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

Obtenção e caracterização de complexos ternários de
Saquinavir, β -ciclodextrina e polivinilpirrolidona.

Tércio Elyan Azevedo Martins

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz

São Paulo
2008

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

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

Obtenção e caracterização de complexos ternários de
Saquinavir, β -ciclodextrina e polivinilpirrolidona.

Tércio Elyan Azevedo Martins

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz

São Paulo
2008

DEDALUS - Acervo - CQ

30100014830

Ficha Catalográfica

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

M386o	Martins, Tércio Elyan Azevedo Obtenção e caracterização de complexos ternários de saquinavir, β -ciclodextrina e polivinilpirrolidona / Tércio Elyan Azevedo Martins -- São Paulo, 2008. 82p.
	Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. Orientador: Ferraz, Humberto Gomes
	1. Farmacotécnica 2. Tecnologia farmacêutica 3. Síndrome de imunodeficiência adquirida I. T. II. Ferraz, Humberto Gomes, orientador. 615.4 CDD

Tércio Elyan Azevedo Martins

Obtenção e caracterização de complexos ternários de Saquinavir, β -ciclodextrina e polivinilpirrolidona.

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz
Orientador / Presidente

Profa. Dra. Maria Nella Gai
1º. examinador

Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra
2º. examinador

São Paulo, 23 de setembro de 2008.

Dedico este trabalho,

À ***Deus*** pela vida.

Aos meus pais ***Egber*** e ***Madalena*** pelos valores, ensinamentos, incentivo, confiança, compreensão e apoio. Sem vocês eu nada seria.

Às minhas irmãs ***Izabel*** e ***Bruna*** pelo carinho.

À ***Marcos Vinícius*** por todo o carinho, paciência, apoio incondicional nas horas mais complicadas, Reike e dedicação.

Minha sobrinha ***Maria Eduarda***.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. *Humberto Gomes Ferraz*, pela oportunidade, confiança, apoio e incentivo no desenvolvimento do trabalho.

À Profa. Dra. *Letícia Norma (Lê)*, pelo apoio incondicional, milhares de sugestões e toda paciência.

À Profa. Dra. *Nádia Bou-Chacra*, por me receber tão carinhosamente quando tudo não passava de um sonho.

À minha “mentora” quase espiritual *Michele Issa (Mica)*, por toda amizade, tranquilidade e por estar sempre aberta para esclarecer as mais tolas dúvidas.... passarão anos e não conseguirei pagar essa dívida.

Ao Marcos pelas traduções e paciência.

À Janisse (Guria) que desde o início mostrou-se amiga leal e pelos fins de semana ensolarados que passamos estudando.

Às amigas *Vivian (Vi)*, *Mariana (Mary)*, *Gislaine (Gí)*, *Patrícia (Paty)* e *Andréia* pelo auxílio, palavras de conforto nas horas de conflito e amizade.

À amiga e técnica Claudinéia (Clau) pelas seções de terapia, apoio técnico e fugas.

À estagiária Yang pela ajuda técnica.

À todos os colegas do laboratório de farmacotécnica pelo carinho, amizade e contribuição para este trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: Ciclodextrinas: tecnologia para melhoria da solubilidade de fármacos pouco solúveis.....	1
Resumo	2
1. Introdução.....	3
2.Ciclodextrinas	4
2.1. Estrutura das ciclodextrinas.....	6
2.2. Propriedades	7
2.3. Toxicologia.....	9
2.4. Ciclodextrina e seus derivados.....	10
2.4.1. Derivados hidrofóbicos.....	10
2.4.1.1. Derivados metilados	10
2.4.1.2. Derivados hidroxialquilados.....	12
2.4.1.3. Derivados ramificados	13
2.4.2. Derivados hidrófobos	14
2.4.2.1. Derivados etilados	14
2.4.2.2. Derivados acilados	14
2.4.2.3. Derivados ionizáveis.....	15
3.Formação de complexos de inclusão	15
4.Ciclodextrinas na indústria farmacêutica	19
5.Conclusão.....	21
Referências bibliográficas.....	21

Capítulo 2: Obtenção e caracterização de complexos ternários de saquinavir, β -ciclodextrina e PVP26

Resumo27

1.Introdução.....28

2.Materiais e métodos30

2.1. Materiais30

2.2. Métodos30

2.2.1. Preparação dos complexos ternários30

2.2.2. Caracterização dos complexos.....31

2.2.2.1. Solubilidade.....31

2.2.2.2.DSC.....32

2.2.2.3.TGA.....32

2.2.2.4.RAIOS-X.....32

3.Resultados e discussão32

4.Conclusão.....48

Referências bibliográficas.....48

Capítulo 3: Influência da liofilização na solubilidade do saquinavir a partir de complexos ternários51

Resumo52

1.Introdução.....53

2.Materiais e métodos55

2.1. Reagentes.....	55
2.2. Métodos	55
2.2.1. Preparação dos complexos ternários	55
2.2.2. Caracterização dos complexos	56
2.2.2.1. Solubilidade.....	56
2.2.2.2. DSC.....	56
2.2.2.3. TGA.....	56
2.2.2.4. RAIOS-X.....	56
3.Resultados e discussão	57
4.Conclusão.....	64
Referências bibliográficas.....	65
 Capítulo 4: Perfil de dissolução de cápsulas e comprimidos complexos ternários de saquinavir, β-ciclodextrina e polivinilpirrolidona.....	68
 Resumo	69
1.Introdução.....	70
2.Materiais e métodos	72
2.1.Materiais	72
2.2.Métodos	72
2.2.1.Preparação dos complexos	72
2.2.2.Complexos ternários obtidos por secagem em estufa	73
2.2.3.Complexos ternários obtidos por liofilização.....	73
2.3.Preparação das cápsulas de gelatina dura e comprimidos.....	73
2.4.Ensaio de dissolução	66
3.Resultados e discussão	74

4. Conclusão.....	79
Referências bibliográficas.....	79

RESUMO

O presente trabalho é composto por 4 capítulos distintos. No primeiro intitulado "Ciclodextrinas: tecnologia para melhoria da solubilidade de fármacos pouco solúveis" aborda-se uma revisão das ciclodextrinas e de seus derivados, como também a formação dos complexos de inclusão. No segundo capítulo, "Obtenção e caracterização de complexos ternários de saquinavir, β -ciclodextrina e polivinilpirrolidona", foram avaliadas condições que poderiam influenciar na obtenção dos complexos, tais como: tempo de agitação na formação dos complexos, proporção equimolar de fármaco e ciclodextrina, solvente para solubilização do fármaco e porcentagem de polímero hidrossolúvel, concluindo-se que as melhores condições para obtenção dos complexos são 48 horas de agitação, razão equimolar 1:2 e 1:4, água para solubilização do fármaco e acréscimo de 1% de polímero ao sistema. O terceiro capítulo, "Influência do método de secagem na obtenção de complexos ternários de saquinavir", teve o objetivo de obter e caracterizar complexos ternários de saquinavir, β -ciclodextrina e polivinilpirrolidona pelos métodos de secagem em estufa e liofilização, bem como, comparar a influência dos métodos de obtenção na solubilidade do fármaco, chegando-se ao aumento de 44 vezes da solubilidade do fármaco quando na forma de complexo SAQ: β CD:PVP de proporção equimolar 1:2 obtido por liofilização. O quarto, "Perfil de dissolução de cápsulas e comprimidos contendo complexos ternários de saquinavir, ciclodextrina e polivinilpirrolidona", teve o objetivo de comparar o perfil de dissolução de cápsulas de gelatina dura e comprimidos contendo sistemas ternários SAQ: β CD:PVP, obtidos pelos métodos de secagem em estufa e liofilização e o produto referência (Fortovase[®]). Os resultados indicam que os perfis de dissolução das formas farmacêuticas contendo complexos liofilizados apresentaram melhores resultados de eficiência de dissolução e que as cápsulas liberam mais prontamente o ativo que os comprimidos.

Palavras chave: saquinavir, β -ciclodextrina, complexos ternários, perfil de dissolução.

ABSTRACT

The present study has 4 captions. The first is called "Cyclodextrins: Technology to improve the solubility of the little soluble drugs" show a review of the cyclodextrins and its derivatives, as well the formations of inclusion complexes. At the second caption, "Preparation and characterization of the ternary complexes of the saquinavir, β -cyclodextrin and polyvinylpyrrolidone", were evaluated some conditions that could influence in an obtention of the complexes like: stirring time at the formation of the complexes, equimolar ratio of the drug and cyclodextrin, solvent for the solubility of the drug and percentage of the hydrosoluble polymer concluding that the best conditions for the formation of the complexes are: 48 hours of the stirring, equimolar ratio 1:2 and 1:4, water to solubilize the drug and addition of 1% of the polymer in the system. The third caption, "Influence of the drying method at the formation of the ternary complexes of the saquinavir", had the aim to prepare and characterize ternary complexes of the saquinavir, β -cyclodextrin and polyvinylpyrrolidone by the method of drying in equipment and lyophilization, as well to compare the influence of the methods of the obtention at the solubility of the drug, reaching the increasing of 44 times the solubility of the drug when at the form of the ternary inclusion complex (SAQ: β CD:PVP) at the equimolar ratio 1:2 obtained by lyophilization. The fourth and the last caption, "Dissolution rate of the capsules and tablets of ternary complex of the saquinavir, cyclodextrin and polyvinylpyrrolidone", had the aim to compare the dissolution profile of capsules of the hard gelatine and tablets of ternary complexes SAQ: β CD:PVP obtained by the method of drying in equipment and lyophilization and the reference product (Fortovase[®]). The results indicate that the dissolution profiles of the pharmaceutical forms of lyophilized complexes show better results of the efficiency of the dissolution and that the capsules liberate more efficient the active than the tablets.

Keywords: Saquinavir, β -cyclodextrin, Ternary complex, Dissolution rate.

Capítulo 1

CICLODEXTRINAS: TECNOLOGIA PARA MELHORIA DA SOLUBILIDADE DE FÁRMACOS POUCO SOLÚVEIS

RESUMO

As ciclodextrinas (CDs) são produtos amplamente utilizados em formulações farmacêuticas com a finalidade de aumentar a solubilidade e disponibilidade biológica oral de fármacos com baixa solubilidade, por meio da formação de complexos de inclusão fármaco:CD. Este trabalho apresenta uma revisão acerca das ciclodextrinas e de seus derivados, destacando suas características estruturais, propriedades e formação dos complexos de inclusão. Por fim, são apresentados exemplos de produtos farmacêuticos disponíveis no mercado mundial, com o objetivo de ilustrar a aplicabilidade das ciclodextrinas no aumento da solubilidade de fármacos.

Palavras chave: Ciclodextrinas, complexos de inclusão.

CICLODEXTRINAS: TECNOLOGIA PARA MELHORIA DA SOLUBILIDADE DE FÁRMACOS POUCO SOLÚVEIS

1. INTRODUÇÃO

A solubilidade em água é uma das condições determinantes para o desenvolvimento e o sucesso de novos fármacos. No entanto, novas tecnologias são baseadas nos princípios básicos da química medicinal, que aumentam a potência através da alteração da estrutura lipofílica da molécula. Isso gerou o aumento do número de moléculas lipofílicas como também aumentou no número de estudos de moléculas pouco solúveis (LIPINSKI, 2000).

As dificuldades conhecidas pela baixa solubilidade aquosa dos fármacos, tais como reduzida extensão e velocidade de dissolução a partir de suas formas farmacêuticas, juntamente com sua reduzida biodisponibilidade podem ser alteradas pela complexação com ciclodextrinas. A dosagem das formas farmacêuticas contidas em complexos de inclusão, podem ser equivalentes ou superiores às utilizadas com o fármaco isolado (VEIGA *et al.*, 2006).

Assim, formulações contendo complexos de inclusão são caracterizadas por uma dissolução mais rápida e em maior extensão, bem como por uma absorção mais eficiente. Estes efeitos manifestam-se em uma maior biodisponibilidade oral dos fármacos e o aumento da atividade farmacológica o que permite uma redução da dose administrada do fármaco (VALLE, 2004).

Evrard e colaboradores (2002) avaliaram o albendazol *in vivo* na forma de complexo ternário com a hidroxipropil beta-ciclodextrina e o ácido

cítrico, onde o fármaco foi farmacocineticamente comparado com formulações existentes no mercado contendo a mesma dosagem e verificando-se uma melhoria na biodisponibilidade do albendazol complexado, chegando sua biodisponibilidade a ser comparado ao fármaco em suspensão.

Estudos de solubilidade com a glibenclamida e seus complexos, verificaram aumento sinérgico da solubilidade do fármaco na presença de ciclodextrinas e de polímeros. Na avaliação *in vivo*, os resultados da biodisponibilidade absoluta realizada com a administração oral dos complexos em cães da raça *Beagle*, demonstraram um grande aumento da biodisponibilidade absoluta, onde o fármaco livre apresentou resultado aproximado de 14,7% e no melhor resultado, isto é, complexado com a SBE β -ciclodextrina e HPMC chegando a 90,5% (SAVOLAINEN *et al.*, 1998).

2. CICLODEXTRINAS (CDs)

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos, compostos por unidades D-glucopiranosídicas (glicose) ligadas entre si por meio de ligações α -1,4 glicosídicas. Obtidas a partir de processos biotecnológicos, por degradação enzimática do amido do milho, apresentam maior rendimento com 6, 7, e 8 unidades de glicose, conhecidas respectivamente por α -CD, β -CD e γ -CD, representadas na Figura 1 (SZEJTLI, 1998).

