



**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 DISPERSÕES SÓLIDAS E COMPLEXOS DE
INCLUSÃO PARA BENZNIDAZOL EM FORMAS FARMACÊUTICAS
SÓLIDAS**

Ádley Antonini Neves de Lima

**Recife
2008**

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

**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS E COMPLEXOS DE
INCLUSÃO PARA BENZNIDAZOL EM FORMAS FARMACÊUTICAS
SÓLIDAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêutica na Área de Concentração: Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Ádley Antonini Neves de Lima

**Recife
2008**

Lima, Ádley Antonini Neves de
Desenvolvimento de dispersões sólidas e
complexos de inclusão para Benznidazol em formas
farmacêuticas sólidas / Ádley Antonini Neves de
Lima. – Recife : O Autor, 2008.

XV+ 86 folhas. fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCS. Ciências da Saúde, 2008.

Inclui bibliografia.

1. Anti-chagásico. 2. Benznidazol. 3. Dispersões
sólidas. 4. Complexos de inclusão I. Título.

616-022.39
615.3104

CDU (2. ed)
CDD (22.ed.)

UFPE
CCS2008-125

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

**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS E COMPLEXOS DE
INCLUSÃO PARA BENZNIDAZOL EM FORMAS FARMACÊUTICAS
SÓLIDAS**

BANCA EXAMINADORA:

Membro Externo Titular

Prof. Dr. Ednaldo Queiroga de Lima - UFCG

Membros Internos Titulares

Prof^a. Dra^a. Miracy Muniz de Albuquerque - UFPE

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto - UFPE

Membros Suplentes

Prof^a. Dr. Rui Oliveira Macedo - UFPB

Prof. Dr. Fábio Santos – UFPB

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

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^a. Dr^a. Jane Sheila Higinio

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Samuel Daniel de Souza Filho

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

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

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

Prof^a. Dr^a. Beate Saegesser Santos



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

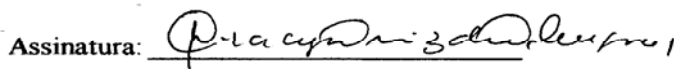
Recife, 17 de julho de 2008.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 17 de julho de 2008 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: 

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Miracy Muniz de Albuquerque (Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Assinatura: 

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Ednaldo Queiroga de Lima (Deptº de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG).

Assinatura: 

Dedico este trabalho ao meu filho Arthur, minha bênção e inspiração, com todo amor.

AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco** pela oportunidade da realização de minha formação acadêmica na graduação e nesta primeira etapa de pós-graduação.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES** e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq** pelo financiamento.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto** pela recepção, aposta no meu potencial, orientação, apoio nas horas difíceis e sobretudo, pela sua amizade.

Aos **Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco** pelas aulas ministradas e conhecimento teórico/prático passados durante esta jornada.

Ao **Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM** pela estrutura sempre disponível, e pela oportunidade de me firmar como pesquisador.

A **José Lamartine, Roberto Cavadinha, Jackson Luiz (bagage), Diego Perreli, Luciana Neiva, Danilo Fontes (misera) e Magaly Lira**, que fizeram parte deste trabalho, alguns desde o início, outros em sua etapa final, obrigado pelo empenho e pelas horas dispensadas na pesquisa e em nossas reuniões constantes em busca sempre da melhoria.

Ao **Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos - LCQPF** da **Universidade Federal da Paraíba – UFPB**, na figura do **Prof. Dr. Rui Oliveira Macedo, Prof. Dr. Fábio Santos de Souza, Pablo Queiroz Lopes e Lidiane Pinto Correia** pelo suporte técnico dispensado na execução das análises térmicas realizadas neste projeto.

Aos **integrantes do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM**, pela companhia diária na pesquisa científica e pela parceria em todos os momentos na bancada ou não.

Ao amigão **Erick Ramo (xabi)**, meu brother, meu velho, amigo de verdade, o qual tenho muito orgulho de ter conhecido e fazer parte da minha história como farmacêutico e como pessoa.

Aos amigos que fiz durante esta trajetória, como **Alex (UEPB)**, **Eduardo (Poção)**, e outros amigos que já tinha e consolidei neste período, como o grande **Bráulio César**, amigão de turma de graduação e até hoje, e **Danilo Bedor** e **André Piauí**, todos do NUDFAC, amigos que tenho grande admiração pessoal e profissional.

A meus amigos **Karina Randau**, **Mariana Brasileiro**, **Lívio César** e **Jeckson (bagage)** pelos momentos de descontração e trabalho, sempre com troca de informações formais e informais.

Aos amigos **Benigno**, **Marcelo**, **Júnior Ceará**, **Marcão (Marcola)**, e outros que estiveram comigo sempre nos momentos de laser, futebol (náutico até morrer) e tudo mais.

A minha mãe **Maria Irleide Neves de Lima** pelo amor incondicional, pela compreensão, paciência, sabedoria, e ensinamentos e valores passados que sempre levarei até o fim dos meus dias.

Ao meu pai **Adeilto Antonio de Lima**.

A meus três irmãos, **Júnior**, **Anthony** e **Dedé**, meu muito obrigado por serem meus melhores amigos e pela paciência e amor que sempre tiveram e têm por mim.

Ao meu filhão **Arthur Lima**, minha eterna fonte de inspiração e motivação, a razão maior da minha luta e empenho. És o melhor projeto que fiz na minha vida, e sempre lutarei pra te dar o melhor, e de participar sempre da tua vida, te ensinando, te educando e te amando. **Amo muito você papai.**

“A maravilhosa disposição e harmonia do universo só pode ter tido origem segundo o plano de um Ser que tudo sabe e tudo pode. Isto fica sendo a minha última e mais elevada descoberta”.

Isaac Newton

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	2
2 OBJETIVOS	6
2.1 Objetivo Geral	6
2.2 Objetivos Específicos	6
Capítulo I	7
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1 Artigo I. Technologies alternatives to improve solubility of poorly water soluble drugs	8
Capítulo II	29
4 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE BENZNIDAZOL	29
4.1 Artigo II. Development of dissolution method for benznidazole tablets	30
Capítulo III	45
5 SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS PARA INCREMENTO DE SOLUBILIDADE DO BENZNIDAZOL	45
5.1 Artigo III. Solid dispersions systems in hydrophilic carriers to increase benznidazole solubility	46
Capítulo IV	66
6 SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS E COMPLEXOS DE INCLUSÃO PARA INCREMENTO DE SOLUBILIDADE DO BENZNIDAZOL	66
6.1 Artigo IV. Improving benznidazole solubility by solid dispersions with HPMC and inclusion complexes with β -cyclodextrin	67
6 CONCLUSÕES	81
7 PERSPECTIVAS	82
REFERÊNCIAS	83
Apêndice	86
Apêndice A: Trabalho Científico. Desenvolvimento de sistemas de dispersão sólida de Benznidazol e caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DS	Dispersão Sólida
CI	Complexo de inclusão
BNZ	Benznidazol
LAFEPE	Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
LTM	Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
OMS	Organização Mundial de Saúde
USP	United States Pharmacopeia
RMN-H ¹	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
IV	Infravermelho
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
PVP	Polivinilpirrolidona
PEG	Polietilenoglicol
UV	Ultra Violeta
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
CD	Ciclodextrina
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
ED	Eficiência de dissolução

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
mg	Miligramma
Kgf	Quilograma força
>	Maior que
<	Menor que
±	Mais ou menos
mL	Mililitro
®	Marca registrada
°	Graus
mL.min ⁻¹	Mililitro por minuto
kJ.mol ⁻¹	Quilojoule por mol
ΔH	Variação de entalpia
mm	Milímetros
rpm	Rotação por minuto
μg	Micrograma
J.g ⁻¹	Joule por grama
°C.min ⁻¹	Graus Celsius por minuto
Ea	Energia cinética
A	Fator de frequência
n	Ordem da reação
K	Constante de velocidade

LISTA DE FIGURAS

Artigo I.

Figura 1 Representação esquemática da estrutura de dispersões sólidas com referência ao modelo derivado para dissolução controlada de drogas.....	12
Figura 2 O efeito da complexação de ciclodextrina na biodisponibilidade da droga após administração não-parenteral.....	19
Figura 3 Perfis de solubilidade pela teoria de Higuchi and Connors. <i>So</i> é a solubilidade intrínseca da droga na ausência de ciclodextrina	22
Figura 4 (a) estrutura química da γ -CD ; (b) dimensões aproximadas da α -, β -, and γ -CDs; representações esquemáticas das estruturas de empacotamento das CD: (c) tipo gaiola, (d) tipo camada, (e) cristais CD tipo canal-cabeça e cauda; e (f) sistemas CD-CI contendo polímero incluso.....	23
Figura 5 Representação esquemática da formação polímero CD-CI o processo de coalescência, e o polímero coalescido	24

Artigo II.

Figura 1 Perfis de dissolução dos comprimidos de BNZ em cada meio com comparativo entre as duas velocidades de rotação. A. Tampão fosfato pH 7,2; B. Tampão acetato pH 4,5; C. Tampão NaCl/HCl pH 1,2.....	39
Figura 2 Perfis de dissolução dos comprimidos de BNZ comparativo entre os três meios de dissolução.....	40
Figura 3 Perfil de dissolução comparativo entre produtos	42

Artigo III

Figura 1 Estrutura molecular do Benznidazol	50
Figura 2 Estrutura molecular dos monômeros PVP e PEG	50
Figura 3 MEV micrografias dos componentes isolados e misturas físicas (MF) e dispersões sólidas (DS) de BNZ, PVP e PEG.....	55
Figura 4 Espectrograma IV de componentes isolados e misturas físicas e dispersões sólidas de BNZ, PVP and PEG.	57
Figura 5 Geometrias Otimizadas obtida dos complexos de hidrogênio PVP...BNZ (a) e PEG...BNZ (b) obtidas do cálculo B3LYP/6-31G(d,p).....	58
Figura 6 Curvas DSC para componentes isolados e sistemas binários de BNZ, PVP e PEG..	59
Figura 7 Difrátogramas de difração de raio-X de BNZ, PVP e PEG e de respectivas misturas físicas e dispersões sólidas.....	61
Figura 8 Curvas de dissolução no BNZ isolado, nas misturas físicas e dispersões sólidas com PVP e PEG.....	63

Artigo IV

Figura 1 Estrutura química da Hidroxipropilmetilcelulose (A) e da β -ciclodextrina (B).....	69
Figura 2 Complexo de inclusão BNZ- β CD 1:1 estequiometricamente otimizado por MM2 com grupo benzila introduzido pela cavidade estreita da ciclodextrina.....	73
Figura 3 Possíveis estruturas de BNZ- β CD 1:1 estequiometria por MM2.....	74
Figura 4 Possíveis estruturas de BNZ- β CD 1:2 estequiometria por MM2.....	75
Figura 5 Perfil de dissolução do BNZ e dos diversos sistemas binários (MF, DS e CI).....	77

LISTA DE TABELAS

Artigo I.

Tabela 1. Métodos de caracterização de dispersões sólidas	16
---	----

Artigo II.

Tabela 1. Condições utilizadas nos testes de dissolução.....	36
Tabela 2. Controle de Qualidade físico dos comprimidos: Benznidazol-LTM e Rochagan....	38
Tabela 3. Valores de F1 e F2 para todas as condições testadas (I a VIII).....	40
Tabela 4. Valores de eficiências de dissolução no tempo 120 min	41
Tabela 5. Eficiência de dissolução Benznidazol-LTM X Rochagan nos tempos 45, 60, 90 e 120 min.....	42

Artigo III

Tabela 1. Resultados estruturais e energéticos de PVP...BNZ (a) e PEG...BNZ (b) complexos de hidrogênio, obtidos com os cálculos B3LYP/6-31G(d,p).....	57
--	----

Artigo IV

Tabela 1. Entalpia calculada para a formação de complexos estequiométricos 1:1 BNZ-βCD	73
Tabela 2. Entalpia calculada para a formação de complexos estequiométricos 1:2 BNZ-βCD	73

RESUMO

Apesar de não ser o fármaco ideal, devido à sua toxicidade, além da baixa solubilidade em água, o benznidazol (BNZ) é atualmente o fármaco de escolha para o tratamento da doença de Chagas. O conhecimento aprofundado sobre o fármaco e técnicas capazes de melhorar a velocidade de dissolução terá como consequência um aumento na biodisponibilidade oral e possível diminuição da toxicidade do fármaco, disponibilizando a população um medicamento mais seguro e eficaz no tratamento da doença. O uso de dispersões sólidas (DS) e complexos de inclusão (CI) contendo carreadores solúveis em água para aumentar a velocidade de dissolução, tem sido uma tendência atual entre pesquisadores na área da tecnologia farmacêutica. Neste trabalho, foram desenvolvidos sistemas de dispersões sólidas e complexos de inclusão, que foram posteriormente caracterizados através de técnicas analíticas como Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), espectroscopia de Infra Vermelho (IV), análise térmica por calorimetria diferencial exploratória (DSC), difração de raio-x (R-x) e testes de dissolução *in vitro*. Além destas caracterizações, foi desenvolvido e validado o método de dissolução, o qual demonstrou ser adequado ao uso pretendido, conforme é preconizado pelos órgãos regulatórios. O incremento na taxa de dissolução do BNZ foi significativa nos sistemas sólidos obtidos (DS e CI), e as análises para caracterização (MEV, IV, DSC, R-x) confirmaram a influência dos polímeros hidrofílicos e da ciclodextrina para o incremento de solubilidade do BNZ. Diante dos resultados obtidos pode-se concluir que os produtos obtidos utilizando DS e CI constitui-se numa alternativa rápida e de baixo custo para vetorização do BNZ por meio de uma forma farmacêutica sólida de uso oral.

Palavras-chave: Benznidazol, dispersões sólidas, polímeros, complexos de inclusão, ciclodextrinas, dissolução.

ABSTRACT

Although not to be the ideal drug, due to its toxicity, beyond low water solubility, benznidazole (BNZ) is currently the choice drug for the treatment of the Chagas disease. The knowledge deepened on the drug and techniques capable to improve the dissolution speed, will have as consequence an increase in the oral bioavailability and possible reduction of drug toxicity, offering to the population a safer and efficient medicine in the treatment of the illness. The use of solid dispersions (SD) and inclusion complexes (IC) contend soluble carriers in water to increase the dissolution speed, has been a current trend between researchers in area of pharmaceutical technology. In this work, solid dispersions and inclusion complexes systems were developed, that later had been characterized through analytical techniques as Scanning Electronic Microscopy (SEM), Infra Red spectroscopy (IR), Differential Scanning Calorimetry (DSC), X-Ray Diffraction (R-x) and tests of dissolution in vitro. Beyond these characterizations, it was developed and validated the dissolution method, which demonstrated to be adjusted to the intended use, as it is praised by the regulatory agencies. The increment in dissolution rate of BNZ was significant in the gotten solid systems (SD and IC), and the analyses for characterization (SEM, IR, DSC, R-x) had confirmed the influence of hydrophilic polymers and the cyclodextrine for the increment of BNZ solubility. Ahead of the gotten results it can be concluded that the gotten products using SD and IC consist in a fast alternative and of low cost for vectorization of BNZ by means of a solid pharmaceutical form of oral use.

Key-words: Benznidazole, solid dispersions, polymers, inclusion complexes, cyclodextrines, dissolution.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A tripanossomíase humana sul-americana ou doença de Chagas é uma doença negligenciada. Estima-se que a prevalência global da doença de Chagas seja de 9,8 milhões de pessoas infectadas. A batalha contra esta doença, resultado da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, já obteve êxitos na interrupção da transmissão vetorial e transfusional da doença na maioria dos países endêmicos, contudo, estas 9,8 milhões de pessoas infectadas ainda não dispõem de um tratamento medicamentoso adequado (SCHOFIELD; JANNIN; SALVATELLA, 2006).

O sucesso no desenvolvimento de novos fármacos requer não apenas estudos de otimização das interações ligante-receptor, como também é preciso que o fármaco atinja seu alvo. Para que a absorção do fármaco ocorra é necessário que as suas moléculas estejam em solução no local de absorção. A dissolução da forma farmacêutica sólida nos fluidos gastrintestinais é um pré-requisito para que ocorra a absorção seguida da distribuição do fármaco para a circulação sistêmica. A dissolução depende em parte da solubilidade do fármaco no meio que o rodeia (LACHMAM, LIEBARMAN, KANIG, 2001).

Atualmente, entre 35 a 40% de todas as novas entidades químicas sofrem com pouca solubilidade em água e subseqüentes problemas para alcançar níveis sanguíneos terapeuticamente relevantes. Assim, o aumento da solubilidade, da taxa de dissolução e da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis é um dos mais desafiantes aspectos no desenvolvimento moderno de medicamentos (MOOTER et al., 2006; RATHBONE, HADGRAFT, ROBERTS, 2003).

Portanto, há uma urgente necessidade de se encontrar soluções para a formulação desses fármacos pouco solúveis. Estas novas técnicas de formulação devem ser, preferencialmente, aplicadas para qualquer fármaco pouco solúvel, independente de sua

estrutura química e dimensão molecular espacial (RATHBONE, HADGRAFT, ROBERTS, 2003).

Várias técnicas têm sido usadas para melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Estas incluem a formulação com formas amorfas sólidas, nanopartículas, microemulsões, dispersão sólida (DS), extrusão por fusão, formação de sal e formação de complexos solúveis em água. Por estas técnicas tenta-se aumentar a solubilidade aparente de compostos lipofílicos sem diminuir a otimização de seu potencial (LOFTSSON, HREINSDÓTTIR, MÁSSON, 2005).

O termo DS tem sido utilizado para descrever um grupo de produtos farmacêuticos nos quais o fármaco está disperso em um carreador biologicamente inócuo, geralmente com o objetivo de melhorar a sua biodisponibilidade no trato gastrointestinal. Estes sistemas geralmente são obtidos pela conversão da mistura fármaco/veículo no estado fluído para o estado sólido (CHIOU e RIEGELMAN, 1971; CORRIGAN, et al., 1979).

Na DS, os polímeros hidrofílicos que têm sido largamente empregados como carreadores são polivinilpirrolidona (PVP) e polietilenoglicol (PEG) devido ao seu baixo custo e alta solubilidade em água (TANTISHAIYAKUL, KAEWNOPPART, INGKATAWORNWONG, 1999; FRANCO, et al., 2001; VERHEYEN, et al., 2002).

As ciclodextrinas (CD's) são oligossacarídeos cíclicos formados por moléculas de D-glicose, onde a presença das hidroxilas livres na parte externa das (CD's) confere a essas moléculas um caráter hidrofílico. Esse arranjo estrutural das moléculas de glicose nas CD's possibilita a utilização desses compostos como hospedeiros na formação de complexos de inclusão. A presença de uma cavidade hidrofóbica e de grupos hidroxilas livres na parte externa da molécula permite a “dissolução” em meio aquoso de compostos (hóspedes) de baixa solubilidade. Esse aspecto molecular tem possibilitado a utilização de CD's em diferentes áreas da ciência e tecnologia, sendo o principal domínio de aplicação à indústria

farmacêutica, em função da possibilidade de obtenção de novos fármacos com propriedades físicas e químicas diferentes e o mesmo princípio ativo (BRITTO, JÚNIOR, SANTOS, 2004).

A principal vantagem do uso de polímeros hidrossolúveis como carreadores é a ausência de toxicidade e aplicabilidade para a maioria dos fármacos.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Melhorar a solubilidade, a taxa e velocidade de dissolução e a biodisponibilidade oral do Benznidazol.

2.2 Objetivos Específicos

- Preparação das misturas físicas, dispersões sólidas e complexos de inclusão;
- Caracterização do Benznidazol, das misturas físicas, dispersões sólidas e dos complexos de inclusão;
- Avaliação da taxa e velocidade de dissolução do Benznidazol, nas misturas físicas, nas dispersões sólidas e nos complexos de inclusão;
- Desenvolvimento da metodologia de dissolução de benznidazol comprimidos;
- Análise estatística dos dados.

Capítulo I

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Artigo I. **Technologies alternatives to improve solubility of poorly water soluble drugs**

Artigo submetido ao Latin American Journal of Pharmacy

3.1 Artigo I. Technologies alternatives to improve solubility of poorly water soluble drugs

Ádley Antonini Neves de Lima¹, José Lamartine Soares Sobrinho¹, Roberto Antônio Cavadinha Corrêa Júnior¹, Pedro José Rolim Neto^{1*}

ABSTRACT

Key words: Solid dispersion, polymers, inclusion complexes, cyclodextrins, solubility.

The solubility behaviour of drugs remains one of the most challenging aspects in formulation development. Solid dispersions and inclusion complexes are two of the most promising strategies to improve the oral bioavailability of poorly water soluble drugs. By reducing drug particle size to the absolute minimum, and hence improving drug wettability, bioavailability may be significantly improved. The basis for this popularity from a pharmaceutical standpoint, is the ability of these materials to interact with poorly water-soluble drugs and drug candidates resulting in an increase in their apparent water solubility. This review is intended to give a general background to the use of cyclodextrins and solid dispersions as technologies alternatives in the study of drug solubilization.

RESUMO

Palavras chave: Dispersão sólida, polímeros, complexos de inclusão, ciclodextrinas, solubilidade.

O comportamento da solubilidade das drogas permanece sendo um dos aspectos mais desafiantes no desenvolvimento de formulação. As dispersões sólidas e os complexos de inclusão são duas das estratégias mais promissoras para melhorar a biodisponibilidade oral de

fármacos pouco solúveis em água. Reduzindo o tamanho de partícula da droga ao mínimo absoluto, e melhorando a molhabilidade da droga, a biodisponibilidade pode ser significativamente melhorada. A base para a popularidade destes sistemas do ponto de vista farmacêutico, é a habilidade destes materiais de interagir com fármacos pouco solúveis em água e candidatos a fármacos tendo por resultado um aumento em sua solubilidade em água aparente. Esta revisão objetiva dar uma visão a fundo do uso das ciclodextrinas e de dispersões sólidas como alternativas das tecnologias no estudo de solubilização de drogas.

INTRODUÇÃO

A administração oral é a maneira mais fácil e simples de administrar medicamentos ^{1,2}. Devido à maior estabilidade, menor volume, dose exata e fácil produção, as formas farmacêuticas sólidas têm muitas vantagens sobre outros tipos de formas farmacêuticas orais. Conseqüentemente, a maioria das novas entidades químicas sob desenvolvimento nos dias atuais é pretendida a serem usadas como formas farmacêuticas sólidas que originam uma concentração in vivo no plasma eficaz e reprodutível após administração oral. ^{3,4}. De fato, muitos fármacos que são drogas pouco solúveis em água, não são bem absorvidos após administração oral ^{4,5} o que pode diminuir a eficácia inerente da droga ^{6,7,8}. O incremento da biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis em água constitui um dos aspectos mais desafiantes no desenvolvimento de fármacos. Embora a formação de sal, solubilização e redução do tamanho de partícula sejam usados geralmente para aumentar a taxa de dissolução e absorção oral e biodisponibilidade de algumas drogas, há algumas limitações práticas destas técnicas.

Várias técnicas têm sido usadas para melhorar a solubilidade/taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água, dentre estas, as disperses sólidas e os complexos de inclusão com ciclodextrinas são as mais utilizadas. O principal objetivo deste trabalho foi

mostrar a possibilidade de melhorar a solubilidade e taxa de dissolução destes fármacos através destas técnicas.

