UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

Caracterização físico-química e desenvolvimento de metodologia para
avaliação da dissolução intrínseca de albendazol e mebendazol

Roxana Lili Roque Flores

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Prof. Assoc. Humberto Gomes Ferraz

São Paulo

2011

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

R786c Roque Flores, Roxana Lili
Caracterização físico-química e desenvolvimento de metodologia
para avaliação da dissolução intrínseca de albendazol e mebendazol /
Roxana Lili Roque Flores. -- São Paulo, 2011.
80p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador : Ferraz, Humberto Gomes

1. Tecnologia farmacêutica I. T. II. Ferraz, Humberto Gomes,
orientador.

615.4 CDD

Roxana Lili Roque Flores

Caracterização físico-química e desenvolvimento de metodologia para
avaliação da dissolução intrínseca de albendazol e mebendazol

Comissão Julgadora

da

Tese para obtenção do grau de Mestre

Prof. Assoc. Humberto Gomes Ferraz

orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

Ao meu maior tesouro, minha mãe Maria Gregoria Flores Ramos, meu exemplo de superação que desde o início da minha vida me guiou. Agradeço de coração tudo o que a senhora fez e faz por mim. Obrigada pelo amor incondicional e por ter trabalhado para me dar uma educação.

A meu irmão Juan Eduardo pelo seu carinho, sua compreensão, pelos longos anos de distância e por apoiar nossa mãe durante minha ausência neste período.

Agradecimentos

Agradeço principalmente a Deus, pela oportunidade de vida, saúde e por fazer realidade este sonho, muito obrigada!

Ao meu orientador, Prof. Assoc. Humberto Gomes Ferraz, pela oportunidade, apoio e orientação.

À Universidade de São Paulo e a sua Faculdade de Ciências Farmacêuticas pela estrutura e oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela bolsa concedida.

Ao Prof. Dr. Carlos Paiva e sua aluna Selma e ao Prof. Dr. Fabio Furlan, pelas análises de difração de raio-X e auxílio.

Ao Prof. Assoc. Jivaldo do Rosário Matos pela amizade, dedicação e por me ajudar em muitos momentos.

Ao Prof. Assoc. Helio Stefani pela amizade, confiança e motivação.

.

Aos professores do Laboratório de Farmacotécnica, Profa. Dra. Cristina Serra, Profa. Dra. Vladi Consiglieri, Profa. Dra. Silvia Storpirts, Profa. Dra. Valentina Porta, Profa. Dra. Valéria Velasco e ao Prof. Dr. André Baby pela recepção e amizade.

Aos meus professores do Peru, Prof. Dr. Julio Chirinos, Profa. Dra. Mercedes Jave e ao Prof. Dr. Alejandro Pino por me ensinarem.

Aos colegas do grupo, Profa. Dra. Leticia Rodrigues, Patrícia Rivas, Kátia Ito, Leandro Giorgetti e em especial a Michele Georges Issa pelas valiosas sugestões, auxílio e amizade.

Aos meus colegas que já concluíram o curso, George Gualberto, Andrea Ikeda, Ana Lúcia Nobusa, Ana Paula Zerbini, Artur Lopes e Helder de Oliveira, pelo auxílio e amizade.

Aos estagiários, Fagner Magalhães, Missael Silva, Cinthia Alves, Bruno Camardella e aos que já concluíram seu trabalho, Vanessa, Patrícia Bosomba, Arthur Massabki e Silmara Macena, pela amizade e disposição.

À Claudinéia Pinto, Eremita Santos e Edgar pela amizade e disposição.

Aos funcionários da faculdade, Elizabeth Paiva, Jorge Lima, Angela e David pela disposição.

À funcionária Leila Aparecida Bonadio pela amizade e valiosa colaboração na procura de material bibliográfico.

Aos colegas do Laboratório, Jose Eduardo Gonçalves, Guilherme Tavares, Marcelo e Marize Gouveia, Paula Souza, Carla Pedriali, pela convivência, apoio e amizade.

À minha querida Doralice de Jesus Santos pela amizade, companhia e torcida.

Às minhas amigas Vanesa Chacon, Delia Luna e Adelaida Viza pela ajuda, companheirismo e amizade.

Aos meus amigos Angel, Mónica e seu filho Sebastian pela sincera amizade.

Às minhas amigas da faculdade, María, Sughey, Keyla, Yuliana, Pamela, Carol, Glenny, Jamily e Araceli por todas nossas alegrias, por construir a verdadeira amizade e por se alegrarem com as minhas conquistas mesmo distantes, muito obrigada.

Às minhas grandes amigas Tatiana Balogh e Talita Monteiro pela sincera amizade, companheirismo, torcida e por me ajudarem em muitos momentos.

Aos meus amigos, Fábio Ikuno, Mateus Costa, Fabio Ito e ao senhor Hirossi Sannomiya pela amizade e pelos divertidos e inesquecíveis momentos, muito obrigada.

À minha tia Dominga, minhas primas Yulisa, Milagros e Flor Salomé e meus queridos Aarón e Sebastian pelo carinho, incentivo e torcida.

Ao meu pai, Pedro, por me fazer acreditar, desde minha infância, que os sonhos existem.

Agradeço principalmente as pessoas mais importantes da minha vida, minha mãe e meu irmão, porque, sem o apoio e a torcida de vocês nada disto teria dado certo e nada valeria à pena. Amo vocês, família!

E a todos os familiares e amigos que comemoram comigo a conclusão deste trabalho, muito obrigada.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver metodologia para avaliação da dissolução intrínseca (DI) de amostras de albendazol (ABZ) e mebendazol (MBZ), empregando-se o método de disco rotativo. Inicialmente foi realizada a caracterização físico-química dos fármacos, empregando-se os ensaios de termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difratometria de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), densidade verdadeira, área superficial e tamanho de partícula, para sete amostras de ABZ e oito de MBZ. Com as análises de DRX e DSC foi possível verificar a presença dos polimorfos I e II, além de outras estruturas cristalinas nas amostras de ABZ. Em relação ao MBZ foi possível identificar os polimorfos A, C e a mistura destes polimorfos. Mediante o ensaio de solubilidade, verificou-se que as amostras que possuem o polimorfo C foram as mais solúveis nos meios de HCl 0,1N e suco gástrico. Finalmente, desenvolveu-se a metodologia para a avaliação da DI de ABZ e MBZ. Para avaliar o impacto das condições de ensaio na DI, escolheu-se uma amostra de ambos fármacos, que foi submetida a diferentes ensaios conforme delineamento experimental ortogonal de Taguchi do tipo L9(3⁴). Verificou-se que tanto para o ABZ quanto para o MBZ, a variável que apresentou maior impacto na velocidade de dissolução intrínseca (VDI) foi o meio de dissolução. Dessa maneira, selecionaram-se as condições para a realização dos ensaios comparativos entre as amostras (diferentes fornecedores). Observou-se que as amostras que apresentam o polimorfo II (ABZ) e o C (MBZ) são aquelas que mostraram maiores valores de VDI. As condições empregadas para o estudo da VDI das amostras dos fármacos permitiram evidenciar diferenças entre os polimorfos demonstrando que a técnica de dissolução intrínseca é viável na caracterização das formas polimórficas de ABZ e MBZ.

Palavras-chave: albendazol, mebendazol, dissolução intrínseca, polimorfismo.

ABSTRACT

The purpose of this study was to develop a methodology for evaluating the intrinsic dissolution (ID) of samples of albendazole (ABZ) and mebendazole (MBZ), employing the rotating disk method. Initially, a physicochemical characterization of seven samples of ABZ and eight samples of MBZ was carried out through thermogravimetric tests (TG), differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM), as well as evaluations of true density, surface area and particle size. With the XRD and DSC analyses, it was possible to ascertain the presence of polymorphs I and II, as well as other crystalline structures in the ABZ samples. With regards to MBZ, it was possible to identify polymorphs A and C, as well as a mixture of these polymorphs. With the execution of a solubility test, it was ascertained that the samples with polymorph C were the most soluble in the HCl 0.1N and gastric acid media. Finally, a methodology for the evaluation of the ID of ABZ and MBZ was developed. In order to evaluate the impact of the test conditions on ID, samples of both drugs were chosen, which were then subjected to different tests, according to the L9 (3^4) Taguchi experimental orthogonal array. It was ascertained that for both ABZ and MBZ, the variable with the greatest impact on the intrinsic dissolution rate (IDR) was the dissolution medium. Accordingly, the conditions for the execution of comparative tests between the samples were selected (different suppliers). It was observed that the samples that presented the polymorph II (ABZ) and C (MBZ) were also those that presented the greatest IDR values. The conditions employed for the IDR study of the drug samples enabled differences between the polymorphs to be ascertained, thus demonstrating that the intrinsic dissolution technique is viable for the characterization of polymorphic forms of ABZ and MBZ.

Keywords: albendazole, mebendazole, intrinsic dissolution, polymorphism.

SUMÁRIO

Capítulo 1 - Influência do polimorfismo na dissolução intrínseca

de fármacos	12
Resumo	13
1. Introdução	14
2. Dissolução intrínseca	15
2.1. Sistema de disco rotativo	17
2.2. Mecanismo de velocidade de dissolução intrínseca.....	18
2.3. Determinação da velocidade de dissolução intrínseca.....	20
3. Polimorfismo e dissolução intrínseca	20
4. Fatores intrínsecos que influenciam a velocidade de dissolução intrínseca.....	22
4.1. Velocidade de rotação.....	22
4.2. Meio de dissolução.....	22
5. Conclusão	23
6. Referências	23

Capítulo 2 - Caracterização físico-química e avaliação de polimorfos em amostras comerciais de albendazol

amostras comerciais de albendazol	26
Resumo	27
1. Introdução	28
2. Material e Métodos.....	29
2.1. Materiais.....	29
2.2. Difratometria de raios X.....	29
2.3. Termogravimetria	30
2.4. Calorimetria Exploratoria Diferencial	30
2.5. Densidade verdadeira	30
2.6. Determinação da área superficial.....	30
2.7. Análises de Tamanho de partícula	31
2.8. Microscopia eletrônica de varredura	31
3. Resultados e discussão.....	31
4. Conclusão	40
5. Referências	41

Capítulo 3 - Caracterização físico-química e avaliação de polimorfos em amostras comerciais de mebendazol	43
Resumo	44
1. Introdução	45
2. Material e Métodos	46
2.1. Materiais	46
2.2. Difratomia de raios X	46
2.3. Termogravimetria	47
2.4. Calorimetria Exploratória Diferencial	47
2.5. Solubilidade	47
2.6. Densidade verdadeira	48
2.7. Determinação da área superficial	48
2.8. Análises de Tamanho de partícula	48
3. Análises multivariada	48
4. Resultados e Discussão	49
5. Conclusão	61
6. Referências	61

Capítulo 4 - Desenvolvimento de metodologia para avaliação da dissolução intrínseca de amostras de albendazol e mebendazol com características físico-químicas distintas.....	63
Resumo	64
1. Introdução	65
2. Materiais e Métodos	67
2.1. Materiais	67
2.2. Planejamento experimental	67
2.3. Dissolução intrínseca	69
2.3.1. Execução dos ensaios	69
3. Resultados e Discussão	70
4. Conclusão	79
5. Referências	79

Capítulo 1

INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO NA DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DE FÁRMACOS

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão da literatura sobre dissolução intrínseca (DI), com enfoque, sobretudo, nos aspectos relacionados à sua utilização para caracterização de fármacos com estruturas cristalinas diferentes (polimorfos). A DI é uma técnica que permite determinar a velocidade de dissolução (VD) de uma substância pura e pode ser realizada em dois aparatos: no sistema de disco rotativo (“Aparato de Wood”) e no sistema de disco fixo. É executada em condições específicas, em que parâmetros como área superficial, temperatura, velocidade de agitação e pH do meio são mantidos constantes durante todo o ensaio de dissolução. O resultado é expresso em unidade de massa dissolvida por segundo por centímetro quadrado. A velocidade de dissolução intrínseca (VDI) de fármacos é importante na caracterização de fármacos sólidos. Diferentes formas cristalinas (polimorfos) podem influenciar a estabilidade física, a VD e, portanto, a biodisponibilidade do fármaco. Estudos relacionados à caracterização de polimorfos de um mesmo fármaco, empregando a técnica de DI, mostraram a importância da VDI destes polimorfos. A partir das informações da literatura pode-se considerar a DI como uma ferramenta útil na caracterização de polimorfos.

Palavras-chave: dissolução intrínseca, polimorfismo.

1. Introdução

O desenvolvimento de uma forma farmacêutica requer o conhecimento das propriedades físico-químicas do fármaco e de todos os excipientes a serem utilizados (ANSEL *et al.*, 2007). Assim, problemas que se apresentam durante as etapas de produção e absorção do fármaco pelo organismo poderão ser evitados. Dentre as propriedades físicas do fármaco encontra-se a estrutura cristalina, considerada um fator importante na etapa de pré-formulação, pois diferentes formas cristalinas (polimorfos) podem influenciar na estabilidade física, na solubilidade, na velocidade de dissolução e, portanto, na biodisponibilidade do fármaco (ANSEL *et al.*, 2007).