Ciclodextrinas obtidas com menos de 6 unidades de glicose, não existem por razões estequiométricas e aquelas com mais de 8 unidades de glicose apresentam baixo rendimento com propriedades complexantes fracas, o que provoca desinteresse por parte da indústria farmacêutica (LOFTSSON e BREWSTER, 1997).

Figura 1 - Estrutura química das ciclodextrinas α , β e γ , respectivamente.

De acordo com SZEJTLI (2004), a história das ciclodextrinas pode ser dividida em três períodos distintos (Figura 2), designados como (1) descoberta, que vai de 1891 a 1930; (2) desenvolvimento, de 1930 a 1970 e (3) utilização industrial, a partir de 1970.

Figura 2 – História das ciclodextrinas. 1. Etapas da história das ciclodextrinas. 2. Períodos de cada etapa da história. 3. Eventos relevantes da história das ciclodextrinas.

No início da produção industrial das ciclodextrinas por meio do tratamento do amido pelo *Bacillus macerans*, obtinha-se como produto final uma mistura de α -ciclodextrina (60%), β -ciclodextrina (20%) e γ -ciclodextrina (20%) e pequenas quantidades de ciclodextrinas com mais de oito unidades de glicose. Deste modo, a pureza do material constituía-se em um sério

problema, sendo este um dos pontos críticos para viabilização das ciclodextrinas (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

Uma alternativa encontrada para a problemática das impurezas na obtenção das ciclodextrinas foi a utilização de processos biotecnológicos, que em conjunto com outras inovações tecnológicas, proporcionou um aumento da pureza das ciclodextrinas obtidas, tornando exequível seu uso como excipiente farmacêutico (LOFTSSON *et al.*, 2005b).

2.1. Estrutura das ciclodextrinas

As ciclodextrinas apresentam uma forma troco-cônica devido à ausência de rotação livre das ligações glicosídicas e da conformação em cadeia apresentadas pelas unidades de glicose. Nesta estrutura peculiar (Figura 3), os grupos hidroxílicos secundários encontram-se localizados na extremidade mais larga, ligados aos átomos C-2 e C-3 das unidades de glicose, enquanto os grupos hidroxílicos primários localizam na extremidade oposta mais estreita, ligados aos átomos C-6 das unidades de glicose (BEKERS *et al.*, 1991; LOFTSSON *et al.*, 2004; VEIGA *et al.*, 2006).

A disposição molecular das ciclodextrinas deve-se à livre rotação dos grupos hidroxílicos primários que reduzem o diâmetro da cavidade na extremidade mais estreita, isto é, com menor diâmetro da molécula. Os grupos CH ligados aos átomos de hidrogênio H-1, H-2 e H-4 encontram-se no exterior da molécula enquanto as hidroxilas orientam-se para o exterior do troco-cone, tornando assim, a face externa das ciclodextrinas hidrofílica. Na face interna os grupos CH estão ligados aos átomos de hidrogênio H-3 e H-5 por pontes éteres de oxigênio glicosídico. As ligações de hidrogênio intramoleculares entre os grupos C2-OH de uma unidade de glicose com os grupos C3-OH de uma unidade de glicose adjacente estabilizam a estrutura

das ciclodextrinas, dando origem assim, a uma estrutura rígida (LOFTSSON e BREWSTER, 1997; BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

Figura 3 - Estrutura da β-ciclodextrina com representações de suas dimensões e a posição dos grupos hidroxílicos.

2.2. Propriedades

A principal propriedade das CDs é a sua capacidade de alterar as características físico-químicas e biológicas de fármacos. Sua cavidade pode estabelecer interações através de forças intermoleculares com moléculas, íons ou radicais, atuando como uma espécie de substância hospedeira. O complexo molecular formado é denominado composto de inclusão ou composto supramolecular. A Tabela 1 apresenta algumas das características das ciclodextrinas naturais.

Tabela 1 – Propriedades das ciclodextrinas naturais. FONTE: SZEJTLI, 1994; VEIGA *et al.*, 2006; BREWSTER e LOFTSSON, 2007.

Propriedade	α -CD	β -CD	γ -CD
Unidades de glicose	6	7	8
Peso molecular (g/mol)	972	1135	1297
Diâmetro externo (Å)	14,6	15,4	17,5
Diâmetro interno (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Altura (Å)	7,9	7,9	7,9
Volume da cavidade (Å)	174	262	427
Forma dos cristais	Lâminas hexagonais	Paralelogramas monocíclicos	Prisma quadrático
pKa por potenciometria (25 °C)	12,333	12,202	12,081
Constante de difusão 40 °C (m/s)	3,443	3,232	3,000
Hidrólise pela α -amilase	desprezível	lenta	Rápida

Entre as principais ciclodextrinas naturais, a β -ciclodextrina é a que apresenta menor solubilidade, fato atribuído ao elevado número de ligações de hidrogênio intramolecular entre os grupos hidroxílicos secundários existentes na molécula. Estas interações tornam a estrutura rígida e impede a sua hidratação pelas moléculas de água. Na α -ciclodextrina apenas quatro das suas seis possíveis ligações de hidrogênio podem ser estabelecidas, em virtude de uma unidade de glicose se encontrar em posição distorcida. A γ -ciclodextrina, por ser uma molécula não-coplanar, de estrutura mais flexível, é a mais solúvel das três. Na Tabela 2, estão indicadas as solubilidades das ciclodextrinas naturais em água e em outros solventes orgânicos (SZEJTLI, 1994; LOFTSSON *et al.*, 2005b).

As ciclodextrinas apresentam estabilidade em meio alcalino, hidrolisam-se em meio fortemente ácido e são resistentes à degradação enzimática pela β -amilase, porém são susceptíveis ao ataque pela α -amilase. Podem formar hidratos estáveis e sua estabilidade é idêntica à do amido, podendo ser armazenada por anos sem sofrer degradação (SZEJTLI, 1994).

Tabela 2 – Solubilidade (g/100 mL) das ciclodextrinas naturais. Fonte: SZEJTLI, 1994; LOFTSSON *et al.*, 2005b.

Solvente	α -CD	β -CD	γ -CD.
Água (25 °C)	14,5	1,85	23,2
Éter etílico	insolúvel	insolúvel	insolúvel
Clorofórmio	insolúvel	insolúvel	insolúvel
Isopropanol	insolúvel	insolúvel	> 0,1
Acetona	insolúvel	insolúvel	> 0,1
Etanol	insolúvel	insolúvel	> 0,1
Metanol	insolúvel	insolúvel	> 0,1
Glicerina	insolúvel	4,3	—
Propilenoglicol	1	2	—
Dimetilsulfóxido	2	35	—
Piridina	7	37	—
Etilenoglicol	9	21	—
Dimetilformamida	54	32	—

2.3. Toxicidade

O perfil de segurança das ciclodextrinas naturais e alguns de seus derivados tem sido amplamente estudado, demonstrando, de uma maneira geral, a ausência de toxicidade, pois só conseguem atravessar as membranas biológicas lipofílicas com certa dificuldade (VALLE, 2004).

A administração oral das ciclodextrinas apresenta ausência de toxicidade devido à limitada absorção no trato gastrointestinal ou nas membranas biológicas lipofílicas. A administração parenteral da γ -ciclodextrina, 2-hidroxipropil- β -CD, sulfobutileter- β -CD, sulfato- β -CD e maltose- β -CD demonstram certa segurança. No entanto, alguns estudos demonstram que alguns derivados alquilados da α e β - ciclodextrinas não são indicadas ao uso por via parenteral, pois apresentam nefrotoxicidade e atividade hemolítica (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

2.4. Ciclodextrinas e seus derivados

As ciclodextrinas naturais (α -CD, β -CD e γ -CD) são as mais utilizadas pela indústria farmacêutica, embora apresentem baixa solubilidade em água e em solventes orgânicos e certa toxicidade quando utilizadas em preparações parenterais (VALLE, 2004).

A partir das ciclodextrinas naturais, é possível introduzir modificações químicas nos grupos hidroxílicos primários e secundários, por intermédio da ligação de diversos grupos funcionais, e assim melhorar a solubilidade, a toxicidade e aumentar a capacidade de inclusão de seus derivados. Podem ser obtidos pela substituição com grupos metil, etil, carboximetil, hidroxietil, hidroxipropil, sulfobutil, sacarídeos ou ainda pela polimerização das ciclodextrinas. Muitos derivados das ciclodextrinas naturais têm sido sintetizados e caracterizados, mas apenas alguns desses derivados são utilizados correntemente em estudos de novos excipientes farmacêuticos, entre estes, os derivados com substituintes metil, hidroxipropil e éter-sulfobutil. (MOSHER e THOMPSON, 2002; UEKAMA e IRIE, 2004; VEIGA *et al.*, 2006).

2.4.1. Derivados hidrofóbicos

2.4.1.1. Derivados metilados

As ciclodextrinas metiladas podem ser obtidas pela metilação seletiva de todos os grupos hidroxílicos secundários em C2 e de todos os hidroxílicos primários em C6, metilação de todos os grupos hidroxílicos, incluindo os existentes em C3 ou ainda aleatoriamente na posição C2, C3 ou C6 (IMAI *et al.*, 2004; VEIGA *et al.*, 2006).

Os derivados metilados apresentam alterações em suas propriedades físico-químicas e estruturais, quando comparados as CDs naturais (Tabela 3). A solubilidade em água e em solventes orgânicos é bastante superior, porém a hidrosolubilidade diminui com o aumento da temperatura (comportamento semelhante aos tensoativos não iônicos), limitando assim o uso dos derivados que tenham que ser submetidos ao calor. Apresentam estabilidade razoável em meio alcalino e sofrem hidrólise por ácidos fortes originando oligossacarídeos lineares. A DM β CD é a ciclodextrina metilada menos vulnerável à hidrólise ácida e a TMyCD mais susceptível, pela acentuada distorção na configuração do anel da ciclodextrina (UEKAMA e IRIE, 2004).

Tabela 3 – Propriedades físico-químicas das CDs e de seus derivados metilados. Fonte: DUCHÊNE E WOUESSIDJEWE, 1990a e b.

CD	Unid. glucose	Peso molecular	Diâmetro cavidade interna (Å)	Ponto fusão (°C)	Solubilidade aquosa 25 °C (g/100mL)	Teor em água	Tensão superficial (mN/m)
α -CD	6	973	5	275	15	10	71
Dimetil- α -CD	6	1141	5	260-264	----	----	65
Trimetil- α -CD	6	1225	3-6	205	20	<1	54
β -CD	7	1153	6	280	1,85	13	71
Dimetil- β -CD	7	1331	6	295-300	57	1	62
Trimetil- β -CD	7	1430	4-7	157	31	<1	56
γ -CD	8	1297	8	275	23	16	71
Dimetil- γ -CD	8	1521	8	255-260	----	----	60
Trimetil- γ -CD	8	1634	5-9	135	48	----	56

2.4.1.2. Derivados hidroxialquilados

Este grupo de derivados, é um dos mais utilizados na complexação de fármacos, onde pode-se citar a 2-hidroxietil- β -CD (2HE β CD), 2-hidroxipropil- β -CD (2HP β CD), 3-hidroxipropil- β -CD (3HP β CD) e 2,3-dihidroxipropil- β -CD (2,3-DHP β CD). A obtenção de ciclodextrinas hidroxiladas advindas da α -CD e γ -CD não apresentam vantagens significativas em relação aos derivados da β -CD (UEKAMA e OTAGARI, 1998).

A obtenção dos derivados hidroxialquilados não ocorre de forma seletiva e processa-se pela condensação dos agentes hidroxialquilantes (hidroxipropil e hidroxietil) em meio alcalino. O produto da reação de condensação é sempre uma mistura dos respectivos derivados com vários graus de substituição. Estas misturas não só impossibilitam a recristalização, como também promovem a transformação do fármaco no estado cristalino em amorfo (UEKAMA e OTAGARI, 1998; UEKAMA *et al.*, 2006).

O grau de substituição (S) expressa o número de grupos hidroxílicos substituídos de uma unidade de glicose, podendo ser de 1 a 3 e o grau de substituição médio (DS) expressa o número médio de hidroxílicos substituídos por unidade de glicose, que está compreendido entre 0 e 3. A substituição molar média (MS) expressa o número de grupos hidroxipropil por unidade de glicose (VEIGA *et al.*, 2006).

Os derivados hidroxialquilantes apresentam hidrosolubilidade elevada e menor higroscopicidade quando comparados à ciclodextrina de origem e, por esse motivo, na presença de elevada umidade (> 90%), dissolvem-se na água de adsorção. Apresentam tensão superficial idêntica à das ciclodextrinas naturais, porém, essa característica é alterada nos

derivados com graus de substituição elevados (UEKAMA e OTAGARI, 1998; UEKAMA *et al.*, 2006).

2.4.1.3. Derivados ramificados

A obtenção desta classe de ciclodextrina acontece por síntese química ou enzimática, onde a substituição dos grupos hidroxílicos primários ou secundários por mono ou dissacarídeos através de ligações α -(1,6), promove a formação das ciclodextrinas ramificadas, as quais apresentam elevada hidrossolubilidade e pureza química (VEIGA *et al.*, 2006).