DISPERSÕES SÓLIDAS

O termo dispersões sólidas (DS) tem sido utilizado para descrever uma família de formas farmacêuticas onde o fármaco é disperso em uma matriz biológica inerte, geralmente com o propósito de aumentar a biodisponibilidade oral¹⁰. Em 1961, Sekiguchi e Obi desenvolveram um método prático que pudesse superar muitas das limitações com o aumento da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água. Este método, que mais tarde foi denominado dispersão sólida¹², envolveu a formação de misturas eutéticas de fármacos com carreadores solúveis em água pela fusão de suas misturas físicas. Sekiguchi e Obi sugeriram que o fármaco estava presente em uma mistura eutética em um estado microcristalino¹³. Mais tarde, Goldberg et al, 1966, demonstrou que todo fármaco em uma dispersão sólida não deve necessariamente estar presente em um estado microcristalino; uma certa fração da droga deve estar dispersa de forma molecular em uma matriz, desse modo formando uma solução sólida. Em qualquer caso, uma vez que a dispersão sólida foi exposta em meio aquoso e o carreador dissolvido, a droga foi liberada como partículas coloidais muito finas¹⁴. Por causa da área de superfície extremamente aumentada, foi constatada a elevação da taxa de dissolução e biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água. Logo após os experimentos de Sekiguchi and Obi, tinham sido usados preferencialmente misturas eutéticas e soluções sólidas contendo dispersões moleculares por Levy (1963), precedido por Kaning (1964)^{14,15,16}. Um dos principais fatores que impediam sua comercialização eram o alto custo da tecnologia de obtenção e a instabilidade de formas amorfas produzidas pelas DS. Contudo com a redução no preço e melhorias nas tecnologias de obtenção de DS tornaram possível seu uso comercial e estudos com aparência de formulações comerciais como as DS de griseofulvina em polietileno. Uma destas melhorias foi o uso de polivinilpirrolidona (PVP) e polietilenoglicol

(PEG) como carreadores, conseqüentemente eles são polímeros de baixo custo e favoreceram a formação de sais amorfos de Rosiglitazona, que foi uma vantagem na estabilidade da DS em condições de umidade por longo período de tempo. É evidente que a escolha do polímero ou substância para a preparação das dispersões sólidas (além da natureza da droga) irá determinar as dinâmicas de dissolução. Assim a associação do polímero hidrofílico com fármacos pouco solúveis em água determinará aumento de solubilidade e conseqüentemente dissolução; Fármacos solúveis em água com polímeros pouco solúveis ou insolúveis em água determinarão uma liberação retardada¹⁷.

O aumento na taxa de dissolução e solubilidade providos pelas dispersões sólidas podem ser explicados pelo mecanismo descrito na equação de Noyes–Whitney^{18,19}:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{AD(C_s - C_t)}{h}$$

onde dM/dt é a razão de dissolução, A é a área de superfície específica particular da droga, D é o coeficiente de difusão, h is a espessura da camada de difusão, C_s é a solubilidade de saturação, e C_t é a concentração da droga no tempo t .

Como já existem diferentes expressões¹⁰ para avaliar o modelo carreador-dissolução controlada da droga, seria claramente desejável derivar uma expressão na qual o mecanismo de liberação da partícula intacta poderia ser descrito. É esboçada abaixo uma base sugerida para tal análise. Esta abordagem foi desenvolvida na idéia do polímero sólido rescindindo uma distância na qual uma única partícula é liberada, como indicado na Figura 1.

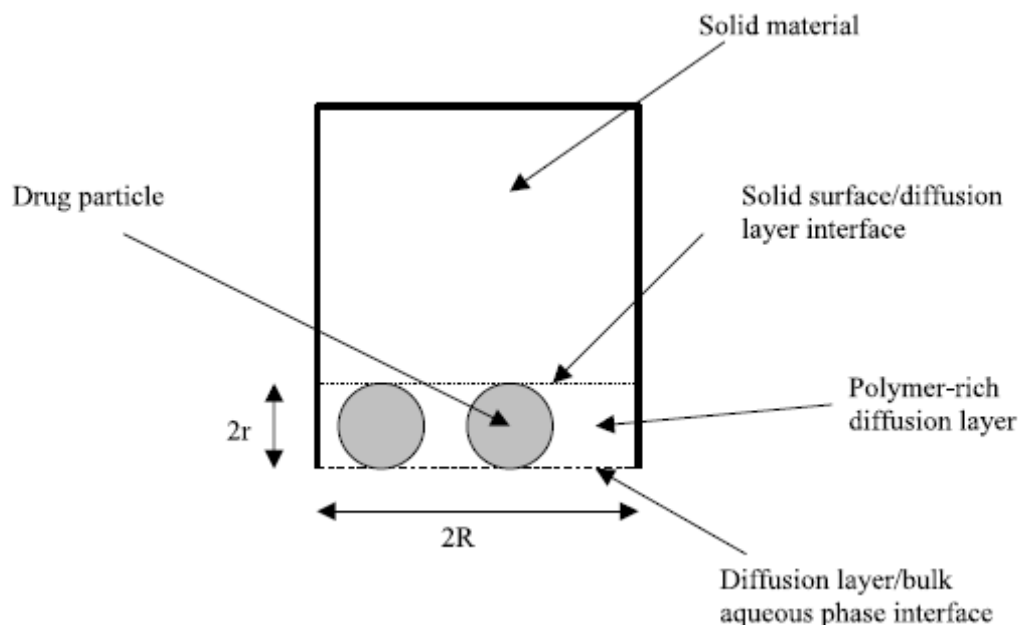


Fig. 1. Representação esquemática da estrutura de dispersões sólidas com referência ao modelo derivado para dissolução controlada de drogas¹⁰.

Vantagens das dispersões sólidas sobre outras estratégias para melhorar a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água

Melhoria na biodisponibilidade da droga pela mudança de sua solubilidade em água foi possível por alterações químicas ou de formulação^{20,21,22}.

Alterações químicas para melhorar a biodisponibilidade sem mudar o alvo ativo podem ser conseguidas pela formação de sal ou pela incorporação de grupos polares ou ionizáveis na estrutura principal da droga, resultando na formação de uma pró-droga. Dispersões sólidas aparentam ser a melhor modificação para melhorar a solubilidade entre estas técnicas, devido à sua facilidade de obtenção e maior aplicabilidade. Por exemplo, a formação de sal pode ser usada para drogas fracamente ácidas ou básicas e não para neutras. Além disso, é comum que a formação de sal não consiga uma melhor biodisponibilidade por causa de sua conversão *in vivo* em forma ácida ou básica^{23,24}.

Otimização de formulação incluem técnicas de solubilização e redução do tamanho de partículas, e as dispersões sólidas estão entre elas. As dispersões sólidas são mais aceitáveis

aos pacientes do que produtos de solubilização, desde que originem formas farmacêuticas sólidas orais ao invés de líquidas, como os produtos de solubilização geralmente fazem ^{23,24}. Trituração ou micronização para redução do tamanho de partícula são executados geralmente como alternativa para melhorar a solubilidade, com base no aumento da área de superfície ^{7,10}. Dispersões sólidas são mais eficientes que outras técnicas de redução de tamanho de partículas, desde que as últimas tenham um limite de redução de tamanho de partícula em torno de 2–5 mm que freqüentemente não é suficiente para melhorar consideravelmente a solubilidade da droga ou a liberação da droga no intestino ^{7,24,25} e, conseqüentemente, melhorar sua biodisponibilidade ^{23,24,26}. Além disso, pós sólidos que tem tamanho de partícula pequeno possuem propriedades mecânicas deficientes, como baixo fluxo e elevada adesão, e são extremamente difíceis de segurar ^{24,25}.

Desvantagens das dispersões sólidas

Apesar da extensiva pesquisa com dispersões sólidas, não são usadas amplamente em produtos comerciais, principalmente porque há a possibilidade de durante o processo (esforço mecânico) ou o armazenamento (estresse por temperatura e umidade) o estado amorfo passar para o estado cristalino ^{27,28,29,30}. O efeito da umidade no armazenamento e estabilidade de fármacos amorfos tem interesse significativo, porque pode aumentar a mobilidade da droga e promover sua cristalização ^{30,31,32,33}. Outros fatores que limitam o sucesso desta tecnologia está na natureza do carreador, que são: o tamanho da cadeia polimérica e a relação da razão com o fármaco na dispersão ^{31,34}.

Foi demonstrado com o polivinilpirrolidona (PVP) que o tamanho da cadeia age negativamente no seu sucesso, além disso, o aumento da viscosidade do polímero diminui tanto o processo de dissolução quanto a taxa de liberação ^{35,36}. O PVP mais usado em dispersões sólidas é o PVP K-30 pelas suas características melhores que outras variações ^{33,37,38}.

PROCESSO DE FABRICAÇÃO

Método de evaporação do solvente

O método de evaporação do solvente consiste da solubilização da droga e carreador em um solvente volátil que depois é evaporado^{39,40,41}. Neste método, a decomposição térmica das drogas ou carreadores pode ser prevenida, desde que a evaporação no solvente orgânico ocorra a baixa temperatura⁴².

Um processo básico de dispersões sólidas deste tipo consiste em dissolver a droga e o polímero carreador em um solvente comum como o etanol^{21,24,25}, clorofórmio^{27,43} ou uma mistura de etanol e diclorometano⁴⁴. Normalmente, os filmes resultantes são pulverizados e tamisados^{21,40,45,46}.

Van Drooge et al.⁵ preparou uma alternativa de dispersão sólida por atomização (spraying) em solução de povidona e diazepam em nitrogênio líquido, formando uma suspensão que foi então liofilizada. O processo básico de liofilização (freeze-drying) consiste em dissolver a droga e carreador em um solvente comum, que é imerso em nitrogênio líquido até total congelamento.

Outro processo comum é o método de co-precipitação, no qual um co-solvente é adicionado lentamente na solução do fármaco com o carreador, sob constante agitação. No momento da adição do co-solvente, o fármaco e o carreador são co-precipitados para formar micropartículas. Ao final, a suspensão resultante de micropartículas é filtrada e seca⁴⁷.

Spin-coated films é um novo processo para preparar dispersões sólidas pelo método de evaporação do solvente, que consiste em dissolver o fármaco e o carreador em um solvente comum que é adicionado lentamente em um substrato limpo sob alta agitação⁴⁸. O solvente é evaporado durante a rotação. Este processo é indicado para drogas sensíveis à umidade desde que realizado sob condições secas⁴⁸. O uso de solventes orgânicos, o alto custo de preparação e as dificuldades em remover completamente o solvente são algumas das desvantagens com

os métodos de evaporação por solvente^{7,42}. Além disso, é também possível que rápidas alterações nas condições usadas para a evaporação do solvente possam gerar mudanças grandes no rendimento do produto⁴⁹.

Método de fusão

Sekiguchi et al. foram os primeiros a usar o método de fusão que consiste em fundir a droga junto com o carreador seguido de congelamento e pulverização para obter o produto. No processo de fusão, a mobilidade molecular do carreador é alta o bastante para mudar a incorporação da droga⁵. A adaptação comum à fase de fusão consiste em suspender o ativo em um carreador previamente fundido, em vez de usar os dois num estado fundido, reduzindo assim, a temperatura do processo^{6,50,51}. Para resfriar e solidificar a mistura fundida, vários processos como agitação em banho de gelo^{13,27}, espalhamento em camada fina de aço inoxidável seguido de esboço frio¹², solidificação em placas de petri à temperatura ambiente dentro de dessecador^{51, 52}, espalhamento em placas colocadas sob gelo seco⁵³, imersão em nitrogênio líquido⁵⁴ ou estocado em dessecador^{6,55} foram usados. Após resfriamento, a mistura deve ser pulverizada visando sua manipulação^{52,55}. Entretanto, o uso de altas temperaturas, e o fato de várias drogas poderem ser degradadas pelo processo de fusão, pode ser uma limitação deste método²³.

CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS

Os métodos que têm sido utilizados para caracterizar dispersões sólidas são demonstrados na Tabela 1. Entre eles, os mais importantes são os métodos termoanalíticos, difração de raio-x, espectroscopia de Infra Vermelho e estudos de dissolução dos fármacos⁵⁶.

Tabela 1 Métodos de caracterização de dispersões sólidas

Métodos Microscópicos – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)
Métodos Termoanalíticos: Calorimetria diferencial de varredura (DSC)
Métodos espectroscópicos: Espectroscopia no Infra Vermelho
Difração de raio-x
Testes de dissolução

Métodos termoanalíticos

Incluem todo o exame das características dos sistemas em função da temperatura. Entre estes, a calorimetria diferencial de varredura (DSC) é o método mais empregado. O DSC permite a detecção quantitativa de todos os processos em que a energia é exigida ou produzida (transformações de fase endotérmica ou exotérmica). O método usual de medida é o aquecimento de amostras teste e referência de tal maneira que a temperatura das duas é mantida. Se uma transição de fase de energia exigida ocorre na amostra teste, calor extra é aplicado a esta amostra de modo que sua temperatura fique na mesma faixa que na amostra referência. O calor adicional exigido é gravado e usado para quantificar a energia da fase de transição. Transições exotérmicas, tais como a conversão de um polimorfo em um polimorfo mais estável, pode também ser detectada. A falta de um pico de fusão no DSC numa dispersão sólida indica que a droga está presente mais no estado amorfo do que na forma cristalina. Desde que o método seja quantitativo, o grau de cristalinidade também pode ser calculado para sistemas em que a droga é em parte amorfa e em parte cristalina. Entretanto, cristalinidade abaixo de 2% não pode ser detectada geralmente por DSC⁵⁷.

Difração de raio-x

No princípio da difração de raio-x o feixe é aplicado na amostra, e bandas de interferência podem ser detectadas. O ângulo cujas bandas de interferência podem ser detectadas depende do comprimento de onda aplicado e da geometria da amostra com respeito a periodicidades na estrutura. A Cristalinidade na amostra é refletida por uma região

característica denominada *fingerprint* (impressão digital) na difração do padrão. Devido à especificidade do *fingerprint*, a cristalinidade na droga pode ser identificada separadamente pela cristalinidade do carreador. Consequentemente, é possível com a difração de raio-X diferenciar entre soluções sólidas, em que a droga é amorfa, e dispersões sólidas, em que é pelo menos em parte presente na forma cristalina, não obstante se o carreador é amorfo ou cristalino. Entretanto, cristalinidades abaixo de $5\pm 10\%$ podem geralmente ser detectadas com difração de raio-X. Verheyen et al, 2002 usou dois tipos de difração de raio-X na caracterização de dispersões sólidas de diazepam e temazepam com PEG 6000: *Método da Câmera de Guinier e difratometria de pó de Bragg-Brentano*⁵⁸.

Espectroscopia no Infra Vermelho

Mudanças estruturais e ausência de estrutura cristalina podem levar a mudanças nas ligações entre grupos funcionais que podem ser detectados por espectroscopia de Infra Vermelho. Como nem todos os picos no espectro IV são sensíveis a mudanças cristalinas, é possível diferenciar entre aqueles que são sensíveis a mudanças na cristalinidade e aqueles que não são⁴⁹.

Estudos de dissolução *in vitro*

Experimentos de taxa de liberação não podem ser usados isolados para determinar se uma dispersão sólida foi formada ou não. Contudo, em conjunto com outros dados físico-químicos, eles fornecem forte evidência da formação de um sistema molecular disperso ou aproximadamente molecular disperso. Quando o objetivo da preparação de uma dispersão sólida é melhorar as características de dissolução do fármaco em questão, os resultados dos experimentos de taxa de liberação são obviamente de suma importância em avaliar o sucesso da aproximação. Um experimento de dissolução bem desenvolvido mostrará se a solubilidade e taxa de dissolução da droga foi melhorada, e também se a solução supersaturada é estável ou tende a precipitar rapidamente.

Comparação de resultados do pó da droga pura e misturas físicas da droga com o carreador podem ajudar a indicar se o carreador melhorou a dissolução: via solubilização e efeitos molhantes que poderiam ser afetados por uma simples mistura dos seus componentes, ou pela formação de uma solução/dispersão sólida⁵⁸.

COMPLEXOS DE INCLUSÃO - CICLODEXTRINAS

As ciclodextrinas são oligossacarídeos naturais cíclicos que foram descobertos a apenas 100 anos atrás. Foram chamadas de "cellulosine" quando descritas primeiramente por A. Villiers in 1891⁵⁹. Logo após, F. Schardinger identificou as três ciclodextrinas naturais - α -, - β -, and - γ (ilustrado na fig. 4b). Estes compostos foram referidos conseqüentemente como "açúcares de Schardinger"⁵⁹. Por 25 anos, entre 1911 e 1935, Pringsheim na Alemanha era o principal pesquisador nesta área, demonstrando que a ciclodextrinas formaram complexos aquosos estáveis com muitos outros produtos químicos. Em meados da década de 1970, cada uma das ciclodextrinas naturais foi caracterizada estrutural e quimicamente e muito mais complexos foram estudados. Desde a década de 1970, extensivo trabalho foi conduzido por Szejtli e outros explorando encapsulação por ciclodextrinas e seus derivados para aplicações industriais e farmacológicas^{59,60}.

As ciclodextrinas compõem a família de oligossacarídeos cíclicos compostos de 5 ou mais unidades de α -D-glucopiranosídeo, como uma amilose (um fragmento de amido). Recentemente, a mais longa ciclodextrina contendo 32 unidades de 1,4-anidroglucopiranosídeo foi bem caracterizada. As ciclodextrinas típicas clássicas, conhecidas como naturais, contêm seis, sete ou oito unidades de glicose, sendo denominadas:

α -ciclodextrina: molécula com anel de seis unidades de glicose; β -ciclodextrina: molécula de sete unidades de glicose; γ -ciclodextrina: oito unidades de glicose.

Ciclodextrinas são produzidas por amido proveniente de conversão enzimática. Nos últimos anos foram encontrados uma larga escala de aplicações nas indústrias de alimentos, farmacêutica e química, bem como na agricultura e engenharia ambiental. A estrutura espacial cônica e a orientação dos grupos hidroxila para o exterior concebem a estes açúcares cíclicos propriedades físico-químicas capazes de solubilizar em meio aquoso e ao mesmo tempo encapsular na sua cavidade interior moléculas hidrofóbicas^{61,62,63}. CDs podem ser também usadas para melhorar a permeação drogas pouco solúveis e drogas com problema de permeação aproximada⁶⁴. Isto pode ser possível devido à dúbia característica das CDs⁶⁴. Elas apresentam caráter tanto lipofílico como hidrofílico e este mecanismo suposto é demonstrado na figura 2.

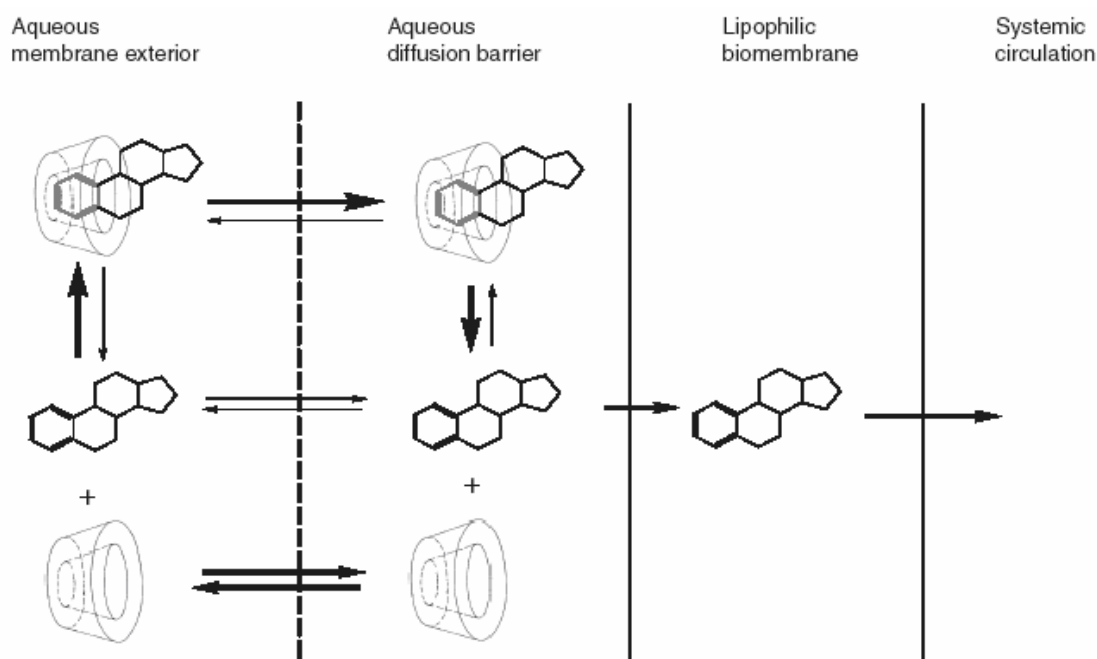


Fig. 2. O efeito da complexação de ciclodextrina na biodisponibilidade da droga após administração não-parenteral⁶⁴.

PREPARAÇÃO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO

Malaxagem

Consiste em formar uma pasta a partir da adição da mínima quantidade de líquido (água ou misturas etano aquosas) suficiente para umedecer a mistura em pó de fármaco e CD. Em escala laboratorial, é realizada em um almofariz com auxílio de um pistilo ^{65,66,67}. Industrialmente, a mistura de componentes é efetuada em uma malaxadora. A secagem do material pode ser feita em estufa ou diretamente na malaxadora acompanhada de pulverização para uniformizar o tamanho de partícula.

Atomização (Spray Drying)

Representa um dos métodos mais empregados para produzir complexos de inclusão a partir de uma solução. A mistura parcial do sistema e a rápida eliminação de água propiciam uma eficiência de complexação elevada. Além disso, esta técnica permite controlar o tamanho de partículas obtido em intervalos bastante estreitos, fundamental, por exemplo, para obtenção de pós de administração pulmonar⁶⁸. O baixo rendimento e o estresse térmico são algumas das limitações desta técnica⁶⁵.

Liofilização (freeze Drying)

Consiste na eliminação de solvente dos sistemas em solução, através de um prévio congelamento e posterior secagem a pressões reduzidas. Esta técnica permite a obtenção de complexos de inclusão com elevado rendimento e um baixo estresse térmico. Geralmente se obtêm pós secos, amorfos e com elevado grau de interação fármaco-CD^{69,70}. Apresenta como desvantagens, o longo tempo de processamento e as más características de fluxo do material obtido.

Método de Co-precipitação

Esta técnica parte de uma solução de fármaco e CD em condições muito próximas a saturação e através de mudanças bruscas de temperatura ou adição de solventes orgânicos, se

obtem a precipitação do material em forma de complexo de inclusão. Os cristais obtidos são coletados por centrifugação ou filtração⁷¹. Este método é bastante utilizado em escala laboratorial, sendo frequentemente empregado na obtenção de complexos de inclusão cristalinos com a CD. No entanto, o baixo rendimento conseguido em escalas maiores, o risco de formação de complexos de inclusão com solventes orgânicos e o longo tempo do processamento (um a três dias) torna-o pouco atrativo em escala industrial⁷².

Fluidização supercrítica

Constitui um dos métodos mais inovadores de obtenção de complexos em estado sólido. O desenho de partículas empregando CO₂ em estado supercrítico confere aos materiais obtidos por esta técnica, características únicas quanto à interação⁷³. Apesar de ser um método atóxico (não utiliza solventes orgânicos), rápido, quimicamente estável (utiliza temperaturas moderadas), de baixo custo de manutenção e com promissores resultados descritos na literatura, ainda é uma técnica experimental e que apresenta um custo inicial bastante elevado⁷⁴.

CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO

Os métodos que têm sido usado para caracterizar complexos de inclusão são relatados na Tabela 1. São os mesmos métodos utilizados na caracterização de dispersões sólidas, com a caracterização de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), método analítico mais específico para complexos de inclusão.

Diagramas de solubilidade de fases

Este método baseado na teoria desenvolvida por Higuchi and Connors in 1965⁷⁵ consiste na técnica mais aproximada para caracterizar complexos de inclusão em solução. Estes estudos podem mostrar efeitos na melhora de solubilidade na estabilidade das inclusões e avaliação estequiométrica das mesmas. Este teste pode ser usado para estimar a constante de acordo com o grau de estabilidade dos complexos de inclusão. A Figura 3 mostra como

classificar perfis tipo A. A solubilidade linear está representando um perfil A_L no gráfico. Esta é a primeira ordem da droga em relação a CD. A_N e A_F requerem uma interpretação mais cuidadosa devido à multiplicidade de fenômenos que podem ocorrer. Perfis do *tipo B* são obtidos com a formação de complexos de baixa solubilidade aquosa, em alguns casos, inclusive inferior à da molécula hospedeira e que precipitam à medida que há encapsulação

76,77

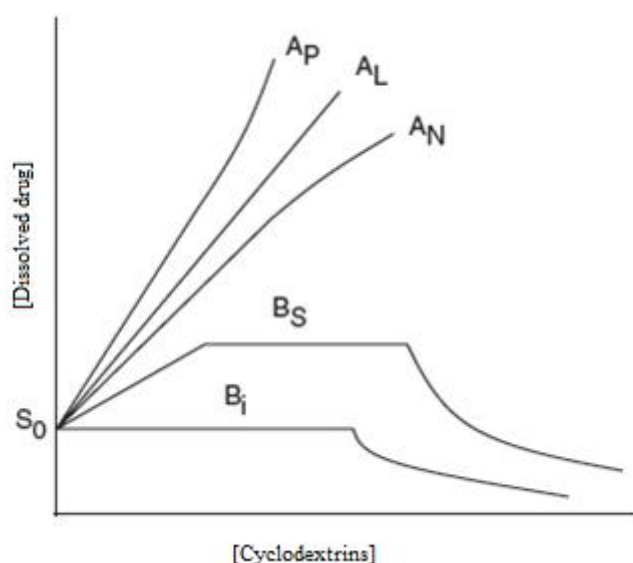


Fig. 3 Perfis de solubilidade pela teoria de Higuchi and Connors. S_0 é a solubilidade intrínseca da droga na ausência de ciclodextrina.

SISTEMAS MULTI-COMPONENTES – POLÍMEROS COM CICLODEXTRINAS

Apesar das ciclodextrinas (CDs) por muito tempo terem sido usadas para formar complexos de inclusão (CIs) solúveis e cristalinos com uma variedade de pequenas moléculas hóspedes, Harada and Kamachi demonstraram primeiramente em 1990, usando polietileno óxido (PEO) líquido de baixo peso molecular, que não se ligam covalentemente, então CIs cristalinos poderiam ser formados entre os polímeros hóspedes e as CDs hospedeiras⁷⁸ Isso é realizado pelo rosqueamento dos polímeros hóspedes nas cavidades das CD para formar

pilhas cristalinas de polímeros, como ilustrado na Fig. 4f. Cadeias poliméricas inclusas nos complexos CD-CIs apresentam os polímeros estendidos e isolados nas cadeias dos complexos vizinhos, porque estão completamente rosqueados e confinados nos canais estreitos das cavidades das CDs. (Fig. 4f)

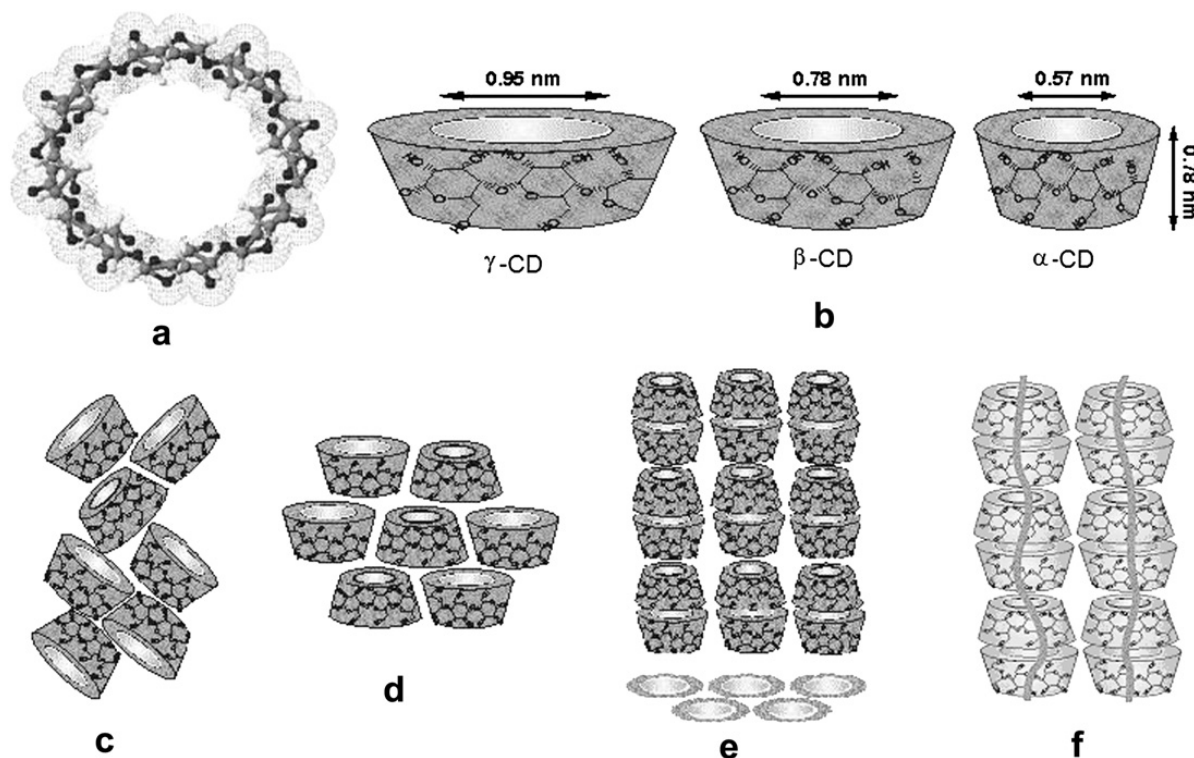


Fig. 4. (a) estrutura química da γ -CD ; (b) dimensões aproximadas da α -, β -, and γ -CDs; representações esquemáticas das estruturas de empacotamento das CD: (c) tipo gaiola, (d) tipo camada, (e) cristais CD tipo canal-cabeça e cauda; e (f) sistemas CD-CI contendo polímero incluído⁷⁸.

Se as CDs hospedeiras no complexo polímero-CD-CIs são cuidadosamente removidas e as cadeias de polímeros são permitidas a coalescer em um volume de amostra sólida, então pode-se esperar que o arranjo das cadeias ou seu empacotamento, deva ser significativamente diferente daquelas normalmente produzidas de sua combinação aleatória e por métodos de solução ou fusão, como sugerido na Fig. 5.

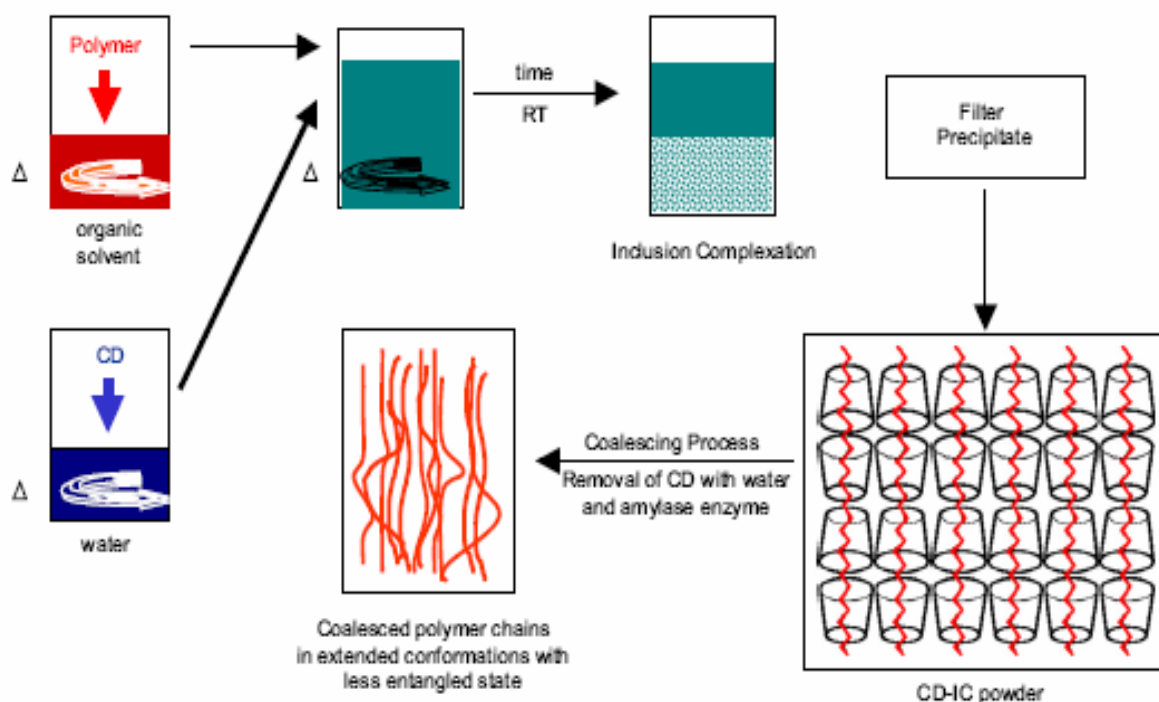


Fig. 5. Representação esquemática da formação polímero CD-CI o processo de coalescência, e o polímero coalescido⁷⁹.

As CD podem igualmente se ligar covalentemente aos polímeros para alterar suas funcionalidades com a incorporação das CDs em suas estruturas durante a condensação em suas cadeias laterais via reações de polimerização. A presença de ciclodextrinas ligadas covalentemente em polímeros, além de potencializar o aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis, também serve para aumentar a aceitação das ciclodextrinas em outras áreas, como por exemplo, na retenção de aditivos, como tinturas, fragrâncias, antibióticos, etc.

CONCLUSÃO

A baixa solubilidade continua impactando o desenvolvimento de um grande número de potenciais candidatos a medicamentos. A maioria das novas entidades químicas (NEQs) promissoras são fármacos pouco solúveis em água, que podem apresentar reduzido efeito terapêutico devido à sua baixa biodisponibilidade. Dispersões sólidas são um dos mais atrativos processos para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis. Pode-se

melhorar sua estabilidade e performance pelo aumento de solubilidade através da interação fármaco-polímero, fração amorfa, molhabilidade e porosidade da partícula. As ciclodextrinas representam uma alternativa verdadeira neste contexto. Estes derivados do amido são solubilizadores úteis, tanto para líquidos orais como em formas farmacêuticas parenterais. Adicionalmente pode-se aumentar a biodisponibilidade oral de sólidos através do aumento da taxa de dissolução secundária para aumentar a solubilidade aparente de um composto. Enquanto que a formação de complexos de inclusão certamente é o maior mecanismo associado com o potencial de solubilização das ciclodextrinas, efeitos relacionados a não complexação e supersaturação são importantes contribuintes para solubilização em certas circunstâncias. Polímeros hidrofílicos e ciclodextrinas agindo isoladas com o fármaco ou formando complexos e sistemas multi-componentes são eficientes sistemas na solubilização de drogas.

REFERÊNCIAS

1. Yu Seok Youn, Ju Young Jung, Seung Hyun Oh, Sun Dong Yoo and Kang Choon Lee (2006) *J. Contr. Release* 114, 334–342.
2. Sugawara, M.; Kadomura, S.; Xin H.; Takekuma Y.; Kohri N.; Miyazaki K.; (2005) *Eur. J. Pharm. Sci.* 26, 1–8.
3. Ikegami, K.; Tagawa, K.; Osawa, T.; (2006) *J. Pharm. Sci.* 95, 1888–1895.
4. Charman, S.A. and Charman, W.N. (2003) Oral modified-release delivery systems. In *Modified-Release Drug Delivery Technology* (Rathbone, M.J. et al. eds), pp. 1–10, Marcel Dekker.
5. Van Drooge, D.J., Hinrichs, W.L.J., Visser, M.R., Frijlink, H.W., (2006) *Int. J. Pharm.* 310, 220–229.
6. Vippagunta, S.R., Zeren Wang, Hornung S., Krill, S.L., (2006) *J. Pharm. Sci.* 96, 294–30.
7. Pouton, C.W. (2006) *Eur. J. Pharm. Sci.* 29, 278–287
8. Bogdanova, S.; Pajeva I., Nikolova P., Tsakovska I. (2005) *Pharm. Res.* 22, 806–815
9. Wadke, D. A.; Serajuddin, A. T. M.; Jacobson, H. Preformulation testing. In *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Vol. 1*; Lieberman, H. A.; Lachman, L.; Schwartz, J. B., Eds.; Marcel Dekker: New York, 1989; pp 1-73.
10. Craig, D.Q.M. (2002) *Int. J. Pharm.* 231, 131–144.
11. Sekiguchi, K. and Obi, N. (1961) *Chem. Pharm. Bull.* 9, 866–872
12. Chiou, W.L., Riegelman, S., (1971) *J. Pharm. Sci.* 60, 1281–1302.
13. Sekiguchi, K. and Obi, N. (1964) *Chem. Pharm. Bull.* 12, 134–144

14. Goldberg, A.H., Gibaldi, M., Kanig, J.L. and Mayersohn, M., (1966) *J. Pharm. Sci.* 55, 581–583.
15. Levy, G. (1963) *Am. J. Pharm. Sci. Support Public Health* 135, 78–92.
16. Kanig, J.L. (1964) *J. Pharm. Sci.* 53, 188–192.
17. Bloch, D.W., & P.P. Speiser *Pharm. Acta Helv.* 62(1), 23-27. 1987.
18. Noyes, A.A., & W.R. Whitney (1897) *J. Am. Chem. Soc.* 19 930±934.
19. Janssens, S., de Armas, H.N., J.P. Remon & G. Van den Mooter (2007) *Eur. J. of Pharm. Sci.* 30 288–294.
20. Majerik, V., Charbit G., Badens E., Horváth G., Szokonya L., Bosc N., Teillaud E., (2007) *J. Supercrit. Fluids* 40, 101–110.
21. Yoshihashi, Y., H. Iijima, E. Yonemochi and K. Terada (2006) *J. Therm. Anal. Calorim.* 85, 689–692.
22. Cutler, L., Howes C., Deeks N.J., Buck T.L., Jeffrey P., (2006) *J. Pharm. Sci.* 95, 1944–1953.
23. Serajuddin, A.T. (1999) *J. Pharm. Sci.* 88, 1058–1066.
24. Karavas, E., Ktistis, G., Xenakis, A., Georgarakis, E., (2006) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 63, 103–114.
25. Muhrer, G., Meier U., Fusaro F., Albano S., Mazzotti M., (2006) *Int. J. Pharm.* 308, 69–83.
26. Rasenack, N. and Muller, B.W. (2004) *Pharm. Dev. Technol.* 9, 1–13
27. Pokharkar, V.B. Mandpe, L.P., Padamwar, M.N., Ambike, A.A., Mahadik, K.R., Paradkar, A., (2006) *Powder Technol.* 167, 20–25.
28. Van den Mooter, G., Weuts, I., De Ridder, T., Blaton, N., (2006) *Int. J. Pharm.* 316, 1–6.
29. Chauhan, B., Shimpi S., Paradkar A., (2005) *Eur. J. Pharm. Sci.* 26, 219–230.
30. Vasanthavada, M., Tong, W.-Q., Joshi Y., Kislalioglu, M. S., (2004) *Pharm. Res.* 21, 1598–1606.
31. Johari, G.P., Kim, S., Shanker, Ravi M., et al. (2005) *J. Pharm. Sci.* 94, 2207–2223.
32. Moneghini, M., Carcano A., Zingone G., (1998) Part I. *International Journal of Pharmaceutics.* 175, p. 177–183.
33. Tantishaiyakul, V.; Kaewnopparat, N.; Ingkatawornwong, S. (1999) *Int. J. Pharm.* 181: 143–151.
34. Wang, X., Michoel, A., Van den Mooter, G., (2005) *Int. J. Pharm.* 303, 54–6.
35. Simonelli, A.P., Mehta, S.C. and Higuchi, W.I. (1969) *J. Pharm. Sci.* 58, 538–54.
36. Jacowicz, R. (1987) *International Journal of Pharmaceutics.* 35, p.7-12.
37. Abdul-Fattah, A.M., Bhargava, H.N. (2002) *International Journal of Pharmaceutics.* 235, p.17-33.
38. Paradkar, A., Ambike A.A., Jadhav, B.K., Mahadik, K. R., (2004) *International Journal of Pharmaceutics.* 271, p. 281–286.
39. Hasegawa, S. Hamaura, T., Furuyama, N., Kusai, A., Yonemochi, E., Terada, K., (2005) *Int. J. Pharm.* 302, 103–112.
40. Lloyd, G.R., Craig, D.Q.M., Smith, A., (1999) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 48, 59–65.
41. Rodier, E., Lochard, H., Sauceau, M., Letourneau, J.J., Freiss, B., Fages, J., (2005) *Eur. J. Pharm. Sci.* 26, 184–193.
42. Won, D.-H., Kim, M.-S., Lee, S., Park, J.-S. Hwang, S.-J. (2005) *Int. J. Pharm.* 301, 199–208.
43. Ahuja, N., Katare, O.P., Singh, B., (2007) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 65, 26–38.
44. Tanaka, N., Imai, K., Okimoto, K., Ueda, S., Tokunaga, Y., Ohike, A., Ibuki, R., Higaki, K., Kimura, T., (2005) *J. Contr. Release* 108, 386–395.
45. Tanaka, N. Imai, K., Okimoto, K., Ueda, S., Tokunaga, Y., Ohike, A., Ibuki, R., Higaki, K., Kimura, T., (2006) *J. Contr. Release* 112, 51–56.

46. Karavas, E., Georgarakis, E., Bikiaris, D., (2006) b *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 64, 115–126.
47. Huang, J., Wigent, R.J., Bentzley, C.M., Schwartz, J.B., (2006) *Int. J. Pharm.* 319, 44–54.
48. Konno, H. and Taylor, L.S. (2006) *J. Pharm. Sci.* 95, 2692–2705.
49. Taylor, L.S. and Zografi, G. (1997) *Pharm. Res.* 14, 1691–1698.
50. Karata, A., Yüksel, N., Baykara, T., (2005) *Il Farmaco* 60, 777–782.
51. Li, F.-Q. Hu, J.-H., Deng, J.-X., Su, H., Xu, S., Liu, J.-Y., (2006) *Int. J. Pharm.* 324, 152–157.
52. Owusu-Ababio, Ebube, N.K., Reams, R., Habib, M., (1998) *Pharm. Dev. Technol.* 3, 405–412.
53. Timko, R.J. and Lordi, N.G. (1979) *J. Pharm. Sci.* 68, 601–605.
54. Yao, W.-W. Bai, T.C., Sun, J.P, Zhu, C.W., Hu, J., Zhang, H.L., (2005) *Thermochim. Acta* 437, 17–20.
55. Lin, C.-W. and Cham, T.-M. (1996) *Int. J. Pharm.* 127, 261–272.
56. Leuner, C. & Dressman, J. (2000) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50, 47–60.
57. J. Kreuter, Feste Dispersionen, in: J. Kreuter, C.-D. Herzfeldt (Eds.), (1999) *Grundlagen der Arzneiformenlehre Galenik*, 2, Springer, Frankfurt am Main, pp. 262-274.
58. Verheyen, S., Blaton, N., Kinget, R., Van den Mooter, G., (2002) *Int. J. Pharm.* 249: 45–58,.
59. A. Villiers. Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique. C.R. Hebd. Seances Acad. Sci. 112 (1891) 536-538.
60. Clarke, R. et al. Inclusion complexes of the cyclomalto-oligosaccharides (cyclodextrins). In Tipson, R. & D. Horton (2002) *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 46, 205-249.
61. Uekama, K. (2004) *Chem Pharm Bull*; 52(8):900-15.
62. Rajewski, R.A. & V.J. Stella (1996) *J Pharm Sci*; 85(11):1142-69.
63. Loftsson, T. & M.E. Brewster (1996) *J Pharm Sci*; 85(10):1017-25.
64. Masson M., Loftsson, T., G. Masson & E. Stefansson. (1999) *Journal of Controlled Release* 59 107–118
65. Fernandes, C.M. & F.J.B. Veiga (2002) *Chem Pharm Bull*; 50(12):1597-602.
66. Cirri, M., Rangoni, C., Maestrelli, F., G. Corti & P. Mura (2005) *Drug Dev Ind Pharm* 2005b; 31(7):697-707.
67. Cunha-Filho, M.S.S., Dacunha-Marinho, B., Torres-Labandeira, J.J., R. Martínez-Pacheco & M. Landín (2007) Characterization of - Lapachone and Methylated -Cyclodextrin Solid-state Systems. *AAPS PharmSciTech* 8(3) Article 60 p E1-10.
68. C.M. Vozzone & H.M.C. Marques (2003) *J Incl Phenom Macro Chem*; 44(1-4):111-5.
69. Cao, F., J. Guo & Q. Ping (2005) *Drug Dev Ind Pharm*; 31(8):747-56.
70. Rodriguez-Perez, A.I., Rodriguez-Tenreiro, C., Alvarez-Lorenzo, C., A. Concheiro & J.J. Torres-Labandeira (2006) *J Nanosci Nanotechnol*; 6(9/10):3179-86.
71. Miro, A., Quaglia, F., Sorrentino, R., d'Emmanuele di Villa Bianca, R., G. Varricchio & M.I. La Rotonda (2000) Enhancement of gliquidone aqueous solubility by cyclodextrins for the optimization of its pharmacological profile. *Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials*; July 11-13; Paris: Controlled Release Society, 2000:1270-1.
72. Hedges, A.R. (1998) *Chem Rev*; 98(5):2035-44.
73. S. Palakodaty & P. York (1999) *Pharm Res*; 16(7):976-85.
74. Al-Marzouqi, A.H., Jobe, B., Dowaidar, A., F. Maestrelli & P. Mura (2007) *J Pharm Biomed Anal*; 43(2):566-74.
75. Higuchi, T. & K.A. Connors (1965) *Adv Anal Chem Instrum*; 4:117-212.

76. Cunha-Filho, M.S.S. & L.C.L. Sá-Barreto (2007) *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 28, n.1, p.1-9, (*Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*)
77. Loftsson, T., M. Masson & M.E. Brewster (2004) *J Pharm Sci*; 93(5):1091-9.
78. Harada A & M. Kamachi (1990) *Macromolecules*;23:2821.
79. Tonelli A. E. (2008) / *Polymer* 49 1725-1736.