O polimorfismo é definido como a habilidade de um material sólido cristalino de existir em, no mínimo, duas estruturas cristalinas diferentes. Essas variações da forma cristalina têm sua origem nas condições físico-químicas específicas em que o fármaco é obtido, ou seja, no processo ou sequência de síntese, como purificação, cristalização, secagem e estocagem do fármaco, como também no processo de produção de medicamentos (FLORENCE; ATTWOOD, 2003). Essas diferentes formas cristalinas obtidas podem gerar modificações nas características físicas do sólido, tais como estabilidade, densidade, ponto de fusão e solubilidade, além de modificar as propriedades elétricas e ópticas, dureza e sua pressão de vapor (SIGNHAL; CURATOLO, 2004).

Atualmente, investigam-se dois tipos de polimorfismo: o polimorfismo conformacional e o polimorfismo por empacotamento. O primeiro ocorre quando moléculas rígidas adotam conformações distintas nas diferentes estruturas cristalinas. O segundo ocorre em moléculas rígidas que podem reunir-se em diferentes estruturas de três dimensões através de diferentes mecanismos intramoleculares (VIPAGUNTA; BRITTAIN; GRANT, 2001).

As transformações das formas polimórficas podem causar problemas na formulação, afetando, assim, a qualidade, a estabilidade, a dissolução e a biodisponibilidade do fármaco. Esta é uma das consequências mais importantes, já que diferentes formas polimórficas de um mesmo fármaco podem apresentar diferenças na velocidade de dissolução (VD) e, portanto, na biodisponibilidade, particularmente

quando o fármaco é pouco solúvel (ANSEL *et al.*, 2007). Portanto, sua identificação e sua caracterização na indústria farmacêutica são de fundamental importância para garantir a qualidade dos medicamentos.

A velocidade de dissolução intrínseca (VDI) vem sendo utilizada na caracterização de fármacos no estado sólido (YU *et al.*, 2004) e é definida como a velocidade de dissolução de uma substância pura sob condições de área superficial constante, podendo ser determinada através da técnica de dissolução intrínseca (DI).

A dissolução intrínseca (DI), por sua vez, pode ser realizada em dois aparatos: no sistema de disco rotativo, mais conhecido como “Aparato de Wood”, e no sistema de disco fixo. É realizada em condições específicas, em que parâmetros, como área superficial, temperatura, velocidade de agitação, pH e força iônica do meio, são mantidos constantes durante todo o ensaio de dissolução. O resultado é expresso em unidade de massa dissolvida por segundo por centímetro quadrado (PELTONEN *et al.*, 2003; YU *et al.*, 2004; UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009; AVDEEF; TSINMAN, 2008).

A DI vem sendo considerada como uma ferramenta importante na avaliação da solubilidade de polimorfos metaestáveis, uma vez que permite determinar, através de seus perfis de dissolução, a transformação de uma forma polimórfica instável a outra estável durante o ensaio de dissolução (PARK *et al.*, 2010).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão da literatura sobre dissolução intrínseca, com enfoque, sobretudo, nos aspectos relacionados à sua utilização na caracterização de fármacos com estruturas cristalinas diferentes (polimorfos).

2. Dissolução intrínseca

As propriedades físico-químicas do fármaco, tais como cristalinidade, polimorfismo, pKa, coeficiente de partição e solubilidade, têm papel importante na VDI, já que podem afetar a VD, a absorção e, como consequência, a biodisponibilidade do fármaco. Portanto, a VDI torna-se uma ferramenta útil para o desenvolvimento de novos

produtos farmacêuticos (YU *et al.*, 2004; ANSEL *et al.*, 2007; UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009).

O conhecimento da VDI de fármacos é importante, não só na predição de problemas de absorção relacionados à biodisponibilidade, como também na determinação de parâmetros termodinâmicos associados à transição de fase cristalina (entalpia, entropia, etc.), pois fármacos de diferentes estruturas cristalinas podem apresentar grandes diferenças de energia livre, que levariam a diferenças significativas na VDI. Adicionalmente, também apresenta importância no estudo do efeito do pH na solubilização de fármacos pouco solúveis, já que os mesmos podem apresentar solubilidade variável em função do pH (YU *et al.*, 2004).

O método usualmente empregado para determinar a VDI é o de superfície constante, por intermédio de um disco de área conhecida ($0,5 \text{ cm}^2$) contendo o fármaco em pó compactado em seu interior. O resultado é expresso em unidades de massa dissolvida por centímetro quadrado por segundo (PELTONEN *et al.*, 2003; ANSEL *et al.*, 2007; UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009).

É interessante observar que a VDI é considerada um fenômeno de velocidade e não de equilíbrio, portanto, acredita-se que a VDI esteja mais bem correlacionada com a VD *in vivo* do que com a solubilidade. A partir disso, Yu *et al.* (2004) compararam resultados encontrados de DI de 15 fármacos com a solubilidade já descrita pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). Os autores observaram boa correlação entre os resultados e, assim, sugeriram o uso da VDI como forma de estimar a solubilidade de fármacos. No entanto, para doses extremamente altas ou baixas, os autores observaram discrepâncias entre os métodos, pois fármacos com solubilidade de 1 µg/mL são classificados, segundo o SCB, como compostos de alta solubilidade, desde que sua dose seja de 0,25 mg ou menos, e, segundo a VDI, foram classificados como de baixa solubilidade.

A VDI apresenta como vantagem a utilização de pequenas quantidades de fármaco, podendo ser empregada para avaliação da solubilidade na etapa de pré-

formulação, quando quantidades mínimas de fármaco são disponibilizadas para a realização dos ensaios (STEELE, 2001).

Os sistemas utilizados na DI são versáteis e permitem estudar as características de compostos farmacêuticos sob uma variedade de condições de ensaio. Ambos os sistemas incluem as seguintes características: são adaptáveis para serem usados em equipamentos de dissolução e utilizam uma matriz modelo que mantém o compactado durante o ensaio de dissolução, apresentando superfície conhecida ($0,5 \text{ cm}^2$), que pode ser colocada em uma posição fixa dentro da cuba, diminuindo-se a variação das condições hidrodinâmicas. A diferença entre os dois sistemas é a origem do fluxo do meio de dissolução. No sistema de disco rotativo, o fluxo é gerado pela rotação da matriz dentro do próprio líquido. No sistema de disco estacionário o fluxo é gerado pelo dispositivo de agitação, constituído por uma pá (UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009).

É importante evitar as alterações do fluxo do meio e a formação de bolhas de ar na superfície do fármaco exposta na matriz, já que tais condições poderiam alterar os resultados de VDI. O tempo necessário para realização de um ensaio de DI varia de acordo com as características físico-químicas do fármaco. Normalmente, o ensaio de fármacos solúveis se encerra quando 50 a 75% dos mesmos apresentam-se dissolvidos sem que haja desprendimento do compactado da matriz; para fármacos pouco solúveis essa porcentagem pode ser menor (UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009).

2.1 Sistema de disco rotativo

A DI pode ser realizada, normalmente, no sistema de disco rotativo, mais conhecido como “Aparato de Wood” (VIEGAS *et al.*, 2001). Este sistema é composto por uma punção, uma placa de superfície e uma matriz fabricada em aço resistente, que apresenta uma cavidade, que serve como depósito da amostra. O ensaio da DI consiste basicamente em compactar o fármaco dentro da matriz com auxílio de uma prensa hidráulica, formando uma pastilha que não se desintegra e que apresenta uma área de exposição definida ($0,5 \text{ cm}^2$). A matriz é fixada na haste e esta é acoplada ao equipamento de dissolução, sendo necessária a definição de alguns parâmetros, como:

pressão de compactação, meio de dissolução, volume e rotação (UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009).

2.2 Mecanismo de velocidade de dissolução intrínseca

Visto que o mecanismo de VDI assemelha-se ao mecanismo de dissolução de um fármaco, é necessária uma breve revisão dos conceitos de VD para a melhor compreensão da VDI. A dissolução de um fármaco ocorre sob influência da difusão. Segundo a Lei de Fick, o fluxo de uma substância é diretamente proporcional ao gradiente de concentração. Durante a dissolução, as moléculas da fase sólida se dissolvem e a solução que está em contato direto com o sólido se satura (C_s); portanto, as moléculas do soluto migram por camadas limítrofes ou estáticas que circulam o sólido em direção ao seio da solução (C). O transporte dessas moléculas para o seio da fase líquida é influenciado pela difusão que ocorre lentamente. Devido ao movimento lento, as moléculas do soluto da superfície do sólido não conseguem se deslocar para o seio da solução, mudando a concentração da solução nas camadas limítrofes, o que se explica com a lei de difusão de Fick, conforme apresentado abaixo (AULTON, 2005):

Equação:

$$\frac{dC}{dt} = k(C_s - C)$$

ou

(1)

$$\frac{dC}{dt} = k\Delta C$$

Onde k é a constante de velocidade, ΔC é a diferença de concentração da solução entre a superfície sólida (C_s) e o centro da solução (C).

Durante a dissolução, a solução que está em contato com o sólido estará saturada (C_s). Se a concentração do seio da solução (C) for maior do que C_s , a solução estará supersaturada. Portanto, as moléculas de sólido se movimentarão da solução

para a superfície do sólido. E se C for menor que C_s , as moléculas se moverão do sólido em direção à solução (AULTON, 2005).

Segundo a equação de Noyes e Whitney, que foi desenvolvida com base na lei de difusão de Fick de 1897 e modificada em 1904 por Nernst e Brunner, a velocidade de transferência de massa de soluto (dm/dt) é desenvolvida através de camadas de difusão estática, que é diretamente proporcional à área superficial do fármaco exposto ao meio da dissolução (A) e à diferença de concentração (ΔC) pela camada limítrofe, e inversamente proporcional à espessura da camada (h).

Equação:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{k_1 A (C_s - C)}{h} \quad (2)$$

Onde k_1 é conhecido como coeficiente de difusão.

Durante a dissolução, quando o soluto for removido do meio de dissolução a uma velocidade maior do que ele se dissolve, o termo $(C_s - C)$ da equação 2 se tornará próximo ao valor de C_s . E quando o volume do meio de dissolução for tão grande que C não exceda 10% do valor de C_s , pode-se, também, aproximar o termo $C_s - C$ do valor de C_s . Dessa maneira, em ambos os casos citados, a dissolução ocorre sob condições *sink* ($C < C_s$), simplificando a equação 2 pela seguinte equação:

Equação:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{D A C_s}{h} \quad (3)$$

Onde D é conhecido como coeficiente de difusão.

Condições não *sink* ocorrem quando o soluto acumula-se no meio da dissolução, invalidando a condição anterior ($C_s - C \sim C_s$) e promovendo a condição $C > C_s/10$ (BANAKAR, 1992).

Condições *sink* são, normalmente, empregadas na determinação da VDI de substâncias puras. É importante ressaltar que no momento em que são aceitas as condições *sink*, a VDI deve ser independente da espessura da camada limítrofe e do volume do meio de dissolução. Portanto, a VDI mede as propriedades intrínsecas do fármaco somente em função do meio de dissolução, ou seja, pH, força iônica e contra íons (AULTON, 2005). Se, durante o processo de dissolução, são mantidas constantes a viscosidade do meio (V) e a velocidade rotacional da amostra, a VD (dc/dt) para uma área superficial constante (A) não será alterada, permanecendo com o mesmo valor, de forma que poderá ser relacionada somente à solubilidade. Em condições *sink* $C_s \gg C$ a conclusão é:

Equação:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{A}{V} K_1 C_s \quad (4)$$

Onde K_1 é a constante de VD, C_s é a concentração de saturação. Dessa maneira, a VDI é expressa pela seguinte equação:

$$VDI = K_1 C_s \text{ (mg cm}^2 \text{ min}^{-1}\text{)} \quad (5)$$

2.3 Determinação de velocidade de dissolução intrínseca

A VDI é determinada experimentalmente pela quantidade de fármaco dissolvido em cada intervalo de tempo. Esses valores são representados em um gráfico de concentração *versus* tempo e, através da regressão linear dos pontos, se obtém o valor da VD, mediante a inclinação da reta em unidades de massa/s⁻¹. Posteriormente, esse valor será dividido pela área superficial do fármaco exposto na matriz (0,5 cm²), obtendo-se, assim, o valor da VDI em unidades de massa/cm²/s⁻¹ (UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009).

3. Polimorfismo e velocidade de dissolução intrínseca

A VDI pode ser influenciada por fatores inerentes ao fármaco, tais como polimorfismo, hidratação, solvatação e tamanho de partícula; e por fatores extrínsecos,

tais como velocidade de rotação, temperatura e meio de dissolução (UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009).