Muito embora as propriedades físico-químicas das ciclodextrinas ramificadas apresentem algumas semelhanças com as naturais, como a tensão superficial e capacidade de complexação (Tabela 4), a solubilidade em água e até mesmo em soluções aquosas de etanol, metanol, acetona, formaldeído e etilenoglicol são superiores (DUCHÊNE E WOUESSIDJEWE, 1990b).

Tabela 4 – Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas (CD) e de seus derivados ramificados. Fonte: DUCHÊNE E WOUESSIDJEWE, 1990 a e b.

Molécula	Unidades glicose	Peso molecular	Solubilidade aquosa 25 °C (g/100 mL)	Tensão superficial (mN/m)
α -CD	6	973	18,0	71
Glicosil - α - CD	7	1135	89,0	----
β -CD	6	1135	18,5	71
Glicosil - β - CD	8	1297	97,0	71
Diglicosil - β - CD	9	1459	140	----
Maltosil - β - CD	9	1459	50	70
Dimaltosil - β - CD	11	1789	50	71
γ -CD	8	1297	23	71

2.4.2. Derivados hidrófobos

A principal utilização das ciclodextrinas e de seus derivados na área farmacêutica é, de fato, a melhoria da solubilidade e da velocidade de dissolução de fármacos pouco solúveis, por meio da obtenção de complexos de inclusão. No entanto, existem derivados das ciclodextrinas que agem de maneira contrária, cuja principal função é controlar a velocidade de dissolução de fármacos solúveis em água. Estes derivados estão representados pelas ciclodextrinas etiladas e aciladas.

2.4.2.1. Derivados etilados

A redução da solubilidade aquosa das ciclodextrinas ocorre quando grupos hidroxílicos das ciclodextrinas são substituídos por grupos alquil de tamanho superior ao metil, através de uma ligação éter ou éster, sendo esta proporcional ao grau de substituição e que aumenta em solventes polares, apresentando assim, características menos higroscópicas e menor tensão superficial (UEKAMA et al., 2006).

2.4.2.2. Derivados acilados

São obtidos por substituição de todos os grupos hidroxílicos da β -CD por diferentes cadeias alquílicas e apresentam solubilidade aquosa, ponto de fusão e velocidade de hidrólise alcalina diminuída com o aumento da respectiva cadeia alquílica. Em soluções concentradas dos derivados da β -CD em solventes orgânicos (etanol, acetona ou clorofórmio) ocorre aumento de viscosidade do mesmo pelo processo de geleificação após evaporação do solvente. Ao contrário dos derivados etilados da β -CD, são facilmente eliminados do organismo, após hidrólise alcalina, com obtenção da ciclodextrina original (β -CD), fato importante em caso de administração

entérica, uma vez que esta ciclodextrina não promove toxicidade por esta via de administração (MOSHER e THOMPSON, 2002).

2.4.3. Derivados ionizáveis

A substituição dos grupos hidroxílicos das ciclodextrinas por grupos ionizáveis confere a este tipo de derivados, comportamento hidrófilo e uma capacidade de complexação dependente do pH, ou seja, em meio ácido a solubilidade é baixa e em meio neutro ou alcalino torna-se maior. A característica pH dependente deve-se à ionização dos grupos carboxílicos que apresentam pKa em torno de 3,5 (MA *et al.*, 2000).

A SBE β CD é uma CD poli-aniônica formada por substituição dos grupos hidroxílicos 2, 3 e 6 das unidades de glicose da β CD por substituintes sulfobutil-éter que encontram-se totalmente ionizados em uma ampla faixa de pH e proporcionam uma cabeça polar carregada negativamente, associada a uma cauda hidrofóbica ligada à cavidade interna da CD. Possui estrutura peculiar, onde grupos substituintes exercem repulsão eletrostática mútua, estando estes na origem de um posicionamento favorável à entrada da cavidade da ciclodextrina. Com isso, aumento de seu caráter hidrofóbico e de sua capacidade de complexação, fato que promove vasta aplicação farmacêutica. Outra característica relevante está no fato da carga da molécula de ciclodextrina estar localizada em posição mais afastada possível da cavidade hidrofóbica, intensificando sua capacidade solubilizante (ZIA *et al.*, 2001).

3. FORMAÇÃO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO

A estrutura tronco-cônico das ciclodextrinas, abertas de ambas as extremidades, permite a inclusão de uma enorme variedade de moléculas

orgânicas (fármacos apolares) em sua cavidade central. Da associação das moléculas hospedeiras (ciclodextrinas) com moléculas encapsuladas resultam complexos hóspede-hospedeiro, ou complexos fármaco-ciclodextrinas no caso da molécula hóspede ser um fármaco (SZEJTLI, 1998).

A formação do composto de inclusão é condicionada por fatores como estequiometria, tamanho e polaridade das moléculas hóspedes e compatibilidade geométrica, sendo esta última, a condição mínima requerida para formação do complexo (SZEJTLI, 1998).

A formação do complexo em solução aquosa acontece, pela ocupação da cavidade apolar das ciclodextrinas por moléculas de água, as quais se encontram em um ambiente energeticamente desconfortável, pela natureza da interação polar-apolar. Assim, a complexação, ocorre por meio de um processo em que as moléculas de água, localizadas na cavidade central, são substituídas por uma molécula hóspede ou por grupos lipófilos dessas moléculas que apresentem polaridade, tamanho e forma compatíveis com estrutura da ciclodextrina (Figura 4). Esse processo é energeticamente favorável e contribui para o aumento da estabilidade do complexo, já que promove alteração da entalpia, aumento de entropia e redução da energia total do sistema (SAENGER, 1980; SZEJTLI, 1998; VEIGA *et al.*, 2006).

Figura 4 – Representação esquemática da formação dos complexos. Fonte: SZEJTLI, 1988; VEIGA *et al.*, 2006.

Outras forças estão envolvidas na formação e estabilização dos complexos de inclusão, tais como: interações de Van der Waals (ligações dipolo-dipolo e forças de dispersão London), pontes de hidrogênio (entre a molécula hóspede e os grupos hidroxílicos das CDs), interações hidrofóbicas, liberação da energia de deformação do anel macromolecular das CDs e efeitos estéricos (SAENGER, 1980; BEKERS *et al.*, 1991; SZEJTLI, 1998; BIBBY *et al.*, 2000).

Os complexos formados apresentam hidrossolubilidade mais elevada que os princípios ativos neles contidos, maior estabilidade quando em solução e dissociam-se facilmente liberando a molécula do fármaco (LOFTTSON *et al.*, 2005a e b).

A obtenção dos complexos com ciclodextrinas, podem ocorrer nas fases líquida, semi-sólida ou sólida. Na fase líquida são citados os métodos de co-precipitação, co-evaporação, neutralização, liofilização e secagem por pulverização, na fase sólida, a moagem e fluídos super-críticos e na fase semi-sólida a malaxagem (VALLE, 2004).

Os complexos fármaco-ciclodextrina possuem uma cinética de formação e dissociação em solução extremamente rápida e dinâmica, estando continuamente formando-se e dissociando-se através de ligações covalentes. A dissociação dos complexos é expressa quantitativamente pela constante de dissociação (K_c), onde [fármaco - CD], [fármaco] e [CD], são respectivamente as concentrações do fármaco complexado, fármaco livre e CD livre. Essa constante de dissociação pode variar de 0 a 10^5 , onde 0 indica a incapacidade do fármaco em formar complexo com a ciclodextrina e 10^5 indica o limite superior em complexos fármaco-CD (TOMPSON, 1997; STELLA e RAJEWSKI, 1997; VEIGA *et al.*, 2006; LOFTSSON *et al.*, 2007).

$$K_c = \frac{[\text{fármaco} - \text{CD}]}{[\text{fármaco}] [\text{CD}]}$$

A cinética de dissociação será inversamente proporcional à força de ligação entre a ciclodextrina e o fármaco, isto é, quanto mais lenta a cinética de dissociação, mais forte será a força de ligação entre o fármaco e a ciclodextrina (K_c). Mesmo, nesta condição, considera-se que a velocidade de dissociação dos complexos é praticamente instantânea (LOFTSSON *et al.*, 2007).

Atualmente existem diversas técnicas para caracterização dos complexos de inclusão, onde destacam-se o método de lavagem com éter, difração de raios X, espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier, análise térmica e microscopia eletrônica de varredura (VEIGA *et al.*, 2006).

4. CICLODEXTRINAS NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Atualmente as aplicações das ciclodextrinas e de seus derivados estão presente nas mais diversas áreas e funções, podendo-se destacar suas aplicações na indústria farmacêutica, com o uso de suas propriedades complexantes, nas quais, alteram as características físico-químicas de fármacos com a baixa solubilidade em água bem como, alteração do perfil de dissolução. O primeiro produto farmacêutico utilizando ciclodextrinas em sua formulação foi a prostaglandina E2/ β CD na forma de comprimido sub-lingual, lançado no Japão (LOFTSSON *et al.*, 2005 b; LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

A utilização de ciclodextrinas com a finalidade de alterar propriedades de fármacos já é uma realidade na indústria farmacêutica, chegando a aproximadamente 40 produtos no mercado mundial, especialmente na Europa, Japão e EUA. A Tabela 5 apresenta alguns produtos farmacêuticos os quais são utilizados diversas ciclodextrinas.

Tabela 5 – Produtos farmacêuticos contendo ciclodextrinas (LOFTSSON *et al.* 2004; SZEJTLI 2004; LOFTSSON *et al.*, 2005 a e b; LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

FÁRMACO / CICLODEXTRINA (CD)	NOME COMERCIAL	FORMA FARMACÊUTICA	PAÍS
α-CD			
Alprostadil (PGE ₁)	Provastatin®, Rigidur®	Intra venosa solução	Japão, Europa, EUA
OP – 1206	Opalmon®	Comprimido	Japão
Cloridrato de cefotiam hexetil	Pansporin T®	Comprimido	Japão
β-CD			

Cloridrato de benexato	Ulgut®, Lonmiel®	Cápsula	Japão
Cefalosporina (ME 1207)	Meiact®	Comprimido	Japão
Clordiazepóxido	Transillium®	Comprimido	Argentina
Dexametasona	Glymesason®	Pomada	Japão
Cloridrato de difenidramina, Clorteofilina	Stada-Travel®	Comprimido sublingual	Europa
Iodo	Mena-Gargle®	Solução	Japão
Nicotina	Nicorette®, Nicogum®	Comprimido sub- lingual, goma de mascar	Europa
Nimesulida	Nimedex®	Comprimido	Europa
Nitroglicerina	Nitropen®	Comprimido sub- lingual	Japão
Omeprazol	Omebeta®	Comprimido	Europa
PGE ₂	Prostarmon E®	Comprimido sub- lingual	Japão
Piroxicam	Brexin®, Flofene®, Cilcadon®	Comprimido, supositório, líquido	Europa e Brasil
Ácido tirofênico	Surgamyl®	Comprimido	Europa
2-Hydroxipropil-β-CD			
Cisaprida	Prepulsid®	Supositório	Europa
Itraconazol	Sporanox®	Solução oral e intra muscular	Europa, EUA
Mitomycin	Mitozytrex®	Infusão intra venosa	Europa, EUA
Metil- β-CD			
Cloramfenicol	Clorocil®	Solução oftálmica	Europa
17β-estradiol	Aerodiol®	Spary nasal	Europa
Sulfobutileter β-CD			
Voriconazol	Vfend®	Solução endovenosa	Europa, EUA

Mesilato de ziprasidone	Geodon®, Zeldox®	Solução intra venosa	Europa, EUA
2-Hidroxipropil-γ-CD			
Diclofenaco de sódio	Voltaren®	Solução oftálmica	Europa
Tc-99 Teoboroxime	Cardiotec®	Solução intra venosa	EUA

5. CONCLUSÃO

O uso de novas tecnologias para melhoria da solubilidade de fármacos pouco solúveis é uma das principais aplicações das ciclodextrinas e de seus derivados, que possuem a habilidade de encapsular moléculas orgânicas no interior de sua cavidade, formando assim, o complexo de inclusão, que tem a propriedade de alterar as características físico-químicas de fármacos pouco solúveis. Dentre as principais alterações do fármaco, estão, aumento da solubilidade, estabilidade, perfil de dissolução e conseqüentemente a biodisponibilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECKERS, O.; UIJTENDAAL, E.V.; BEIJNEN, J.H.; UNDERBERG, W.J.M. Cyclodextrins in the pharmaceutical field. Drug Development and Industrial Pharmacy, v.17, n.11, p.1503-1549, 1991.

BIBBY, D.C.; DAVIES, N.M.; TUCKER, I.G. Mechanism by which cyclodextrins modify drug release from polymeric drug delivery systems. International Journal of Pharmaceutics, v.197, n.1, p.1-11, 2000.

BREWSTER, M.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. Advanced Drug Delivery Reviews, v.59, n.7, p.645-666, 2007.

DUCHÊNE, D.; WOUESSIDJEWE, D. Physicochemical characteristics and pharmaceutical uses of cyclodextrin derivatives – Part I. Pharmaceutical Technology, v.6, n.6, p.21-29, 1990 a.

DUCHÊNE, D.; WOUESSIDJEWE, D. Physicochemical characteristics and pharmaceutical uses of cyclodextrin derivatives - Part II. Pharmaceutical Technology, v.14, n.8, p.22-30, 1990 b.