Capítulo II

4 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE BENZNIDAZOL

4.1 Artigo II. Development of dissolution method for benznidazole tablets

Artigo submetido ao Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences

4.1 Artigo II. Desenvolvimento de Método de Dissolução para Comprimidos a base de Benznidazol

Ádley Antonini Neves de Lima¹, José Lamartine Soares Sobrinho¹, Jeckson Luis da Silva¹, Roberto Antônio Cavadinha Corrêa Júnior¹ e Pedro José Rolim Neto^{1*}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM, UFPE - Brazil

Resumo

O desenvolvimento de método analítico para testes de dissolução é de fundamental importância tanto para o controle de qualidade, como também para o desenvolvimento de medicamentos. O benznidazol, fármaco utilizado na terapia para a Doença de Chagas na forma farmacêutica comprimidos, não possui até o momento método disponível. Diante do exposto o objetivo do trabalho foi desenvolver método de dissolução para comprimidos a base de benznidazol. Utilizou-se três diferentes tipos de meio de dissolução, velocidades de rotação de 50 e 75 rpm e aparato pá. A realização de perfis de dissolução do medicamento foi comparada por ferramentas estatísticas como fator de semelhança e diferença, além de eficiência de dissolução. O doseamento foi realizado por espectrofotometria a 324 nm. As condições de ensaio mais adequadas de acordo com os resultados obtidos foram tampão cloreto de sódio/ácido clorídrico pH 1.2, com velocidade de rotação de 75 rpm e pá como aparato. Diante dos resultados pode-se concluir que o método desenvolvido constitui-se numa alternativa eficaz para ensaios de dissolução para comprimidos a base de benznidazol.

Palavras-chaves: Dissolução, velocidade de rotação, aparatos, Doença de Chagas, benznidazol.

Abstract

The development of analytical method for dissolution tests is of basic importance in such a way for the quality control, as well as for the medicine development. Benznidazole, drug used

in the therapy for the Chagas disease in the pharmaceutical form tablets, doesn't possess until the moment available method. Ahead of displayed the objective of the work it was to develop dissolution method for benznidazole tablets. One used three different types of dissolution medium, rotation speeds of 75 and 50 rpm and apparatus paddle. The accomplishment of dissolution profiles of drug was compared by statistical tools as factor of similarity and difference beyond dissolution efficiency. The assay was carried through by spectrophotometry at 324 nm. The conditions of assay more adjusted the gotten results had in accordance with been drain plug sodium chloride \ hydrochloride acid pH 1,2 with rotation speed of 75 rpm and paddle as apparatus. Ahead of the results it can be concluded that the developed method consists in an efficient alternative for assays of dissolution for benznidazole tablets.

Keywords: Dissolution, rotation speed, apparatus, Chagas disease, benznidazole.

1 Introdução

O benznidazol, apesar de não ser o fármaco ideal, devido a sua baixa solubilidade (classe biofarmacêutica II) e alta toxicidade, é atualmente o fármaco de escolha para o tratamento da doença de Chagas (DOCAMPO, 2001). A tripanossomíase humana sul-americana ou doença de Chagas é uma doença negligenciada. Estima-se que a prevalência global da doença de Chagas seja de 9,8 milhões de pessoas infectadas. A batalha contra esta doença, resultado da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, já obteve êxitos na interrupção da

transmissão vetorial e transfusional da doença na maioria dos países endêmicos, contudo, estas 9,8 milhões de pessoas infectadas ainda não dispõem de um tratamento medicamentoso adequado (SCHOFIELD; JANNIN; SALVATELLA, 2006).

Métodos analíticos adequados, como o teste de teor e dissolução, são importantes para a pesquisa e desenvolvimento de medicamentos de forma racional, em atendimento aos órgãos reguladores, necessitando haver um desenvolvimento e validação desses métodos para posterior aplicação na P & D de produtos farmacêuticos (SOARES-SOBRINHO, 2006)

Dissolução pode ser definida de forma simplificada como o processo pelo qual o fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo (AZAMI, 2007). Testes de dissolução *in vitro* são uma importante ferramenta para controle de qualidade em diferentes estágios de ciclo de vida de um medicamento (SIEWERT, 2003).

Nos primeiros estágios do desenvolvimento farmacotécnico são úteis para identificar variáveis críticas na produção, escolher entre diferentes formulações, otimizá-las e fazer avaliações de risco, como no caso de formas de liberação controlada (MANADAS, 2002). Existem três categorias de ensaios de dissolução para medicamentos de liberação imediata: dissolução de um único ponto, com dois pontos e perfis de dissolução, que permitem avaliar e comparar a cinética de dissolução e a eficiência de dissolução de determinado produto (STORPIRTS, 1998)

Para fármacos que não possuem monografia oficial existe a necessidade de desenvolver ensaios de dissolução que possam prever o comportamento *in vivo* dos mesmos. A avaliação do perfil de dissolução, em três diferentes meios, na faixa de pH fisiológico é recomendada como suporte no desenvolvimento e otimização do método de dissolução, bem como no estabelecimento de correlações *in vitro-in vivo* (ADAMS, 2001; MOORE, 1996; FDA, 1997)

Fator importante a ser considerado na escolha do meio de dissolução é a classificação biofarmacêutica do fármaco. Fármacos classe I dissolverão bem em qualquer meio aquoso, desde que não haja qualquer problema de desintegração. Já para fármacos da classe II é preciso haver cuidado na escolha do meio, 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 da formulação, para produtos que contenham fármacos pouco solúveis em água recomenda-se o uso de surfactantes (FDA, 1997) com o objetivo de atingir a condição Sink. (AZAMI, 2007). Em seguida deve ser escolhido método analítico adequado para realizar a quantificação do fármaco em solução, o método deve ser suficientemente sensível para determinar com exatidão a quantidade da substância na amostra (SKOUG, 1997)

A escolha do aparato deve ser baseada na capacidade de apresentar resultados consistentes e admitir algum grau de automação (ABDOU, 1989). O aparato cesta é geralmente usado para formas não desintegrantes com velocidade de agitação de 50 a 100 rpm, enquanto que o aparato pá pode ser utilizado tanto para formas desintegrantes quanto para as não desintegrantes a 50 ou 75 rpm (FDA, 1997)

Diante da inexistência de método publicado, seja oficial ou em revistas científicas, referentes ao teste de dissolução para comprimido de benznidazol, o presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento e validação do método adequado a dissolução de comprimidos de benznidazol.

2. Materiais e métodos

2.1 Instrumentação

Foram utilizados nos experimentos balança analítica Bioprecisa, modelo FA 2104N; sonificador Limp sonic; durômetro Varian, modelo VK 200; friabilômetro Press Test;

desintegrador Nova Ética, modelo 301-AC; dissolutor Varian, modelo VK 7010; espectrofotômetro UV micronal, modelo B 582.

2.2 Materiais e reagentes

Utilizou-se para o estudo: Padrão de trabalho de benznidazol, com teor de 99,9% fornecido pelo LAFEPE; água purificada; benznidazol matéria-prima; etanol; tampão acetato de sódio pH 4.5; tampão fosfato de sódio pH 7.2; tampão HCl 0.1 N + NaCl pH 1.2, comprimidos de benznidazol desenvolvidos no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM); comprimidos de referência Rochagan®, Roche.

2.3 Validação do Método de Doseamento por UV

O método utilizado para realização do doseamento do percentual dissolvido de BNZ nos testes de dissolução foi adaptado do trabalho publicado por Soares-Sobrinho e colaboradores (2006) para uso em nosso experimento. A validação do método foi realizada segundo ICH (1996) onde foram avaliados os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão e exatidão. **Especificidade:** Foram obtidos espectros de absorção na região do UV-visível das soluções placebo, padrão e amostra a fim de verificar-se a interferência das formulações nas determinações espectrofotométricas do BNZ. **Linearidade:** Este ensaio foi realizado com a análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios de três curvas autênticas com seis pontos nas concentrações de 5µg/mL, 10µg/mL, 15µg/mL, 20µg/mL, 30µg/mL e 50µg/mL do padrão de trabalho de benznidazol. O coeficiente de correlação obtido foi a partir da média das três curvas. **Exatidão:** Foi escolhida para realização da exatidão as concentrações de 20, 80 e 120%, os valores foram baseados nos percentuais que poderiam ser encontrados durante o perfil de dissolução. **Precisão:** Foram obtidas soluções nas concentrações de 50 e 100 % da substância padrão e avaliados quanto ao coeficiente de variação das amostras.

2.4 Testes físicos e doseamento/uniformidade de conteúdo dos comprimidos

Os testes de dureza, friabilidade, desintegração, peso médio e uniformidade de conteúdo dos produtos utilizados no estudo (Benznidazol-LTM e Rochagan) foram realizados conforme farmacopéia America (USP30).

Teor

Preparo da solução padrão

Pesou-se precisamente 25mg do padrão de trabalho benznidazol, transferiu-se quantitativamente para balão de 50 mL, completou-se o volume com etanol, sonicou por 10 minutos. Pipetou-se 2mL dessa solução e estes foram transferidos para balão volumétrico de 50mL, completou-se o volume com água. A leitura se procedeu em espectrofotômetro com comprimento de onda de 324nm, utilizando-se água como branco. A concentração teórica de leitura foi de 20µg/mL.

Preparo da solução amostra

Matéria-prima: O preparo desta solução se procedeu da mesma maneira que o preparo da solução padrão, utilizando 25mg de benznidazol matéria-prima.

Comprimido: O preparo desta solução também obedeceu ao mesmo procedimento acima citado, utilizando o equivalente a 25mg de benznidazol, contudo deve-se filtrar a solução da primeira diluição antes de proceder a técnica (SOARES-SOBRINHO, 2006)

Foram pesados 10 comprimidos, que foram triturados em grau e pistilo e realizado doseamento segundo método descrito por Soares Sobrinho et al (2006)

2.5 Desenvolvimento do Método de Dissolução

Foram consideradas as condições testadas conforme tabela 1, três meios de dissolução, obedecendo ao gradiente do pH fisiológico, aparato 2 (Pá) , velocidade de rotação de 50 rpm e 75 rpm (USP 30). Volume de coleta de 2 mL, havendo reposição imediata de meio. Os meios de dissolução foram aquecidos a 40°C e em seguida sonicados, o volume utilizado nas cubas

foi 900 mL, estabilização da temperatura da solução em $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e as alíquotas foram retiradas nos tempos de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 min. As amostras realizadas em quadruplicata, com posterior leitura no espectrofotômetro a 324 nm. Além de se ter analisado a estabilidade do fármaco no meio de dissolução pelo período de 24 horas e a influência da filtração da amostra.

Preparo das amostras: a amostra coletada foi filtrada em membrana com porosidade $0,45\ \mu\text{m}$ e diluída com água ultra-pura a fim de se obter uma concentração final de $22,2\ \mu\text{g/mL}$ de BNZ.

Tabela 1: Condições utilizadas nos testes de dissolução

Condição	Aparato	Meio (900 mL)	Velocidade (rpm)
I	Pá	Tampão cloreto de sódio\ácido clorídrico pH 1,2	50
II		Tampão Acetato pH 4,5	
III		Tampão fosfato pH 7,2	
IV		Tampão cloreto de sódio\ácido clorídrico pH 1,2	75
V		Tampão Acetato pH 4,5	
VI		Tampão fosfato pH 7,2	

A avaliação da influência da filtração foi testada com a preparação de soluções de BNZ matéria-prima e Benznidazol-LTM em tampão cloreto de sódio\ácido clorídrico pH 1,2, as amostras foram analisadas por espectrofotometria UV-visível antes e após o processo de filtração com membrana de acetato $0,45\ \mu\text{m}$. Para o estudo de estabilidade do BNZ em solução (meio utilizado no teste de dissolução), foi avaliado por meio de soluções de BNZ e

Benznidazol-LTM as quais foram mantidas em temperatura ambiente por um período de 24 h, a temperatura de 37,5°C.

2.7 Estudo comparativo entre Produtos e Perfis de dissolução

Para o estudo comparativo entre os produtos de obtenção local (benznidazol-LTM) e produto produzido pela Roche (Rochagan) foi realizado além dos testes de peso médio, dureza, friabilidade, desintegração, teor e uniformidade de conteúdo (USP30), como também foi realizada análise comparativa dos perfis de dissolução, utilizando o método de dissolução desenvolvido e ferramentas estatísticas, modelo independente, como fator de semelhança (F2) (equação 1), fator de diferença (F1) (equação 2) e eficiência de dissolução (ED) (equação 3), conforme observamos em trabalhos previamente publicados por Martinello, V. C. A. & C. H. R. Serra (2008).

Equação 1

$$F_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \times \sum_{i=1}^n (R_f - T_t)^2 \right]^{-0.5} \right\} \times 100$$

Equação 2

$$F_1 = \left\{ \left[\sum_{i=1}^n |Rf - Tt| \right] / \left[\sum_{i=1}^n Rf \right] \right\} * 100$$

Equação 3

$$ED (\%) = \frac{ASC(0 - 120)}{ATR} \times 100\%$$

Essas ferramentas comparativas também foram utilizadas para mensurar a influência dos fatores, como natureza do meio de dissolução e para velocidade de rotação entre as condições testadas, durante o desenvolvimento do teste de dissolução.

3. Resultados e Discussões

3.1 Validação do método de UV

O método para quantificação do BNZ mostrou-se específico pois não houve interferência do placebo, no pico de absorção máximo do BNZ, em 324 nm. Para os ensaios de linearidade obteve-se r^2 de 0,999 e equação da reta $y = 0,030x$, sem falta de ajuste para a reta obtida além da distribuição aleatória dos resíduos. Para o parâmetro exatidão, verificou-se uma variação de 99,3 a 100,8% e a média de recuperação entre 99,4 a 100,4%. Na verificação de precisão foram obtidos coeficientes de variação para as soluções testadas 50 e 100% de 0,7 e 0,6% respectivamente. Diante dos resultados obtidos pode-se ter segurança para utilização desse método na evolução do desenvolvimento do teste de dissolução (ICH, 1996)

3.2 Testes Físicos e Doseamento\Uniformidade dos produtos

Tabela 2: Controle de Qualidade físicos dos comprimidos: Benznidazol-LTM e Rochagan.

	<i>Dureza Kgf</i>	<i>Friabilidade %</i>	<i>Peso Médio DP</i>	<i>Desintegração Segundos</i>	<i>Teor % (DP)</i>	<i>Unif. de conteúdo % (DP)</i>
Benznidazol-LTM	6,3	0,01	0,35	>30	99,8(0,5)	99,7 (0,25)
Rochagan	5,1	0,01	0,45	>30	100,1 (0,3)	100,2(0,3)

Os controles físicos, além do doseamento e uniformidade de conteúdo dos produtos analisados, permitem uma análise mais completa. Dados importantes para dirimir qualquer dúvida no momento da comparação entre os perfis de dissolução dos medicamentos em estudo, como observado na tabela 2 onde encontram-se os resultados de todos os parâmetros acima citado.

3.3 Desenvolvimento do Método de Dissolução

Diante da inexistência de monografia farmacopéica ou método descrito em literatura, embora disponível comercialmente o produto benznidazol comprimidos de 100 mg, foi desenvolvido o teste de dissolução para tal produto, assim como verificado para outros medicamentos disponíveis no mercado mundial. (SONI, 2008)

Baseado no guia para testes de dissolução (FDA,1997) utilizou-se pá como aparato para forma farmacêutica comprimido e 50 ou 75 rpm como velocidade de rotação. A

influência da velocidade de rotação pode ser verificada na figura 1. Para os ensaios de dissolução realizados com tampão pH 7,2 (condições III e VI) a influência da velocidade de agitação é notória (figura 1-C), apresentando valores de F1 de 40,35 e F2 de 53,67.

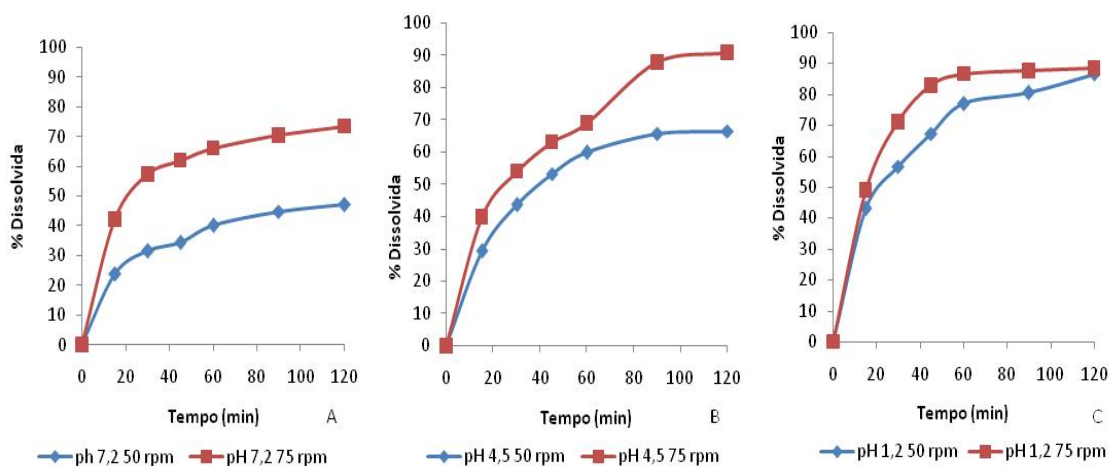


Figura 1: Perfis de dissolução dos comprimidos de BNZ em cada meio com comparativo entre as duas velocidades de rotação. A) Tampão fosfato pH 7,2; B) Tampão acetato pH 4,5; C) Tampão NaCl/HCl pH 1,2.

Para o tampão pH 4,5 (condições II e V) observou-se também grande influência do parâmetro velocidade de agitação (Figura 1-B), apresentando valores de F1 de 27,02 e F2 de 63,73, por fim os ensaios realizados com o meio de pH 1,2 (condições I e IV) apresentaram as menores diferenças relativos ao parâmetro velocidade de agitação, como verificado na figura 1-A, com F1 de 18,91 e F2 de 63,95, apesar de constituírem-se em diferenças significativas.

Para definição do meio de dissolução (pH 7,2, 4,5 ou 1,2) mais adequado na utilização do método, comparou-se os perfis de dissolução nas duas velocidades pré-estabelecidas conforme trabalhos de BREIER e colaboradores (2005), conforme observado na figura 2. Nos perfis de dissolução utilizando velocidade de 50 rpm, verifica-se acentuada diferença de acordo com a figura 2-A e confirmada por valores de F1 e F2 para todas as comparações (pH 7,2 x pH 4,5; pH 7,2 x pH 1,2; pH 4,5 x pH 1,2), conforme tabela 3, apesar que os percentuais de fármaco dissolvido ao fim do teste (120 min), com exceção do ensaio que utilizou meio pH 1,2, apresentaram valores abaixo de 80% . Nos ensaios que foram realizados com velocidade

de rotação de 75 rpm, assim como verificado para velocidade de 50 rpm, diferenças significativas porém numa intensidade menor conforme figura 2-B e valores de F1 e F2 (tabela 3). O poder discriminativo do teste de dissolução, com a velocidade de 75 rpm foi diminuído, porém um percentual maior de fármaco foi dissolvido ao fim do teste(120 min), como observado para os meios de pH 1,2 e 4,5 com valores aproximadamente de 90% e para o meio pH 7,2 com valores de aproximadamente de 80%.

Tabela 3: Valores de F1 e F2 para todas as condições testadas (I a VIII)

f1/f2	HCl 50	Acetato 50	Fosfato 50
HCl 50		18,49/72,19	70,28/51,96
Acetato 50	18,49/72,19		43,70/61,93
Fosfato 50	70,28/51,96	43,70/61,93	
Tabela f1/f2	HCl 75	Acetato 75	Fosfato 75
HCl 75		14,24/66,92	25,26/62,84
Acetato 75	14,24/66,92		11,83/72,48
Fosfato 75	25,26/62,84	11,83/72,48	

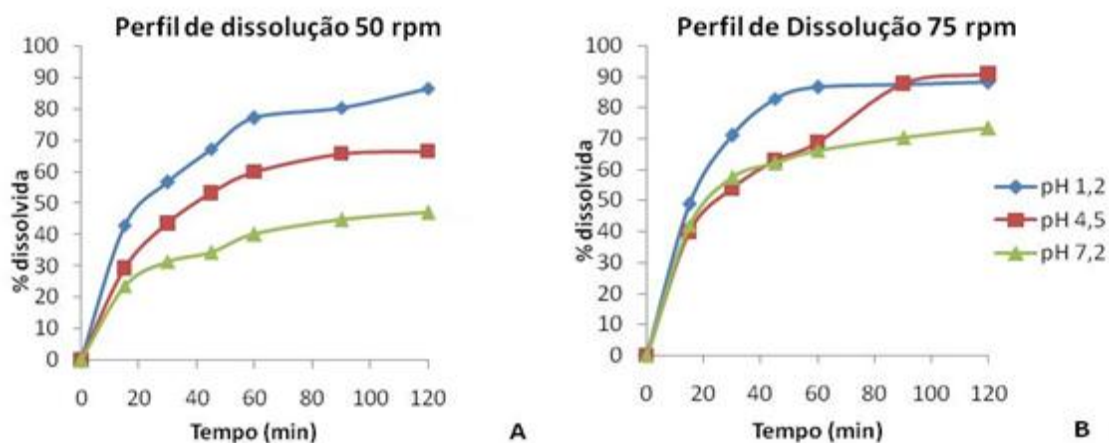


Figura 2. Perfis de dissolução dos comprimidos de BNZ comparativo entre os três meios de dissolução. Gráfico A) 50 rpm; Gráfico B) 75 rpm

Uma maneira também utilizada para fins comparativos de dissolução é a eficiência de dissolução (ED) (KHAN, 1975), conforme tabela 4 pode-se verificar diferenças entre as condições testadas, apontando para a condição IV com maior eficiência de dissolução.

Para os resultados obtidos antes e após filtração, não verificou-se mudanças significativas com intervalo de confiança de $p > 0,05$. Os resultados para estabilidade da solução de BNZ e

comprimidos de BNZ foi na faixa de 99 a 101%, demonstrando a manutenção da integridade química da amostra durante o ensaio.

Tabela 4. Valores de eficiências de dissolução no tempo 120 min.

<i>Condição de Teste</i>	<i>ED%</i>
I	43,27
II	33,25
III	17,14
IV	44,12
V	41,00
VI	36,73

3.4 Estudo comparativo entre Produtos

O estudo comparativo que foi desenvolvido entre o Benznidazol-LTM frente ao Rochagan, por meio de análises de controle de qualidade para a forma farmacêutica em questão, utilizando métodos gerais da farmacopéia brasileira quarta edição (F BRAS, 1988), além do perfil de dissolução realizado após desenvolvimento de método para teste de dissolução, demonstrou que apesar dos testes físico-químicos (tabela 2), serem semelhantes, o contrário foi verificado no perfil de dissolução onde, por meio da comparação dos perfis dos produtos testados figura 3. Esta diferença pode ser confirmada através da ED nos tempos de 45, 60, 90 e 120 min (tabela 5), além dos valores de F1 20,97 e F2 61,96.

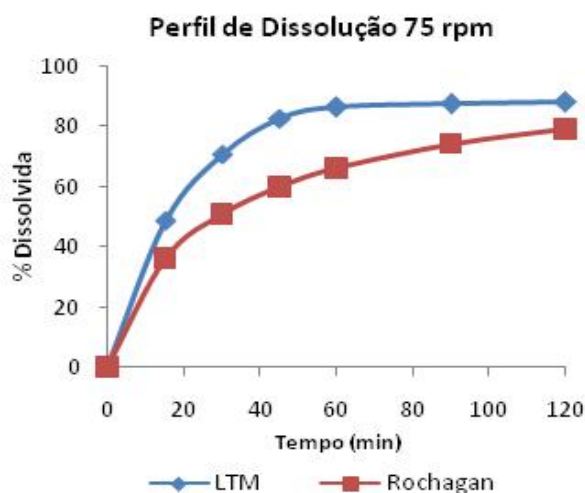


Figura 3. Perfil de dissolução comparativo entre produtos

Tabela 5: Eficiência de dissolução Benznidazol-LTM X Rochagan nos tempos 45, 60, 90 e 120 min.

