvel no meio de dissolução.

Quando partimos do nível (-) para o (+) em relação ao meio, obtemos um acréscimo médio, significativo, na dissolução de 1,69%. Este aumento torna-se mais pronunciado

quando a matéria-prima empregada é o complexo de inclusão (+) com rotação 75 rpm (-), obtendo-se 6,13% de incremento na dissolução.

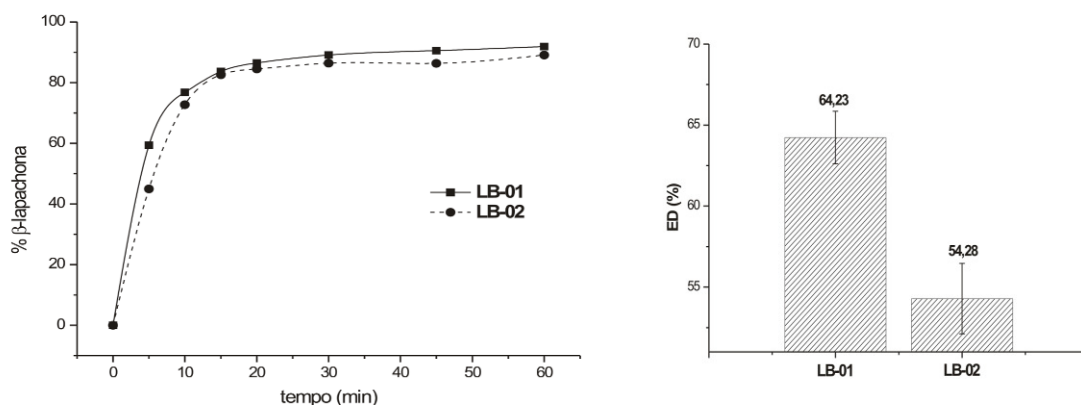
No cruzamento das variáveis, percebeu-se que na interação da matéria-prima com o meio, há um aumento significativo de 2,3%. Já a combinação da matéria-prima com rotação, há um decréscimo de 4,19% na solubilidade da β -lapachona, confirmando a hipótese, de que o aumento da rotação desestabiliza os complexos de inclusão.

Os valores dos cruzamentos R x M e MP x R x M, não foram significativos, obtendo valores abaixo do intervalo de confiança.

Assim, diante dos resultados apresentados, podemos adotar como as melhores condições para a dissolução da β -lapachona, os seguintes parâmetros: matéria prima, o complexo de inclusão, a rotação 75 rpm/min e o meio de HCl 0,1M, onde se obtém um valor médio de dissolução de 96,53%.

Os resultados dos perfis de dissolução, com os parâmetros selecionados pelo planejamento fatorial, demonstram que não há diferença significativa entre os lotes LB-01 e LB-02. No entanto, quando se compara o percentual de fármaco dissolvido em 15 minutos, através da ED, observa-se que no lote LB-01 há um maior teor de fármaco dissolvido (figura 4).

Figura 4- Perfis de dissolução dos lotes desenvolvidos e eficiência de dissolução em 15 minutos.



O aumento significativo da velocidade de dissolução da β -lapachona pode ser atribuído ao aumento da sua solubilidade induzida pela complexação, à diminuição da tensão superficial do fármaco devido às propriedades molhantes da hidroxipropil- β -ciclodextrina e a redução da cristalinidade do composto, devido a técnica de obtenção do complexo por spray-dried.

Em menos de 15 minutos, o teor de β -lapachona dissolvida alcançou mais de 80%, podendo esta formulação ser considerada de liberação “flash” (instantânea) para fármacos de alta solubilidade em água, incremento obtido pela complexação com a HP β CD.

Controle de Qualidade

Os resultados das análises de controle de qualidade aplicadas ao produto desenvolvido seguiram as recomendações gerais da Farmacopeia Brasileira 5ª edição, conforme a tabela 5.

Tabela 5- Resultados obtidos do controle de qualidade das formas farmacêuticas cápsulas desenvolvidas (LB-01 e LB-02).