EVARD, B.; CHIAP, P.; DE TULLIO, P.; GHALMI, F.; PIEL, G.; VAN HESS, T.; CROMMEN, J.; LOSSON, B.; DELATTRE, L. Oral bioavailability in sheep of albendazole from suspension and from a solution containing hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Journal of Controlled Release, v.85, n.1-3, p.45-50, 2002.

IMAI, T.; IRIE, T.; OTAGIRI, M.; UEKAMA, K.; YAMASAKI, M. Comparative study on inclusion complexation of antiinflammatory drugs flurbiprofen with β -cyclodextrin and methylated- β -cyclodextrin. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic, v.2, n.3-4, p.597-604, 2004.

LIPINSKI, C.A. Drug-like properties and the cause of poor solubility and poor permeability. Journal Pharmacology and Toxicology, v.44, n.4, p.235-249, 2000.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. Cyclodextrins as pharmaceutical excipients. Pharmaceutical Technology Europe, v.5, n.2, p.26-34, 1997.

LOFTSSON, T.; JARBO, P.; MASSON, T.; JAVINEN, T. Cyclodextrins in drug delivery. Expert Opinion on Drug Delivery, v.2, n.2, p.335-351, 2005 a.

LOFTSSON, T.; DUCHÊNE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v.329, n.1-2, p.1-11, 2007.

LOFTSSON, T.; MÁSSON, M.; BREWSTER, M.E. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.93, n.5, p.1091-1099, 2004.

LOFTTSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. *International Journal of Pharmaceutics* v.302, n.1-2, p.18-28, 2005 b.

LOFTTSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. The complexation efficiency. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v.57, n.1-4, p.545-552, 2007.

MA, D.Q.; RAJEWSKI, R.A.; VELDE, D.V.; STELLA, V.J. Comparative effects of (SBE)7m- β -CD and HP- β -CD on the stability of two anti-neoplastic agents, melphalan and carmustine. *Journal of Pharmaceutical Science*, v.89, n.2, p.275-287, 2000.

MOSHER, G.; THOMPSON, D. Complexation and cyclodextrins. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, v.19, 2002, cap.3, p.49-88. Disponível em: <http://books.google.com.br/books>
Acesso em: 01 maio 2008.

SAENGER, W. Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry. *Angewandte Chemie International Edition English*, v.19, n.5, p.344-362, 1980.

SAVOLAINEN, J.; JÄRVINEN, K.; TAIPALE, H.; JARHO, P.; LOFTSSON, T.; JÄRVINEN, T. Co-administration of a water-soluble polymer increases the usefulness of cyclodextrins in solid oral dosage forms. *Pharmaceutical Research*, v.15, n.11, p.1696-1710, 1998.

STELLA, V.J.; RAJEWSKI R. Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. *Pharmaceutical Research*, v.14, n.5, p.556-567, 1997.

SZEJTLI, J. Introduction and geral general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*, v.98, n.5, p.1743-1753, 1998.

SZEJTLI, J. Medicinal application of cyclodextrins. *Medical Care Research Review*, v.14, n.3, p.353-386, 1994.

SZEJTLI, J. Past, present and future of cyclodextrin research. *Pure and Applied Chemistry Review*, v.76, n.10, p.1825-1845, 2004.

THOMPSON, D.O. Cyclodextrins – Enabling excipients: Their present and future use in pharmaceuticals. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, v.14, n.1, p.1-104, 1997.

UEKAMA, K.; IRIE, T. New perspectives in cyclodextrin pharmaceutical applications cyclodextrins derivatives as new drugs carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, v.271, n.1-2, p.155-165, 2004.

UEKAMA, K.; OTAGARI, M. Cyclodextrins in drugs carrier systems. *Chemical Reviews*, v.98, n.5, p.2045-2076, 1998.

UEKAMA, K.; HIRAYAMA, F.; ARIMA, H. Recent aspects of cyclodextrin-based drug delivery systems. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v.56, n.1-2, p. 3-8, 2006.

VALLE, E.M.M.D. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, v.39, n.9, p.1033–1046, 2004.

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. **As ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica**. Ed. MinervaCoimbra, 1ª. Ed. 2006.

ZIA, V.; RAJEWSKI, R.A.; STELLA, V.J. Effect of cyclodextrin charge on complexation of neutral and charged substrates: Comparison of sulfobutylether- β -cyclodextrin to hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Pharmaceutical Research*, v.15, n.5, p.667-673, 2001.

Capítulo 2

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE SAQUINAVIR, β - CICLODEXTRINA E PVP

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi obter e caracterizar complexos ternários contendo saquinavir (SAQ), β -ciclodextrina (β CD) e polivinilpirrolidona (PVP), onde algumas condições como tempo de agitação na formação dos complexos (12, 24, 48 e 72 horas), proporção equimolar de fármaco e ciclodextrina (1:1, 1:2 e 1:4), solvente para solubilização do fármaco (água e metanol) e porcentagem de polímero hidrossolúvel (0,5, 1,0, 5,0 e 10,0%) foram avaliadas quanto à influência destas na solubilidade do SAQ. Para caracterização foram realizados ensaios de solubilidade, DCS, TGA e difração de raios-X. Os resultados indicaram que as melhores condições para a obtenção dos complexos são: tempo de agitação de 48 horas, proporção equimolar 1:2 e 1:4, água para dissolver o fármaco e 1,0% de polímero adicionado ao sistema. De acordo com as condições estabelecidas anteriormente, o fármaco apresentou ganho de solubilidade, sendo este fato atribuído à interação ocorrida entre os componentes dos sistemas (fármaco, ciclodextrina e polímero), que, quando utilizados em conjunto, parecem apresentar efeito sinérgico.

Palavras chave: saquinavir, β -ciclodextrina, PVP, complexos ternários.

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE SAQUINAVIR, β -CICLODEXTRINA E POLIVINILPIRROLIDONA

1. INTRODUÇÃO

O saquinavir (SAQ), representado na Figura 1, é um anti-retroviral de elevado peso molecular (766,96), baixa solubilidade em água e que apresenta biodisponibilidade oral incompleta (variando de 4 – 8%) e tempo de meia vida de 13 horas. Sua baixa biodisponibilidade é consequência da limitada absorção (chegando a 30% após alimentação) e ao metabolismo hepático de primeira passagem (AUNGST, 1999; AIDSMEDS, 2007). Assim, considerando-se sua baixa solubilidade e baixa permeabilidade, o SAQ está inserido na classe 4 do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (LINDENBERG *et al.*, 2004).

Figura 1 - Estrutura química do SAQ.

Uma boa alternativa para o aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis administrados por via oral é a obtenção de complexos de inclusão com ciclodextrinas (CDs). As aplicações das ciclodextrinas e de seus derivados incluem as mais diversas áreas e funções, como o aumento da solubilidade de

fármacos, melhora da estabilidade das moléculas hóspedes inclusas contra reações de hidrólise, oxidação e fotodegradação, aumento da biodisponibilidade do fármaco hóspede e correção de odor e sabor desagradáveis de fármacos. Suas aplicações envolvem desde o aumento da solubilidade até a redução da ação irritante para as mucosas gástrica e intestinal e prevenção de interações fármaco-fármaco (LOFTSSON *et al.*, 2005a; LOFTSSON *et al.*, 2005 b).

A formação dos complexos de inclusão deve-se à estrutura das CDs que comportam-se como cápsulas cilíndricas vazias, abertas em ambas extremidades, o que permite a inclusão de uma enorme variedade de moléculas orgânicas (fármacos apolares) em sua cavidade central. Da associação das moléculas hospedeiras (ciclodextrinas) com moléculas-hóspede, resultam complexos hóspede-hospedeiro ou complexos fármaco-ciclodextrina, no caso da molécula hóspede ser um fármaco (SZEJTLI, 1998; LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

Fatores como estequiometria, tamanho e polaridade da substância a ser encapsulada e compatibilidade geométrica entre as moléculas condicionam a formação do composto de inclusão, sendo este último, o fator preponderante para a formação dos complexos, uma vez que a molécula hóspede tem que penetrar e ajustar-se total ou parcialmente à cavidade apolar da ciclodextrina (SZEJTLI, 1998; LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007). Os complexos formados em geral apresentam hidrossolubilidade superior às substâncias ativas neles contidos, maior estabilidade em solução e dissociam-se facilmente liberando o ativo (LOFTSSON *et al.*, 2005a).

Um aspecto interessante na obtenção de complexos de fármacos poucos solúveis com ciclodextrinas é possibilidade de inclusão de polímeros hidrossolúveis ao sistema, originando os chamados complexos de inclusão ternários ou co-complexos que, em geral, costumam apresentar uma maior constante de estabilidade (K_c) e aumento da eficiência de complexação (CE),

quando comparados aos complexos formados apenas por fármaco e ciclodextrina (LOFTSSON *et al.*, 2007).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo obter e caracterizar sistemas ternários contendo saquinavir (SAQ), β -ciclodextrina (β CD) e povidona (PVP-K30), além de estabelecer algumas condições que se apresentam mais adequadas para elaboração de tais complexos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Amostra de saquinavir (SAQ) de grau farmacêutico foi cedida pela empresa Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA (São Paulo, SP, Brasil). Ciclodextrina (β CD) Cavamax W7 foi gentilmente cedida pela empresa ISP Technologies INC (Waterford, MI, EUA). Todos os solventes utilizados possuíam grau analítico.

2.2. Métodos

2.2.1. Preparação dos complexos

Um total de 11 sistemas contendo SAQ : β CD : PVP foram preparados pelo método de co-evaporação (SZEJTLI, 1998; SINISTERRA, *et al.* 1995). Proporções estequiométricas de SAQ e β CD (1:1, 1:2 e 1:4), adicionados de PVP-K30 nas proporções de 0,5, 1,0, 5,0 e 10,0% (p/p) foram pesados separadamente e dispersos em solvente adequado de acordo com o esquema descrito na Figura 2. As dispersões foram misturadas e submetidas a agitação em agitador magnético TE – 420 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) por períodos variados de tempo (12, 24, 48 e 72 horas), em velocidade constante. Decorrido o tempo estipulado, as amostras foram submetidas à rotaevaporação a 50°C em rotaevaporador TE 210 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), seguido de secagem em estufa com circulação de

ar (Fabbe-Primar Industrial LTDA., São Paulo, SP, Brasil) para retirada da umidade residual.

Figura 2 – Fluxograma da obtenção dos complexos de inclusão. Em destaque os complexos selecionados: complexo 1:2 (preparado utilizando água como solvente na dissolução do saquinavir e 1% de PVP) e 1:4 (preparado utilizando água como solvente na dissolução do saquinavir e 1% de PVP). 1 – proporções equimolares de SAQ:βCD no preparo dos complexos ternários; 2 – solventes utilizados para dissolução do saquinavir; 3 – proporção de povidona (PVP) nos complexos ternários.

2.2.2. Caracterização dos complexos

2.2.2.1. Solubilidade

Os estudos de solubilidade foram conduzidos utilizando-se o método do equilíbrio, em duplicata, empregando 10 mL de água purificada e acrescentado um excesso do fármaco ou do complexo. As soluções foram submetidas à agitação em incubadora orbital TE-420 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) por 72 horas em temperatura constante de 37°C. Após esse período as soluções foram filtradas em filtros Millex HV (HPDF) de 0,45 microns (Millipore, Carrigtwohill, Irlanda) e as alíquotas resultantes analisadas em espectrofotômetro UV Beckman Coulter - DU 640 no comprimento de onda de 238 nm.

2.2.2.2. DSC

As curvas DSC foram obtidas em equipamento de calorimetria exploratória diferencial TA 2920 (TA-Instruments®, New Castle, DE, EUA), empregando-se célula de alumínio selada contendo massa entre 2 a 3 mg, em atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL.min⁻¹) e razão de aquecimento de 2 °C.min⁻¹.

2.2.2.3. TGA

As curvas de termodecomposição foram obtidas em TGA 2950 (TA-Instruments®, New Castle, DE, EUA) por meio de célula termogravimétrica de platina, a uma velocidade de aquecimento de 20°C.min⁻¹, empregando-se atmosfera dinâmica de N₂ (100mL.min⁻¹). A massa das amostras variou entre 7 e 14 mg.

2.2.2.4. Difração de raios-x

Os difratogramas foram obtidos em equipamento X Ray Diffractometer Ultimo+ (Rigaku®, USA). O gerador de raios X utilizou um tubo com alvo de cobre 1,5418 Å monocromatizado e um detector de cintilação com potência de emissão de 40 KV e 30 mA (1,2 KW). As amostras foram fixadas com gel amorfo do tipo HIVAC-G Shin-Etsu e o passo angular para cada amostra foi de 0,05°, em um tempo de irradiação de 5 segundos, sob rotação de 30 rpm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, foram testados algumas condições para obtenção dos complexos SAQ:βCD:PVP, mais especificamente o tipo de solvente empregado para solubilização dos componentes do sistema, variação de tempo de agitação durante a preparação dos complexos, proporção fármaco-ciclodextrina (SAQ:βCD), concentração de polímero (PVP) , quantificando-se o impacto destas variáveis na solubilidade dos complexos, cujos resultados encontram-se nas Figuras 3 a 6.

Figura 3 – Solubilidade dos complexos ternários SAQ:βCD 1:1, adicionados de 1% de PVP com avaliação do tempo de agitação no preparo dos complexos.