	<i>Benznidazol-LTM</i>	<i>Rochagan</i>
45	41,46	30,1
60	43,26	33,1
90	43,8	37,22
120	44,12	39,7

4. Conclusão

O desenvolvimento de testes para ensaios de dissolução *in vitro* de medicamentos é muito importante. A inexistência de método específico para o produto comprimido de BNZ em compêndios oficiais e literatura científica, vem colaborar com a definição de método específico para tal finalidade, com as devidas especificações, constituindo-se em método adequado ao uso. Com aparato pá, velocidade de rotação de 75 rpm, volume de meio 900 mL, meio de dissolução tampão cloreto de sódio/ác. Clorídrico pH1,2, duração do ensaio de 120 min, com dois pontos de coleta para ensaios de controle de qualidade lote a lote com especificações de >Q de 70 e 80% para os tempos 60 e 120 min respectivamente em acordo com guia para testes de dissolução (FDA,1997) para substâncias de classe biofarmacêutica II

(baixa solubilidade), além de realização de perfis de dissolução para o desenvolvimento e otimização de formulações a base de BNZ.

5. Referências Bibliográficas

1. Docampo, R. Recent developments in the chemotherapy of Chagas disease. *Current Pharmaceutical Design*, Schiphol, v. 7, n. 12, p. 1157-1164, 2001.
2. Schofield, C. J.; Jannin, J.; Salvatella, R. The future of chagas disease control. *Trends in Parasitology*, Oxford, v. 22, n. 12, p. 583-588, 2006.
3. Soares-Sobrinho, J. L.; Silva, A.L. M.; Grangeiro, S.; Medeiros, F.P.M.; Rolim-Neto, P.J. Desenvolvimento e validação de método analítico para doseamento de benznidazol. *Rev. Bras. Farm.* 87 (3):78-80, 2006.
4. Azami, S., Roa, N., Lobemrg, R. Currente perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. *Int. J. Pharm.* 328, 12-21, 2007.
5. Siewert, S., Dressman, J., Brown, C., Shah, V., Williams, R. FIP\AAPS: Guidelines for dissolution in vitro release testing of novel especial dosage forms. *Dissolution Technology*, 10, 10-13, 2003.
6. Manadas, R., Pina, M.E., Veiga, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. *Rev. Bras. Cien. Farm.*, São Paulo, v.38, n.4, p. 375-399, 2002.
7. Storpirts, S. & D. Rodrigues *Drug Dev Ind Pharm*, 24:123-9, 1998.
8. Adams, E., D. Coomans, J. Smeyers-Verbeke & D. L. Massart *Int. J. Pharm.* 226: 107-25, 2001.
9. Moore, J. W. & H. H. Flanner *Pharm. Technol.* 20: 64-74, 1996.
10. FDA (1997) "Guidance for Industry Dissolution Testing of Intermediate Release Solid Oral Dosage Forms", US Department of Health and Human Services (CDER).
11. Skoug, J.W., Haslthead, G.W., Theis, D.L, Freeman, J.E., Fagam, D.T., Rohrs, B.R. Roteiro para desenvolvimento e validação do teste de dissolução em formas farmacêuticas sólidas para uso oral. *Pharm. Tecnol.*, New York, v.1, p.34-43, 1997.
12. Abdou, H.M. Dissolution, bioavailability and bioequivalence. Easton: Mack Publishing Company, 1989. 554p.

13. International Conference on Harmonization (ICH) Steering Committee, Validation of analytical procedures: Methodology.
14. USP. United States Pharmacopoeia, 30th.ed., Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 2008.
15. Martinello, V.C.A. and Serra, C.H.R., Estudo de dissolução de cápsulas contendo itraconazol: Desenvolvimento e validação de método. *Lat. Am. J. Pharm.* 27 (1): 93-9, 2008.
16. Soni, T., Nagda, C., Gandhi, T., Chotai, N.P. Development of discriminating method for dissolution of aceclofenac marketed formulations. *Dissolution Technologies*, 15(2): 31-35, 2008.
17. Brier, A.R., Paim, C.S., Stepp, M. and Shapoval, E.E.S. Development and validation of dissolution tests for fexofenadine hydrochloride capsules and coated tablets. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* (2): 289-298, 2005.
18. Khan, K. A., Rhodes, C. T. The concept of dissolution efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.* 1:85-96, 1975.
19. Farmacopéia Brasileira, 4th Ed, Atheneu, Rio de Janeiro, 1988.

Capítulo III

5 SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS PARA INCREMENTO DE SOLUBILIDADE DO BENZNIDAZOL

5.1 Artigo III. Solid dispersions systems in hydrophilic carriers to increase benznidazole solubility

Artigo submetido ao Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutical Analysis

5.1. Artigo 3. Solid dispersions systems in hydrophilic carriers to increase benznidazole solubility

Ádley Antonini Neves de Lima¹, José Lamartine Soares Sobrinho¹, Jeckson Luis da Silva¹, Roberto Antônio Cavadinha Corrêa Júnior¹, Boaz Galdino de Oliveira², Marcelo Zaldini Hernandez² e Pedro José Rolim Neto^{1*}

1 - Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

Avenida Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50740-521, Recife – PE, Brasil. Fone/Fax: 55 81 3272 1383

2 – Laboratório de Química Teórica e Molecular – LTQM, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

Avenida Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50740-521, Recife – PE, Brasil.

* Pedro José Rolim Neto; e-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

Resumo

No presente estudo o mecanismo de liberação do benznidazol (BNZ) em dispersões sólidas com polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) e polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30) foi investigado, com o objetivo de observar o incremento de solubilidade em meio aquoso do BNZ na presença destes dois polímeros hidrofílicos. A interação do BNZ com os polímeros foi avaliada através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), espectroscopia de Infra-Vermelho Transformada de Fourier (IV-TF), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), difração de raio-X e testes de dissolução *in vitro*, além de um estudo teórico de modelagem molecular. A interação fármaco-polímero foi estudada com a teoria da densidade funcional com a mudança de correlação funcional B3LYP. As energias de interação estimadas foram - 20.9 kJ/mol para PVP e - 6.6 kJ/mol para PEG. Os resultados experimentais e teóricos indicaram que foi desenvolvida nas dispersões sólidas, uma forte interação entre o BNZ e os polímeros, mais acentuada no caso do PVP, e que esta interação contribuiu para um aumento na velocidade de dissolução do BNZ.

Abstract

In the present study the release mechanism of benznidazole (BNZ) in solid dispersions with polyethyleneglycol 6000 (PEG 6000) and polyvinylpyrrolidone K-30 (PVP K-30) was investigated, with the objective to observe the increment of solubility in water of BNZ in the presence of these two hydrophilic polymers. The interaction of BNZ with polymers was evaluated through Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier-transformation Infrared spectroscopy (FTIR), Differential Scanning Calorimetry (DSC), X-ray diffraction and *in vitro* dissolution tests, beyond a theoretical study of molecular modeling. The drug-polymer interaction was theoretically studied with the density functional theory with the B3LYP exchange correlation function. The interaction energies have been estimated at - 20,9 kJ/mol for PVP and - 6,6 kJ/mol for PEG. The experimental and theoretical results indicated that it

was developed in solid dispersions, a strong interaction between the BNZ and polymers, more accentuated in the case of PVP, and that this interaction contributed for an improvement of BNZ solubility.

Key words: Benznidazole, polyethylene glycol 6000, polyvinylpyrrolidone k-30, solid dispersion.

1. Introdução

A doença de Chagas, ou tripanossomíase americana, é uma doença causada pelo *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado. Extendendo-se do sul dos Estados Unidos até o sul da América do Sul, o *T. cruzi* é transmitido principalmente por vetores (triatomine bugs) mais comumente em áreas rurais. Outros mecanismos de transmissão são transfusão de sangue infectado, via transplacentar, transplante de órgão de doador infectado e, mais raramente, via oral e acidentes de laboratório (Prata 2001). Compartilhamento de agulhas intravenosas com outra pessoa é outro meio de transmissão (Auger et 2005, Nijjar & Bigio 2007).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde no boletim epidemiológico 2003, na América Latina, a doença afeta cerca de 25% da população, com 16 a 18 milhões de pessoas infectadas e cerca de 100 milhões com alto risco de infecção. Através da migração urbana, a doença de Chagas tornou-se um problema de saúde não-endêmico em cidades e países (Diaz 2005). Nos Estados Unidos, aproximadamente 50 000 a 100 000 imigrantes têm evidências de infecção crônica pelo *T. cruzi* (Kirchhoff 1993). Em anos recentes, muitos casos não associados ao vetor têm sido diagnosticados nos Estados Unidos, Canadá, e Europa (Nijjar & Bigio 2007; Maguire 2006).

Benznidazol (2-Nitro-N-(fenilmetil)-1H-imidazol-1-acetamida, BNZ, fig. 1), o único fármaco antichagásico aprovado na Argentina e Brasil (Coura & de Castro 2002) de acordo com Do Campo (2001) tem sido a única droga específica no tratamento da doença de Chagas. Esta droga tem sido eficaz apenas no estágio inicial da doença e no primeiro estágio na fase crônica. Dois dos principais problemas deste fármaco são sua toxicidade e baixa solubilidade.

As únicas quimioterapias tripanocidas disponíveis para a doença de Chagas são formas farmacêuticas sólidas, mas têm as desvantagens associadas com a absorção oral de fármacos pouco solúveis (Lamas, 2006). Várias técnicas têm sido utilizadas para melhorar a solubilidade/ taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Entre elas, as disperses sólidas (Serajuddin, 1999; Leuner & Dressman, 2000; Craig, 2002) são mais frequentemente usadas. Nas dispersões sólidas, polímeros hidrofílicos têm sido comumente usados como carreadores. Polivinilpirrolidona (PVP) e polietileno glicol (PEG) têm sido vastamente empregados pelo seu baixo custo e alta solubilidade aquosa. Ambos os polímeros são livremente solúveis em água e são disponíveis em vários pesos moleculares, variando de 10,000 a 700,000 para PVP e de 200, para um excesso de 300,000 para o PEG. O tamanho molecular de ambos os polímeros favorece a formação de soluções sólidas (Franco et al, 2001; Verheyen et al, 2002; Tantishaiyakul et al, 1999; Ruan et al, 2005).

O objetivo deste trabalho foi investigar a possibilidade de melhorar a solubilidade e taxa de dissolução de BNZ em dispersões sólidas com PEG 6000 (figura 2.a) ou PVP K30 (figura 2.b). A fim de caracterizar as dispersões preparadas, análises usando DSC, FTIR, SEM, difração de Raio-X bem como estudos de solubilidade e dissolução foram realizados e a possível interação química entre o fármaco e os polímeros através do estudo químico-teórico da modelagem molecular.

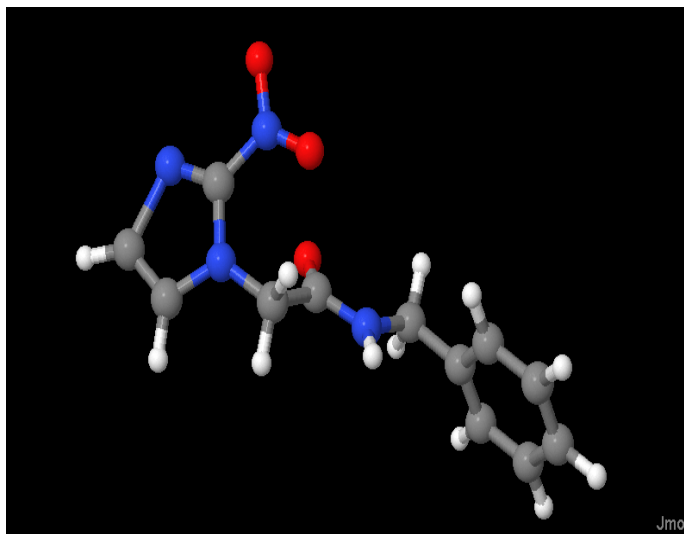


Fig. 1. Estrutura molecular do Benznidazol

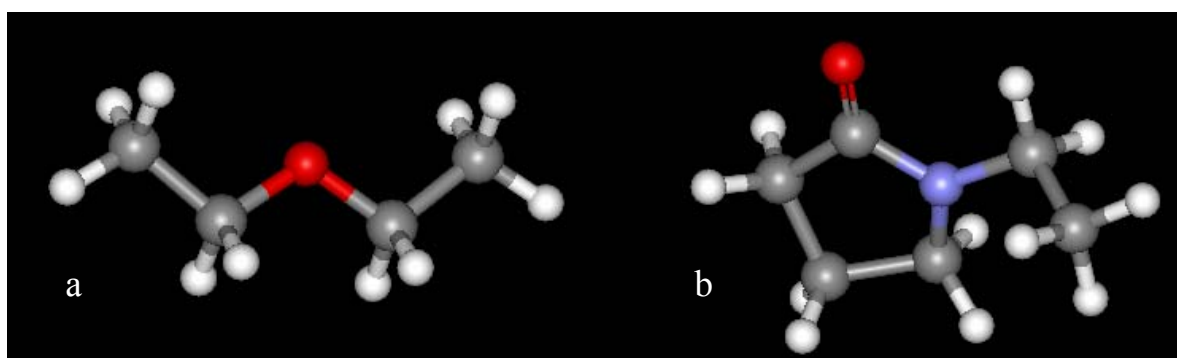


Fig. 2. Estrutura molecular dos monômeros do PEG 6000 (a) e do PVP K 30 (b)

2. Materiais e métodos

2.1. Materiais

Utilizou-se Benznidazol doado pela Roche (Brasil); Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) foi fornecido pela Valdequímica (Brasil); Polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30) foi fornecido pela BASF (Alemanha); acetonitrila, metanol e etanol foram obtidos da Cinetica (Brasil).

2.2. Doseamento do BNZ

A concentração de BNZ foi medida pelo método espectrofotométrico UV, de acordo com metodologia desenvolvida e validada por Soares-Sobrinho et al, 2006). Na preparação da

solução padrão, pesou-se precisamente 25mg do padrão de trabalho de BNZ, transferiu-se quantitativamente para balão de 50 mL, completou-se o volume com etanol, sonicou por 10 minutos. Pipetou-se 2mL dessa solução e estes foram transferidos para balão volumétrico de 50mL, completou-se o volume com água. A leitura se procedeu em espectrofotômetro com comprimento de onda de 324nm, utilizando-se água como branco. A concentração teórica de leitura foi de 20µg/mL. Para o preparo da solução amostra procedeu-se da mesma maneira que o preparo da solução padrão, utilizando 25mg de BNZ matéria-prima.

2.3. Preparação de misturas físicas e dispersões sólidas

2.3.1. Misturas Físicas

O Benznidazol e os excipientes (PVP K30, PEG 6000) foram precisamente pesados na razão de 1:1 fármaco/polímero, misturados e pulverizados em grau com pistilo até a mistura homogênea ser obtida. A mistura foi passada em tamis com malha de 250 µm e armazenada em dessecador para futuros experimentos.

2.3.2. Dispersões sólidas

2.3.2.1. Dispersões sólidas co-evaporadas

Dispersões sólidas de BNZ em PVP K30 e PEG 6000 contendo a razão (1:1 p/p fármaco/polímero) foram preparadas pelo método de solvente por rota- evaporação. O BNZ e o polímero foram dissolvidos em uma quantidade mínima de metanol e acetonitrila. A mistura de solventes foi retirada por evaporação em rota-evaporador sob pressão reduzida e temperatura a 50°C. O resíduo resultante foi seco sob vácuo por 3 horas e estocado em dessecador. Após secagem, o resíduo foi homogeneizado em grau com pistilo, e então tamisado em malha de 250 µm. O pó resultante (dispersões sólidas) foi estocado em dessecador até futuros experimentos

2.3.2.2. Dispersões sólidas malaxadas

O sistema malaxado (KN) foi preparado pela mistura física num grau pela adição lenta de solução etanol/água (1:1 vol/vol), em uma quantidade de 20% wt/wt, e misturados até o sistema homogêneo ser obtido (Hedges, 1998). As amostras foram secas em estufa industrial a 50°C por 14 horas e após secagem, o pó resultante foi tamisado em malha de 250 µm.

2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens das amostras foram analisadas por um microscópio eletrônico de varredura (AKASHI SX-40, Japão). As amostras foram montadas em uma fita adesiva de carbono de dupla face, levadas a banho de ouro no metalizador (DENTON VACUM, DESK II) antes de serem analisadas. As figuras foram observadas em uma ampliação de 600-fold a 2000-fold.

2.5. Espectroscopia IV transformada de fourrier

Os espectros de IVTF das amostras foram obtidas em um espectrômetro SHIMADZU FTIR-8400 s (Japan). As amostras foram preparadas em pastilhas de KBr (2 mg de amostra em 200 mg de KBr). As fotomicrografias foram obtidas de 4000 a 400 cm⁻¹ de resolução de 1 cm.

2.6. Modelagem molecular de interações fármaco-polímero

As estruturas teóricas dos complexos de hidrogênio PVP...Benznidazol e PEG...Benznidazol foram obtidas através de cálculos de otimização de geometria utilizando o método B3LYP/6-31G(d,p). Utilizando critérios padrões de convergência, todos os cálculos foram executados no programa GAUSSIAN 03 [M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven,

K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004]. Os valores das energias de interação intermoleculares (ΔE) foram determinados através da equação:

$$\Delta E = E(\text{Complexo de hidrogênio}) - \Sigma [E(\text{Monômeros})] \quad (1)$$

Os resultados das energias de interação intermoleculares ΔE foram corrigidos pelos valores das Energias de Ponto Zero (ZPE) vibracional (D.A. McQuarrie, 1973) e pelo cálculo do Erro de Superposição do Conjunto de Base (BSSE) (S.B. Boys, F. Bernardi, 1970).

2.7. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A caracterização térmica das amostras foi determinada por um calorímetro diferencial de varredura Shimadzu – Thermal Analyzer DT 40 DSC 50/50Q com amostras de 2 mg precisamente pesadas que foram colocados em placas de alumínio e aquecidas em uma razão de 10°C.min⁻¹ e temperatura de varredura entre 30 e 350°C.

2.8. Difração de pó de Raio- X

As análises de DRX das dispersões em forma de filmes finos foram executadas em amostras orientadas aleatórias, varrendo sobre o intervalo de 5–55° 2θ , em um difratômetro Siemens PW1710, com geometria Bragg–Brentano (θ , 2θ) e radiação Ni-filtrado CuK α .

2.9. Dissolução *In vitro*

Estudos de dissolução *in vitro* foram executados seguindo especificações do Food and Drug Administration (FDA) para fármacos pouco solúveis usando a United States Pharmacopeia (USP) aparato de dissolução 2 (pá) (Varian Inc. VK 7010) a 75 rpm e 37°C ($\pm 0.5^\circ\text{C}$). (USD 1997). O meio de dissolução usado foi HCl 0.1 M with NaCl, pH 1.2 em um volume de 900 mL por cuba. Em intervalos de tempo pré-determinados, amostras de 5 mL foram retiradas do meio de dissolução com reposição e filtradas em filtro de membrana de 0.45 μm analisadas por espectrofotometria a 324 nm. Para cada sistema binário 4 replicatas foram testadas.

3. Resultados e discussão

3.1. Microscopia Eletrônica de Varredura

A Fig. 3 ilustra as micrografias dos materiais puros, das misturas físicas e das dispersões sólidas. O BNZ (a) existe como cristais bem definidos, enquanto que o PVP K30 (b) apresenta-se como partículas ou pedaços de partículas esféricas amorfas. PEG 6000 (c) consiste de largas partículas cristalinas de tamanho irregular. Nas misturas físicas (d, e), as características dos cristais de BNZ, que foram misturados com partículas de excipientes ou aderidas em sua superfície, foram claramente detectadas em todas as misturas, confirmando assim, a presença da droga cristalina. Ao contrário, nas dispersões sólidas (f, g) aparecem na forma de partículas irregulares onde a morfologia original de ambos os componentes desaparece e agregados minúsculos de partes amorfas de tamanho irregular estão presentes.

Conseqüentemente, a redução de tamanho de partícula, aumento da área de superfície, e a interação entre os carreadores hidrofílicos e o BNZ podem ser responsáveis pelo aumento da solubilidade da droga observado pelas partículas das dispersões sólidas.

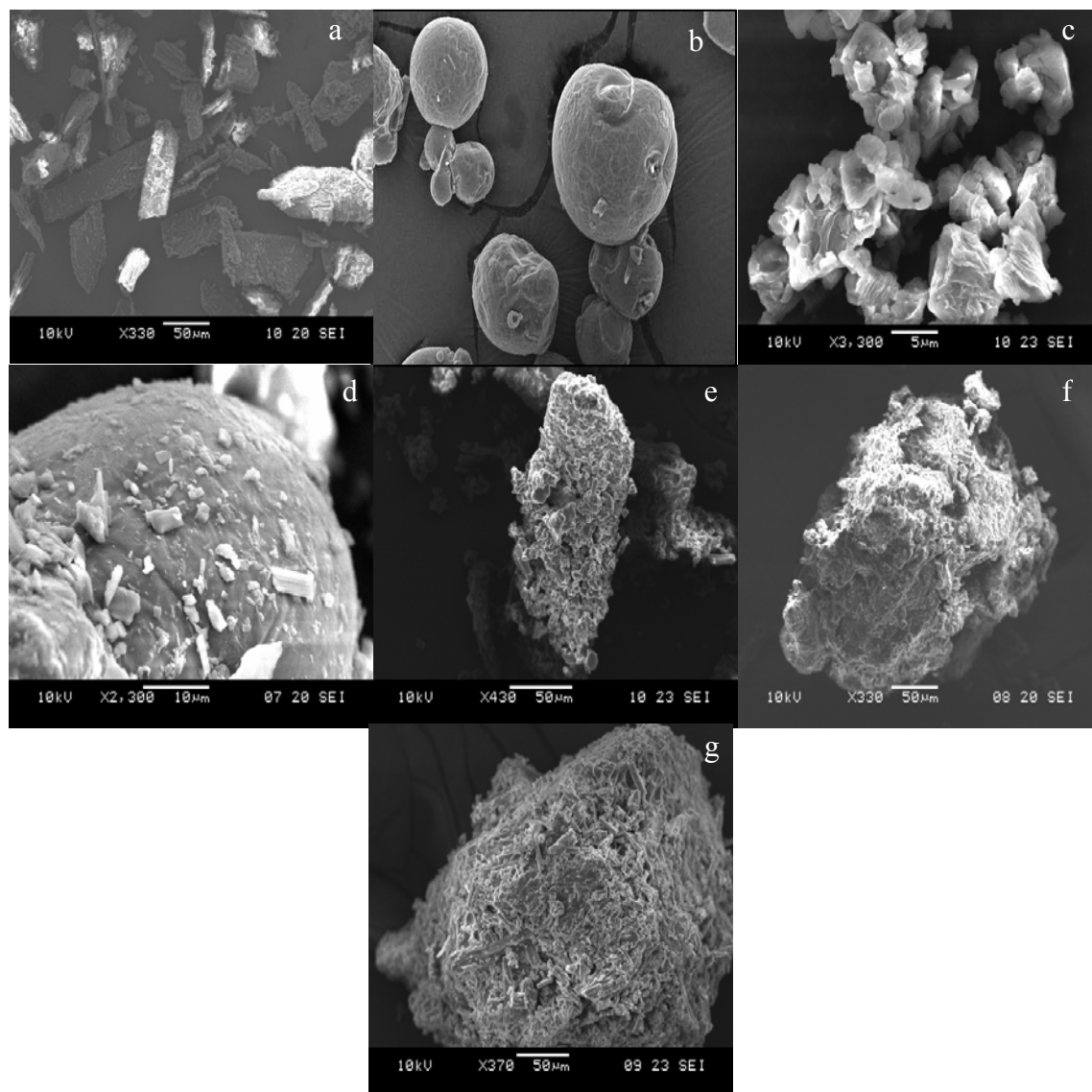


Fig. 3. MEV micrografias dos componentes isolados e misturas físicas (MF) e dispersões sólidas (DS) de BNZ, PVP e PEG. (a). BNZ; (b). PVP; (c). PEG; (d). MF BNZ/PVP; (e). MF BNZ/PEG; (f). DS BNZ/PVP; (g). DS BNZ/PEG.