Análises Aplicadas	Especificações*	Resultados
Descrição		
LB-01	Cápsulas de gelatina dura, nº 1, Transparente	De acordo com a especificação
LB-02		
Peso Médio		
LB-01	300 mg ± 7,5%	300, 49 mg ± 4,75%
LB-02		301,45 mg ± 6,05%
Desintegração		
LB-01	Máximo 45 min	7,51 min
LB-02		3,21 min
Uniformidade de conteúdo		
LB-01	85 a 115%	98,2± 4,2%
LB-02		94,8± 5,0%
Umidade %		
LB-01	Inferior a 3%	1,2%
LB-02		0,98%
Teor		
LB-01	90 a 110%	98,4 ± 3,9%
LB-02		95,9 ± 4,7%

*Especificações de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

As cápsulas produzidas foram submetidas aos ensaios físico-químicos. O peso médio é um parâmetro que influencia na quantidade de fármaco na forma farmacêutica. As cápsulas de β -lap complexada foram planejadas para ter um peso médio de 300 mg. Os resultados dos pesos médios obtidos foram comparados às especificações da Farmacopeia Brasileira 5ª edição, que determina para as cápsulas duras com valores de massa de 300 mg ou mais, o limite de variação de peso de $\pm 7,5$ %. Não é permitido que mais de duas unidades estejam fora do limite especificado e nenhum valor poderá estar acima ou abaixo do dobro da porcentagem indicada (BRASIL, 2010).

Os resultados do peso médio dos dois lotes desenvolvidos encontram-se dentro das especificações farmacopeicas, conforme mostra a tabela 5, no entanto observa-se que o lote LB-02, encontra-se com uma variação de peso maior que o LB-01. Sugere-se que seja devido à lactose monohidratada (diluyente) que possui um fluxo pobre, o que prejudica a manipulação.

A desintegração é outro parâmetro importante que permite verificar se as cápsulas se desintegram dentro do limite de tempo especificado, quando seis unidades do lote são submetidas à ação da aparelhagem específica sob condições experimentais. Ao final do tempo especificado, todas as cápsulas devem estar completamente desintegradas. Os resultados dos tempos de desintegração foram comparados às especificações da Farmacopeia Brasileira 5ª edição, que determina o tempo máximo de 45 min para desintegrar toda a cápsula (BRASIL, 2010). Ambos os lotes desenvolvidos no laboratório (LB-01/11 e LB-02/11), encontram-se dentro das especificações da Farmacopeia, como mostra a tabela 5.

O teor de β -lapachona calculado seguiu o método validado por Presmich e colaboradores em 2010, e determinou que o LB-01 possuía em média 98,2% de teor de β -lap, enquanto que o LB-02 obteve um teor médio de 94,8%. As análises foram realizadas segundo a equação da reta obtida ($y = 0,1026x + 0,0014$) com coeficiente de correlação linear = 0,9994.

CONCLUSÃO

A aplicação de tecnologias farmacêuticas em formulações contendo fármacos de baixa solubilidade em água está sendo cada vez mais empregada na produção de medicamentos. O desenvolvimento farmacotécnico da cápsula vetorizada de β -lapachona, através da utilização de sistemas poliméricos biodegradáveis, apresentou vantagens biofarmacotécnicas significativas, como, o incremento da solubilidade da β -lapachona.

Os resultados da caracterização do complexo de inclusão por difração de raios X, DSC, MEV e infravermelho, comprovou a sua formação, permitindo que a forma farmacêutica desenvolvida com esta matéria prima atendesse todos os requisitos necessários a uma forma farmacêutica segura e de qualidade.