Na preparação dos sistemas ternários, quando da avaliação do tempo de agitação, um pequeno efeito foi observado sobre a solubilidade dos sistemas. A solubilidade do SAQ obtida nas condições descritas no ensaio de solubilidade foi de 0,04 mg.mL⁻¹ (Figura 3), chegando a 0,10 mg.mL⁻¹ no caso do tempo de agitação de 48 horas. Para um fármaco de solubilidade tão baixa quanto o SAQ, esta diferença é bastante significativa e este tempo de agitação para o preparo dos complexos deve ser considerado para que se obtenha o máximo de eficiência de complexação possível.

Figura 4 – Solubilidade dos sistemas ternários SAQ:βCD (1:1, 1:2 e 1:4) adicionados de 1% de PVP.

Quando foi avaliada a proporção estequiométrica SAQ: βCD (Figura 4), verifica-se que as proporções 1:2 e 1:4 apresentam-se como as mais adequadas, resultando em valores de solubilidade superiores à proporção 1:1 e pelo fármaco não complexado. Considerando-se o elevado peso molecular do SAQ (766,96), é possível então, compreender porque é necessário uma maior quantidade de βCD para obtenção de valores mais elevados de solubilidade. A complexação ocorre normalmente nas proporções de 1:1 ou 1:2, porém quando uma molécula hóspede é longa, a inclusão poderá ocorrer em proporções diversas como: 1:3, 1:4, 2:3, etc (RIBEIRO *et al.*, 2003; PRALHAD e RAJENDRAKUMAR, 2004; LOFTSSON *et al.*, 2007).

Para uma molécula como SAQ (Figura 1), existem vários sítios nos quais a cavidade de ciclodextrina pode encaixar-se, e, assim, torná-la mais solúvel. É possível, então, imaginar que uma mesma molécula de SAQ pode receber facilmente duas outras de βCD. Entretanto, a inclusão de mais moléculas de βCD parece não representar um ganho proporcional de solubilidade.

Figura 5 – Resultado dos ensaios de solubilidade dos sistemas SAQ – β CD (1:1) acrescidos de PVP (0.5, 1, 5 e 10 %).

Com relação à influência da concentração de PVP na solubilidade dos complexos, verifica-se que valores mais elevados foram obtidos quando a concentração de 5% do polímero foi adicionada ao sistema SAQ: β CD como mostra a Figura 5. Porém, a concentração de 5% de PVP eleva consideravelmente o peso total do complexo e a diferença de solubilidade observada entre os sistemas adicionados 1 e 5% de polímero parece não representar grande vantagem, admitindo-se assim que a proporção de 1% é mais adequada.

Os polímeros hidrossolúveis quando empregados em baixas concentrações aumentam o efeito solubilizante, estabilizante e complexante das CDs na preparação dos complexos. Entretanto, concentrações elevadas de polímeros podem produzir um aumento da viscosidade do meio complexante e conseqüentemente redução do efeito solubilizante, o que é facilmente identificado

com a utilização de 10% de polímero, ou seja, a adição de PVP aos complexos, parece exercer um efeito positivo sobre a solubilidade do SAQ até 5%.

Quando são comparados os valores de solubilidade do SAQ e dos complexos ternários obtidos com o emprego de água ou metanol para solubilização ou dispersão do fármaco, os resultados apresentaram diferenças relevantes, uma vez que a solubilidade do fármaco é de $0,04 \text{ mg.mL}^{-1}$ e dos complexos de $0,10$ e $0,38 \text{ mg.mL}^{-1}$, quando fármaco é dissolvido em metanol e água, respectivamente. A presença de água na formação dos complexos de inclusão pelo método de co-evaporação, é essencial, pois a cavidade interna da ciclodextrina é ocupada por moléculas de água, que por sua vez é substituída pela molécula do fármaco. Porém é importante ressaltar, que se ocorrer grande aumento da quantidade de água, isto pode gerar uma diluição dos componentes do complexo, diminuindo o contato entre eles, dificultando assim, a formação do complexo (VALLE, 2004; VEIGA *et al.*, 2006).

No entanto, uma condição muito importante para que a complexação se processe de maneira mais adequada é a dissolução completa do fármaco em solvente adequado. Assim, foi aqui utilizado o solvente metanol, uma vez que o SAQ é totalmente solúvel neste. Entretanto, os resultados demonstram que ocorreu exatamente o contrário do esperado: obteve-se maior solubilidade do SAQ na forma complexada quando o fármaco foi dissolvido em água. Então é possível imaginar que o solvente metanol, neste caso, exerce efeito inibidor da complexação, visto que quando da utilização de água, a solubilidade apresentou resultados mais favoráveis ($0,38 \text{ mg/mL}^{-1}$).

As Figuras 6, 7, 8 e 9 mostram as curvas DSC do SAQ, β CD, PVP e sistemas ternários 1:1 com 1% de PVP quando o tempo de agitação foi avaliado. O SAQ apresenta ponto de fusão 155°C seguido de decomposição endotérmica a partir de 230°C , β CD em 135°C e PVP em 138°C , aproximadamente, sendo estes resultados característicos da fusão das substâncias (Tabela 2). Os

complexos apresentaram deslocamentos do pico característico do SAQ, podendo-se supor a formação do complexo.

Na Figura 6, em que é mostrada a variação de tempo de agitação, o complexo obtido com agitação de 48 horas apresenta apenas um pico, enquanto os outros apresentam dois, podendo indicar uma maior eficiência na formação do complexo, reforçando os resultados obtidos no ensaio de solubilidade (Figura 3).

Figura 6 - Curvas DSC do SAQ e sistemas ternários SAQ:βCD:PVP, obtidas sob atmosfera de N₂, (10mL.min⁻¹) com razão de aquecimento de 2 °C.min⁻¹, quando o tempo de agitação (12, 24, 48 e 72 horas) durante o preparo dos sistemas foi avaliado.

Tabela 2 – Dados termodinâmicos obtidos a partir das curvas termoanalíticas do SAQ e dos complexos de inclusão (tempo de agitação: 12, 24, 48 e 72 horas).

Complexo	T onset (°C)	Ponto de fusão (°C)
SAQ	142,74	155,67
β CD	120,98	135,35
PVP	113,98	138,15
12 hs	88,04 e 128,00	105,79 e 137,52
24 hs	81,99 e 127,08	106,26 e 134,35
48 hs	131,56	139,00
72 hs	100,72 e 126,96	105,86 e 132,44

A Figura 7 mostra as curvas DSC do SAQ e sistemas ternários 1:2 e 1:4. Comportamento térmico semelhante pode ser observado para ambos os sistemas (Tabela 3), com deslocamento do evento endotérmico de fusão do fármaco e da ciclodextrina. No complexo 1:4, além do deslocamento do pico da β CD, ocorre o desaparecimento do pico do SAQ, o que indica a formação do complexo.

Figura 7 – Curvas DSC do SAQ e sistemas ternários SAQ:βCD:PVP, obtidas sob atmosfera de N₂, 10mL.min⁻¹ com razão de aquecimento de 2 °C.min⁻¹, quando a proporção estequiométrica SAQ:βCD (1:2 e 1:4) foi avaliada.

Tabela 3 – Dados termodinâmicos obtidos a partir das curvas termoanalíticas do SAQ e dos complexos de inclusão na proporção estequiométrica 1:2 e 1:4 de fármaco e βCD.

Complexo	T onset (°C)	Ponto de fusão (°C)
SAQ	142,74	155,67
1:2	100,83 e 125,60	105,80 e 131,51
1:4	104,11	118,52

A Figura 8 representa as curvas DSC do SAQ, βCD, PVP e sistemas ternários SAQ:βCD:PVP quando a concentração do polímero foi avaliada, demonstrando um deslocamento dos eventos endotérmicos referentes à fusão da βCD e SAQ respectivamente, para valores mais baixos (Tabela 4). O sistema no qual foi acrescido 1% de PVP, apresenta apenas um pico, demonstrando assim, junto com o ensaio de solubilidade, a maior eficiência de complexação.

A Figura 9 apresenta as curvas DSC do SAQ, βCD, PVP, e sistemas ternários SAQ:βCD:PVP quando o solvente para solubilização do fármaco foi avaliado. Observa-se diminuição e deslocamento dos picos nos dois complexos (Tabela 5). Utilizando-se o metanol como solvente na solubilização do SAQ, a curva DSC apresenta os picos característicos dos componentes do sistema (SAQ e βCD), porém quando da utilização da água, observa-se o desaparecimento dos picos endotérmicos do fármaco, sugerindo a formação do complexo.

Figura 8 – Curvas DSC do SAQ e sistemas ternários, obtidas sob atmosfera de N₂, (10mL.min⁻¹) com razão de aquecimento de 2 °C.min⁻¹, quando foi avaliada a proporção de PVP (0,5, 1, 5 e 10%).

Tabela 4 – Dados termodinâmicos obtidos a partir das curvas termoanalíticas do SAQ e dos complexos de inclusão com variação da concentração de PVP-K30 (0,5, 1, 5 e 10%).

Complexo	T onset (°C)	Ponto de fusão (°C)
SAQ	142,74	155,67
0,5 %	72,18 e 123,57	91,96 e 130,63
1,0 %	105,66 e 132,37	105,27 e 149,69
5,0 %	76,68 e 124,96	98,02 e 133,59
10 %	80,60 e 125,07	100,11 e 133,37

Figura 9 - Curvas DSC do SAQ e sistemas ternários, obtidas sob atmosfera de N_2 , ($10\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$) com razão de aquecimento de $2\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, quando o solvente de solubilização do fármaco foi avaliado (água e metanol).

Tabela 5 – Dados termodinâmicos obtidos a partir das curvas termoanalíticas do SAQ e dos complexos de inclusão com a utilização de solventes diferentes para solubilização do fármaco.

Complexo	T onset ($^\circ\text{C}$)	Ponto de fusão ($^\circ\text{C}$)
SAQ	142,74	155,67
Metanol	105,66 e 132,37	98,02 e 133,59
Água	90,50 e 124,47	104,99 e 151,60

Baseando-se nos ensaios de solubilidade e curvas DSC, foram preparados dois novos sistemas ternários empregando proporção SAQ: β CD de 1:2 e 1:4 com solubilização do fármaco em água, adição de 1% de PVP-K30 e agitação por 48 horas, uma vez que o conjunto destas condições foram aquelas que apresentaram maior impacto sobre os resultados de solubilidade. Assim foi possível avaliar a sinergia entre estas condições.

Figura 10 - Solubilidade do SAQ e sistemas SAQ: β CD nas proporções estequiométricas 1:2 e 1:4, acrescidos de 1% de PVP-K30.

A Figura 10 mostra os resultados obtidos para o ensaio de solubilidade para o SAQ e sistemas ternários 1:2 e 1:4. Nas condições em que foram preparados, estes complexos apresentam aumento de solubilidade de 10,5 e 12,8 vezes, respectivamente, em relação ao SAQ não complexado. Tais resultados são bastante expressivos, uma vez que se considera satisfatório aumento de solubilidade em torno de 2-3 vezes quando da complexação de um fármaco com ciclodextrinas (SINHA *et al.*, 2005; FIGUEIRA *et al.*, 2007).

A Figura 11 mostra as curvas DSC referentes aos sistemas ternários, SAQ, β CD e PVP. O SAQ apresenta evento endotérmico em aproximadamente 150 °C e β CD em 135°C (Tabela 6). O sistema ternário 1:2 apresenta

deslocamento e diminuição brusca do pico relacionado ao fármaco, em aproximadamente 158°C, o que parece indicar que existe, ainda, uma pequena quantidade de fármaco livre no sistema. Porém, de acordo com os resultados de solubilidade comentados anteriormente, ocorreu um aumento significativo na solubilidade do fármaco (Figura 10). No sistema ternário 1:4, ocorre o desaparecimento do pico do SAQ, demonstrando apenas o pico da β CD, indicando a formação do complexo ternário SAQ: β CD:PVP na razão equimolar 1:4 acrescido de 1% de PVP, com o fármaco dissolvido em água e com tempo de agitação de 48 horas.

Figura 11 - Curvas DSC do SAQ, β CD, PVP e sistemas ternários (SAQ: β CD:PVP), de razão equimolar 1:2 e 1:4, acrescidos de 1% de PVP-K30, com tempo de agitação de 48 horas, obtidas sob atmosfera de N_2 , $10\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ com razão de aquecimento de $2^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Tabela 6 – Dados termodinâmicos obtidos a partir das curvas termoanalíticas do SAQ e dos sistemas ternários de proporção SAQ:βCD 1:2 e 1:4, solubilização do fármaco em água, com adição de 1% de PVP-K30 e agitação por 48 horas.

Composto	T onset (°C)	Ponto de fusão (°C)
SAQ	142,74	155,67
βCD	120,98	135,35
Sistema ternário 1:2	139,06	158,95
Sistema ternário 1:4	----	----

Assim, o que se verifica é que a proporção SAQ:βCD de 1:4 é capaz de complexar praticamente todo o SAQ existente, alcançando-se uma solubilidade de 0,51 mg.mL⁻¹. Entretanto, é preciso considerar que esta quantidade de ciclodextrina é relativamente elevada e que o ganho de solubilidade neste caso pode não ser tão compensador, sobretudo se forem avaliados os custos da βCD e o volume final do complexo obtido. Neste caso, a proporção 1:2 pode ser mais vantajosa.