Estudos recentes, baseados na cristalização da nimesulida com diferentes solventes orgânicos, descreveram que as formas polimórficas obtidas através da cristalização influenciaram na VDI deste fármaco. Os autores observaram diferenças entre os perfis de dissolução dos polimorfos II e I, mostrando valores de VDI de 13,6 e 5,7 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^{-2}$, respectivamente (SANPHUI; SARMA; NANGIA, 2011).

O efeito das formas polimórficas na VDI foi observado por Sehic *et al.* (2010). Os autores caracterizaram três amostras de carbamazepina (CBZ) e evidenciaram, durante a realização dos ensaios de DI, transformações cristalinas da CBZ anidra à CBZ diidratada na superfície dos compactados, sendo estes analisados antes e depois dos ensaios de dissolução, através de microscopia eletrônica de varredura. Essas transformações de fases foram sinalizadas pelas alterações da inclinação da reta, o que resultou na diminuição da VDI da CBZ anidra.

A influência do polimorfismo na VDI também foi observada por Park *et al.* (2010), que caracterizaram três formas cristalinas de fluconazol, duas anidras (formas I e II) e uma monoidratada. Os autores observaram que o polimorfo anidro II apresentou maior VDI quando comparado aos demais, o que foi evidenciado mediante a alteração da inclinação da reta, 20 minutos após a realização do ensaio. Os autores correlacionaram este acontecimento à transformação da forma polimórfica anidra II metaestável para a forma monoidratada do fluconazol. Análises de DSC da superfície dos discos, realizadas após os ensaios de DI, confirmaram através de suas curvas de DSC transformações cristalinas do polimorfo anidro II para a forma monoidratada.

A importância da VDI na caracterização de fármacos com diferentes estruturas cristalinas também foi observada para os pseudopolimorfos de nevirapina, em que compostos recristalizados com diferentes solventes apresentaram valores de VDI superiores às amostras livres de solventes (PEREIRA *et al.*, 2007).

Estudos realizados por Chan e Grant (1989) demonstraram que o polimorfismo foi um dos principais fatores que influenciou na determinação da VDI do ácido adípico.

Eles observaram, na cristalização deste composto com ácido oleico e água, diferenças na VDI das amostras obtidas. Estas diferenças foram explicadas pelas transformações ocasionadas aos cristais durante o processo de cristalização, devido à utilização do ácido oleico, que introduziu impurezas na rede cristalina do ácido adípico, mudando, assim, a estrutura deste cristal. Os autores concluíram que essas diferenças de VDI também poderiam ser atribuídas ao estresse dos cristais, ocasionado pela compactação, que reduziria a concentração e a eficácia da energia dos polimorfos (CHAN; GRANT, 1989).

4. Fatores extrínsecos que influenciam a velocidade de dissolução intrínseca

4.1 Velocidade de rotação

A influência da velocidade de rotação na VDI do diclofenaco sódico foi observada por Bartolomei *et al.* (2005). Eles caracterizaram duas formas cristalinas deste fármaco, o diclofenaco sódico anidro e o diclofenaco sódico hidratado. Em tal estudo, foram comparados os perfis de dissolução obtidos em 50 rpm e 100 rpm. Foram encontradas grandes diferenças de VDI nestes ensaios. A DI realizada à baixa velocidade de rotação promoveu melhor discriminação entre as diferentes formas de diclofenaco. Nos experimentos conduzidos a 100 rpm, foram observadas diferenças de 5%, enquanto que para os ensaios realizados a 50 rpm, essa diferença foi de 35% (BARTOLOMEI; BERTOCCHI; RODOMONTE, 2005).

4.2 Meio de dissolução

Estudos demonstraram que o pH é um dos fatores que mais influenciam a VDI, podendo ocasionar diferentes perfis de dissolução. Um estudo observou, nos ensaios de DI de sulfametoxazol realizados em vários pH, valores de VDI distintos. Houve melhor comportamento do fármaco em pH básico (7,6) do que em pH ácido. Tal fato é explicado pela dissociação molecular do fármaco no meio básico, já que o sulfametoxazol apresenta, na sua estrutura, grupos funcionais ácidos, resultando, assim, maior VDI em meio alcalino (DAHLAN; McDONALD; SUNDERLAND, 1987).

Outros estudos demonstraram, através da alteração da inclinação da reta de josamicina, a influência do pH do meio na VDI, quando o fármaco era submetido a diferentes faixas de pH (1,2 – 7,5) e a diferentes velocidades de rotação (50, 100, 200 e 300 rpm). Esta influência foi mais notável, quando eles empregaram a mesma velocidade de rotação para os diferentes meios de dissolução, demonstrando, assim, que a VDI da josamicina dependia tanto do pH do meio como da velocidade de rotação (SKINNER; KANFER, 1992).

6. Conclusão

A partir das informações da literatura, pode-se considerar a DI como uma ferramenta útil na caracterização de polimorfos, uma vez que ela permite diferenciar através da VDI o comportamento de dois ou mais polimorfos de um mesmo fármaco.

7. Referências bibliográficas

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.34,35,133.

ANSEL, H.C., POPOVICH, N.G., ALEN, L.V. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8.ed. São Paulo: Artmed, 2007. p.111.

AVDEEF, A.; TSINMAN, O. Miniaturized rotating disk intrinsic dissolution rate measurement: effects of buffer capacity in comparisons to traditional Wood's Apparatus. **Pharmaceutical Research**, v.25, n.11, p.2613-2627, 2008.

BANAKAR, U.V. **Pharmaceutical dissolution testing**. New York: Marcel Dekker, 1992. p.8.

BARTOLOMEI, M.; BERTOCCHI, P.; ANTONIELLA, E.; RODOMONTE, A. Physico-chemical characterization and intrinsic dissolution studies of a new hydrate form diclofenac sodium: comparasion with anhydrous form. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.40, p.1105-1113, 2006.

CHAN, H.-K; GRANT, D.J.W. Influence of compaction on the intrinsic dissolution of modified acetaminophen and adipic acid crystals. **International Journal of Pharmaceutics**, v.57, p.117-124, 1989.

DAHLAN, R.; McDONALD, C.; SUNDERLAND, V.B. Solubilities and intrinsic dissolution rates of sulphamethoxazole and trimethoprim. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.39, p.246-251, 1987.

EUROPEAN Pharmacopoeia. 5. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2005. p.309.

FLORENCE, A.T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. São Paulo: EDUSP, 2003. 732p.

SANPHUI, P.; SARMA, B.; NANGIA, A. Phase transformation in conformational polymorphs of nimesulide. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.100, n.6, p.2287-2299, 2011.

PARK, H.J; KIM, M.-S.; KIM, J.-S.; CHO, W.; PARK, J.; CHA, K.-H.; KANG, Y.-S.; HWANG, S.-J. Solid-state carbon NMR characterization and investigation of intrinsic dissolution behavior of fluconazole polymorphic, anhydrate form I and II. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.58, n.9, p.1243-1247, 2010.

PELTONEN, L.; LILJEROTH, P.; HEIKKILÄ, T.; KONTTURI, K.; HIRVONEN, J. Dissolution testing of acetylsalicylic acid by a channel flow method correlation to USP basket and intrinsic dissolution methods. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.19, p.395-401, 2003.

PEREIRA, B.G.; FONTE-BOA, F.D.; JACKSON, A.L.; RESENDE, C.; PINHEIRO, C.B.; FERNANDES, N.G.; YOSHIDA, M.I., VIANNA-SOARES, C.D. Pseudopolymorphs and intrinsic dissolution of Nevirapine. **Crystal Growth & Desing**, v.10, p.2016-2023, 2007.

SEHIC, S.; BETZ, G.; HADZIDEDIC, S.; EL-ARINI, S.K.; LEUENBERGER, H. Investigation of intrinsic dissolution behavior of different carbamazepine sample. **International Journal of Pharmaceutics**, v.386, p.77-90, 2010.

SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.56, p.335-347, 2004.

SKINNER, M.; KANFER, I. Intrinsic dissolution rate and solubility studies on josamycin a macrolide antibiotic. **International Journal of Pharmaceutics**, v.88, p.151-158, 1992.

STEELE, G. Preformulation Predictions from Small Amounts of Compound as an Aid to Candidate Drug Selection. In: GIBSON, M. **Pharmaceutical Preformulation and Formulation**. Florida: Taylor & Francis, 2001.

UNITED States Pharmacopeia. 32. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2009.

VIEGAS, T.X.; CURATELLA, R.U.; WINKLE, L.L.V.; BRINKER, G., Measurement of Intrinsic Drug Dissolution Rates Using Two Types of Apparatus, **Pharmaceutical Technology**, v.6, p.44 – 53, 2001.

VIPPAGUNTA, S.R.; BRITTAIN, H.G.; GRANT, D.J.W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n.48, p.3-26, 2001.

YU, L.X.; CARLIN, A.S.; AMIDON, G.L.; HUSSAIN, A.S. Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v.270, p.221-227, 2004.

Capítulo 2

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DE POLIMORFOS EM AMOSTRAS COMERCIAIS DE ALBENDAZOL

RESUMO

O albendazol (ABZ) é um benzimidazólico de amplo espectro, para o qual foram reportadas duas formas polimórficas (I e II). A forma I apresenta maior solubilidade que a II, sendo considerada o polimorfo metaestável à temperatura ambiente. O objetivo do presente trabalho foi investigar a presença destes polimorfos em amostras comerciais do fármaco. Realizou-se, neste estudo, a caracterização físico-química de sete amostras de ABZ, avaliando-se termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), densidade verdadeira, área superficial e tamanho de partícula. As análises de DRX e as curvas de DSC apresentaram comportamentos característicos dos polimorfos I e II do ABZ, confirmando a presença dos dois polimorfos do fármaco nas amostras estudadas. Observou-se a presença do polimorfo II nas amostras 1 e 4 e nesta última encontrou-se, também, a existência de outra estrutura cristalina ainda não descrita na literatura. A presença do polimorfo I foi encontrada na amostra 5. As amostras 3 e 7 apresentaram uma mistura de ambos polimorfos, enquanto que as amostras 2 e 6 apresentaram o polimorfo I e novas estruturas cristalinas.

Palavras-chave: albendazol, polimorfismo

1. Introdução

As infecções parasitárias encontram-se ainda muito disseminadas no mundo, apesar dos avanços no campo de medicamentos antiparasitários. Isso se deve às baixas condições de saneamento e ao desconhecimento destas infecções pela população (AWASTHI *et al.*, 2003; DAYAN, 2003).

O albendazol (ABZ) é um benzimidazólico de amplo espectro, considerado o carbamato de benzimidazol mais moderno, usado mundialmente, tanto contra nematódeos intestinais e teciduais, como também contra as formas larvárias de certos cestódeos, além de seu amplo uso para o tratamento da helmintíase em seres humanos (GOODMAN, 2007).

O ABZ ($C_{12}H_{15}N_3O_2S$), representado na FIGURA 1, possui a designação química 5-metilpropiletil-2-carbamato de benzimidazol. Apresenta-se comercialmente na forma de comprimidos de 400 e 200 mg, como também em suspensão de 200 mg/5 mL (KOROKOLVAS; FRANÇA, 2009; MERCK INDEX, 2006).

FIGURA 1. Estrutura química de ABZ

Em relação à solubilidade o ABZ é relativamente insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos (MERCK INDEX, 2006) e pequenas diferenças na solubilidade tendem a causar grande efeito na sua absorção e na sua biodisponibilidade (MWAMBETE *et al.*, 2004). O ABZ apresenta baixa solubilidade e baixa/alta permeabilidade podendo ser classificado como fármaco de classe II ou IV pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004).

Recentemente, estudos de caracterização do ABZ indicaram que este apresenta duas formas polimórficas (formas I e II) e que a forma I é mais solúvel que a forma II a 25°C, sendo definida como o polimorfo metaestável à temperatura ambiente (PRANZO *et al.*, 2010).

As propriedades do estado sólido têm um papel importante na solubilidade e na velocidade de dissolução de fármacos, principalmente dos que se apresentam em diferentes estruturas cristalinas (polimorfismo), já que estas podem influenciar na velocidade de dissolução, na absorção e, conseqüentemente, na biodisponibilidade. Além disso, também podem afetar outras propriedades importantes, como a densidade, a compactação, o escoamento do pó e a estabilidade física do fármaco (VIPAGUNTA; BRITAIN; GRANT, 2001).

Assim, considerando-se a importância do polimorfismo e suas implicações para a produção de medicamentos e a recente descrição de duas formas polimórficas distintas para o ABZ, o presente trabalho tem por finalidade investigar a presença destes polimorfos em amostras comerciais do fármaco.

2. Material e Métodos

2.1 Materiais

Sete amostras de ABZ foram obtidas de diferentes indústrias farmacêuticas brasileiras. As amostras foram designadas com números de 1 a 7 para ocultar a identidade das empresas.