Os estudos de pré-formulação conduziram ao desenvolvimento de cápsulas dentro dos padrões de qualidade físico-químicos. O lote LB-01, contendo a celulose microcristalina, foi selecionado como sendo a melhor formulação, através do estudo comparativo da eficiência de dissolução das formulações desenvolvidas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, G.M.C.; ROLIM, L.A.; ROLIM-NETO, P.J.; LEITE, A.C.L.; BRONDANI, D.J.; MEDEIROS, F.P.M.; BIEBER, L.W.; MENDONÇA-JUNIOR, F.J.B. **Purificação e caracterização da β -lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento.** Química Nova, v.31, n.2, p.413-6, 2008.
- BENTLE, M.S.; BEY, E.A.; DONG, Y.; REINICKE, K.E.; BOOTHMAN, D.A. New tricks for old drugs: the anticarcinogenic potential of DNA repair inhibitors. **Journal of Molecular Histology**, v.37, n.5-7, p.203-18, 2006.
- BEY, E.A., BENTLE, M.S.; REINICKE, K.E.; DONG, Y.; YANG, C.R.; GIRARD, L.; MINNA, J.D.; BORNMANN, W.G.; GAO, J.; BOOTHMAN, D.A. An NQ01-and PARP-1-mediated cell death pathway induced in non-small-cell lung cancer cells by β -lapachone. **Proceedings of the National Academy Sciences**, v.104, n.28, p. 11832-7, 2007.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira** 5ª. ed., v. 1: Métodos Gerais, 524 p., 2010.
- FERREIRA, J.G. **Estudo de compostos quinônicos com potencial atividade contra doença de Chagas.** 2008. 156f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- GUEDES, F.L.; ALVES, G.M.C.; SANTOS, F.L.A.; LIMA, L.F.; ROLIM, L.A.; ROLIM-NETO, P.J. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.89, n.3, p. 220-25, 2008.
- INCA- Instituto Nacional do Câncer. Disponível em: <www.inca.gov.br>. Acesso em: 10 de dezembro de 2011.
- LEAL, L.B.; SILVA, M.C.T.; BEDOR, D.C.G.; PIMENTEL, M.F.; SANTANA, D.P. Desenvolvimento de teste de dissolução para meloxicam utilizando o planejamento fatorial: estudo comparativo de produtos industrializados x produtos magistrais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 2, p. 160-163, 2008.
- MARQUES, M.R.C.; BROWN, W. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. **Revista Analytica**, v.1, p.48-51, 2002.
- MEDEIROS, C.S.; PONTES-FILHO, N.T.; CAMARA, C.A.; LIMA-FILHO, J.V.; OLIVEIRA, P.C.; LEMOS, S.A.; LEAL, A.F.G.; BRANDÃO, J.O.C.; NEVES, R.P. Antifungal activity of the naphthoquinone beta-lapachone against disseminated infection with *Cryptococcus neoformans* in dexamethasone-immunosuppressed Swiss mice. **Brazilian Journal Medical Biological Research**, v.43, n.4, 345-9, 2010.
- MOON, D.O.; CHOI, Y.H.; KIM, N.D.; PARK, Y.M.; KIM, G.Y. Anti-inflammatory effects of beta-lapachone in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. **International immunopharmacology**, v.7, n.4, p.506-14, 2007.
- NASONGKLA, N; WIEDMANN, A.F.; BRUENING, A; BEMAN, M; RAY, D.; BORNMANN, W.G.; BOOTHMAN, D.A.; GAO, J. Enhancement of solubility and bioavailability of beta-lapachone using cyclodextrin inclusion complexes. **Pharmaceutical Research**, v.20, n.10, p.1626-33, 2003.

OUGH, M.; LEWIS, A.; BEY, E.A.; GAO, J.; RITCHIE, J.M.; BORNMAN, W.; BOOTHMAN, D.A.; OBERLEY, L.W.; CULLEN, J.J. Efficacy of beta-lapachone in pancreatic cancer treatment: exploiting the novel, therapeutic target NQO1. **Cancer Biology and Therapy**, v.4, n.1, p.95-102, 2005.

PEREIRA, E.M.; MACHADO, T.B.; LEAL, I.C.R.; JESUS, D.M.; DAMASO, C.R.A.; PINTO, A.V.; DE-MARVAL, M.G.; KUSTER, R.M.; SANTOS, K.R.N. Tabebuia avellanedae naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and in vivo dermal irritability analysis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v.5, n.5, p.1-7, 2006.