Ainda na Figura 11, a curva DSC do sistema SAQ:βCD 1:2 (+ 1% PVP) mostrou um evento endotérmico em 158,95 °C, compatível com o evento endotérmico de fusão do SAQ (155,67 °C). Para o sistema SAQ:βCD 1:4 (+1% PVP) registra-se um evento endotérmico em 105,85 °C, que pode ser atribuído à fusão da βCD, indicando, assim a formação dos complexos de inclusão ternários.

Na Figura 12 estão as curvas de termodecomposição do SAQ, βCD, PVP e sistemas ternários 1:2 e 1:4. A Tabela 7 apresenta os valores de perda de água e perda de massa do fármaco e dos complexos de inclusão, onde o fármaco apresenta perda de massa de 98,86% em aproximadamente 300°C. Os complexos de inclusão apresentaram valores menores, passando a 76,37 e 73,82%, nos complexos ternários 1:2 e 1:4, respectivamente. A alteração dos valores apresentados anteriormente, indicam a formação de complexos mais estáveis entre o SAQ e a βCD. É interessante notar que as temperaturas nas quais os complexos sofrem termodecomposição são mais próximas daquela onde

a β -CD se degrada e mais afastadas em relação ao SAQ ou, em outras palavras, a complexação do fármaco parece aumentar, ligeiramente, a estabilidade térmica deste.

A TGA mostra, ainda, que os complexos de inclusão (SAQ: β CD:PVP) 1:2 e 1:4, continham menos água na escala de 30 a 150°C. A água está presente na cavidade da molécula de ciclodextrina para estabilizar a estrutura do anel. No entanto, a diminuição da quantidade de água dos complexos, pode ser resultado da ocupação do fármaco na posição de algumas moléculas de água que estavam na cavidade da CD.

Figura 12 – Curvas TG para SAQ, β CD e sistemas ternários (ST), obtidos a partir da proporção SAQ: β CD 1:2 e 1:4, solubilização do fármaco em água, com adição de 1% de PVP-K30 e agitação por 48 horas, obtidas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (100mL. min⁻¹) e razão de aquecimento de 20°C/ min⁻¹.

Tabela 7 - Dados de termodecomposição obtidos a partir das curvas TGA do SAQ e dos sistemas ternários de proporção SAQ:βCD 1:2 e 1:4, solubilização do fármaco em água, com adição de 1% de PVP-K30 e agitação por 48 horas.

Composto	Perda de água % - (°C)	Perda de massa % - (°C)
SAQ	----	98,86 (301,28)
βCD	13,36 (53,72)	78,94 (333,04)
Complexo 1:2	10,67 (60,14)	76,37 (332,09)
Complexo 1:4	12,09 (60,68)	73,82 (338,38)

A Figura 13 mostra os resultados obtidos de difração de raios-X do SAQ, βCD, PVP-K30 e dos sistemas ternários 1:2 e 1:4. O difratograma do SAQ apresenta picos em 5,08, 8,05, 9,21, 14,68, 15,93, 17,95° (2θ) característicos de substância cristalina. A βCD apresenta picos relevantes em 7,31, 10,38, 12,38, 17,91, 14,58, 21,83 e 22,83° (2θ), enquanto o PVP revela-se amorfo.

Figura 13 – Difração do pó por raios-X do SAQ, β CD, PVP-K30 e sistema ternário obtidos para proporção SAQ: β CD 1:2 e 1:4, solubilização do fármaco em água, com adição de 1% de PVP-K30 e agitação por 48 horas.

A difração de raios-X demonstra que ocorreu formação dos complexos através da interação molecular, pela diminuição ou até mesmo pelo desaparecimento dos picos característicos do SAQ. A formação do complexo fármaco, CD e polímero (SAQ: β CD:PVP-K30) pode ser observada no difratograma, com o desaparecimento total dos picos do SAQ, ou ainda parcialmente, com diminuição de alguns picos referentes ao fármaco.

Assim, por meio das análises solubilidade, DSC e difração de raios X, sugere-se a formação de complexos ternários SAQ:βCD:PVP de razão equimolar 1:2 e 1:4, com aumento da solubilidade do SAQ. O aumento na solubilidade do SAQ pode ser atribuído à interação ocorrida entre componentes dos sistemas (fármaco, ciclodextrina e povidona), que, quando utilizados em conjunto, parecem apresentar efeito sinérgico.

4. CONCLUSÃO

Os resultados aqui obtidos indicam a formação de complexos de inclusão ternários entre a βCD, SAQ e PVP, com elevação considerável da solubilidade do SAQ, o que pode resultar em importantes modificações nas propriedades físico-químicas e biológicas do fármaco. Os resultados demonstram, ainda, que as melhores condições para obtenção de tais complexos são: agitação de 48 horas, proporção estequiométrica 1:4, proporção p/p 1% de PVP e água como solvente para dispersão do fármaco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUNGST, B. J. P-glycoprotein, secretory transport, and other barriers to the oral delivery of anti-HIV drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.39, n.1-3, p.105-116, 1999.

AIDSMEDS. Drugs for HIV & AIDS. Disponível em: <http://www.aidsmeds.com/List.htm>. Acesso em: 22 set. 2007.

FIGUEIRAS, A.; CARVALHO, R.A.; RIBEIRO, L.; TORRES-LABANDEIRA, J.J.; VEIGA, F.J.B. Solid-state characterization and dissolution profiles of the inclusion complexes of omeprazole with native and chemically modified β-cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.67, n.2, p.531-539, 2007.

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, n.2, p.265-278, 2004.

LOFTSSON, T.; JARBO, P.; MASSON, T.; JAVINEN, T. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, v.2, n.2, p.335-351, 2005a.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v.302, n.1-2, p.18-28, 2005b.

LOFTSSON, T.; DUCHÊNE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v.329, n.1-2, p.1-11, 2007.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. The complexation efficiency. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v.57, n.1-4, p.545-552, 2007.

PRALHAD, T.; RAJENDRAKUMAR, K. Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.34, n.2, p.333-339, 2004.

RIBEIRO, L.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Physicochemical investigations on the effects of water-soluble polymers on vinpocetine complexation with β -cyclodextrin and its sulfobutyl ether derivative in solution and solid state. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.20, n.3, p.253-266, 2003.

SINHA, V.R.; ANITHA, R.; GHOSH, S.; NANDA, A.; KUMRIA, R. Complexation of celecoxib with β -cyclodextrin: characterization of the interaction in solution and solid state. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.94, n.3, p.676-687, 2005

SZEJTLI, J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*, v.98, n.5, p.1743-1753, 1998.

VALLE, E.M.M.D. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, v.39, n.9, p.1033–1046, 2004.

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. **As ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica**. 1.ed. Coimbra: MinervaCoimbra, 2006, 67-69.

Capítulo 3

INFLUÊNCIA DA LIOFILIZAÇÃO NA SOLUBILIDADE DO SAQUINAVIR A PARTIR DE COMPLEXOS TERNÁRIOS

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi obter e caracterizar complexos ternários SAQ:βCD:PVP, comparando a influência dos métodos de secagem em estufa e liofilização sobre a solubilidade do saquinavir. Os complexos foram obtidos em proporções estequiométricas 1:2 e 1:4, utilizando-se secagem em estufa e liofilização para secagem dos complexos. Para caracterização dos complexos foram realizados ensaios de solubilidade, DSC, TGA e difração de raios-X. Os resultados demonstraram aumento bastante significativo na solubilidade do fármaco (cerca de 44 vezes) quando este foi complexado com β-ciclodextrina e polivinilpirolidona, utilizando a liofilização como método de secagem dos complexos.

Palavras chave: saquinavir, β-ciclodextrina, PVP, complexos ternários, liofilização.

INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE SECAGEM NA OBTENÇÃO DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE SAQUINAVIR

1. INTRODUÇÃO

O saquinavir (SAQ) é um anti-retroviral (Figura 1), de elevado peso molecular (766,96), inibidor da protease HIV-1 e HIV-2, usado no tratamento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS/SIDA) que apresenta baixa solubilidade com biodisponibilidade absoluta de apenas 4 - 8%. Assim, a administração do SAQ por via oral constitui-se em um grande desafio, sendo que boa parte da dose ingerida não é aproveitada pelo organismo (NOBLE e FAUDS, 1996; BEACH, 1998; GURSOY e BENITA, 2004).

Figura 1 - Estrutura química do SAQ

Fármacos com baixa solubilidade em água e, conseqüentemente, com baixa absorção, apresentam maiores problemas de biodisponibilidade, se comparados aos fármacos de maior solubilidade, devendo-se assim, reservar

especial atenção quando da formulação de tais compostos (MERISKO-LIVERSIDGE *et al.*, 2003).

Assim, o uso de ciclodextrinas para melhoria da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água é uma opção bastante viável devido às suas características químicas e seu formato de cone, que facilita a introdução do fármaco em seu interior, agindo, desta forma, como hospedeiro e modificando as propriedades físico-químicas do fármaco. A solubilidade do fármaco pode ser alterada através da formação de complexos de inclusão binários, constituídos por fármaco e ciclodextrina ou ainda sistemas ternários, fármaco, ciclodextrina e polímero hidrossolúvel (BIBBY, *et al.*, 2000; LOFTTSON *et al.*, 2005; VEIGA *et al.*, 2006).

Por outro lado, a liofilização é um processo empregado na secagem de substâncias extremamente sensíveis ao calor, onde é possível secar o material sem causar danos a produtos como proteínas, derivados do sangue e microorganismos. O processo é amplamente empregado na indústria farmacêutica com a finalidade de aumentar a estabilidade e a solubilidade (KARKI e TREEMANEEKARN, 2006).

O processo de liofilização de complexos de inclusão consiste na preparação de uma solução aquosa de ciclodextrina (CD) com o fármaco e o polímero (no caso dos sistemas ternários) em quantidades estequiométricas, onde a solução de fármaco-ciclodextrina-polímero é levada ao liofilizador para retirada da água. Ao final do processo, obtém-se um elevado rendimento, o que pode ser utilizado em escala industrial, conseguindo-se um composto amorfo (ESCLUSA-DÍAZ *et al.*, 1994; VEIGA *et al.*, 2006).

A obtenção de complexos de inclusão pelo método de secagem em estufa consiste no preparo de uma solução de ciclodextrina e fármaco em proporções

estequiométricas. Para tal, o fármaco é adicionado à solução aquosa de CD e a solução final é agitada e o solvente eliminado em estufa (VEIGA et al., 2006).

Assim, considerando-se a baixa solubilidade e biodisponibilidade do SAQ, bem como a capacidade apresentada pelos sistemas fármaco - ciclodextrina – polímero hidrossolúvel (complexos ternários), de melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis, especialmente quando obtidos pelo processo de liofilização, o presente trabalho tem por finalidade obter e caracterizar complexos ternários, comparando a influência dos métodos de secagem em estufa e liofilização sobre a solubilidade do SAQ.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Reagentes

Amostra do saquinavir (SAQ) de grau farmacêutico foi gentilmente cedida pela empresa Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA (São Paulo, SP, Brasil). A β -ciclodextrina (β CD) Cavamax W7 e a polivinilpirrolidona (PVP-K30) foi gentilmente cedida pela empresa ISP Technologies INC (Waterford, MI, EUA). Todos os demais produtos utilizados possuíam grau analítico.

2.2. Métodos

2.2.1. Preparação dos complexos ternários

Proporções estequiométricas (1:2 e 1:4) de saquinavir (SAQ) e β -ciclodextrina (β CD) foram pesadas e dissolvidas em água contendo 1% (p/p) de polímero hidrossolúvel (PVP-K30). As dispersões foram submetidas à agitação em agitador magnético por 48 horas com velocidade constante para alcançar o equilíbrio. O material assim obtido foi dividido em duas porções, sendo a primeira parte seca à temperatura de 50 °C em estufa de secagem com circulação forçada de ar (Fabbe-Primar Industrial LTDA., São Paulo, SP, Brasil) e o restante

submetido à liofilização em sistema de liofilização modelo SuperModulyo (Thermo Scientific Corporation, Milford, MA, EUA).

2.2.2. Caracterização dos complexos

2.2.2.1. Solubilidade

Os estudos de solubilidade foram conduzidos utilizando-se o método do equilíbrio, em duplicata, empregando-se 10 mL de água purificada e acrescentado um excesso do fármaco ou do complexo. As soluções foram submetidas à agitação em incubadora orbital TE-420 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) por 72 horas em temperatura constante de $\pm 37^{\circ}\text{C}$. Após esse período as soluções foram filtradas em filtros Millex HV (HPDF) de 0,45 microns (Millipore, Carrigtwohill, Irlanda) e as alíquotas resultantes analisadas em espectrofotômetro UV Beckman Coulter - DU 640 no comprimento de onda de 238 nm.

2.2.2.2. DSC

As curvas DSC foram obtidas em equipamento de calorimetria exploratória diferencial TA 2920 (TA-Instruments®, New Castle, DE, EUA), empregando-se célula de alumínio selada contendo massa entre 2 a 3 mg, em atmosfera dinâmica de nitrogênio ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$.

2.2.2.3. TGA

As curvas de termodecomposição foram obtidas em TGA 2950 (TA-Instruments®, New Castle, DE, EUA) por meio de célula termogravimétrica de platina, a uma velocidade de aquecimento de $20^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, empregando-se atmosfera dinâmica de N_2 ($100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$). A massa das amostras variou entre 7 e 14 mg.