2.2 Difractometria de raios X

As amostras foram prensadas em um porta-amostra de plástico e os dados foram coletados em um difratômetro da Bruker, modelo D8-Focus, de raio 200,5 mm, com tubo de geração CuK α , filtro de níquel (para absorver as radiações branca e K β), comprimento de onda médio $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ (Cu K α), com fenda de divergência de 0,2 mm e fenda de espalhamento de 8 mm, fenda Soller primária e secundária de 2,5°, com detector sensível a posição (PSD) LynxEye, com aceitação angular de 4.1°,

operando em 40 kV e 40 mA de tensão e corrente do tubo, respectivamente. A varredura, em modo contínuo, foi feita com tempo de exposição de 2 s por passo médio ($\sim 0,02^\circ$ em 2θ) na faixa entre 3° e 60° (2θ). O tempo total de aquisição foi da ordem de 1:40 h.

2.3 Termogravimetria (TG)

As curvas TG foram obtidas em equipamento TGA 2950 (TA Instruments[®], New Castle, USA) no intervalo de temperatura de 25°C a 600°C empregando razão de aquecimento de $20^\circ\text{C}/\text{min}$ e sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com vazão de $100\text{ mL}/\text{min}^{-1}$. Utilizou-se um cadinho de platina contendo massa de entre 15 a 17 mg.

2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas em equipamento DSC 2920 (TA Instruments[®], New Castle, USA) no intervalo de temperatura de 25°C a 300°C empregando razão de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ e sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com vazão de $50\text{ mL}/\text{min}^{-1}$. Utilizou-se uma cápsula de alumínio fechada contendo massa de entre 2 a 3 mg.

2.5 Densidade verdadeira

Para a determinação da densidade verdadeira se empregou um picnômetro de hélio modelo Ultrapycnometer[®] 1000 (Quantachrome Instruments[®], Boynton Beach, USA). Utilizou-se porta-amostra de alumínio, em que se acondicionou o material. A quantidade de amostra utilizada foi de, aproximadamente, 2,0 gramas. O valor da densidade verdadeira foi proporcionado, automaticamente, pelo equipamento.

2.6 Determinação da área superficial

Para a análise da área superficial das amostras de albendazol foi empregado equipamento Nova 2200e Surface Area & Pore Size Analyzer (Quantachrome Instruments[®], Boynton Beach, USA), utilizando-se nitrogênio ultrapuro como gás de análise. Empregou-se porta-amostra de vidro previamente calibrado, sendo a quantidade de amostra utilizada de 0,9 a 1,4 gramas.

2.7 Análise de tamanho de partícula

As análises foram realizadas em equipamento Particle Size Analyzer 1090 (Cilas, Orleans, França), no módulo de via úmida, sendo necessário o desenvolvimento de método de preparo para o meio dispersante e para as amostras. O meio utilizado para a leitura e o preparo das amostras foi uma solução aquosa do fármaco. Para a preparação das análises, empregaram-se 60 mg de ABZ e 40 mL de água. Após adição do meio dispersante, as amostras foram deixadas sob agitação por dez minutos, seguidos de trinta segundos de ultrassom, tempo suficiente para permitir a dispersão adequada das partículas.

2.8 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das amostras foi observada em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), modelo LEO 440I (Carl Zeiss, Cambridge, England), empregando, como fonte emissora, o filamento de tungstênio. As amostras foram montadas em suportes de alumínio ("stubs"), em fita condutora de dupla face de carbono com um filme de, aproximadamente, 15 nm de espessura. As condições das análises foram de 20 kV e 150 pA, operadas a alto vácuo.

3. Resultados e Discussão

Os difratogramas de raios X (FIGURA 2) das amostras 1 e 4 indicam picos de difração em torno de $7,0^\circ$, $10,5^\circ$ e 25° (2θ), o que, de acordo com Pranzo *et al.* (2010), caracteriza a presença do polimorfo II. Além disso, observou-se, no difratograma da amostra 4, um pico de difração em $32,0^\circ$ (2θ), que parece indicar a presença de alguma outra estrutura cristalina, também presente nesta amostra.

Por outro lado, comparando os picos de difração dessas amostras com os da amostra 5, pode-se observar diferença na forma do pico em 25° (2θ) e presença de um pico em 12° , que não se apresentaram nas amostras 1 e 4. Segundo Pranzo *et al.* (2010), a existência destes picos de difração é característica do polimorfo I. Entretanto, ao redor de 3° (2θ), um pico pequeno foi observado, o que pode ser indicativo de outra estrutura cristalina presente nesta amostra.

Com relação às amostras 2 e 6, estas apresentaram, além dos picos de difração característicos do fármaco ($7,9^\circ$ e $17,5^\circ$), pequenos picos em $11,5^\circ$, $19,7^\circ$, $20,8^\circ$ e $24,8^\circ$, na posição 2θ , que parecem indicar a existência de novas formas cristalinas do ABZ. Por outro lado, na amostra 3 foram encontrados picos de difração característicos do polimorfo I, na faixa de 11° a $12^\circ(2\theta)$, e do polimorfo II, ao redor de $25^\circ(2\theta)$.

No difratograma da amostra 7, observou-se que o formato do pico a 25° (2θ), bem como a presença de dois picos pequenos na faixa de $11,0^\circ$ a $12,0^\circ$ (2θ), evidenciam a presença do polimorfo II (PRANZO *et al.*, 2010).

FIGURA 2. Difratomogramas das sete amostras de ABZ analisadas e plotadas no programa de refinamento de estruturas Topas Academic V4.1. Em destaque picos característicos do polimorfo II (linha sólida) nas amostras 1 e 4, e do polimorfo I (linha tracejada) na amostra 5.

As curvas TG das amostras de ABZ (FIGURA 3) indicaram que o processo de decomposição térmica ocorreu em três eventos. O primeiro, entre 175 e 235°C, o segundo, entre 235 e 350°C, e o terceiro, entre 350 e 400°C. Embora todas as curvas tenham apresentado o mesmo perfil, os dados termogravimétricos obtidos mostraram que a perda de massa total variou de 63,39 a 69,98%, sendo os menores valores observados para as amostras 2 e 4 e os maiores valores para as amostras 1 e 7, indicando processo de decomposição térmica mais acentuado neste caso (TABELA 1).

FIGURA 3. Curvas TG das amostras de ABZ, razão de aquecimento 20°C/min, com intervalo de temperatura de 25°C até 600°C sob atmosfera dinâmica de N₂.

TABELA 1 - Dados sobre a temperatura de decomposição das amostras de ABZ

Amostras	1° Evento		2° Evento		3° Evento		Resíduo (%)
	T _{pico DTG} (°C)	Perda de massa (%)	T _{pico DTG} (°C)	Perda de massa (%)	T _{pico DTG} (°C)	Perda de massa (%)	
1	238	14,8	354	30,1	407	23,3	23,3
2	239	14,3	351	22,3	405	26,2	27,8
3	234	14,1	353	25,8	407	25,2	26,1
4	235	14,3	354	22,0	407	26,0	28,7
5	241	14,2	357	27,2	403	24,4	25,1
6	238	14,4	357	25,6	405	24,0	26,6
7	235	14,3	351	29,8	401	24,2	24,6

As curvas de DSC das amostras de ABZ são apresentadas na FIGURA 4. Todas as amostras apresentaram um pico endotérmico, bem definido, na faixa de 175 a 220°C, característico da fusão com decomposição do fármaco (PRANZO *et al.*, 2010; ALASANI *et al.*, 2007; KALAISELVAN *et al.*, 2006; MALAN; DE VILLIERS; LÖTTER, 1997). Para as amostras 2, 3, 5 e 6, este evento se apresentou como um único pico bem definido, enquanto que para as amostras 1 e 7 o mesmo evento foi observado em dois picos. A ocorrência deste evento foi correlacionada com a primeira perda de massa da curva TG (FIGURA 3), na qual se observou claramente que próximo a 185°C houve degradação do fármaco.

Em relação às curvas de DSC das amostras 1 e 4, estas indicaram, na faixa de 140 a 165°C, a ocorrência de dois eventos discretos, sendo o primeiro endotérmico (T_{pico} = 155°C) e o segundo exotérmico (T_{pico} = 165°C). De acordo com Pranzo *et al.* (2010), estes eventos correspondem, respectivamente, à fusão da forma polimórfica II e recristalização da forma I. De fato, nenhum evento de perda de massa foi observado na análise termogravimétrica (FIGURA 3) nesta faixa de temperatura, confirmando ter havido apenas uma transição cristalina. A curva DSC evidenciou, também, um terceiro evento endotérmico, entre 175 e 220°C, característico da fusão com decomposição térmica da forma polimórfica I.

Por outro lado, a amostra 4 apresentou um evento endotérmico ao redor de 70 a 85°C. Este evento está sendo descrito pela primeira vez neste trabalho e poderia

indicar a presença de um solvato ou de uma estrutura cristalina ainda não reportada na literatura. A presença do solvato não foi confirmada pela curva TG, pois não houve perda de massa que indicasse a saída da água de solvatação. Entretanto, o aparecimento de um pequeno pico no espectro de DRX em $32,4^\circ$ (2θ) corrobora a hipótese da presença de uma nova estrutura cristalina na amostra (FIGURA 2).

FIGURA 4. Curva DSC das amostras de ABZ, razão de aquecimento $10^\circ\text{C}/\text{min}$, no intervalo de temperatura de 25°C até 300°C sob atmosfera dinâmica de N_2 . Em destaque evento endotérmico característico do polimorfo II (linha sólida) nas amostras 1 e 4.

Para a densidade verdadeira (TABELA 2) verificou-se que os valores mais elevados foram registrados para as amostras 1 e 4 (polimorfo II), enquanto 3 e 7 (polimorfo I e II) apresentaram mais baixa densidade.

Segundo Signal e Curatolo (2004), o polimorfo mais estável apresentará maior densidade de empacotamento cristalino, devido à organização de seus átomos. Neste

trabalho, as amostras 1 e 4 (polimorfo II) foram as que apresentaram valores de densidade verdadeira mais elevados. Portanto, o polimorfo II poderia ser considerado a forma mais estável do ABZ.

TABELA 2 - Valores de densidade verdadeira (g/mL), área superficial (m^2/g) e diâmetro médio de partículas (μm) das amostras de ABZ. Os valores entre parênteses indicam os respectivos desvios-padrão (DP)

Amostras	Densidade	AS _{BET}	Diâmetro médio
1	(1,50 $\pm$ 0,01)	13,840	(9,84 $\pm$ 0,27)
2	(1,35 $\pm$ 0,01)	7,056	(5,94 $\pm$ 0,12)
3	(1,35 $\pm$ 0,01)	9,268	(3,64 $\pm$ 0,02)
4	(1,54 $\pm$ 0,01)	14,300	(12,42 $\pm$ 0,12)
5	(1,36 $\pm$ 0,01)	7,149	(10,81 $\pm$ 0,11)
6	(1,36 $\pm$ 0,01)	5,300	(8,70 $\pm$ 0,01)
7	(1,33 $\pm$ 0,01)	10,560	(2,74 $\pm$ 0,07)

Na FIGURA 5 são apresentadas as fotomicrografias das amostras de ABZ. Observou-se que as amostras 1, 3 e 6 apresentaram partículas cristalinas, aproximadamente esféricas e de superfície rugosa. Enquanto a amostra 2 apresentou a aglomeração de cristais com aparência de plaquetas densamente aderidas sobre uma superfície esférica. Com relação à amostra 4, observou-se o acúmulo de partículas em forma de escamas, dispersas sobre uma superfície. A amostra 7 apresentou partículas menores que as demais amostras, de formato irregular e dispersas.

Comparando-se as amostras 3, 5 e 7, que possuem o polimorfo I em sua composição, observa-se que quanto maior é a área superficial menor o valor obtido para densidade verdadeira. Isso poderia ser atribuído as suas diferentes morfologias (FIGURA 5), ou seja, partículas mais esféricas (3 e 5) acarretariam maior densidade do que partículas irregulares (amostra 7).

FIGURA 5. Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura das amostras de ABZ, aumento de 7.500 vezes

Na TABELA 3 são apresentados os diâmetros das partículas nas porcentagens 10, 50 e 90%. Pode-se observar que as amostras 4 e 5 apresentaram maior tamanho de partícula nos três porcentagens. A distribuição granulométrica é apresentada na FIGURA 6, em que se observa claramente que a amostras 4 apresenta curva bimodal bem definida, a amostra 5 mostrou curva de distribuição granulométrica multimodal com maior amplitude, indicando a presença de partículas mais heterogêneas.

Por outro lado, a amostra 7 apresentou maior grau de micronização, quando comparada às demais, nas porcentagens de 0,5 e 0,9%, indicando uma distribuição granulométrica mais homogênea, uma vez que, a sua curva é unimodal e com amplitude reduzida. As demais amostras apresentam distribuições bimodais e portanto, maior heterogeneidade de suas partículas.