PINK, J.J.; WUERZBERGER-DAVIS, S.; TAGLIARINO, C.; PLANCHON, S.M.; YANG, X.; FROELICH, C.J.; BOOTHMAN, D.A. Activation of cysteine protease in MCF-7 and T47D breast cancer cells during β -lapachone mediated apoptosis. **Experimental Cell Research**, v.255, n.2, p.144-55, 2000.

PRESMICH, G.M.A. **Incremento da solubilidade/dissolução da β -lapachona utilizando tecnologias de dispersões sólidas e complexo de inclusão**. 2009. 167f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

PRESMICH, G.M.A.; ROLIM, L.A.; CAVALCANTI, O.R.B.R.; SILVA, K.E.R.; ROLIM-NETO, P.J. Desenvolvimento e validação de um método analítico por espectrofotometria no UV para determinação quantitativa do anti-neoplásico β -lapachona. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.29, n.5, p.645-50, 2010.

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; OWEN, S.C. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 5^a ed. London: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2009.

United States Pharmacopeia, 33th ed., Convention: Rockville, 2010.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

8.1 CONCLUSÕES

- Com base nos resultados de caracterização da β -lapachona, pode-se observar que o fármaco apresenta características cristalinas, elevado grau de pureza e baixa solubilidade em água. Para esta última característica, foi necessária a implantação de tecnologias farmacêuticas, como a formação de complexos de inclusão, na tentativa de aumentar a sua solubilidade;
- Através do estudo de caracterização dos complexos de inclusão, pode-se observar que o melhor complexo foi o da β -lapachona:HP β CD, obtida por spray-dried, que apresentou a maior eficiência de dissolução quando comparada com as diferentes ciclodextrinas e técnicas de obtenção.
- A utilização das ferramentas termoanalíticas (TG/DTG e DTA) possibilitou a caracterização do complexo de inclusão quanto à avaliação da estabilidade térmica, etapas de decomposição térmica e determinação de parâmetros cinéticos, além de indicar que não houve interação entre o complexo e os excipientes propostos;
- O desenvolvimento farmacotécnico das cápsulas atendeu aos requisitos de qualidade exigidos para uma forma farmacêutica segura, eficaz e de qualidade. Além disso, as cápsulas desenvolvidas corresponderam aos requisitos tecnológicos: boa solubilidade em água da β -lapachona, favorecida pela formação do complexo de inclusão; reprodutibilidade do processo de fabricação e parâmetros farmacopeicos dentro das especificações (descrição, peso médio, desintegração, uniformidade de conteúdo, umidade, dissolução e teor).

8.2 PERSPECTIVAS

- Validar o teste de dissolução das cápsulas desenvolvidas, segundo a Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA;
- Realizar estudos de estabilidade acelerado e de longa duração do produto acabado, seguindo as normas da Resolução- RE nº 01, de 29 de junho de 2005 da ANVISA;
- Transposição de escala para produção industrial da cápsula desenvolvida;
- Realizar estudos clínicos de fase I para pacientes com câncer de próstata.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALVES, G.M.C.; ROLIM, L.A.; ROLIM-NETO, P.J.; LEITE, A.C.L.; BRONDANI, D.J.; MEDEIROS, F.P.M.; BIEBER, L.W.; MENDONÇA-JUNIOR, F.J.B. Purificação e caracterização da β -lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, v.31, n.2, p.413-6, 2008.
- BENTLE, M.S.; BEY, E.A.; DONG, Y.; REINICKE, K.E.; BOOTHMAN, D.A. New tricks for old drugs: the anticarcinogenic potential of DNA repair inhibitors. **Journal of Molecular Histology**, v.37, n.5-7, p.203-18, 2006.
- BEY, E.A., BENTLE, M.S.; REINICKE, K.E.; DONG, Y.; YANG, C.R.; GIRARD, L.; MINNA, J.D.; BORNMANN, W.G.; GAO, J.; BOOTHMAN, D.A. An NQO1-and PARP-1-mediated cell death pathway induced in non-small-cell lung cancer cells by β -lapachone. **Proceedings of the National Academy Sciences**, v.104, n.28, p. 11832-7, 2007.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira** 5ª. ed., v. 1: Métodos Gerais, 524 p., 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC Nº 17, de 16 de Abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE Nº 1, de 29 de junho de 2005. Dispõe sobre o Guia para a Realização de Estudo de Estabilidade. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE Nº 899, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre o Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Estimativa/ 2012 – Incidência de Câncer no Brasil**, Rio de Janeiro, RJ, 2011, p. 117.
- DO CAMPO, R.; LOPES, J.N.; CRUZ, F.S.; SOUZA, W. *Trypanosoma cruzi*: ultrastructural and metabolic alterations of epimastigotes by beta-lapachone. **Experimental Parasitology**, v.42, n.1, p. 142-9, 1977.
- FÁVARO, O.C.N.; OLIVEIRA, M.M.; ROSSINI, M.A.A.; KAMAKURA, C.R.; PINTO, A.V.; PINTO, M.C.F.R. Seleção por meio de células KB de substâncias e extratos potencialmente ativos em quimioterapia do câncer. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, v. 62, n. 3, p. 217-24, 1990.
- OUGH, M.; LEWIS, A.; BEY, E.A.; GAO, J.; RITCHIE, J.M.; BORNMANN, W.; BOOTHMAN, D.A.; OBERLEY, L.W.; CULLEN, J.J. Efficacy of beta-lapachone in pancreatic cancer treatment: exploiting the novel, therapeutic target NQO1. **Cancer Biology and Therapy**, v.4, n.1, p.95-102, 2005.
- PINK, J.J.; WUERZBERGER-DAVIS, S.; TAGLIARINO, C.; PLANCHON, S.M.; YANG, X.; FROELICH, C.J.; BOOTHMAN, D.A. Activation of cysteine protease in MCF-7 and