3.2. Espectroscopia de Infra Vermelho

O espectrograma no infravermelho do BNZ é relativamente complexo dadas as diferenças funcionais características da molécula. As características principais são: a

carbonila (AMIDA I) e deformação N-H (amida II); as vibrações devido ao grupo benzílico e imidazólico e, em individual, ao grupo nitro.

A identificação da amida secundária parece isenta de dúvidas. Ligações N-H em alguns pontos distintos, com clareza, a banda devido a vibrações de estiramento, em 3330 cm^{-1} . O mesmo pode ser dito considerando a banda relativa ao estiramento da carbonila (amida I) observada em 1685 cm^{-1} . Para vibrações de deformação N-H (amida II), em 1685 cm^{-1} , também pode ser considerada a característica da amida secundária. Foi atribuído ainda a banda de 1318 cm^{-1} para um estiramento C-N (amida III).

Quando compara-se a MF e a DS em torno de 3330 cm^{-1} esse pico sempre diminui, sendo este pico o estiramento N-H da molécula do BNZ, existindo uma interação do polímero com esse grupamento. O pico em torno de 1685 cm^{-1} se alarga, sempre mais nas dispersões do que nas MFs, esse pico é devido ao C=O da amida do BNZ, como já observamos que houve interação no N-H, talvez por esta na mesma região exista uma interação com esse grupamento, fato colaborado com os resultados obtidos na modelagem molecular.

Em 1565 cm^{-1} também há uma diminuição do pico; este pico também é referente à vibração N-H, já discutida acima. Existe a diminuição e até aparecimento de novos picos na região de 1500 cm^{-1} , são picos C=O e C=C, do anel benzênico. Em 1318 cm^{-1} há o alargamento do pico, referente à ligação C-N da amida do BNZ, portanto está mais que provado que existe uma possível interação entre PVP e a parte da amida do BNZ, mesmo que sejam fracas essas interações.

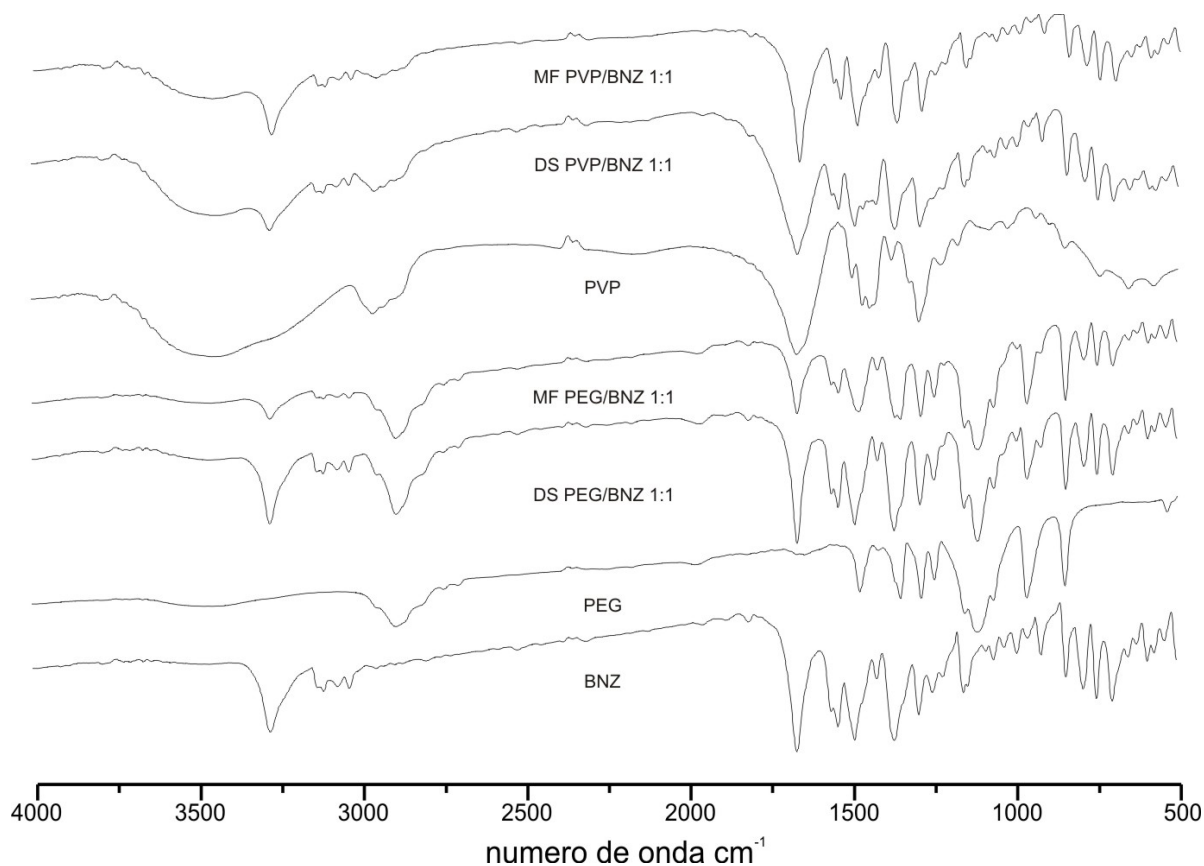


Fig. 4. Espectrograma IV de componentes isolados e misturas físicas e dispersões sólidas de BNZ, PVP and PEG

3.3. Modelagem Molecular das interações fármaco-polímero

Na Tabela 1 são apresentados os principais resultados estruturais e energéticos dos dois complexos de hidrogênio formados entre os polímeros PVP e PEG, e a molécula do Benznidazol (BNZ).

Tabela 1. Resultados estruturais e energéticos de PVP...BNZ (a) e PEG...BNZ (b) complexos de hidrogênio, obtidos com os cálculos B3LYP/6-31G(d,p).

Parâmetros	(a)	(b)
	PVP...BNZ	PEG...BNZ
RI	2.187	2.399
RII	2.390	2.379
RIII	2.312	—
ΔE	20.90	6.60

* Valores para as distâncias R são dados em Ångstrons

** Valores de ΔE são dados em kcal.mol⁻¹

As energias de interação intermoleculares ΔE (corrigido por BSSE e ZPE) de 6.6 e 20.90 kJ.mol⁻¹ obtidas através do cálculo B3LYP/6-31G(d,p) foram determinados para os complexos mais estáveis, os quais são representados na Figura 5 pelas estruturas (a) e (b), respectivamente. Diante destes resultados, foi demonstrado que a estabilidade da interação entre a molécula do Benznidazol e o monômero PVP foi três vezes maior quando comparada com o PEG. Além disso, pode-se ver na tabela 1 que o complexo com PVP é formado por três ligações de hidrogênio, enquanto com o PEG, apenas duas ligações de hidrogênio foram identificadas.

A Figura 5 ilustra a geometria otimizada obtida para os complexos de hidrogênio (a) e (b)

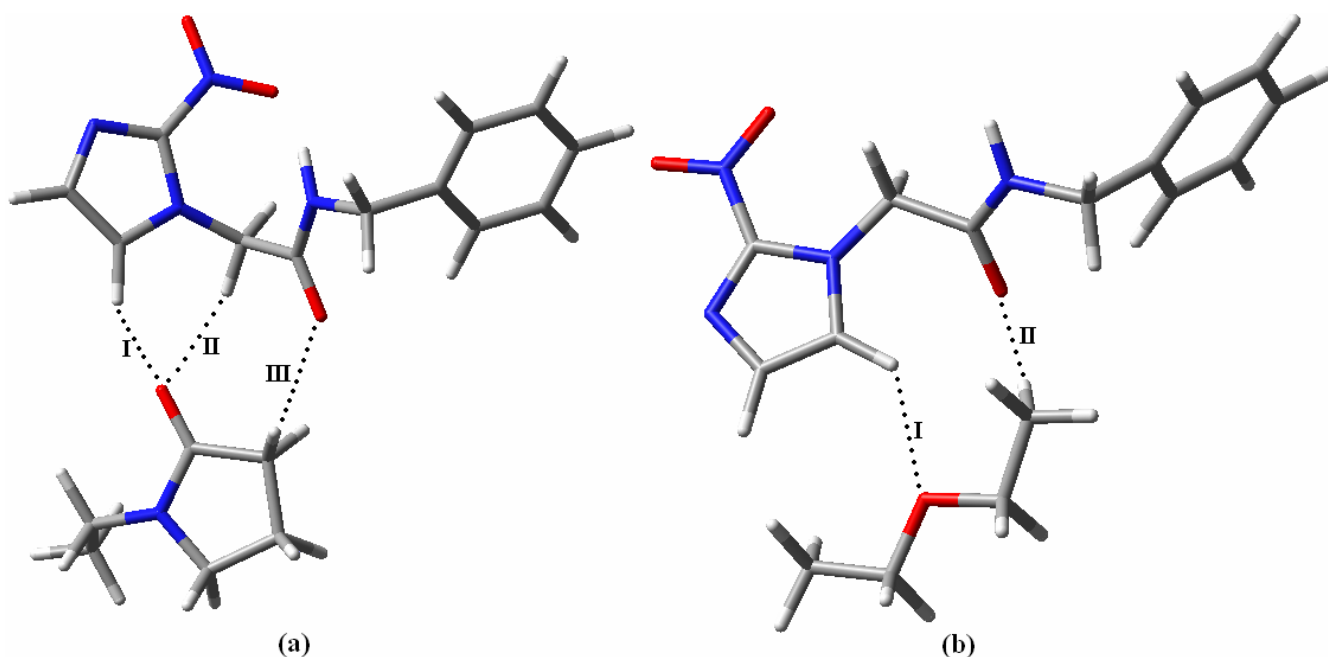


Fig. 5. Geometrias Otimizadas obtida dos complexos de hidrogênio PVP...BNZ (a) e PEG...BNZ (b) obtidas do cálculo B3LYP/6-31G(d,p).

3.4. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As curvas de DSC obtidas do material puro, dispersões sólidas e suas correspondentes misturas físicas foram representadas na Fig. 6. O BNZ possui em seu comportamento térmico um pico endotérmico em aproximadamente 190°C referente ao ponto

de fusão da substância pura. O PEG possui pico característico endotérmico em aproximadamente 65,4°C, para o PVP onde pode-se observar uma leve curva, no sentido endotérmico no intervalo de 50-120°C devido a evaporação de água do material.

O pico característico do BNZ foi perdido, significando a perda de estrutura cristalina do fármaco em todas as amostras (misturas físicas e processados).

As Dispersões sólidas de BNZ tanto com PEG como PVP mostraram quase o mesmo comportamento térmico de suas misturas físicas (PMPEG e PMPVP), a ausência de picos do BNZ sugere que o fármaco foi completamente solubilizado na fase líquida dos polímeros, fenômeno relatado anteriormente por (P. Augustijns, & G. Van der Mooter, 2000; Echezarreta-Lopez et al., 2000). A análise térmica por DSC não é, neste caso, uma ferramenta analítica conclusiva na busca de indícios de interações fármaco polímero.

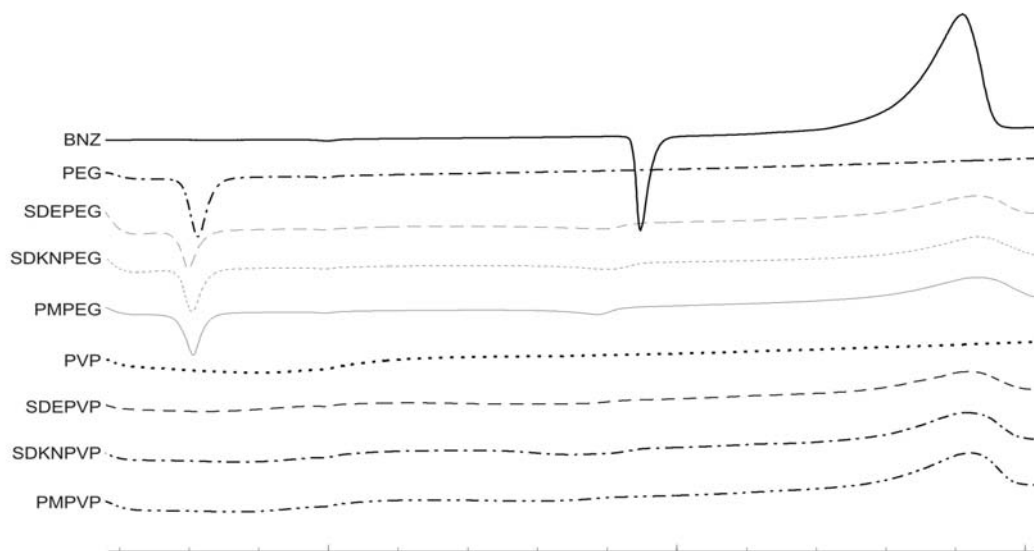


Fig. 6. Curvas DSC para componentes isolados e sistemas binários de BNZ, PVP e PEG.

3.5. Difração de pó de raio-X

Os difratogramas do padrão de BNZ (c) revelaram que o BNZ é um composto cristalino, mostrando dois picos de difração muito fortes a 2θ em torno de 7.0° e 17.0° respectivamente, enquanto outros presentes em menor intensidade a 2θ em torno de 11.0° e outro de 22.5° . Entretanto, mesmo que seja um material cristalino, nas dispersões sólidas na matriz do PVP esses picos perdem intensidade, caracterizando uma tendência ao estado amorfo, característico do PVP puro (fig. 7.d) e sugerindo que o PVP inibe a cristalização do BNZ, tanto na dispersão sólida por malaxagem (fig. 7.b) quanto na obtida por rotaevaporação (fig. 7.f), apesar da amostra rotaevaporada apresentar uma redução mais acentuada desses picos característicos, principalmente o pico em torno de 17.0° . Por outro lado, os difratogramas nas dispersões sólidas de BNZ/PEG revelam que o BNZ pode ter sofrido recristalização durante o processo de preparação das dispersões após evaporação do solvente (fig. 7.g). O PEG tem dois picos fortes característicos a 2θ , 19.0° e 23.0° (fig. 7.e) e nas dispersões de BNZ/PEG estes picos característicos foram reduzidos, e o pico característico do BNZ em torno de 7.0° foi reduzido tanto na dispersão malaxada BNZ/PEG (fig. 7.a) quanto na dispersão rotaevaporada BNZ/PEG (fig. 7.g). Esta redução de picos característicos fortes pode contribuir para uma melhora de solubilidade, já que formas amorfas têm mais facilidade de solubilização do que as formas cristalinas.

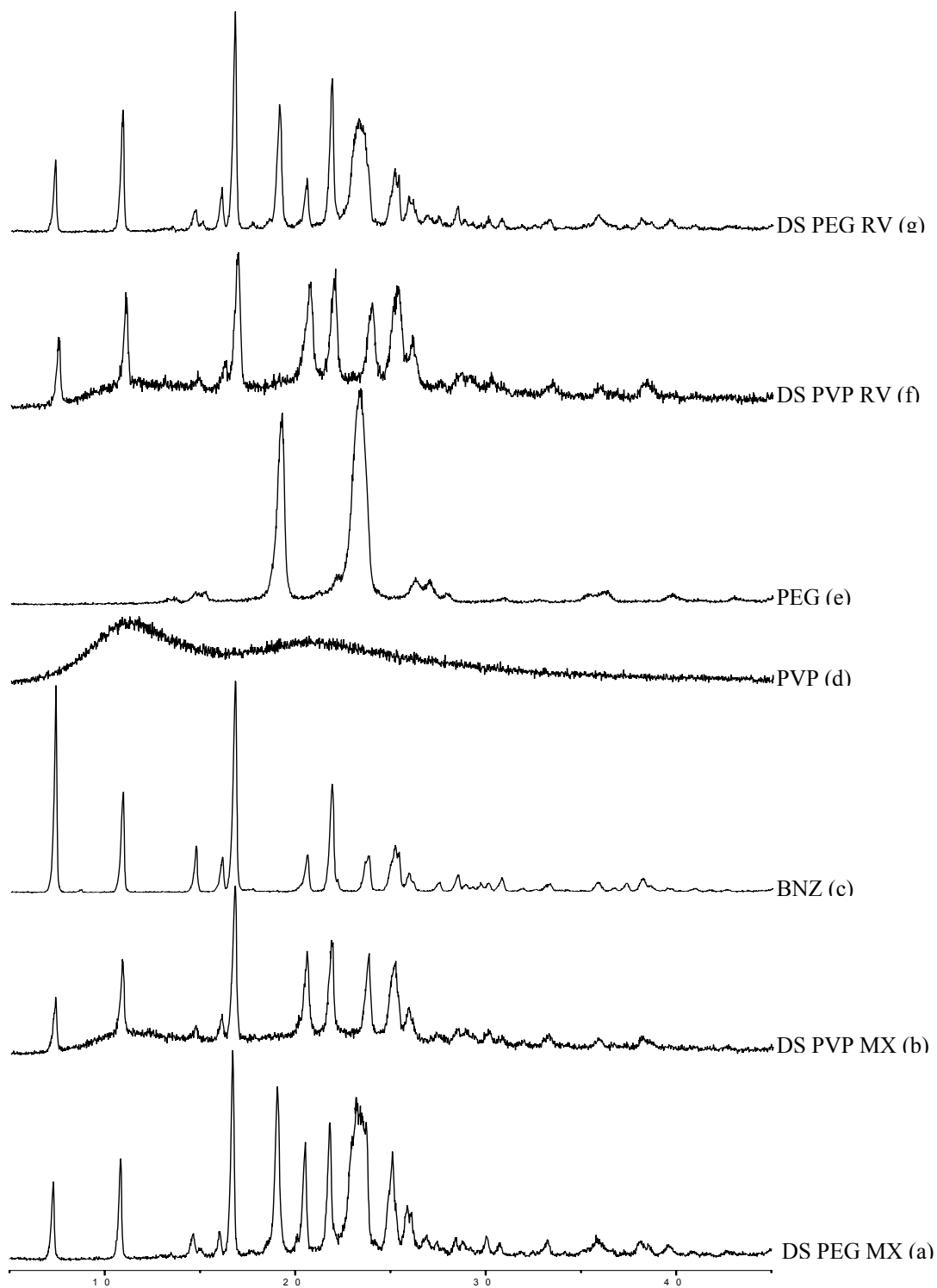


Fig. 7. Difratomogramas de difração de raio-X de BNZ, PVP e PEG e de respectivas misturas físicas e dispersões sólidas.

3.6. Estudos de dissolução

As curvas de dissolução do BNZ e das várias misturas binárias são representadas na Fig. 8. Os perfis de taxa de liberação foram plotados como percentual de BNZ dissolvidos das

dispersões sólidas, misturas físicas e BNZ puro versus o tempo. Foi evidente que a taxa de dissolução do BNZ puro foi lenta, menos que 10% de BNZ sendo dissolvido em 1 h.

Comparando com o BNZ puro, a taxa de dissolução do BNZ das misturas físicas mostrou-se mais elevada, demonstrando que mesmo sem haver interação química, apenas a mistura do fármaco pouco solúvel com o polímero hidrofílico já melhora suas características de dissolução. O incremento da taxa de dissolução observado nas misturas físicas deve ser principalmente atribuído ao efeito hidrofílico dos carreadores, que pode reduzir a tensão interfacial entre o BNZ e o meio de dissolução, conduzindo assim a um aumento na taxa de dissolução. Na figura 8, observa-se que, quando comparando as misturas físicas com as dispersões sólidas, todas as dispersões proporcionaram um efeito maior na taxa de dissolução do que as respectivas misturas físicas. Comparando com o BNZ puro, BNZ foi liberado mais rapidamente nas DS rotaevaporadas do que nas DS malaxadas, e em ambos os processos, o PVP mostrou um incremento da taxa de dissolução mais acentuado do que nas DS com PEG. A taxa de dissolução do BNZ das misturas físicas e em todas as dispersões sólidas com PEG 6000 e PVP K30 foi significativamente maior que o BNZ isolado (Fig. 8). Isto demonstrou os efeitos solubilizantes do PEG e do PVP. A alta taxa de dissolução relativa ao BNZ puro deve ser explicado pelo efeito molhante dos polímeros no BNZ. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar o aumento na cinética de dissolução de fármacos em dispersões sólidas. Diminuição da cristalinidade, aumento da molhabilidade, e redução do tamanho de partículas da droga são considerados fatores predominantes (Craig, 2002). A melhoria da taxa de dissolução obtida com misturas físicas pode ser atribuídos a ambos os fatores, melhoria na molhabilidade da droga e pronta formação de complexos solúveis no meio de dissolução.

A melhoria da taxa de dissolução do BNZ foi obtida nas misturas físicas e nas dispersões sólidas. Um rápido e excelente comportamento na dissolução foi obtido pela formação de dispersões sólidas com PVP K30 ou PEG 6000.