2.2.2.4. DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Os difratogramas foram obtidos em equipamento Rigaku X Ray Diffractometer Ultima+ (USA). O gerador de raios X utilizou um tubo com alvo de cobre $1,5418 \text{ \AA}$ monocromatizado e um detector de cintilação com potência de

emissão de 40 KV e 30 mA (1,2 KW). As amostras foram fixadas com gel amorfo do tipo HIVAC-G Shin-Etsu Silicone e o passo angular para cada amostra foi de $0,05^\circ$, em um tempo de irradiação de 5 segundos, sob rotação de 30 rpm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 mostra os resultados de solubilidade do SAQ e dos complexos obtidos em função do método de preparo. Aumentos significativos na solubilidade de todos os sistemas ternários foram observados, porém os efeitos mais relevantes foram notados quando o processo de liofilização foi empregado. Tal fato pode ser atribuído ao efeito sinérgico do processo de liofilização sobre a formação dos complexos. A eficiente remoção da água do meio através da liofilização pode contribuir para maior eficiência na inclusão do fármaco no interior da ciclodextrina (VEIGA *et al.*, 2006; BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

Ainda na Figura 2, observa-se que a proporção equimolar de fármaco e ciclodextrina (1:2 e 1:4), não foi fator decisivo no aumento da solubilidade, de forma que diferenças entre os complexos obtidos pelo mesmo método de secagem (em estufa e liofilização 1:2 e 1:4), não são significativas, principalmente naqueles obtidos por liofilização (LIO), quando na proporção 1:2 e 1:4, apresentam valores de $1,74$ e $1,72 \text{ mg.mL}^{-1}$, respectivamente, o que corresponde a um aumento de até 44 vezes na solubilidade do fármaco. Os complexos obtidos por secagem em estufa 1:2 e 1:4 demonstram maiores diferenças, chegando a $0,42$ e $0,51 \text{ mg.mL}^{-1}$, respectivamente, com ganho de mais de 10 vezes na solubilidade. A explicação para o fato de que um aumento na concentração da CD tem maior impacto no caso dos complexos obtidos por secagem em estufa, pode está no fato de que na LIO a complexação foi mais completa. Assim, um excesso de CD nem sempre é proporcional ao aumento da solubilidade.

Figura 2 – Solubilidade do SAQ e dos sistemas ternários (SAQ:βCD:PVP) de razão equimolar 1:2 e 1:4, na presença de 1% de PVP e tempo de agitação de 48 horas, obtidos pelos processos de secagem em estufa (SE) e liofilização (LIO).

A Figura 3 apresenta as curvas DSC para SAQ, βCD, PVP e sistemas ternários secos em estufa e liofilizados. O SAQ revelou evento endotérmico em aproximadamente 150 °C referente ao processo de fusão do fármaco. A βCD apresentou pico largo em aproximadamente 90 °C. O polímero apresenta características de substância amorfa. As curvas DSC dos sistemas ternários obtidos por secagem em estufa e liofilização mostram comportamento térmico semelhante.

Os sistemas secos em estufa na proporção equimolar 1:2 e 1:4, apresentam diminuição ou desaparecimento do pico característico do fármaco. O sistema 1:2 apresenta diminuição brusca do pico referente ao fármaco, enquanto isso, no sistema 1:4, ocorre o desaparecimento do evento endotérmico do SAQ. O não desaparecimento do evento térmico do SAQ no sistema seco em estufa 1:2 indica que nem todo o fármaco foi complexado.

A existência de uma pequena quantidade de fármaco e ciclodextrina livre no sistema, pode estar relacionado com o elevado peso molecular deste, o que dificulta a total complexação do SAQ no interior da β -CD. As propriedades físico-químicas do fármaco e da ciclodextrina são fatores decisivos na formação do complexo, de forma que o fármaco deve ajustar-se totalmente ou parcialmente no interior hidrofóbico da cavidade da CD.

Nos sistemas liofilizados 1:2 e 1:4 houve o desaparecimento do pico referente ao SAQ, sugerindo a formação dos complexos de inclusão ternários SAQ: β CD:PVP. Com o desaparecimento do pico característico do fármaco, sugere-se que todo este está incluso na cavidade da CD, formando assim, um composto de inclusão mais estável. Contudo, no complexo liofilizado 1:4, ainda é presente o pico referente a ciclodextrina, indicando desta forma, que a proporção equimolar 1:4, é menos adequada uma vez que uma grande quantidade de ciclodextrina livre no sistema, dados estes reafirmados pelos ensaios de solubilidade, onde é observado que o aumento da quantidade de ciclodextrina no meio não proporciona aumento significativamente maior na solubilidade do fármaco.

Figura 3 - Curvas DSC do SAQ, β CD e PVP-K30, sistemas ternários secos em estufa (SE) e sistemas ternários liofilizados (LIO), obtidas sob atmosfera de N_2 (10mL/min) com razão de aquecimento de 2 °C/min em cadinho de alumínio.

Tabela 1 – Dados termodinâmicos obtidos a partir das curvas termoanalíticas do SAQ, complexos de inclusão obtidos por coevaporação (COE) e liofilização (LIO).

Composto	T onset (°C)	Ponto de fusão (°C)
SAQ	142.74	155.67
SE 1:2	139.06	158,95
SE 1:4	----	----
LIO 1:2	----	----
LIO 1:4	----	----

Na Figura 4, onde estão sobrepostas as curvas de termodecomposição dos componentes dos complexos (SAQ e β CD) e as curvas dos sistemas ternários 1:2 e 1:4 obtidos por SE e LIO. A Tabela 2 apresenta as quantidades de perda de água e de massa em suas respectivas temperaturas. O fármaco apresenta perda de massa de 98,86% em aproximadamente 300°C. Os resultados de todos os complexos de inclusão apresentaram valores menores, passando a 76,37% e 73,82%, nos complexos ternários obtidos por secagem em estufa 1:2 e 1:4, respectivamente, e 74,73% e 77,51%, nos complexos liofilizados 1:2 e 1:4, respectivamente. A alteração dos valores apresentados anteriormente indica a formação de complexos estáveis, com uma menor quantidade de água na escala de 30 a 150 °C, principalmente no complexo liofilizado 1:4. A água presente na cavidade da molécula de ciclodextrina estabiliza a estrutura do anel e a diminuição da quantidade de água dos complexos pode ser resultado da ocupação do fármaco na posição de algumas moléculas de água que estavam na cavidade da CD.

Tabela 2 - Dados da termodecomposição obtidos a partir das curvas TGA do SAQ, β CD e dos sistemas ternários de proporção SAQ: β CD 1:2 e 1:4, secos em estufa (SE 1:2 e 1:4) e liofilizados (LIO 1:2 e 1:4), solubilização do fármaco em água, com adição de 1% de PVP-K30 e agitação por 48 horas.

Composto	Perda de água % - (°C)	Perda de massa % - (°C)
SAQ	----	98,86 – 301,28
β CD	13,36 – 53,72	78,94 – 333,04
SE 1:2	10,67 – 60,14	76,37 – 332,09
SE 1:4	12,09 – 60,68	73,82 – 338,38
LIO 1:2	12,22 – 59,31	74,73 – 335,99
LIO 1:4	9,99 – 43,53	77,51 – 329,16

Figura 4 – Curvas termogravimétricas do SAQ, β CD e sistemas ternários obtidos por secagem em estufa (SE) e liofilização (LIO), sob atmosfera inerte de nitrogênio ($100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento de $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$.

A Figura 5 apresenta os difratogramas do SAQ, β CD, PVP e dos sistemas ternários com proporções estequiométricas (1:2 e 1:4) de SAQ e β CD contendo 1% de PVP-K30 obtidos por secagem em estufa e liofilização. O difratograma do SAQ apresenta uma série de picos em $5,08, 8,05, 9,21, 14,68, 15,93, 17,95^{\circ}$ (2θ) indicativos de substância cristalina. A β CD apresenta picos relevantes em $7,31, 10,38, 12,38, 17,91, 14,58, 21,83$ e $22,83^{\circ}$ (2θ), enquanto o PVP revela-se amorfo.

Figura 5 - Difração do pó por raios-X do SAQ, β CD, PVP e sistemas ternários (SAQ: β CD:PVP) obtidos por secagem em estufa (SE) e liofilização (LIO) em proporções estequiométrica 1:2 e 1:4.

Comparando-se os difratogramas dos sistemas ternários obtidos por SE e LIO, é possível identificar uma significativa amorfização do material no sistema LIO 1:2, ou seja, o complexo obtido por liofilização, utilizando-se uma proporção fármaco – ciclodextrina de 1:2. É importante ressaltar que este resultado é coerente com aqueles obtidos para os ensaios de solubilidade e DSC, onde se

verificou uma maior interação entre os componentes, por intermédio, respectivamente, da considerável melhoria na solubilidade e supressão dos picos relativos ao SAQ.

Do mesmo modo, em LIO 1:4, sistema no qual parece existir um excesso de CD, são observados, ainda, picos característicos deste componente. Nos complexos obtidos por secagem em estufa, tanto na proporção 1:2 e 1:4 de SAQ:βCD, os picos de ambos os componentes ainda são visíveis, indicando assim, uma quantidade de fármaco e ciclodextrina livres no sistema (BOUDAD *et al.*, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2003; VERTZONI *et al.*, 2006).

Os resultados das análises DSC e difração de raios-X revelam a produção de estado amorfo nos sistemas ternários, indicando a possível formação de complexos de inclusão, evidenciando assim, os resultados obtidos no ensaio de solubilidade, aumento em todos os complexos. A amorfização dos sistemas SAQ:βCD:PVP 1:2 e 1:4, obtidos por liofilização, pode ser uma consequência do processo de obtenção dos complexos ternários, porém não é possível determinar por meio da difração de raios-X se os sistemas liofilizados são complexos de inclusão ou mistura homogênea dos componentes que sofreram amorfização. Os resultados das análises de raios-X indicam que o fármaco não apresenta mais características de substância cristalina encontrando-se no estado amorfo, fato este observado em diversos fármacos lipofílicos liofilizados (REDENTI *et al.*, 1996; RIBEIRO *et al.*, 2003; PRALHAD *et al.*, 2004; FIGUEIRA *et al.*, 2007).

4. CONCLUSÃO

Os resultados aqui obtidos indicam que ocorreu um aumento bastante significativo na solubilidade do SAQ quando este foi complexado com βCD e que este aumento proporcionou uma solubilidade 44 vezes superior ao fármaco não complexado, quando o sistema foi obtido por liofilização, empregando-se uma

proporção SAQ:βCD de 1:2. Esta pode ser, portanto, uma excelente alternativa para melhoria da biodisponibilidade do SAQ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEACH, J. W. Chemotherapeutic agents for human immunodeficiency virus infection: mechanism of action, pharmacokinetics, metabolism, and adverse reactions. *Clinical Therapeutics*, v.20, n.1, p.2-25, 1998.

BIBBY, D. C.; DAVIS, N. M.; TUCKER, I. G. Mechanisms by which cyclodextrins modify drug release from polymeric drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, v.197, n.1-2, p.1-11, 2000.

BOUDAD, H.; LEGRAND, P.; LEBAS, G.; CHERON, M.; DUCHÊNE, D.; PONCHEL, G. Combined hydroxypropyl-β-cyclodextrin and poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles intended for oral administration of saquinavir. *International Journal of Pharmaceutics*, v.218, n.1-2, p.113-124, 2001.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced Drug delivery Reviews*, v.59, n.7, p.645-666, 2007.

ESCLUSA-DIAZ, M.T.; TORRES-LABANDEIRA, J.J.; KATA, M.; VILA-JATO, J.T. Inclusion complexation of glibenclamide with 2-hydroxypropyl-β – cyclodextrin in solution and in solid state. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.1, n.6, p.291-296, 1994.

FIGUEIRAS, A.; CARVALHO, R.A.; RIBEIRO, L.; TORRES-LABANDEIRA, J.J.; VEIGA, F.J.B. Solid-state characterization and dissolution profiles of the inclusion complexes of omeprazole with native and chemically modified β-cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.67, n.2, p.531-539, 2007.

GURSOY, R. N; BENITA, S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v.58, n.3, p.173-182, 2004.

KARKI, S. B.; TREEMANEEKARN, V. Design of an IV formulation of an unstable pro-drug candidate for prostate cancer treatment: solution chemistry of N-(glutaryl-hyp-ala-ser-cyclohexylglycylgln-ser-leu)-oxorubicin. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.32, n.3, p.327-334, 2006.

LOFTSSON, T.; JARBO, P.; MASSON, T; JAVINEN, T. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, v.2, n.2, p.335-351, 2005.

MERISKO-LIVERSIDGE, E.; LIVERSIDGE, G. G.; COOPER, E. R. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.18, n.2, p.113-120, 2003.

NOBLE, S.; FAUDS, D. Saquinavir: a review of its pharmacology and clinical potential in the management of HIV infection. *Drugs*, v.56, n.1, p.93-112, 1996.

PRALHAD, T.; RAJENDRAKUMAR, K. Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.34, n.2, p.333-339, 2004.

REDENTI, E.; PEVERI, T.; ZANOL, M.; VENTURA, P.; GNAPPI, G.; MONTENERO, A. A study on the differentiation between amorphous piroxicam:β-cyclodextrin complex and a mixture of the two amorphous components. *International Journal of Pharmaceutics*, v.129, n.1-2, p.289-294, 1996.