T47D breast cancer cells during β -lapachone mediated apoptosis. **Experimental Cell Research**, v.255, n.2, p.144-55, 2000.

PRESMICH, G.M.A. **Incremento da solubilidade/dissolução da β -lapachona utilizando tecnologias de dispersões sólidas e complexo de inclusão**. 2009. 167f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade federal de Pernambuco, Recife.

ANEXO



Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada

[PÁGINA INICIAL](#) [SOBRE](#) [PÁGINA DO USUÁRIO](#) [PESQUISA](#)
[ATUAL](#) [ARQUIVOS](#) [CORPO EDITORIAL/EDITORIAL BOARD](#)
[INSTRUÇÃO AOS AUTORES/INSTRUCTIONS TO AUTHORS](#)

[SISTEMA](#)
[ELETRÔNICO DE](#)
[EDITORACÃO DE](#)
[REVISTAS](#)

Página inicial > Usuário > Autor > Submissões > #2091 > **Resumo**

[Ajuda do](#)
[sistema](#)

#2091 Sumário

RESUMO [AVALIAÇÃO](#) [EDIÇÃO](#)

USUÁRIO
Logado como...
pedrorolim

- [Meus](#)
[periódicos](#)
- [Perfil](#)
- [Sair do](#)
[Sistema](#)

Submissão

Autores	José Lourenço Freitas-Neto, Geisiane Maria Alves Presmich, Larissa Araújo Rolim, Lariza Darlene Santos Alves, Miracy Muniz Albuquerque, Pedro José Rolim-Neto
Título	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FÁRMACO ANTINEOPLÁSICO β -LAPACHONA
Documento Original	2091-7829-6-SM.DOC 2011-11-23
Doc. Sup.	Nenhum(a) INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR
Submetido por	Pedro José Rolim-Neto
Data de submissão	novembro 23, 2011 - 02:15
Seção	Artigos Originais / Original Articles
Editor	Nenhum(a) designado(a)

AUTOR
Submissões

- [Ativo](#) (5)
- [Arquivo](#) (7)
- [Nova](#)
[Submissão](#)

IDIOMA
[Português \(Bras](#)

Situação

Situação	Aguardando designação
Iniciado	2011-11-23
Última alteração	2011-11-23

CONTEÚDO DA REVISTA
Pesquisa

Todos

Pesquisar

Metadados da Submissão

[EDITAR METADADOS](#)