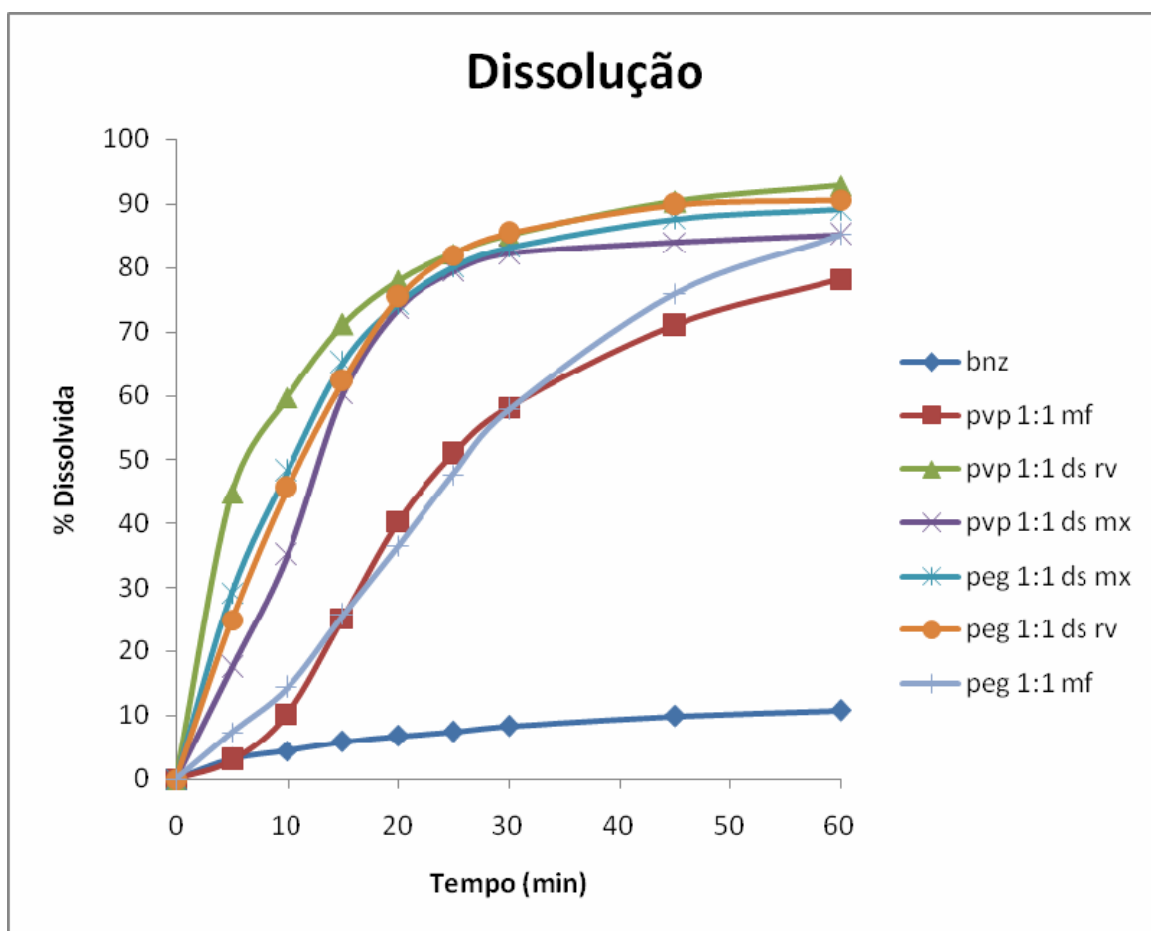


Fig. 8. curvas de dissolução no BNZ isolado, nas misturas físicas e dispersões sólidas com PVP e PEG.

Conclusão

Neste trabalho, o aumento da solubilidade e taxa de dissolução do BNZ pôde ser realizado pela formação de dispersões sólidas com PVP K30 e PEG 6000. Baseado nos resultados pôde-se constatar que as dispersões sólidas foram muito eficientes na melhoria dessas características, que são pontos limitantes deste fármaco e dificultam sua biodisponibilidade. Dessa forma, formas farmacêuticas sólidas orais de BNZ com PVP K30 e PEG 6000 com alta taxa de dissolução podem ser produzidas.

Referências

- A. Prata, Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease, *Lancet Infect Dis* **2** (2001), pp. 92–100.
- A. Auger, R. Storino, M. De Rosa, O. Caravello, M. Gonzalez and E. Botaro *et al.*, Chagas y Sida, la importancia del diagnostico precoz, *Rev Argent Cardiol* **73** (2005), pp. 439–445.
- S.S. Nijjar and M.R. Del Bigio, Cerebral trypanosomiasis in an incarcerated man, *CMAJ* **176** (2007), p. 448
- Pan American Health Organization. Case definitions: American trypanosomiasis (Chagas' disease). *Epidemiological Bulletin* (2003), **24**:14.
- J.H. Diaz, Chagas disease in the United States: a cause for concern in Louisiana?, *J La State Med Soc* **159** (2007), pp. 21–23 25–9.
- L.V. Kirchhoff, American trypanosomiasis (Chagas' disease)—a tropical disease now in the United States, *N Engl J Med* **329** (1993), pp. 639–644
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Blood donor screening for Chagas disease—United States, 2006–2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007; **56**:141–3.
- J.H. Maguire, Chagas' disease—can we stop the deaths?, *N Engl J Med* **355** (2006), pp. 760–761.
- Coura JR, de Castro SL. A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **97**: 3-24, 2002.
- Do Campo, R. Recent developments in the chemotherapy of Chagas disease. **Current pharmaceutical design**, Schiphol, v. 7, n. 12, p. 1157-1164, 2001.
- Lamas M.C., Village L., Nocito I., Bassani G., Leonardi D., Pascutti F., Serra E., Salomón C.J. *Int. J. Pharm.* **307**: 239-243, 2006.
- Craig D.Q.M., *Int. J. Pharm.* **231**: 131–144, 2002
- Serajuddin, A. *J. Pharm. Sci.* **88**: 1058–1066, 1999.

- Leuner C., Dressman J., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50 (2000) 47-60.
- M. Franco, G. Trapani, A. Latrofa, C. Tullio, M.R. Provenzano, M. Serra, M. Muggironi, G. Biggio, *Int. J. Pharm.* 225 (2001) 63–73.
- S. Verheyen, N. Blaton, R. Kinget, G. Van den Mooter, *Int. J. Pharm.* 249 (2002) 45–58.
- V. Tantishaiyakul, N. Kaewnopparat, S. Ingkatawornwong, *Int. J. Pharm.* 181 (1999) 143–151.
- L.-P. Ruan, B.-Y. Yu, G.-M. Fu, D.-N. Zhu. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 38 (2005) 457-464.
- Soares Sobrinho, J.L., Silva A.L.M., Granjeiro Júnior., Medeiros, F.P.M., Rolim Neto P.J. *Rev. Bras. Farm.* 87 (2006) 78-80.
- Hedges, A.R. *Chem Rev.* 98 (1998) 2035-2044.
- US Department of Health and Human Services. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, August 1997. Available at: <http://www.fda.gov/cder/guidance/1713bp1.pdf>. Accessed: January 23, 2007.
- D.A. McQuarrie, *Statistical Thermodynamics*, Harper and Row, New York, 1973
- S.B. Boys, F. Bernardi, *Mol. Phys.* 19 (1970) 553-566.
- P. Augustijns, G. Van der Mooter, *Eur. J. Pharm. Sci.* 10 (2000) 311–322.
- M. Echezarreta-Lopez, J.J. Torres-Labandeira, L. Castineiras-Seijo, L. Santana-Penin, J.L. Vila-Jato, *Eur. J. Pharm. Sci.* 9 (2000) 381–386.

Capítulo IV

5 SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS E COMPLEXOS DE INCLUSÃO PARA INCREMENTO DE SOLUBILIDADE DO BENZNIDAZOL

5.2 Artigo V. Improving benznidazole solubility by solid dispersions with HPMC and inclusion complexes with β -cyclodextrin.

Artigo a ser submetido ao International Journal of Pharmaceuticals

5.2 Artigo IV. Improving benznidazole solubility by solid dispersions with HPMC and inclusion complexes with β -cyclodextrin.

Ádley Antonini Neves de Lima¹, José Lamartine Soares Sobrinho¹, Jeckson Luis da Silva¹, Roberto Antônio Cavadinha Corrêa Júnior¹ e Pedro José Rolim Neto^{1*}

1 - Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

* Avenida Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50740-521, Recife – PE, Brasil. Fone/Fax: 81 3272 1383, E-mail: pedro.rolim@pesquisador.cnpq.br.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o incremento de solubilidade do benznidazol (BNZ) em água por dois sistemas: dispersões sólidas (DS) com hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e complexos de inclusão (CI) com β – ciclodextrina (BCD). Foram desenvolvidas além das misturas físicas (MF), DS através de diferentes técnicas de obtenção, como malaxagem, rotaevaporação e spray-drying. A interação do BNZ com o HPMC nas DS e a complexação do BNZ com a BCD foi avaliada através de estudos de dissolução in vitro. Foi realizado também um estudo teórico detalhado de modelagem molecular para avaliar a complexação do BNZ na BCD. Os resultados teóricos e experimentais mostraram que a solubilidade e a taxa de dissolução do BNZ foram significativamente aumentadas pelas DS e CI, bem como em suas MFs, demonstrando ainda que os CI com BCD promoveram um maior efeito do que as DS com HPMC.

Palavras-chave: Benznidazol, Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), β - ciclodextrina, dispersão sólida, complexo de inclusão, ciclodextrina

Abstract

The aim of this study was to evaluate the increase of benznidazol (BNZ) solubility in water for two systems: solid dispersions (SD) with hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) and inclusion complexes (IC) with β - ciclodextrina (BCD). They had been developed beyond the physical mixtures (PM), SD through different techniques of attainment, as kneading, coevaporating and spray-drying. The interaction of the BNZ with the HPMC in the SD and the complexation of BNZ with the BCD was evaluated through dissolution studies in vitro. A theoretical study detailed of molecular modeling was also carried through to evaluate the complexation of BNZ in the BCD. The theoretical and experimental results had shown that the solubility and the dissolution rate of BNZ significantly had been increased by SD and IC, as well as in its PMs, demonstrating despite the IC with BCD had promoted a bigger effect of what the SD with HPMC.

Key words: Benznidazole, hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), β - cyclodextrine, solid dispersion, inclusion complex, cyclodextrin.

1. Introdução

O Benznidazol (2-Nitro-N-(fenilmetil)-1H-imidazol-1-acetamida, BNZ, segundo DOCAMPO (2001) é atualmente o fármaco de escolha para o tratamento da doença de Chagas, que é endêmica nos diversos países latino americanos e afeta 16-18 milhões de pessoas, com mais de 100 milhões expostos ao risco da infecção (Lamas, 2006). Sua terapêutica é eficaz na fase aguda e no início da infecção crônica tendo como principais problemas sua baixa solubilidade e alta toxicidade. A reduzida hidrossolubilidade leva a limitações na sua biodisponibilidade. Para melhorar a solubilidade/dissolução várias técnicas

têm sido utilizadas para drogas pouco solúveis em água, entre elas a dispersão sólida e complexos de inclusão com ciclodextrinas.

A β -ciclodextrina (BCD, fig. 1B), composta por sete unidades de glicose, é a ciclodextrina natural mais empregada pois apresenta baixo custo, prazo de vigência de patente já expirado e tamanho de cavidade adequado para incluir anéis aromáticos e heterocíclicos. (Rao e Stella, 2003; Del Valle, 2004; Challa, Ahuja, Ali e Khar, 2005). O efeito solubilizante das ciclodextrinas pode ser potencializado pelo uso de polímeros hidrofílicos, como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC, fig. 1A) (Loftsson, 1998), polímero utilizado em sistemas de dispersões sólidas para a mesma finalidade de melhorar a solubilidade/taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água (Ohara et al., 2005; Janssens et al., 2008). O presente trabalho tem o objetivo de avaliar o incremento da taxa de dissolução do BNZ em sistemas de dispersões sólidas com HPMC e complexos de inclusão com BCD.

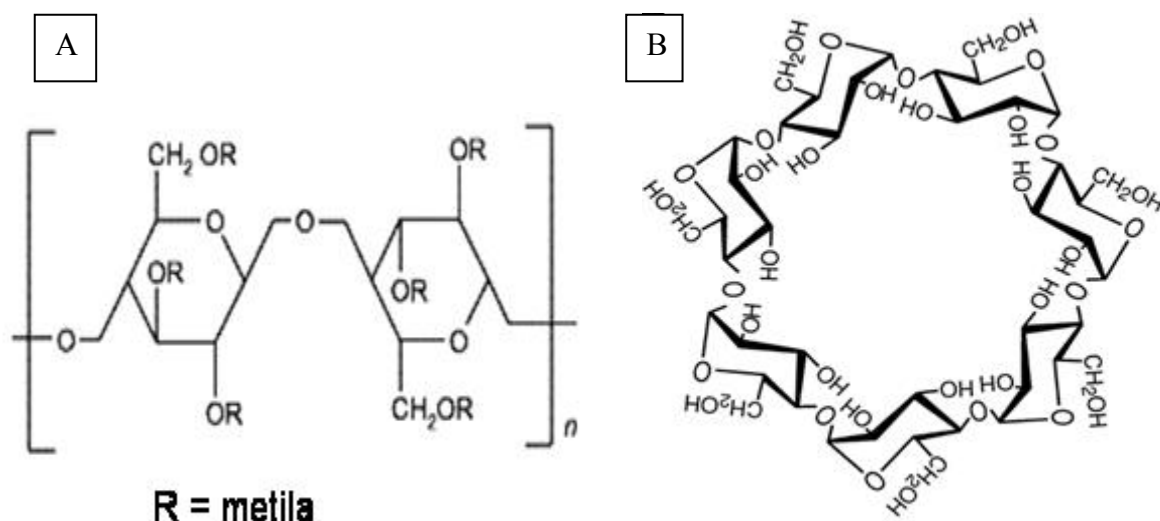


Figura 1. Estrutura química da Hidroxipropilmetilcelulose (A) e da β -ciclodextrina (B)

2. Materiais e métodos

2.1. Materiais

Benznidazol, Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), β – ciclodextrina (β -CDX); etanol;

2.2. Doseamento do BNZ

O doseamento foi realizado de acordo com metodologia desenvolvida e validada por Soares-Sobrinho e colaboradores, 2006, utilizando espectrofotômetro UV em comprimento de onda de 324 nm.

2.3. Preparação das misturas físicas e dispersões sólidas

2.3.1. Preparação das misturas físicas

O BNZ e o HPMC foi precisamente pesados na razão de 1:1 p/p. Para a β -CDX, a proporção de 1:1 com o BNZ foi pesada em razão molar. Em cada proporção foram pulverizados e completamente misturados em gral de porcelana com auxílio de pistilo, até a mistura homogênea ser obtida. As misturas foram tamizadas em malhas de 250 μ m, transferidas para recipientes adequados e mantidas em dessecador.

2.3.2. Preparação das dispersões sólidas

2.3.2.1. Dispersões Sólidas co-precipitadas (evaporadas)

As dispersões sólidas do BNZ com HPMC na razão de 1:1 (p/v) e com β -CDX (1:1 razão molar) foram preparadas através do método de solvente por rotaevaporação. O BNZ, o HPMC e a β -CDX foram separadamente solubilizados, usando uma mistura de solventes (etanol: água) na proporção 2:1 numa quantidade mínima necessária para solubilizar. Os solventes foram removidos através de um rotaevaporador a uma temperatura fixa (60° C), a pressão reduzida. O solvente, aderido à superfície da partícula co-precipitada, foi removido por secagem com auxílio de vácuo durante 3h e mantido durante 12 horas em dessecador. Após evaporação, os resíduos removidos foram moídos em grau com auxílio de pistilo e tamizados em malha de 250 μ m, sendo as dispersões sólidas resultantes transferidas para recipientes adequados e mantidas em dessecador para futuras caracterizações.

2.3.2.2. Dispersões Sólidas malaxadas

O BNZ, HPMC e β -CDX foram precisamente pesados nas mesmas proporções anteriores e pulverizados e completamente misturados em gral de porcelana com auxílio de pistilo, com molhagem dos pós simultânea com solução hidroalcoólica água/etanol até a mistura homogênea ser obtida. As pré-dispersões foram então colocadas em estufa a 60° C durante 14 horas para secagem total e retirada da solução hidroalcoólica. As dispersões sólidas resultantes foram tamisadas em malha de 250 μ m e transferidas para recipientes adequados para futuras caracterizações.

2.3.2.3. Dispersões Sólidas atomizadas (Spray Dryer)

As dispersões sólidas do BNZ com HPMC na razão de 1:1 (p/v) e com β -CDX (1:1 razão molar) foram preparadas através do método de solvente por Spray-Dryer, utilizando um mini Spray Dryer Büchi B-191. O BNZ, o HPMC e a β -CDX foram separadamente solubilizados, usando uma mistura de solventes (etanol: água) na proporção 2:1 numa quantidade mínima necessária para solubilizar. As dispersões foram obtidas sob as seguintes condições: temperatura de entrada de 140°C, fluxo de ar de 5 mL/min, e temperatura de saída entre 80 – 90°C.

2.4. Modelagem molecular do complexo de inclusão BNZ-B-CD

A otimização geométrica do complexo de inclusão BNZ- β CD foi realizada em vácuo e na presença de moléculas de água usando MM2 força de campo como instrumento em HiperChem (versão 6.03 para windows). A presença de água foi simulada pela colocação das moléculas do soluto em uma caixa de 25x25x25 Å com aproximadamente 200 moléculas de água e uma distância mínima de 2.3 Å entre o soluto e as moléculas de água. A conformação

do complexo mais estável foi considerada através da menor energia de interação (Lipkowitz, 1998; Pose-Vilarnovo et al, 2001).

2.5. Dissolução *in vitro*

A dissolução do BNZ foi realizada com o ativo isolado, nas misturas físicas e nas dispersões sólidas rotaevaporadas, malaxadas e atomizadas. O teste de dissolução foi realizado utilizando aparato de dissolução pá, à temperatura de $37\pm 5^{\circ}\text{C}$ e 75 rpm em meio HCl 0,1 N com NaCl. Para esta determinação foram exatamente pesadas amostras equivalentes a 50 mg de BNZ e transferidas para as cubas de dissolução contendo 900 mL do meio. O volume de coleta foi de 4 mL de amostra em intervalos pré-determinados e imediatamente filtradas ($0,45\ \mu\text{m}$). O volume dentro da cuba foi imediatamente reposto pela adição de meio a $37\pm 5^{\circ}\text{C}$. A concentração de BNZ em cada intervalo de tempo foi determinada por espectrofotometria UV. Cada amostra foi determinada em quadruplicata.

3. Resultados e discussão

3.1. Modelagem molecular do complexo de inclusão

Para a estequiometria 1:1 em vácuo se aprecia diferenças importantes nas energias, sendo a complexação pelo lado largo da ciclodextrina mais favorável energeticamente. No entanto, em meio aquoso a simulação apresenta valores invertidos, sendo os complexos formados pela porção estreita da BCD os mais favoráveis (tabela 1).

Diferentemente dos dados obtidos pelo diagrama de solubilidade, a simulação de formação de complexos de inclusão entre BNZ e BCD apresenta como formas de complexação mais favoráveis a estequiometria 1:2 (fármaco:CD) em vácuo. Os valores obtidos em meio aquoso são equivalentes aos obtidos para a estequiometria 1:1 neste mesmo

meio, de maneira que o mais provável é que existam de forma simultânea em equilíbrio as duas estequiometrias em solução. Estudos experimentais são necessários para corroborar estas indicações teóricas de complexo, entre eles, espectros de RMN podem esclarecer de forma inequívoca sobre a natureza dos complexos de inclusão obtidos na prática.

As figuras 3 e 4 apresentam a representação espacial de todas as possibilidades de complexos avaliadas, assim como um exemplo ilustrativo do complexo em estado aquoso (figura 2).

Tabela 1. Entalpia calculada para a formação de complexos estequiométricos 1:1 BNZ- β CD.

Grupo Incluso	ΔH (Kcal mol ⁻¹)	
	vácuo	Meio aquoso
imidazol-estreito	27.0	- 2448.0
Benzil-estreito	26.2	- 2613.3
benzil-largo	10.9	- 476.4
imidazol-largo	10.9	-434.4

Tabela 2. Entalpia calculada para a formação de complexos estequiométricos 1:2 BNZ- β CD.

Grupo Incluso	ΔH (Kcal mol ⁻¹)	
	vácuo	Meio aquosos
largo-benzil/imidazol-estreito	-22.1	-2898.6
estreito-benzil/imidazol-largo	-32.1	-2415.2
largo-benzil/imidazol-largo	-16.2	-2813.9
estreito-benzil/imidazol-estreito	-41.6	-2834.1

Figura 2. Complexo de inclusão BNZ- β CD 1:1 estequiometricamente otimizado por MM2 com grupo benzila introduzido pela cavidade estreita da ciclodextrina.

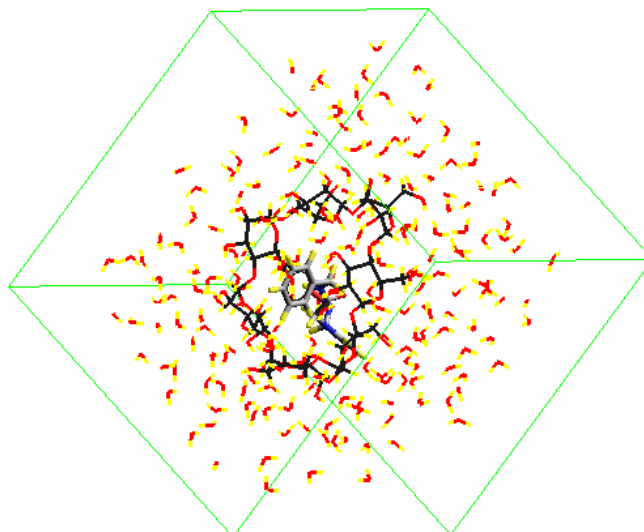


Figura 3. Possíveis estruturas estequiométricas de BNZ- β CD 1:1 por MM2

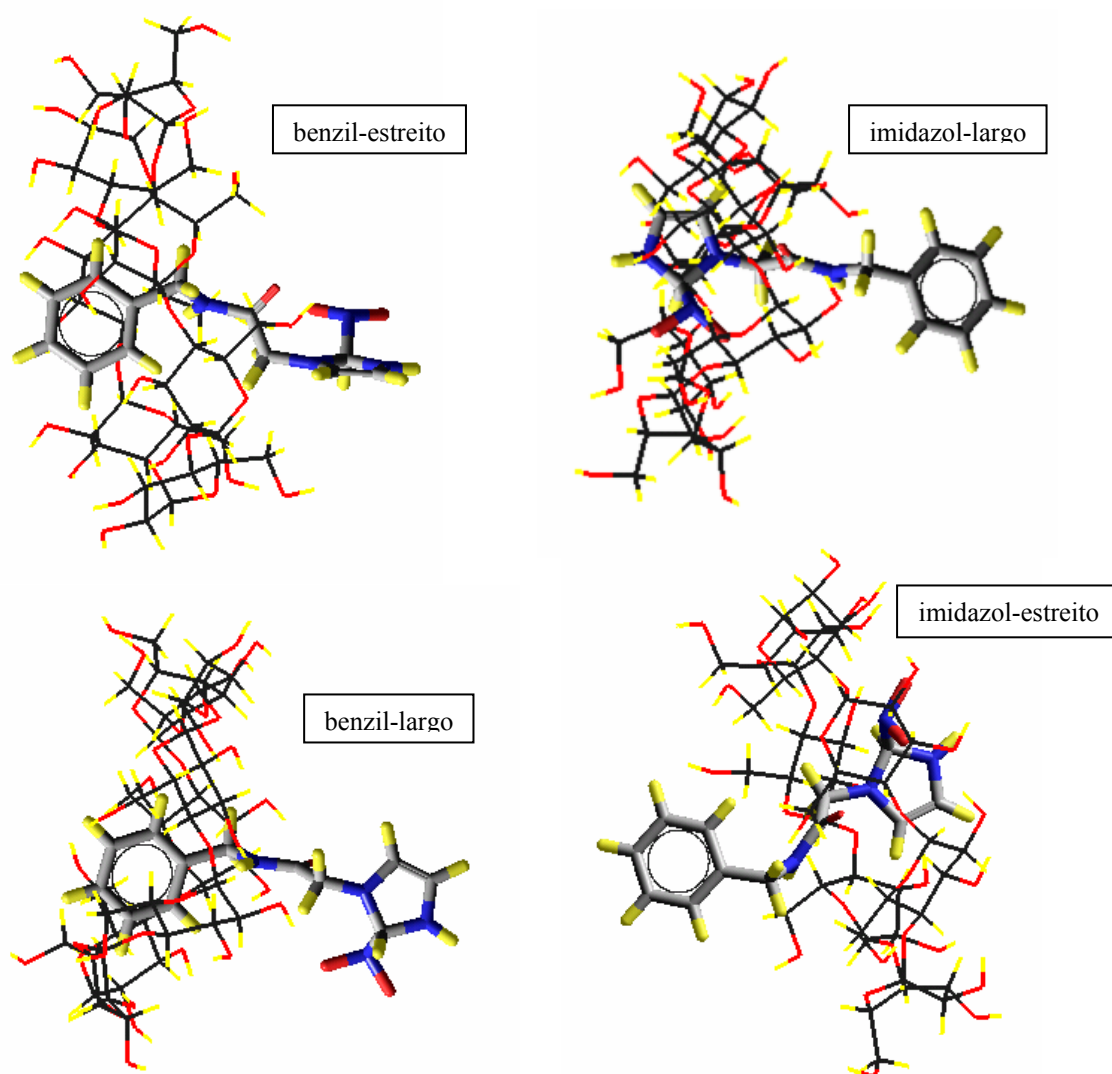
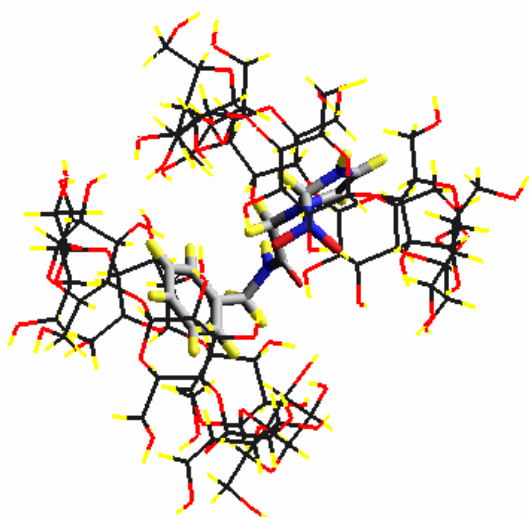
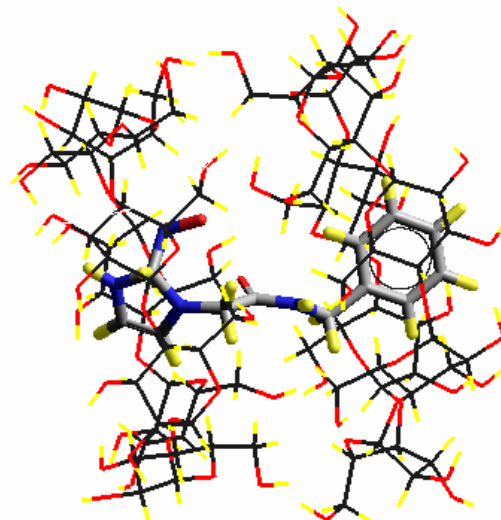


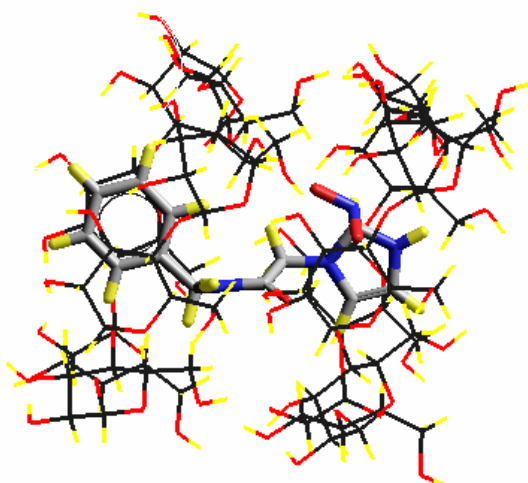
Figura 4. Possíveis estruturas estequiométricas de BNZ- β CD 1:2 por MM2.