TABELA 3 - Diâmetro a 10, 50 e 90% das partículas em μm das amostras de ABZ. Os valores entre parênteses indicam os respectivos desvios-padrão (DP) de três determinações

Amostras	d(0,1)	d(0,5)	d(0,9)
1	(0,93 $\pm$ 0,03)	(4,21 $\pm$ 0,12)	(25,90 $\pm$ 0,23)
2	(0,37 $\pm$ 0,01)	(4,45 $\pm$ 0,06)	(13,12 $\pm$ 0,32)
3	(0,73 $\pm$ 0,02)	(2,49 $\pm$ 0,06)	(9,19 $\pm$ 0,07)
4	(1,89 $\pm$ 0,12)	(12,29 $\pm$ 0,14)	(23,54 $\pm$ 0,06)
5	(1,33 $\pm$ 0,01)	(7,53 $\pm$ 0,02)	(25,49 $\pm$ 0,23)
6	(1,33 $\pm$ 0,02)	(6,98 $\pm$ 0,05)	(18,61 $\pm$ 0,03)
7	(0,85 $\pm$ 0,03)	(2,28 $\pm$ 0,08)	(5,33 $\pm$ 0,07)

FIGURA 6. Distribuição granulométrica das sete amostras de ABZ obtidas pelo método de dispersão líquida.

Embora a amostra 1 (polimorfo II) tenha apresentado maior tamanho de partícula do que a amostra 7 (polimorfo I e II), sua área superficial foi maior (TABELA 2). Este fato poderia ser atribuído a sua morfologia (FIGURA 5), como se sabe, a forma da partícula influencia na área superficial mais do que o tamanho de partícula (LOWELL et al., 2004).

5. Conclusão

Os resultados obtidos indicaram que as amostras analisadas apresentaram as duas formas polimórficas do ABZ, além da presença de outras formas cristalinas ainda não descritas na literatura. As amostras 1 e 4 apresentaram o polimorfo II e nesta última encontrou-se, também, a existência de outra estrutura cristalina. A amostra 5 correspondeu ao polimorfo I, as amostras 3 e 7 apresentaram a mistura das duas formas polimórficas. Em relação às amostras 2 e 6, estas apresentaram o polimorfo I e novas formas cristalinas.

6. Referências bibliográficas

ALASANI, F.K.; EL-BRANDY, M.; MARHOUS, M.E.; AHMED, M.O.; ALSARRA, I.A. Improvement of albendazole dissolution by preparing microparticles using spray drying technique. **Scientia Pharmaceutica**, v.75, p.63-79, 2007.

AWASTHI, S.; BUNDY, D.A.P.; SAVIOLI, L. Helmintic infections. **British Medical Journals**, v.327, p.431-433, 2003..

DAYAN, A.D. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. **Acta Trópica**, v.86, p.141-159, 2003.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L., eds. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 11.ed. New York: McGraw-Hill, 2006. p.1079.

KALAISELVAN, R.; MOHANTA, G.P.; MANNA, PK.; MANAVALAN, R. Studies on mechanism of enhanced dissolution of albendazole solid dispersions with crystalline carriers. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.68, n.5, p.599-607, 2006.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F.F. A.C. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. ed.2009/2010. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. p.10.17.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. Classification of orally administered drugs on the world health organization model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.58, p.265-278, 2004.

LOWELL, S.; SHIELDS, J.E.; THOMAS, M.A.; THOMMES, M. **Characterization of Porous Solids and Powders: Surface Area, Pore Size and Density**. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2004. p.3.

MALAN, C.E.P.; DE VILLIERS, M.M.; LÖTTER, A.P. Evaluation of compatibility of tablet excipients with albendazole and closantel using DSC and HPLC. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.23, n.6, p.533-537, 1997.

MERCK Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14.ed. Whitehouse Station: Merck, 2006. p.39.

DANIEL-MWAMBETE, K.; TORRADO, S.; CUESTA-BANDERA, C.; PONCE-GORDO, F.; TORRADO, J.J. The effect of solubilization on the oral bioavailability of three benzimidazole carbamate drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v.272, p.29-36, 2004.

PRANZO, M.B.; CRUICKSHANK, D.; CORUZZI, M.; CAIRA, M.R.; BETTINI, R. Enantiotropically related albendazole polymorphs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.99, n.9, p.3731-3742, 2010.

SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.56, p.335-347, 2004.

VIPPAGUNTA, S.R.; BRITTAİN, H.G.; GRANT, D.J.W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n.48, p.3-26, 2001.

Capítulo 3

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DE POLIMORFOS EM AMOSTRAS COMERCIAIS DE MEBENDAZOL

RESUMO

O mebendazol (MBZ) é um anti-helmíntico de amplo espectro, insolúvel em água, para o qual são relatadas três formas polimórficas (A, B e C). A forma C destaca-se como a melhor opção para a indústria farmacêutica, pois sua solubilidade é suficiente para alcançar uma boa biodisponibilidade. O presente trabalho teve como objetivo identificar os polimorfos existentes em amostras comerciais de MBZ. Foram realizadas análises de solubilidade, termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), densidade verdadeira, área superficial, tamanho de partícula e difratometria de raios X (DRX). Os resultados mostraram que o MBZ é mais solúvel nos meios de HCl 0,1N e suco gástrico. Os difratogramas de raios X e DSC confirmaram a presença dos polimorfos A (amostras 1, 5, e 8) e C (amostras 2, 4, 6 e 7). Além disso, encontrou-se uma mistura das duas formas polimórficas na amostra 3.

Palavras-chave: mebendazol, caracterização físico-química.

1. Introdução

A infecção por helmintos é considerada uma doença crônica, que prejudica gravemente a saúde dos habitantes dos países tropicais ou subtropicais de baixa renda econômica. Estima-se que mais da metade da população mundial possa estar infestada por helmintos gastrointestinais, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde existem condições precárias de saneamento básico e baixo nível educacional da população (RANG *et al.*, 2007; GEARY *et al.*, 2010).

O mebendazol (MBZ) (FIGURA 1) é um anti-helmíntico de amplo espectro que possui atividade larvicida e ovicida. É útil no tratamento da ascaridíase, enterobíase, tricuríase, ancilostomíase e teníase (GEARY *et al.*, 2010). Sua designação química é metil 5-benzoil benzimidazol-2-carbamato e apresenta-se comercialmente na forma de comprimidos de 100 mg e suspensões de 100 mg/5mL (KOROKOLVAS; FRANÇA, 2009).

FIGURA 1. Estrutura química de MBZ

Muito embora o MBZ apresenta baixa solubilidade, o fármaco é designado como classe II ou IV de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), uma vez que sua permeabilidade não está adequadamente estabelecida (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004).

O MBZ apresenta três formas polimórficas: A, B e C, que foram caracterizadas por Himmelreich, Rawson e Watson (1977) através de estudos de difração de raios X e análise térmica. Segundo Costa *et al.* (1991), estas formas cristalinas possuem diferenças de solubilidade em sistemas bifásicos octanol-tampão pH 1,2 e pH 7,3. O mesmo comportamento foi observado em ácido clorídrico 0,03N, no qual a forma B apresentou-se mais solúvel do que C e esta mais solúvel que A. Resultado semelhante

foi observado no estudo de Swanepoel *et al.* (2002), quando a solubilidade desses polimorfos foi medida em ácido clorídrico 0,1M a 30°C.

Sabe-se que as formas polimórficas de um mesmo fármaco podem apresentar diferentes propriedades físico-químicas, tais como solubilidade, velocidade de dissolução, estabilidade física, entre outras (VIPAGUNTA; BRITTAIN; GRANT, 2001). Portanto, uma avaliação dos polimorfos presentes em amostras comerciais de MBZ é muito importante para a produção de formas farmacêuticas que contenham o fármaco. Assim, o presente trabalho tem como objetivo identificar os polimorfos existentes em amostras comerciais de MBZ.

2. Material e Métodos

2.1 Materiais

Oito amostras de MBZ foram obtidas de diferentes indústrias farmacêuticas brasileiras e designadas com números de 1 a 8. Empregaram-se os meios tampão citrato pH 3,0, tampão acetato pH 4,5, tampão fosfato pH 5,8 e tampão fosfato potássico pH 6,8 para os ensaios de solubilidade, que foram preparados conforme indicado pela Farmacopeia Americana (THE UNITED STATE PHARMACOPEIA, 2009). Além disso, utilizaram-se outros meios, tais como HCl 0,1N, HCl 0,01N, suco gástrico pH 1,2, lauril sulfato de sódio (LSS), nas concentrações de 0,1%, 0,5% e 1% e água deionizada.

2.2 Difratometria de raios X (DRX)

As análises de DRX foram realizadas na linha D10B-XPD do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) (Campinas, São Paulo). Para a realização das análises, as amostras foram acondicionadas em capilares de vidro de borosilicato de 0,7 mm de diâmetro, à temperatura ambiente, durante 5 segundos de irradiação e passo angular de 0,01°. O comprimento de onda empregado foi de $\lambda=1,239277$ Å. Os resultados foram plotados no programa de refinamento de estruturas Topas Academic V4.1.

2.3 Termogravimetria (TG)

Para a análise termogravimétrica foi empregado equipamento TGA 2950 (TA Instruments®, New Castle, USA) no intervalo de temperatura de 25°C a 600°C. Utilizou-se um cadinho de platina no qual a amostra foi pesada e acondicionada. A quantidade de mebendazol analisada foi de 15 a 17 mg, na razão de aquecimento de 20°C/min., sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com vazão de 100 mL/min¹.

2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na análise calorimétrica das amostras empregou-se o equipamento DSC 2920 (TA Instruments®, New Castle, USA) no intervalo de temperatura de 25°C a 350°C. Utilizou-se uma cápsula de alumínio fechada, na qual a amostra foi acondicionada. A quantidade de mebendazol analisada foi de aproximadamente 3,0 mg, na razão de aquecimento de 10°C/min., sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL/min.

2.5 Solubilidade

A solubilidade do fármaco foi determinada pelo método do equilíbrio, no qual um excesso de fármaco é colocado em um solvente e agitado em temperatura constante por período prolongado, até que se atinja o equilíbrio.

As análises foram executadas em triplicata, mediante o emprego de frascos plásticos com tampa, para os quais foram transferidos 50 mg de MBZ e 20 mL do meio. Estas suspensões foram submetidas a agitação em equipamento Tecnal TE-420 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 150 rpm por 72 horas, à temperatura constante de 37°C. Posteriormente, as suspensões foram filtradas e analisadas por espectrofotometria ultravioleta, em espectrofotômetro UV-Vis Cary 50 (Vankel®, North Caroline, USA).

Analisaram-se, inicialmente, duas amostras de MBZ (2 e 7) escolhidas ao acaso, e, a partir dos resultados obtidos, foram selecionados os seguintes meios nos quais o

fármaco apresentou maior solubilidade: suco gástrico, HCl 0,01N, HCl 0,1N e lauril sulfato de sódio (LSS), nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1%.

2.6 Densidade verdadeira

Para a determinação da densidade verdadeira foi empregado picnômetro de hélio modelo Ultropycnometer[®] 1000 (Quantachrome Instruments[®], Boynton Beach, USA). A quantidade de amostra utilizada foi de aproximadamente 2,0 gramas.

2.7 Determinação da área superficial

As análises de área superficial foram conduzidas em equipamento Nova 2200e Surface Area & Pore Size Analyzer (Quantachrome Instruments[®], Boynton Beach, USA), utilizando-se nitrogênio ultrapuro como gás de análise. Empregou-se porta-amostra de vidro previamente calibrado e a quantidade de amostra utilizada foi de 0,9 a 1,4g.

2.8 Análise de tamanho de partícula

As análises foram realizadas no equipamento Particle Size Analyzer 1090 (Cilas, Orleans, França) no módulo de via úmida. Para a condução dos ensaios utilizou-se o analisador granulométrico com dois *lasers*, abrangendo a faixa de leitura de 0,04 a 500 µm. O meio utilizado para a leitura e o preparo das amostras foi uma solução aquosa do fármaco. Para a preparação dos ensaios se empregou 60 mg de MBZ e 40 mL de água. Após adição do meio dispersante, as amostras foram deixadas sob agitação por dez minutos, seguidos de trinta segundos de ultrassom, tempo suficiente para permitir a dispersão adequada das partículas.

3. Análises multivariada

Foram realizadas análises multivariadas de agrupamento hierárquico e componentes principais, sendo utilizadas as variáveis densidade verdadeira, área superficial, solubilidade em HCl 0,1N e diâmetro médio de partícula em *software* Statistica 10.0. Para as análises de agrupamento foi adotada a medida da distância euclidiana, para avaliação de semelhança entre os grupos e o método de Ward, como estratégia de agrupamento. Nas análises de componentes principais foram

considerados os maiores valores para a criação das variáveis latentes ortogonais (CP_1 e CP_2) e dos gráficos bidimensionais, de modo a reter maior quantidade de informações das variáveis originais.

4. Resultados e Discussão

Na FIGURA 2 são apresentados os difratogramas de raios X das amostras de MBZ, nos quais é possível observar que as amostras 1, 5 e 8 apresentaram picos de difração em $6,15^\circ$ na posição 2θ , característico do polimorfo A (FERREIRA *et al.*, 2010). No entanto, as amostras 2, 4, 6 e 7 apresentaram picos em $3,94^\circ$ (2θ), uma característica do polimorfo C. Em relação à amostra 3, observou-se a mistura dos dois polimorfos (A e C), uma vez que esta apresentou picos de difração tanto em $3,94^\circ$, como em $6,15^\circ$. Porém, uma avaliação mais detalhada aponta, também, a existência de picos bastante discretos em $6,15^\circ$, nas amostras 4, 6 e 7, o que parece indicar que o polimorfo A também está presente, mesmo que em pequenas quantidades.