Autores

Nome	José Lourenço Freitas-Neto
Instituição	Universidade Federal de Pernambuco
País	Brasil
Resumo da Biografia	—
Nome	Geisiane Maria Alves Presmich
Instituição	Universidade Federal de Pernambuco
País	Brasil
Resumo da Biografia	—
Nome	Larissa Araújo Rolim

Procurar

- [Por Edição](#)
- [Por Autor](#)
- [Por Título](#)
- [Outras](#)
[revistas](#)

INFORMAÇÕES

- [Para](#)
[Leitores](#)
- [Para](#)
[Autores](#)
- [Para](#)
[Bibliotecário](#)

Instituição	Universidade Federal de Pernambuco
País	Brasil
Resumo da Biografia	—
Nome	Lariza Darlene Santos Alves 
Instituição	Universidade Federal de Pernambuco
País	Brasil
Resumo da Biografia	—
Nome	Miracy Muniz Albuquerque 
Instituição	Universidade Federal de Pernambuco
País	Brasil
Resumo da Biografia	—
Nome	Pedro José Rolim-Neto 
Instituição	Universidade Federal de Pernambuco
País	Brasil
Resumo da Biografia	Graduado em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em 1982, obtendo habilitação em Indústria em 1983 pela mesma Universidade. Mestre em Ciências Farmacêuticas, em 1988, pela UFPE. Obteve o título de Especialista em Farmácia Industrial, (1989), Diploma de Estudos Aprofundados (1990) e o Doutorado (de 1988 a 1992) pela Universidade de Montpellier I, na França. Participou do curso promovido pela Food and Drug Administration (FDA) sobre Boas Práticas de Fabricação para Produtos Farmacêuticos, na Universidade de Puerto Rico, em San Juan em 2001. Desenvolve pesquisa para diversas Indústrias Farmacêuticas há 26 anos. Atualmente é professor adjunto da UFPE, Coordenador do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM) e Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE. Atua na área de Tecnologia Farmacêutica, obtenção de formas farmacêuticas clássicas e sistemas de vetorização de fármacos de origem natural e sintética.

Contato Principal para correspondência.

Título e Resumo

Título	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FÁRMACO ANTINEOPLÁSICO β -LAPACHONA
Resumo	A β-lapachona é uma substância com importância relevante do ponto de vista científico, tendo em vista os inúmeros estudos farmacológicos relatados na literatura, que comprovam suas atividades antibacteriana, antifúngica, antitripanossômica, antiviral, antiinflamatória e antineoplásica. Devido a sua potente atividade anticancerígena, este fármaco encontra-se, atualmente, em estudo clínico de fase II para o tratamento de câncer pancreático. O objetivo deste estudo foi determinar as propriedades físico-químicas deste ativo com o emprego de diversas ferramentas analíticas, como, difração de Raios X, infravermelho, análises térmicas, microscopia eletrônica de varredura e ensaio de dissolução. Os resultados obtidos na difração de raios X revelaram o padrão policristalino do fármaco; o infravermelho identificou os principais grupos funcionais da β-lapachona; os dados das análises térmicas apresentaram características de um produto cristalino e de alta pureza; a eletromicrografia demonstrou sua forma cristalina, como cristais acidulares bem definidos de tamanho regular, corroborando com os dados do difratograma. No estudo de dissolução comprovamos que a β-lapachona é praticamente insolúvel em água, sendo necessário o desenvolvimento de estratégias tecnológicas destinadas a melhorar a sua solubilidade em meio aquoso. Dessa forma, a determinação

sera extremamente util na identificação de problemas que possam vir a surgir durante a formulação e auxiliará no desenvolvimento de formas farmacêuticas mais eficazes e com qualidade.

Indexação

Área e sub- área do Conhecimento Acadêmico	Ciências Farmacêuticas; Farmácia; Indústria Farmacêutica
Classificação de Assunto	—
Palavras- chave	β-lapachona, caracterização físico-química e antineoplásico
Cobertura Geo-espacial	—
Cobertura Cronológica ou Histórica	—
Características da amostra da pesquisa	—
Tipo, método ou ponto de vista	—
Idioma	pt

Agências de Financiamento

Agências	CAPES, CNPq
----------	-------------