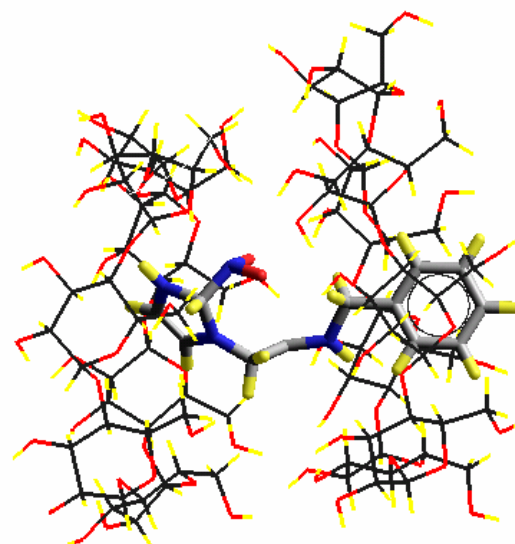
benzil-largo/imidazol-largo



benzil-estreito/imidazol-estreito



benzil-estreito/imidazol-largo



benzil-largo/imidazol-estreito

3.1. Dissolução *in vitro*

Nas curvas de dissolução do BNZ puro, misturas físicas (MF), dispersões sólidas (DS) e complexos de inclusão (CI), observa-se um incremento na taxa e velocidade de dissolução do BNZ, conforme apresentado na figura 5. Os perfis de taxa de liberação foram plotados como percentual de BNZ dissolvidos das dispersões sólidas, misturas físicas, complexos de inclusão e BNZ puro versus o tempo. A taxa de dissolução do BNZ puro foi lenta, menos que 10% de BNZ sendo dissolvido em 1 h.

Comparando com o BNZ puro, a taxa de dissolução do BNZ das misturas físicas mostrou-se mais elevada, demonstrando que mesmo sem haver interação química, apenas a mistura do fármaco pouco solúvel com o HPMC já melhora suas características de dissolução. Observa-se nas curvas da figura 5, que quando comparando as misturas físicas com as dispersões sólidas, todas as dispersões proporcionaram um efeito maior na taxa de dissolução do que as respectivas misturas físicas. Comparando com o BNZ puro, BNZ foi liberado mais rapidamente nas DS rotaevaporadas do que nas DS atomizadas por spray drying e nas DS malaxadas. A taxa de dissolução do BNZ das misturas físicas e em todas as dispersões sólidas com HPMC foi significativamente maior que o BNZ isolado (Fig. 5). Isto demonstrou o efeito solubilizante do HPMC. A melhoria na taxa de dissolução relativa ao BNZ puro deve ser explicada pelo efeito molhante do HPMC no BNZ. Portanto, a melhoria da taxa de dissolução do BNZ foi obtida nas misturas físicas e nas dispersões sólidas.

Com relação aos complexos de inclusão com BCD, ficou evidente que todos os complexos aumentaram a velocidade de dissolução do BNZ, sendo que os complexos obtidos por rotaevaporação tiveram melhores resultados quando comparados aos complexos obtidos por malaxagem e por spray drying. Os complexos malaxados obtiveram melhores resultados de liberação quando comparados aos atomizados (spray drying). Isto pode ter acontecido

devido ao processamento das amostras atomizadas, que poderia ser otimizado para observação de melhores resultados com esta técnica.

A dissolução muito rápida do fármaco nos primeiros 5 min e mais de 80% de BNZ dissolvido em torno de 10 min demonstrou a complexação do BNZ com a BCD. Este comportamento deve ser atribuído à alta energia do estado amorfo e à formação dos complexos de inclusão (Brewster & Loftsson, 2007). Misturas físicas correspondentes também demonstraram melhoria na solubilidade.

Um rápido e excelente comportamento na dissolução foi obtido pela formação de complexos de inclusão com BCD. As dispersões sólidas com HPMC, apesar de terem incrementado também a taxa de dissolução do BNZ, mostraram resultados inferiores aos complexos de inclusão

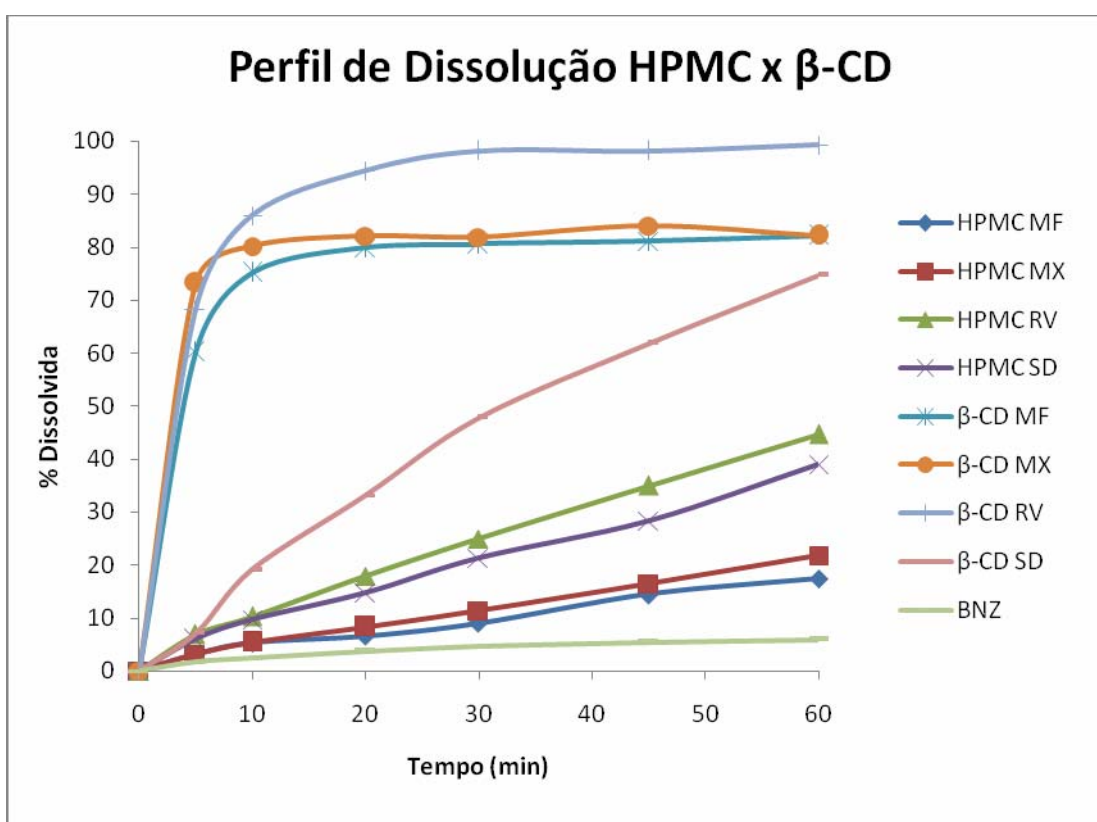


Figura 5. Perfil de dissolução do BNZ e dos diversos sistemas binários (MF, DS e CI)

4. Conclusões

Neste trabalho, ficou evidente a contribuição dos sistemas de dispersões sólidas e complexos de inclusão no incremento da taxa/velocidade de dissolução do BNZ. O estudo teórico de modelagem molecular demonstrou que o BNZ pode se complexar à BCD de várias maneiras, tanto no meio aquoso quanto na presença de vácuo, evidenciando que uma excelente complexação estequiométrica pode ser realizada para melhorar a solubilidade do BNZ.

A complexação com BCD, representada pelos complexos de inclusão, mostrou ser um sistema mais eficiente para essa melhoria quando comparada com as respectivas misturas físicas e com as dispersões sólidas com HPMC.

5. Referências

- Do Campo, R. Recent developments in the chemotherapy of Chagas disease. *Current pharmaceutical design, Schiphol*, v. 7, n. 12, p. 1157-1164, 2001.
- Lamas M.C., Village L., Nocito I., Bassani G., Leonardi D., Pascutti F., Serra E., Salomón C.J. *Int. J. Pharm.* 307: 239-243, 2006.
- Rao, V.M. & Stella, V.J. (2003) *J. Pharm. Sci.* 92: 927-32.
- Del Valle, E.M.M. (2004) *Process Biochem.* 39: 1033-46.
- Challa, R., A. Ahuja. J. Ali & R.K. Khar (2005) *AAPS PharmSciTech.* 6: E329-E51.
- Loftsson, T. (1998) *Pharmazie* 53:733-40.
- Ohara T., Kitamura S., Kitagawa T., Terada K. *Int J Pharm* 302 (2005) 95-102.
- Janssens S., Roberts C., Smith E.F., Van der Mooter G. *Int J Pharm* 355 (2008) 100-107.
- Soares-Sobrinho, J. L.; Silva, A.L. M.; Grangeiro, S.; Medeiros, F.P.M.; Rolim-Neto, P.J. Desenvolvimento e validação de método analítico para doseamento de benznidazol. *Rev. Bras. Farm.* 87 (3):78-80, 2006.
- Lipkowitz KB. 1998. Applications of Computational Chemistry to the Study of Cyclodextrins. *Chem Rev* 98(5):1829-1873.
- Pose-Vilarnovo B, Perdomo-Lopez I, Echezarreta-Lopez M, Schroth-Pardo P, Estrada E, Torres-Labandeira JJ. 2001. Improvement of water solubility of sulfamethizole through its complexation with b- and hydroxypropyl-b-cyclodextrin. Characterization of the interaction in solution and in solid state. *Eur J Pharm Sci* 13(3):325-331.
- Brewster M.E. & Loftsson T. *Advanc Drug Deliv Rev* 59 (2007) 645-666.

Conclusões e Perspectivas

6 CONCLUSÕES

É de importância indiscutível que instituições públicas de ensino e pesquisa como a Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, através do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - LTM em parceria com indústrias farmacêuticas, como o Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE, unam esforços para a resolução de problemas que acometem a saúde da população de baixa renda e por este motivo não despertam o interesse das grandes indústrias farmacêuticas privadas, como é o caso das doenças negligenciadas, mais especificamente neste projeto, a doença de Chagas. No presente trabalho, através de vários sistemas como dispersões sólidas e complexos de inclusão, foi promovida a melhoria das características de solubilidade e taxa e velocidade de dissolução do antichagásico Benznidazol, além de relatar o desenvolvimento do método de dissolução para comprimidos, método este utilizado em todos os estudos de dissolução in vitro das misturas físicas, dispersões sólidas e complexos de inclusão do BNZ. Foram estudados vários polímeros hidrofílicos e um tipo de ciclodextrina, e em todos os sistemas foram observadas melhorias na liberação do fármaco, ratificando assim, a utilização destas técnicas no incremento de solubilidade de fármacos pouco solúveis em água.

7 PERSPECTIVAS

- Caracterizar as amostras de dispersões sólidas de HPMC e complexos de inclusão de β -ciclodextrina, bem como suas respectivas misturas físicas, utilizando técnicas analíticas como Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), análise térmica por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), espectroscopia de IV e Difração de raio-X e Ressonância Magnética Nuclear;
- Realizar estudos de solubilidade através de diagrama de fases de solubilidade com os polímeros hidrofílicos e as ciclodextrinas;
- Realizar estudo teórico de modelagem molecular entre o benznidazol e o HPMC, onde poderá ser comparado com o estudo de modelagem do fármaco com os outros polímeros hidrofílicos, PVP e PEG;
- Desenvolvimento de novas dispersões sólidas com outras proporções entre fármaco-polímero para posterior caracterização e avaliação dos sistemas.
- Otimizar o processo de obtenção de dispersões sólidas e complexos de inclusão por Spray Drying.

Referências

REFERÊNCIAS

- SCHOFIELD, C. J.; JANNIN, J.; SALVATELLA, R. The future of chagas disease control. *Trends in parasitology*, Oxford, v. 22, n. 12, p. 583-588, dez. 2006.
- LACHMAN, L., LIEBERMAN, H., KANIG, J. L. Teoria e prática na Indústria Farmacêutica. Lisboa: Calouste Gulbekian, v1, 505 p, 2001.
- MOOTER, G.V., WEUTS, I., RIDDER, T., BLATON, N. Evaluation of Inutec SP1 as a new carrier in the formulation of solid dispersions for poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v.316, p. 1-6, 2006.
- RATHBONE, M.J.; HADGRAFT, J.; ROBERTS, M. S. Drugs and the pharmaceutical sciences. *Modified-Release Drug Delivery Technology*, v. 126, p. 135-134, 2003
- LOFTSSON, T., HREINSDÓTTIR, D., MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs, 302:18-28, 2005.
- CHIOU, W.L and RIEGELMAN, S. Absorption characteristics of solid dispersed and micronized griseofulvin in man. *J Pharm Science*. V.60, p.1376-1380. 1971
- CORRIGAN, O. J., MURPHY, C. A., and TIMONEY, R. F. Dissolution properties of polyethyleneglycols and polyethyleneglycol-drug systems. *Int J Pharm.*, v.4., p. 67-74., 1979.
- TANTISHAIYAKUL, V.; KAEWNOPPARAT, N.; INGKATAWORNWONG, S. *Int. J. Pharm.* 181: 143–151, 1999.
- FRANCO, M.; TRAPANI, G.; LATROFA, A.; TULLIO, C.; PROVENZANO, M.R.; SERRA, M.; MUGGIRONI, M.; BIGGIO, G. *Int. J. Pharm.* 225: 63–73, 2001.
- VERHEYEN, S.; BLATON, N.; KINGET, R.; VAN DEN MOOTER, G. *Int. J. Pharm.* 249: 45–58, 2002.
- BRITTO, M. A. F. O., JÚNIOR, C. S. N., SANTOS, H. F. Análise estrutural de ciclodextrinas: um estudo comparativo entre métodos teóricos clássicos e quânticos. *Química Nova*, vol. 27, n. 6, 882-888, 2004

Apêndice



DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS DE BENZNIDAZOL E CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

JOSÉ LAMARTINE SOARES SOBRINHO(PG)(1); ÁDLEY ANTONINI NEVES DE LIMA(PG)(1); LUCIANA NEIVA ANTUNES LIMA(IC)(1); PRISCILA DE GOUVEIA ZAMBONI LINS(IC)(1); RICARDO MARTINS SILVA(IC)(1); SÉRGIO SANTOS SILVA(IC)(2); JOSÉ LUIS DE LIMA FILHO(PQ)(3); PEDRO JOSÉ ROLIM NETO(PQ)(1).

(1) Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM), Universidade Federal de Pernambuco.

(2) Laboratório de Biologia Celular e Ultra-estrutura – Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães Fio Cruz, UFPE.

(3) Laboratório de Microscopia Eletrônica – Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), UFPE.

INTRODUÇÃO

O benznidazol (BNZ) é atualmente o único fármaco utilizado na terapia de pacientes chagásicos, apesar de possuir alta toxicidade e baixa solubilidade, sendo então um desafio tecnológico otimizar a biodisponibilidade desse fármaco por técnicas que venham melhorar a sua solubilidade e assim diminuir a sua toxicidade. Uma das técnicas utilizadas para este fim são as dispersões sólidas, sistemas onde o fármaco pouco solúvel em água é disperso em carreadores, neste caso, polímeros hidrofílicos.

OBJETIVO

Melhorar a solubilidade do fármaco por meio de dispersões sólidas utilizando polímeros hidrofílicos, como Polivinilpirrolidona (PVP) K-30 e Polietilenoglicol (PEG) 6000.

MÉTODO

Preparação das misturas físicas: o BNZ com PVP K-30/PEG 6000 foram precisamente pesados na razão 1:1, 1:2 e 1:3 (p/p) para cada polímero. As misturas homogêneas previamente pulverizadas foram tamisadas em malha de 250 µm, armazenadas e mantidas em dessecador. As dispersões sólidas foram desenvolvidas pelo método do solvente, utilizando para o BNZ uma mistura de metanol com acetonitrila na proporção 2:1. Os polímeros foram solubilizados em metanol. Após solubilizados, o ativo e os polímeros foram misturados e submetidos à rotaevaporação a uma temperatura fixa de 50° C, à pressão reduzida.

RESULTADOS

Pôde-se constatar através da Microscopia Eletrônica de Varredura, a morfologia dos cristais do BNZ, (fig. 1.a) e sua interação com o PVP e o PEG. Nas misturas físicas foram observadas para o PVP/BNZ (b) a disposição dos cristais do fármaco sobre o polímero, e para a mistura física PEG/BNZ (c) a disposição das partículas de PEG, menores sobre o cristal maior de BNZ. Nas dispersões sólidas, as morfologias originais do fármaco e dos polímeros foram alterados, encontrando-se o fármaco disperso nos polímeros hidrofílicos na forma de agregados não uniformes, conforme fig 1.d e 1.e.

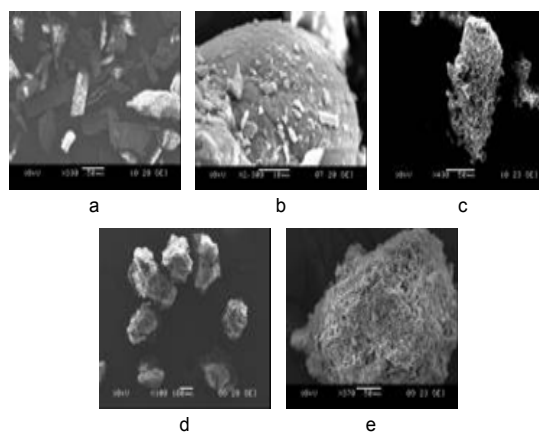


Figura 1. MEV do BNZ, das misturas físicas (MF) e dispersões sólidas (DS) do BNZ com os polímeros PVP K-30 e PEG 6000.

a. BNZ. b. MF PVP/BNZ. c. MF PEG/BNZ. d. DS PVP/BNZ. e. DS PEG/BNZ

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Foi demonstrado através da MEV, que nas misturas físicas do fármaco com os polímeros, não houve alteração na forma e no tamanho de nenhum dos polímeros, nem do BNZ, ocorrendo apenas uma sobreposição entre eles. Já nas dispersões sólidas do BNZ com PVP-K30 e PEG 6000, ficou evidenciado uma redução no tamanho e no número de cristais do BNZ, sugerindo a conversão do estado cristalino do BNZ ao estado amorfo nas dispersões sólidas. Dessa forma, a utilização dos polímeros hidrofílicos carreadores pode melhorar a baixa solubilidade do BNZ, devido à redução do tamanho das partículas nas dispersões sólidas, o que consequentemente levará ao aumento da superfície de contato e também pelo fato de que as formas amorfas possuem normalmente solubilidade e velocidade de dissolução mais elevadas que as formas cristalinas.

Agradecimentos: CAPES, CNPq e LAFEP



Latin American Journal of Pharmacy

(formerly *Acta Farmacéutica Bonaerense*)

A scientific journal of the College of Pharmacists of Buenos Aires Province, Argentina
Calle 5 N° 966, 1900 La Plata, Argentina (<http://www.actafarmbonaerense.com.ar>)

La Plata, 28 de julio de 2008

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - LTM/
Departamento de Farmácia
Universidade Federal de Pernambuco,
Av: Professor Artur de Sá, S/N,
Cidade Universitária, 50740-521,
Recife - PE, Brasil
E-mail: prolim@ufpe.br

Ref.: LAJP 1501-08

Estimado Dr. Rolim Neto:

Tengo el agrado de dirigirme a usted con el objeto de poner en su conocimiento el que la nueva versión de su trabajo "Technologies alternatives to improve solubility of poorly water soluble drugs", de Ádley Antonini Neves de Lima, José Lamartine Soares Sobrinho, Roberto Antônio Cavadinha Corrêa Júnior, Pedro José Rolim Neto*, es aceptable para su publicación en *Lat. Am. J. Pharm.* Oportunamente le indicaremos el número en el que será publicado su trabajo y le enviaremos la prueba de imprenta para que proceda a su revisión.

Al tiempo de agradecer su colaboración, hago propicia la oportunidad para salutarlo con las expresiones de mi mayor consideración.

Dr. Néstor O. Caffini, Editor
E-mail: caffini@biol.unlp.edu.ar