Diante de tais resultados, foi realizada uma quantificação das formas polimórficas, por intermédio da medida da intensidade dos picos de difração de cada amostra. Assim, verificou-se que as amostras 4, 6 e 7 apresentaram 3,09, 1,16 e 5,12% do polimorfo A, respectivamente (TABELA 1). As amostras 1 e 5 apresentaram 100% deste polimorfo, enquanto que a amostra 2 apresentou 100% do polimorfo C. Estes dados são coerentes com os difratogramas de raios X (FIGURA 2).

TABELA 1 - Porcentagem de massa dos polimorfos A e C encontrados nas amostras de MBZ, obtidas através da intensidade emitida pelos picos de DRX das amostras

Amostras	Polimorfo A (%)	Polimorfo C (%)
1	100,00	0,00
2	0,00	100,00
3	52,57	47,43
4	3,09	96,91
5	100,00	0,00
6	1,16	98,39
7	5,12	94,88
8	99,88	0,12

FIGURA 2. Difrátogramas de raios X das oito amostras de MBZ, plotadas no programa de refinamento de estruturas Topas Academic V4.1.

A análise termogravimétrica (FIGURA 3 e TABELA 2) indicou que as amostras de MBZ foram termicamente estáveis em temperaturas inferiores a 210°C e que a decomposição térmica ocorreu em dois eventos, sendo o primeiro na faixa de 225 a 255°C e o segundo ao redor de 300 a 345°C. Observou-se, também, que o processo de decomposição térmica das amostras foi semelhante, o que não permitiu diferenciá-las. Com relação à porcentagem de perda de massa, verificou-se que as amostras apresentaram perda na faixa de 14,70 a 15,70%, para o primeiro evento, e de 26,50 a 27,50%, para o segundo evento. A porcentagem de resíduo encontrou-se na faixa de 57,60 a 59,50%.

FIGURA 3. Curva TG das amostras de MBZ, razão de aquecimento 20°C/min, no intervalo de temperatura de 25°C até 600°C sob atmosfera dinâmica de N₂.

TABELA 2 - Dados sobre a temperatura de decomposição das amostras de MBZ

Amostras	1 Evento		2 Evento		Resíduo (%)
	T _{pico DTG} (°C)	Perda de massa (%)	T _{pico DTG} (°C)	Perda de massa (%)	
1	252	15,0	341	11,3	58,9
2	242	15,5	340	12,1	57,9
3	244	15,7	344	11,8	65,7
4	244	15,3	337	12,0	57,7
5	245	15,5	344	12,6	59,5
6	245	15,0	336	12,0	58,1
7	243	14,7	334	11,9	58,3
8	248	15,0	342	11,7	58,5

As curvas de DSC das amostras de MBZ (FIGURA 4) mostraram a ocorrência de dois eventos endotérmicos bem definidos: o primeiro, na faixa de 250 a 265°C, e o segundo, entre 304 e 330°C. Este último encontra-se dentro da faixa de fusão do fármaco (KUMAR *et al.*, 2008; SWANEPOEL *et al.*, 2002).

Relacionando as curvas DSC destas amostras (FIGURA 4) com as curvas TG, pode-se verificar que o primeiro evento endotérmico está associado à primeira perda de massa na curva termogravimétrica (FIGURA 3). Porém em aparelho convencional de medição de ponto de fusão se observou fusão aparente com escurecimento do material, que corresponderia à fusão com decomposição do fármaco na curva DSC (FIGURA 4). O segundo evento endotérmico corresponde à decomposição do fármaco com carbonização.

As curvas de DSC das amostras 2, 4, 6 e 7 apresentaram a ocorrência de um evento exotérmico situado na faixa de 190 e 195°C, típico do polimorfo C. Estudos relacionados à caracterização de MBZ indicaram que a forma polimórfica C é muito estável sob condições ambientais. Entretanto, quando submetida ao estresse térmico, ocorre a conversão para a forma mais estável (forma A), devido à transição cristalina que acontece em torno de 200 a 225°C (VILLIERS *et al.*, 2005). Este fato foi observado nas curvas DSC destas amostras, onde o polimorfo C se converteu ao polimorfo A na faixa de 190 a 212°C. Mediante estas informações, pode-se dizer que o primeiro evento

endotérmico das amostras corresponde à fusão com decomposição do polimorfo A e o segundo a decomposição do fármaco.

FIGURA 4. Curvas DSC das amostras de MBZ, razão de aquecimento 10°C/min, no intervalo de temperatura de 25°C até 350°C sob atmosfera dinâmica de N₂.

As informações obtidas através das curvas de DSC confirmaram os resultados de DRX, já que as amostras 2, 4, 6 e 7 apresentaram comportamento típico do polimorfo C e as amostras 1, 5 e 8 comportamento característico do polimorfo A. Porém, na amostra 3, o ensaio de DSC indicou curva característica do polimorfo A enquanto que o espectro de DRX revelou a existência dos dois polimorfos (A e C).

O ensaio de solubilidade (FIGURA 5) indicou que o MBZ é mais solúvel nos meios HCl 0,1N e suco gástrico. Para os meios contendo tensoativo, a solubilidade aumentou proporcionalmente à concentração de LSS. Assim, selecionaram-se os meios mais solúveis para os ensaios de solubilidade de todas as amostras.

FIGURA 5. Quantidade de MBZ solubilizada (mg/mL) em suco gástrico (Suco G.), ácido clorídrico (HCl) 0,1N, HCl 0,01N, tampão citrato pH 3,0, tampão acetato pH 4,5, tampão fosfato pH 5,8, tampão fosfato potássico pH 6,8, água deionizada, lauril sulfato de sódio (LSS), nas concentrações de 0,1%, 0,5% e 1%, para as amostras 2 e 7.

As amostras 2, 4, 6 e 7 apresentaram maior solubilidade em HCl 0,1N e suco gástrico que as demais (FIGURA 6) e os resultados das análises de DSC e DRX das mesmas indicaram a presença do polimorfo C na porcentagem de 100%, 96,91%, 98,39% e 94,88%, respectivamente. Esse fato poderia explicar a maior solubilidade destas amostras, já que o polimorfo C é mais solúvel do que o A. A amostra 3 apresentou baixa solubilidade, que pode ser explicada pela existência do polimorfo A e pela menor porcentagem do polimorfo C (47,43%). As amostras 1, 5 e 8 corresponderam à forma polimórfica A, o que explicaria a baixa solubilidade das mesmas.

FIGURA 6. Quantidade de MBZ solubilizada (mg/mL) em ácido clorídrico (HCl) 0,1N, suco gástrico (Suco G.), HCl 0,01N e lauril sulfato de sódio (LSS), nas concentrações de 0,1%, 0,5% e 1%, para as amostras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8.

Os valores de densidade verdadeira (TABELA 3) indicaram que as amostras 1, 2 e 7 apresentaram maior densidade, enquanto que a amostra 8 é a de menor densidade. Observou-se, também, semelhança de valores entre as amostras 3, 4, 5 e 6. Pelos resultados apresentados, pode-se dizer que a densidade verdadeira destas amostras não é influenciada pela estrutura cristalina do fármaco, já que amostras com maior densidade pertencem tanto ao polimorfo A (amostra 1) como ao C (amostras 2 e 7).

Na TABELA 3, apresentam-se, também, os valores de área superficial e diâmetro médio de partícula. Comparando-se as amostras 2, 4, 6 e 7, que apresentam o polimorfo C em sua composição, observou-se que, quanto maior é a porcentagem deste polimorfo (TABELA 1), maior é a área superficial.

Com relação às amostras 1, 5 e 8 (polimorfo A), não se verificou proporcionalidade entre os valores de área superficial e a porcentagem do polimorfo A.

Apesar das três amostras apresentarem praticamente a mesma quantidade dessa forma polimórfica.

TABELA 3 - Valores de densidade verdadeira (g/mL), área superficial (m²/g) e diâmetro médio de partículas (μm) das amostras de mebendazol. Os valores entre parênteses indicam os respectivos desvios-padrão (DP)

Amostras	Densidade	AS _{BET}	Diâmetro médio
1	(1,46 ± 0,01)	5,80	(5,95 ± 0,16)
2	(1,47 ± 0,01)	17,18	(11,90 ± 0,31)
3	(1,44 ± 0,01)	22,16	(8,24 ± 0,34)
4	(1,43 ± 0,01)	7,95	(5,58 ± 0,20)
5	(1,45 ± 0,01)	16,61	(3,69 ± 0,04)
6	(1,43 ± 0,01)	9,01	(7,43 ± 0,53)
7	(1,47 ± 0,01)	6,80	(5,22 ± 0,22)
8	(1,42 ± 0,01)	7,11	(3,83 ± 0,09)

Na TABELA 4 estão apresentados os diâmetros das partículas a 10, 50 e 90%. Verificou-se que a amostra 2 apresentou maior tamanho de partícula nos três percentagens. Na FIGURA 7, observa-se claramente que a amostra 2 apresenta distribuição granulométrica unimodal, bem definida, na faixa de 10 a 25 μm, mostrando distribuição homogênea de suas partículas.

Por outro lado, observou-se que as amostras 5 e 8 apresentaram menor tamanho de partícula quando em comparação às demais. Além disso, verificou-se que nas percentagens a 10 e 50% a amostra 5 indicou grau de micronização superior à amostra 8; entretanto, na percentagem de 90% esse grau foi inferior. Pode-se observar que estas amostras apresentaram distribuição granulométrica bimodal, na faixa de 0,1 a 10 μm, indicando claramente que se tratam de amostras micronizadas.

As amostras 1, 3, 4, 6 e 7 possuem maior grau de micronização em relação a 2, como observado pelos menores diâmetros apresentados (TABELA 4). Entretanto, esse grau de micronização foi menor, quando comparado ao das amostras 5 e 8. Além disso, observou-se curva granulométrica bimodal, mostrando, assim, uma distribuição heterogênea de suas partículas.

TABELA 4 - Diâmetro a 10%, 50% e 90% das partículas em μm das amostras de MBZ. Os valores entre parênteses indicam os respectivos desvios-padrão (DP) de três determinações

Amostras	d(0,1)	d(0,5)	d(0,9)
1	(1,02 $\pm$ 0,05)	(4,38 $\pm$ 0,16)	(13,05 $\pm$ 0,30)
2	(1,76 $\pm$ 0,05)	(10,81 $\pm$ 0,15)	(23,82 $\pm$ 0,85)
3	(1,00 $\pm$ 0,04)	(6,44 $\pm$ 0,17)	(18,17 $\pm$ 0,85)
4	(0,81 $\pm$ 0,03)	(3,66 $\pm$ 0,19)	(13,39 $\pm$ 0,35)
5	(0,40 $\pm$ 0,01)	(2,36 $\pm$ 0,02)	(9,58 $\pm$ 0,19)
6	(0,99 $\pm$ 0,07)	(4,19 $\pm$ 0,22)	(18,96 $\pm$ 0,22)
7	(0,88 $\pm$ 0,01)	(3,54 $\pm$ 0,23)	(12,16 $\pm$ 0,31)
8	(0,76 $\pm$ 0,06)	(2,88 $\pm$ 0,07)	(8,46 $\pm$ 0,26)

FIGURA 7. Distribuição de tamanho de partícula das oito amostras de MBZ obtidas pelo método de dispersão líquida.

Quando são comparados os resultados de tamanho de partícula (TABELA 3) com os dados de solubilidade (FIGURA 6), verifica-se que o tamanho de partícula não teve impacto direto sobre a solubilidade do MBZ, pois amostras com maior tamanho

apresentaram maior solubilidade (2, 3 e 6). Assim, verificou-se que a solubilidade, neste caso, é determinada pela forma cristalina do fármaco, já que as amostras que apresentaram maior solubilidade corresponderam ao polimorfo C.

De acordo com a análise de agrupamento apresentada na FIGURA 8, verifica-se que é possível a divisão das amostras em dois (A e B) ou até cinco (I, II, III, IV e V) grupos em relação aos dados de densidade, área superficial, solubilidade e diâmetro médio das partículas.

FIGURA 8. Dendrograma obtido pela análise hierárquica de agrupamento mostrando a divisão das amostras em dois (A e B) ou até em cinco (I, II, III, IV e V) grupos.

Na análise de componentes principais foi possível a construção de um único gráfico bidimensional (FIGURA 9), formado pela combinação das componentes (CP_1 e CP_2) que, juntas, continham 75 % das informações das variáveis originais. A correlação das variáveis e as componentes principais são apresentadas na TABELA 5.

Mediante a análise de componentes principais foi possível reduzir as informações obtidas pelas quatro análises realizadas (densidade, área superficial, solubilidade e diâmetro médio de partícula) em duas novas variáveis (CP_1 e CP_2) de modo a aproximar as amostras mais semelhantes, gerando uma distribuição mais coerente em relação à análise de agrupamento.

Em relação a CP_1 , a variável com maior poder de discriminação é o diâmetro médio (-0,49), que, por apresentar correlação negativa, está relacionada com as amostras situadas mais à esquerda do gráfico. No caso da CP_2 , as variáveis com maior poder de discriminação são a área superficial (0,73) e a solubilidade (-0,51), sendo a primeira correlacionada positivamente, responsável pela discriminação das amostras que se localizam na parte superior do gráfico, e a segunda correlacionada negativamente, discriminante das amostras situadas na parte inferior.

TABELA 5 - Correlação entre as variáveis originais e as componentes principais (CP_1 e CP_2)

Variáveis	CP1	CP2
Densidade	-0,325244	-0,212885
AS_{BET}	-0,257501	0,735011
Solubilidade	-0,350354	-0,517340
Diâmetro médio	-0,495644	0,123527

FIGURA 9. Gráfico bidimensional das variáveis ortogonais (CP_1 - CP_2) mostrando a distribuição das amostras analisadas. Em predominância aos polimorfos C (linha sólida), A (linha tracejada) e mistura de ambos (linha pontilhada).

Embora, seja possível encontrar amostras de polimorfos A e C próximas no gráfico bimodal, as amostras que contém o polimorfo C estão situadas na região inferior e do lado esquerdo do gráfico, enquanto que as amostras que apresentam o polimorfo A, localizam-se na região superior do lado direito do gráfico, indicando regiões de concentração diferente para as duas formas polimórficas.

Se essa distribuição fosse relacionada apenas com a solubilidade, a separação das diferentes formas polimórficas seria mais evidente, uma vez que como estudado, a solubilidade foi a única variável que é influenciada pela forma polimórfica, enquanto que a densidade, tamanho de partícula e área superficial não mostram alguma diferença.

Entretanto, ainda assim, foi possível com a análise de componentes principais, separar amostras de formas polimórficas distintas.

4. Conclusão

As amostras comerciais de MBZ apresentaram duas formas polimórficas (A e C). O polimorfo A foi encontrado nas amostras 1, 5 e 8, enquanto que o polimorfo C, em maior porcentagem, nas amostras 2, 4, 6 e 7. A amostra 3 apresentou a mistura de ambas formas polimórficas em porcentagem semelhantes.

5. Referências bibliográficas

COSTA, J.; FRESNO, M.; GUZMAN, L.; IGUAL, A.; OLIVA, J.; VIDAL, P.; PÉREZ, A.; PUJOL, M. Polymorphic forms of mebendazole: Analytical aspects and toxicity. **Circular Farmaceutica**, v.49, n.4, p.415-424, 1991.

DE VILLIERS, M.M.; TERBLANCHE, R.J.; LIEBENBERG, W.; SWANEPOEL, E.; DEKKER, T.G.; SONG, M. Variable temperature X-ray powder diffraction analysis of de crystal transformation of the pharmaceutically preferred polymorphism C of mebendazole. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.38, p.435-441, 2005.

HIMMELREICH, M.; RAWSON, B.J.; WATSON, T.R. Polymorphic forms of mebendazole. **Australian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.6, p.123-125, 1977.

FERREIRA, F.; ANTONIO, S.; ROSA, P.C.; PAIVA-SANTOS, C. Crystal Structure Determination of Mebendazole Form A Using High-Resolution Synchrotron X-Ray Powder Diffraction Data. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.9999, p.1-11, 2009.

GEARY, T.G.; WOO, K.; MCCARTHY, J.S.; MACKENZIE, C.D.; HORTON, J.; PRICHARD, R.K.; DE SILVA, N.R.; OLLIARO, P.L.; LAZDINS-HELDS, J.K.; ENGELS, D.A.; BUNDY, D.A. Unresolved issues in anthelmintic pharmacology for helminthiases of humans. **International Journal for Parasitology**, v.40, p.1-13, 2010.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F.F.A.C. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. ed.2009/2010. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. p.10.18.

KUMAR, S.; CHAWLA, G.; SOBHIA, M.E.; BANSAL, A.K. Characterization of solid-state forms of mebendazole. **Pharmazie**, v.63, p.136-143, 2008.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.58, p.265-278, 2004.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J., eds. **Rang Dale farmacologia**. 6.ed. Rio de Janeiro: Churchill Livingstone, Elsevier, 2007. p.712-713.

SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W.; DEVARAKONDA, B.; DE VILLIERS, M.M. Developing a discriminating dissolution test for three mebendazole polymorphs based on solubility differences. **Pharmazie**, v.58, p.117-121, 2003.

UNITED States Pharmacopeia. 32. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2009.

VIPPAGUNTA, S.R.; BRITAIN, H.G.; GRANT, D.J.W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n.48, p.3-26, 2001.

Capítulo 4

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DA DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DE AMOSTRAS DE ALBENDAZOL E MEBENDAZOL COM CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DISTINTAS

RESUMO

A velocidade de dissolução intrínseca (VDI) é definida como a velocidade de dissolução de uma substância pura sob condições de área superficial constante e pode ser influenciada por fatores inerentes ao fármaco como polimorfismo, hidratação, solvatação e tamanho de partícula. Dessa forma, o ensaio de dissolução intrínseca (DI) pode ser utilizado na caracterização de fármacos provenientes de diferentes fontes. O mebendazol (MBZ) e albendazol (ABZ) são fármacos anti-helmínticos que apresentam baixa solubilidade e diferentes formas polimórficas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar as variáveis de maior impacto na VDI de ABZ e MBZ, de modo a selecionar as condições mais adequadas para comparação de amostras comerciais de ambos os fármacos com características físico-químicas distintas. Para a seleção das condições mais adequadas a serem utilizadas nos ensaios de DI de ABZ e MBZ foram realizados planejamentos experimentais de tipo ortogonal. Cada fator estudado (velocidade de rotação, meio de dissolução, pressão de compactação e volume de meio) foi avaliado em três níveis, sendo considerado como variável dependente o valor de VDI. Todos os ensaios foram conduzidos em aparato de disco rotativo acoplado ao equipamento de dissolução convencional. Após a execução dos ensaios indicados no planejamento experimental e definição das condições das análises, foram avaliadas quatro amostras de ABZ e quatro de MBZ. De acordo com os planejamentos experimentais, a variável que apresentou impacto na VDI desses fármacos foi o meio de dissolução. Entre as amostras avaliadas foi possível obter diferentes valores de VDI para as distintas formas cristalinas.

Palavras-chave: dissolução intrínseca, albendazol, mebendazol

1.Introdução

A velocidade de dissolução intrínseca (VDI) é definida como a velocidade de dissolução de uma substância pura sob condições de área superficial constante, podendo ser determinada através do ensaio de dissolução intrínseca. É realizada em condições específicas, em que parâmetros como área superficial, temperatura, velocidade de agitação, pH e força iônica do meio são mantidos constantes durante todo o ensaio de dissolução. O resultado é expresso em unidade de massa dissolvida por segundo por centímetro quadrado (YU *et al.*, 2004; UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009; AVDEEF; TSINMAN, 2008).

Durante o ensaio de dissolução intrínseca de uma substância pura, a velocidade de dissolução da mesma pode ser influenciada por fatores intrínsecos, como cristalinidade, polimorfismo, hidratação, solvatação e tamanho de partícula, e por fatores extrínsecos, tais como velocidade de rotação, temperatura e meio de dissolução (UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2009).

O polimorfismo é definido como a capacidade que uma substância tem de existir em mais de uma estrutura cristalina. Cada polimorfo apresenta propriedades específicas, tais como forma, dureza, solubilidade, densidade, velocidade de dissolução, ponto de fusão, entre outras (VIPAGUNTA; BRITAIN; GRANT, 2001). Assim, é importante que a indústria farmacêutica investigue a presença de polimorfos em seus produtos, pois a identificação e a caracterização dos mesmos são fundamentais para garantir a qualidade dos medicamentos elaborados pela empresa.

A VDI é importante na caracterização de fármacos sólidos que apresentam diferentes estruturas cristalinas, como os polimorfos, pois diferentes formas polimórficas de um mesmo fármaco podem apresentar diferenças na velocidade de dissolução (PALASH; BIPUL; ASHWINI, 2011; PARK *et al.*, 2010; SEHIC *et al.*, 2010) e o desenvolvimento de ensaios de dissolução intrínseca é então uma ferramenta interessante para a identificação e seleção de polimorfos.

O albendazol (ABZ), apresentado na FIGURA 1, é um anti-helmíntico de amplo espectro, considerado o carbamato de benzimidazol mais moderno e de uso mundial. Segundo Lindenberg *et al.* (2004), o ABZ apresenta baixa solubilidade e baixa/alta

permeabilidade, sendo classificado pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) como fármaco de classe II ou IV. O ABZ apresenta-se em duas formas polimórficas (I e II). A forma I é caracterizada por apresentar melhor solubilidade, sendo definida como o polimorfo metaestável à temperatura ambiente (PRANZO *et al.*, 2010).

FIGURA 1. Estrutura química do ABZ

Ademais, o mebendazol (MBZ), cuja estrutura química é apresentada na FIGURA 2, também é um anti-helmíntico de amplo espectro. O MBZ inclui-se entre os fármacos classe II ou IV de acordo com o SCB, já que apresenta baixa solubilidade e baixa/alta permeabilidade (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004). Este fármaco apresenta três formas polimórficas (A, B e C), que possuem diferenças de solubilidade. A forma C destaca-se como a melhor opção para a indústria farmacêutica, pois sua solubilidade é suficiente para alcançar boa biodisponibilidade (VILLIERS *et al.*, 2005).

FIGURA 2. Estrutura química de MBZ

Considerando suas características de solubilidade, bem como o polimorfismo, o ABZ e o MBZ tornam-se fármacos interessantes para estudos de DI. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar as variáveis de maior impacto na VDI de ABZ e MBZ, de modo a selecionar as condições mais adequadas para comparação de amostras comerciais de ambos os fármacos com características físico-químicas distintas.

2. Material e Métodos

2.1 Materiais

Foram analisadas 4 amostras de ABZ com características físico-químicas distintas, que foram designadas com os números 1 (polimorfo II, diâmetro médio de partícula DMP 9,84 μm), 2 (polimorfo I e outra forma cristalina, DMP 5,94 μm), 3 (polimorfo II, DMP 12,42 μm) e 4 (mistura de I e II, DMP 2,74 μm). No caso do MBZ, as amostras utilizadas foram denominadas com os números 1 (polimorfo A, DMP 5,95 μm), 2 (polimorfo C, DMP 11,90 μm), 3 (mistura de A e C, DMP 8,24 μm) e 4 (polimorfo C, DMP 7,43 μm). Para o planejamento experimental foi escolhida a amostra 2 de ABZ (polimorfo I e outra forma cristalina) e MBZ (polimorfo C). Para a preparação dos meios de dissolução, utilizaram-se solventes e reagentes químicos de grau analítico.

2.2 Planejamento experimental

Para a avaliação das variáveis no ensaio de dissolução intrínseca de ABZ e MBZ, escolheu-se o delineamento experimental ortogonal, mais conhecido como o método Taguchi, para minimizar o número de experimentos, contemplando quatro fatores em três níveis (TABELA 1). Este método utiliza os denominados arranjos ortogonais que correspondem a um desenho de experimento que permite fazer uma avaliação matemática independente do efeito de cada um dos fatores.

O planejamento fatorial fracionado pelo método Taguchi do tipo $L_9(3^4)$, realizado com o auxílio do programa Statistica 9.0 (StatSoft. Inc., USA), gerou 9 experimentos que são apresentados nas TABELAS 2 e 3. Para avaliar a variável de maior impacto na dissolução intrínseca, selecionaram-se aleatoriamente duas amostras, uma de ABZ e outra de MBZ. As amostras 2 de ABZ e MBZ foram submetidas a diferentes condições, conforme descrito nas tabelas a seguir.

TABELA 1. Variáveis empregadas no delineamento experimental fracionado pelo método Taguchi e os diferentes níveis estudados

Fatores	Níveis		
Velocidade de rotação (rpm)	100	200	250
Meio de dissolução	HCl 0,1N	HCl 0,01N	Suco gástrico
Pressão de compactação (psi)	200	500	1000
Volume de meio (mL)	750	900	1000

TABELA 2. Delineamento experimental fracionado pelo método Taguchi para o ABZ, realizado pelo programa Statistica 9.0

Ordem de execução	Experimento	Velocidade de rotação (rpm)	Meio de dissolução	Pressão de compactação (psi)	Volume de meio (mL)
1	E6	250	HCl 0,1N	1000	900
2	E4	200	HCl 0,1N	500	1000
3	E8	100	HCl 0,01N	1000	1000
4	E5	250	HCl 0,01N	500	750
5	E2	100	Suco gástrico	500	900
6	E7	200	Suco gástrico	1000	750
7	E1	100	HCl 0,1N	200	750
8	E3	250	Suco gástrico	200	1000
9	E9	200	HCl 0,01N	200	900

TABELA 3. Delineamento experimental fracionado pelo método Taguchi para o MBZ, realizado pelo programa Statistica 9.0

Ordem de execução	Experimento	Velocidade de rotação (rpm)	Meio de dissolução	Pressão de compactação (psi)	Volume de meio (mL)
1	E1	100	HCl 0,1N	200	750
2	E5	250	HCl 0,01N	500	750
3	E2	100	Suco gástrico	500	900
4	E3	250	Suco gástrico	200	1000
5	E8	100	HCl 0,01N	1000	1000
6	E6	250	HCl 0,1N	1000	900
7	E7	200	Suco gástrico	1000	750
8	E4	200	HCl 0,1N	500	1000
9	E9	200	HCl 0,01N	200	900

2.3 Dissolução intrínseca

2.3.1 Execução dos ensaios

Para a realização dos ensaios, utilizou-se o aparato de Wood (Vankel, Palo Alto, CA, USA), que foi acoplado ao equipamento de dissolução Vankel, modelo VK-7010 DT, CA, USA. Quantidades de 100 mg de fármaco (ABZ e MBZ) foram pesadas e transferidas para a matriz (disco rotativo) e, com auxílio de uma prensa hidráulica (American Lab., Charqueada, SP, Brasil), foram compactadas a diferentes pressões por 1 minuto, conforme o delineamento experimental (TABELAS 2 e 3).

Os ensaios foram realizados em triplicata, com intervalos de coleta a cada 30 minutos, totalizando 720 minutos de experimento. As absorbâncias foram obtidas no espectrofotômetro modelo Cary 50 UV-Vis (Vankel, North Caroline, USA). Para realização dos cálculos foram utilizadas as equações de reta geradas pelas curvas analíticas previamente construídas em 291 nm, para o ABZ e 235 nm para o MBZ.

A velocidade de dissolução intrínseca foi calculada por meio da quantidade de fármaco dissolvida no período de 720 minutos. Os cálculos foram realizados conforme a Farmacopeia Americana (USP 2009). Os valores obtidos foram representados em um

gráfico de concentração *versus* tempo e, através da regressão linear dos pontos, obteve-se o valor da velocidade de dissolução mediante a inclinação da reta em $\mu\text{g}/\text{min}$. Posteriormente, esse valor foi dividido pela área superficial do fármaco exposto na matriz ($0,5 \text{ cm}^2$), obtendo-se, assim, o valor de velocidade de dissolução intrínseca (VDI) em $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$.

3. Resultados e Discussão

Nas TABELAS 4 e 5 e nas FIGURAS 3 e 4 são apresentados os resultados dos 9 experimentos realizados para o ABZ, assim como para o MBZ. Para ambos os fármacos, os valores de VDI obtidos foram muito baixos, havendo a necessidade de expressá-los em $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$. Segundo Yu *et al.* 2004, valores de VDI abaixo de $0,1 \text{ mg}/\text{cm}^2/\text{min}$ ($100 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$) indicam fármacos de baixa solubilidade. Os valores de coeficiente de determinação (R^2) indicaram boa linearidade em todos os experimentos.

FIGURA 3. Quantidade dissolvida de ABZ em microgramas (μg) *versus* tempo em minutos (min) para a obtenção da VD das amostras

FIGURA 4. Quantidade dissolvida de MBZ em microgramas (µg) *versus* tempo em minutos (min) para a obtenção da VD das amostras

TABELA 4. Valores de velocidade de dissolução intrínseca (VDI), coeficiente de determinação R^2 e condições utilizadas em cada experimento de ABZ

Experimento	Velocidade de rotação (rpm)	Meio de dissolução	Pressão de compactação (psi)	Volume de meio (mL)	VDI ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)	R^2
E6	250	HCl 0,1N	1000	900	0,00120	0,9958
E4	200	HCl 0,1N	500	1000	0,00120	0,9980
E8	100	HCl 0,01N	1000	1000	0,00012	1,0000
E5	250	HCl 0,01N	500	750	0,00024	0,9978
E2	100	Suco gástrico	500	900	0,00084	0,9972
E7	200	Suco gástrico	1000	750	0,00120	0,9955
E1	100	HCl 0,1N	200	750	0,00120	0,9953
E3	250	Suco gástrico	200	1000	0,00096	0,9956
E9	200	HCl 0,01N	200	900	0,00024	0,9989

TABELA 5. Valores de velocidade de dissolução intrínseca (VDI), coeficiente de determinação R^2 e as condições utilizadas em cada experimento de MBZ

Experimento	Velocidade de rotação (rpm)	Meio de dissolução	Pressão de compactação (psi)	Volume de meio (mL)	VDI ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)	R^2
E1	100	HCl 0,1N	200	750	0,00096	0,9974
E5	250	HCl 0,01N	500	750	0,00024	0,9902
E2	100	Suco gástrico	500	900	0,00060	0,9981
E3	250	Suco gástrico	200	1000	0,00072	0,9984
E8	100	HCl 0,01N	1000	1000	0,00012	0,9797
E6	250	HCl 0,1N	1000	900	0,00108	0,9957
E7	200	Suco gástrico	1000	750	0,00096	0,9983
E4	200	HCl 0,1N	500	1000	0,00024	0,9966
E9	200	HCl 0,01N	200	900	0,00012	0,9664

Na avaliação da dissolução intrínseca de ABZ e MBZ, empregando as diferentes condições descritas nas TABELAS 4 e 5, verificou-se que tanto para o ABZ quanto para o MBZ, o fator que apresentou maior impacto na VDI foi o meio de dissolução, o que pode ser observado pela alta dispersão dos resultados médios de VDI para os níveis testados (FIGURAS 5 e 6). Tais resultados estão de acordo com a elevada solubilidade

dos dois fármacos em pH extremamente ácido (SWANEPOEL *et al.*, 2002; MWAMBETE *et al.*, 2004).

Em relação aos demais fatores, foi observada menor dispersão entre os níveis, principalmente no caso do ABZ, porém, se forem consideradas as condições em que estes níveis foram avaliados (TABELAS 4 e 5), verifica-se forte influência da combinação dos fatores meio de dissolução e velocidade de rotação.

FIGURA 5. Gráfico das médias de VDI obtidas entre os níveis dos fatores empregados no estudo de dissolução intrínseca de ABZ.

FIGURA 6. Gráfico das médias de VDI obtidas entre os níveis dos fatores empregados no estudo de dissolução intrínseca de MBZ.

Dessa maneira, as condições selecionadas para a realização dos ensaios comparativos entre os diferentes fornecedores foram aquelas que resultaram em maior valor de VDI: velocidade de rotação 250 rpm, meio de dissolução HCl 0,1N, pressão de compactação 1.000 psi e volume de meio 900 mL.

Nas TABELAS 6 e 7 são apresentados os resultados de VDI para as diferentes amostras de ABZ e MBZ avaliadas. Para o ABZ, observou-se que as amostras que apresentam o polimorfo II mostraram maiores valores de VDI, apesar de duas delas (amostras 1 e 3) apresentarem valor maior de diâmetro médio de partícula. Por outro lado, a amostra 2 (polimorfo I e outra estrutura cristalina), resultou em menor valor de VDI. Diante destes resultados, é possível sugerir que, para o ABZ, a forma polimórfica pode influenciar a VDI.

No caso do MBZ, as amostras 2 e 4 (polimorfo C) apresentaram maior VDI, embora estas tenham mostrado valores maiores de tamanho de partícula. No entanto, a amostra 1 (polimorfo A) resultou em menor VDI, apesar de exibir menor diâmetro médio de partícula. A explicação para este resultado pode ser atribuída à maior solubilidade do polimorfo C em relação ao A (SWANEPOEL *et al.*, 2002). Para a amostra 3 (mistura de polimorfos A e C), observou-se menor VDI quando em comparação às amostras 2 e 4 (TABELA 7). Relacionando estes resultados com os dados de tamanho de partícula, pode-se inferir que o tamanho de partícula não influencia a VDI das amostras de MBZ, pois a amostra com maior tamanho apresentou maior VDI (2). Tal fato poderia estar relacionado com a estrutura cristalina do fármaco, uma vez que esta amostra correspondeu ao polimorfo C.

TABELA 6. Valores de velocidade de dissolução intrínseca (VDI) e características das amostras de ABZ (forma polimórfica e tamanho médio de partícula em μm)

Amostras	Polimorfos	Diâmetro médio	VDI ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)
1	II	9,84	0,00084
2	I e outra forma cristalina	5,94	0,00060
3	II	12,42	0,00108
4	I e II	2,74	0,00108

TABELA 7. Valores de velocidade de dissolução intrínseca (VDI) e características das amostras de MBZ (forma polimórfica e tamanho médio de partícula em μm)

Amostras	Polimorfos	Diâmetro médio	VDI ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)
1	A	5,95	0,00012
2	C	11,90	0,00108
3	A e C	8,24	0,00024
4	C	7,43	0,00096

FIGURA 7. Quantidade dissolvida de ABZ em microgramas (μg) *versus* tempo em minutos (min) para a obtenção da VD das amostras 1, 2, 3 e 4. Condições: velocidade de rotação 250 rpm, meio de dissolução HCl 0,1N, pressão de compactação 1000 psi, volume do meio 900 mL, na temperatura de 37°C.

FIGURA 8. Quantidade dissolvida de MBZ em microgramas (μg) *versus* tempo em minutos (min) para a obtenção da VD das amostras 1, 2, 3 e 4. Condições: velocidade de rotação 250 rpm, meio de dissolução HCl 0,1N, pressão de compactação 1000 psi, volume do meio 900 mL, na temperatura de 37°C.

Em função dos resultados apresentados, verificou-se que as condições empregadas para o estudo da VDI das amostras de ABZ e MBZ permitiram evidenciar diferenças entre fornecedores e que a técnica de dissolução intrínseca foi viável na caracterização das formas polimórficas de ABZ e MBZ.

4. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, é possível afirmar que a variável de maior impacto na VDI, tanto do ABZ como do MBZ, é o meio de dissolução. Observou-se que o ensaio proposto, empregando as condições previamente selecionadas para avaliação da VDI, foi capaz de indicar as diferenças de solubilidade existentes entre as amostras de ABZ e MBZ. As amostras correspondentes aos polimorfos II e C (ABZ e MBZ, respectivamente), apresentaram os maiores valores de VDI.

5. Referências bibliográficas

AVDEEF, A.; TSINMAN, O. Miniaturized Rotating Disk Intrinsic Dissolution Rate Measurement: Effects of Buffer Capacity in Comparisons to Traditional Wood's Apparatus. **Pharmaceutical Research**, v.25, n.11, p.2613-2627, 2008.

DE VILLIERS, M.M.; TERBLANCHE, R.J.; LIEBENBERG, W.; SWANEPOEL, E.; DEKKER, T.G.; SONG, M. Variable temperature X-ray powder diffraction analysis of de crystal transformation of the pharmaceutically preferred polymorphism C of mebendazole. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.38, p.435-441, 2005.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system, **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.58, p.265-278, 2004.

DANIEL-MWAMBETE, K.; TORRADO, S.; CUESTA-BANDERA, C.; PONCE-GORDO, F.; TORRADO, J.J. The effect of solubilization on the oral bioavailability of three

benzimidazole carbamate drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v.272, p.29-36, 2004.

SANPHUI, P.; SARMA, B.; NANGIA, A. Phase transformation in conformational polymorphs of nimesulide. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.100, n.6, p.2287-2299, 2011.

PARK, H.J.; KIM, M.-S.; KIM, J.-S.; CHO, W.; PARK, J.; CHA, K.-H.; KANG, Y.-S.; HWANG, S.-J. Solid-state carbon NMR characterization and investigation of intrinsic dissolution behavior of fluconazole polymorphic, anhydrate form I and II. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.58, n.9, p.1243-1247, 2010.

PRANZO, M.B.; CRUICKSHANK, D.; CORUZZI, M.; CAIRA, M.R.; BETTINI, R. Enantiotropically related albendazole polymorphs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.99, n.9, p.3731-3742, 2010.

SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W.; DEVARAKONDA, B.; DE VILLIERS, M.M. Developing a discriminating dissolution test for three mebendazole polymorphs based on solubility differences. **Pharmazie**, v.58, p.117-121, 2003.

SEHIC, S.; BETZ, G.; HADZIDEDIC, S.; KOCOVA, S.; LEUENBERGER, H. Investigation of intrinsic dissolution behavior of different carbamazepine samples. **International Journal of Pharmaceutics**, v.386, p.77-90, 2010.

UNITED States Pharmacopeia. 32. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2009.

VIPPAGUNTA, S.R.; BRITTAIN, H.G.; GRANT, D.J.W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n.48, p.3-26, 2001.

YU, L.X.; CARLIN, A.S.; AMIDON, G.L.; HUSSAIN, A.S. Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v.270, p.221-227, 2004.