RIBEIRO, L. S. S.; FERREIRA, D. C.; VEIGA, F. J. B. Physicochemical investigation of the effects of water-soluble polymers on vinpocetine complexation

with beta-cyclodextrin and its sulfobutyl ether derivatives in solution and solid state. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v.20, n.3, p.253-266, 2003.

SZEJTLI, J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. Chemical Reviews, v.98, n.5, p.1743-1753, 1998.

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. **As ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica**. 1.ed. Coimbra: MinervaCoimbra, 2006, 67-69.

VERTZONI, M.; KARTEZINI, T.; REPPAS, C.; ARCHONTAKI, H.; VALSAMI, G. Solubilization and quantification of lycopene in aqueous media in the form of cyclodextrin binary systems. International Journal of Pharmaceutics, v.309, n.1-2, p.115-122, 2006.

Capítulo 4

PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS E COMPRIMIDOS DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE SAQUINAVIR, B-CICLODEXTRINA E POLIVINILPIRROLIDONA

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi comparar o perfil de dissolução de cápsulas de gelatina dura e comprimidos contendo sistemas ternários SAQ:βCD:PVP, obtidos pelos métodos de secagem em estufa e liofilização, e o produto referência (Fortovase®). Os ensaios de dissolução seguiram as condições de: aparato 2 (pá), em 900 mL de água (37 ± 5 °C) e velocidade de 50 rpm e o perfil de dissolução foi traçado em intervalos de tempo de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos. Os resultados da comparação entre os perfis de dissolução demonstram aumento significativo na quantidade de fármaco dissolvido para os sistemas ternários em relação ao medicamento de referência. Quando a forma farmacêutica – cápsula ou comprimido - foi comparada, as cápsulas de gelatina dura mostraram perfil de dissolução destacado.

Palavras chave: saquinavir, β-ciclodextrina, complexos ternários, perfil de dissolução.

PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS E COMPRIMIDOS DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE SAQUINAVIR, β -CICLODEXTRINA E POLIVINILPIRROLIDONA

1. INTRODUÇÃO

Fármacos poucos solúveis em água representam sempre um grande desafio quando do desenvolvimento de formulações que os contenham, uma vez que estes apresentam problemas de solubilidade e conseqüentemente biodisponibilidade. Diversas técnicas são disponíveis para aumentar as características de solubilidade e biodisponibilidade de fármacos. Dentre elas, a complexação com ciclodextrinas tem sido amplamente estudada (MINZI *et al.*, 2003; VEIGA *et al.*, 2006).

Ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos contendo seis (α -ciclodextrinas), sete (β -ciclodextrinas) ou oito (γ -ciclodextrinas) unidades de α -1,4-glucopirronose, contendo uma superfície externa hidrofílica e uma cavidade central hidrofóbica, que pode acomodar uma grande variedade de fármacos lipofílicos. Estes complexos têm mostrado aumentar a estabilidade, solubilidade, velocidade de dissolução e biodisponibilidade de muitos fármacos (LOFTSSON, 2002; VEIGA *et al.*, 2006; LOFTSSON e DUCHÊNE 2007).

O emprego das ciclodextrinas e de seus derivados, é descrito nas mais diversas áreas com a propósito de aumentar a solubilidade de fármacos, melhorar a estabilidade das moléculas hóspedes inclusas, corrigir odor e sabor desagradáveis, reduzir a ação irritante do fármaco na mucosa gastrintestinal e prevenir as interações fármaco-fármaco. Porém a propriedade mais relevante das ciclodextrinas está na sua habilidade de formar complexos de inclusão com substâncias orgânicas em solução ou no estado sólido, resultando em mudanças nas características físico-químicas da substância inclusa, promovendo, desta

forma, alterações na velocidade de dissolução do fármaco (LOFTSSON *et al.*, 2005; CASTRONUOVO *et al.*, 2006; LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

A eficiência de complexação das CDs pode ser aumentada por adição ao meio complexante de uma pequena quantidade de polímero hidrossolúvel, resultando na formação de um complexo multicomponente fármaco-CD-polímero, também designado por co-complexo. Este complexo, em geral, apresenta um notável aumento de solubilidade comparativamente ao correspondente complexo binário e ao fármaco livre (LOFTSSON *et al.*, 1994). Sendo assim, vários autores demonstraram a possibilidade dos polímeros formarem complexos com diversos fármacos aumentando a sua solubilidade (ACARTUR *et al.*, 1992; BETTINETTI e MURA, 1994; LOFTSSON, FRIKDRIKSDOTTIR e GUMUNDSDOTTIR, 1996).

O saquinavir (SAQ) é um antiretroviral inibidor da protease, utilizado no tratamento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Segundo a literatura pode ser classificado entre os fármacos de classe IV no Sistema de Classificação Biofarmacêutica, ou seja, apresenta baixa solubilidade e baixa permeabilidade (AUNGST, 1999; MERCK INDEX, 2001; LINDENBERG *et al.*, 2004; AIDSMEDS, 2007). Atualmente, o SAQ é disponibilizado na forma de mesilato em cápsula de gelatina dura (Invirase[®] 200 mg, F. Hoffmann-La Roche Ltd., Kaiseraugst, Suíça), comprimidos (Invirase[®] 500 mg, F. Hoffmann-La Roche Ltd., Kaiseraugst, Suíça), e mais recentemente, na forma farmacêutica de cápsula de gelatina mole contendo 200 mg do fármaco (Fortovase[®] 200 mg, F. Hoffmann-La Roche Ltd., Kaiseraugst, Suíça), ambos medicamentos de referência (BRASIL, 2008).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi comparar o perfil de dissolução de cápsulas de gelatina dura e comprimidos contendo sistemas ternários SAQ:βCD:PVP, obtidos a partir de dois diferentes métodos – secagem em estufa e liofilização - e o saquinavir em cápsula de gelatina mole - Fortovase[®] 200 mg.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Fortavase® 200 mg (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Kaiseraugst, Suíça), lote B4101; Ciclodextrina (β CD) Cavamax W7 e a Polivinilpirrolidona (PVP-K30) foram gentilmente cedidos pela empresa ISP Technologies INC (Waterford, MI, EUA). Saquinavir (SAQ), padrão secundário, foi gentilmente cedido pela Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA (São Paulo, SP, Brasil).

2.2. Métodos

2.2.1. Preparação dos complexos

Duas técnicas foram empregadas para obtenção dos sistemas – secagem em estufa e liofilização. Os sistemas ternários obtidos foram nomeados conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Composição dos sistemas ternários SAQ: β CD:PVP.

Amostra	Razão molar	Modo de preparo
A1	1:2	Secagem em estufa (SE)
A2	1:4	Liofilização (LIO)
A3	1:2	Secagem em estufa (SE)
A4	1:4	Liofilização (LIO)

2.2.2. Complexos ternários obtidos por secagem em estufa

Proporções estequiométricas (1:2 e 1:4) de saquinavir (SAQ) e β -ciclodextrina (β CD) foram pesadas e dissolvidas em água contendo 1% (p/p) de polímero hidrossolúvel (PVP-K30). As dispersões foram submetidas à agitação em agitador magnético por 48 horas com velocidade constante para alcançar o equilíbrio. O material assim obtido foi seco à temperatura de 50 °C em estufa de secagem com circulação forçada de ar (Fabbe-Primar Industrial LTDA., São Paulo, SP, Brasil).

2.2.3. Complexos ternários obtidos por liofilização

Proporções estequiométricas (1:2 e 1:4) de saquinavir (SAQ) e β -ciclodextrina (β CD) foram pesadas e dissolvidas em água contendo 1% (p/p) de polímero hidrossolúvel (PVP-K30). As dispersões foram submetidas à agitação em agitador magnético por 48 horas com velocidade constante para alcançar o equilíbrio. O material assim obtido foi submetido à liofilização em sistema de liofilização modelo SuperModulyo (Thermo Scientific Corporation, Milford, MA, EUA).

2.3. Preparo das cápsulas de gelatina dura e comprimidos

Formulações farmacêuticas contendo 200 mg de SAQ, em sistemas ternários (SAQ: β CD:PVP), obtidos por liofilização (LIO) ou secagem em estufa (SE), nas formas de comprimidos e cápsulas, foram preparadas em quantidade suficiente para obtenção de lote necessário para os ensaios.

Para a formulação dos comprimidos (CPR), 200 mg dos sistemas ternários SAQ: β CD:PVP foram pesadas, adicionadas de estearato de magnésio na proporção de 0,5%, misturados por 5 minutos e em seguida submetidas à compressão em prensa hidráulica *Americam Lab.*, sob pressão de 0,5 tonelada. Na formulação das cápsulas (CPS), os sistemas ternários SAQ: β CD:PVP foram pesados e acondicionados em cápsulas de gelatina dura nº 00.

2.4. Ensaio de dissolução

O ensaio de dissolução para os sistemas ternários SAQ:βCB:PVP seguiu as seguintes condições: aparato 2 (pá), em 900 mL de água (37 ± 5 °C) e velocidade de 50 rpm, empregando aparelho de dissolução Dissolution Tester modelo D800 Logan[®] Instruments, sendo as alíquotas obtidas quantificadas por espectroscopia na região no ultravioleta usando espectrofômetro Beckman Coulter[®] UV-VIS modelo DU 640, em cubeta de quartzo de 1 cm, sendo a absorbância monitorada em 248 nm. O perfil de dissolução das formas farmacêuticas foi traçado a partir da quantificação do fármaco nas cubas de dissolução, em intervalos de tempo pré-estabelecidos (5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos). Os valores obtidos foram corrigidos (Aronson, 1986), e expressos na forma de gráficos da porcentagem de fármaco dissolvido *versus* tempo. A metodologia empregada nos ensaios de dissolução das formas farmacêuticas - comprimidos e cápsulas - seguiu os critérios mencionados anteriormente, sendo as cápsulas dispostas em âncoras de aço inoxidável para evitar flutuação. A partir dos perfis de dissolução, foram, ainda, calculados os valores de eficiência de dissolução (ED₆₀).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dissolução de formas farmacêuticas sólidas é uma ferramenta bastante importante para avaliar a capacidade de determinada formulação de liberar o fármaco nela veiculado. Assim, os perfis de dissolução para o produto referência (Fortovase[®]) e para os sistemas ternários SAQ:βCD:PVP obtidos por secagem em estufa na forma de comprimidos, e ainda, os sistemas ternários obtidos liofilização na forma de cápsulas e comprimidos são apresentados na Figura1.

Quando são comparados os perfis de dissolução das cápsulas contendo complexos ternários (SAQ:βCD:PVP) obtidos por secagem em estufa em proporções molares SAQ:βCD 1:2 e 1:4, apresentaram perfis bastante distintos, onde os complexos com razão 1:4 demonstraram dissolução mais eficiente. Enquanto isso, nos complexos obtidos por liofilização, os perfis apresentaram

grande semelhança. Já nos perfis de comprimidos de complexos liofilizados 1:2 e 1:4, observa-se comportamento bastante semelhante, sugerindo assim, que a proporção de ciclodextrina parece não exercer efeito sob a quantidade de fármaco liberado.

Figura 1 – Perfis de dissolução em água para o medicamento referência e sistemas ternários SAQ:βCD:PVP na forma de cápsulas obtidos por ambos os métodos – secagem em estufa e liofilização - e comprimidos obtidos por liofilização.

Quando a forma farmacêutica – cápsula ou comprimido - foi comparada, as cápsulas de gelatina dura apresentaram perfil de dissolução destacado para ambos os processos empregados – secagem em estufa e liofilização. No entanto, nos comprimidos de complexos obtidos por liofilização, a liberação do fármaco foi mais lenta, chegando a valores de 8,2 e 8,5% de eficiência de dissolução nos complexos 1:2 e 1:4, respectivamente. A retenção na liberação do ativo nos comprimidos pode estar relacionada com a atividade exercida pela força de compressão, que gera uma ligação entre as partículas da forma farmacêutica de forma tal, que retém a liberação do fármaco. Este fato também foi observado nos valores de ED (Tabela 2, Figura 2).

Para cápsulas de gelatina dura com sistemas ternários liofilizados os valores médios de ED foram superiores àqueles obtidos por secagem em estufa, como demonstrado na Tabela 2. A eficiência de dissolução dos complexos liofilizados apresentou valores de 52,4 e 54,0%, para complexos de razão molar SAQ:βCD 1:2 e 1:4, respectivamente. Os complexos obtidos por secagem em estufa apresentaram eficiência de dissolução de 18,9 e 30,2% para complexos SAQ:βCD de razão molar 1:2 e 1:4, respectivamente. Segundo Figueira *et al.*, (2007) e Veiga *et al.* (1996), o método de preparo dos complexos de inclusão influencia na solubilidade e na velocidade de dissolução, por meio da formação do complexo de inclusão. No entanto, Aigner *et al.*, (2002) mostraram o aumento da solubilidade e velocidade de dissolução do tenoxicam em sistemas binários e ternários usando dimetil-β-ciclodextrina (DIMEB) e γ-ciclodextrina, porém o método de preparação não exerceu influência significativa na quantidade de fármaco dissolvido.

Tabela 2 – Valores médios de eficiência de dissolução (ED) obtidos para o medicamento de referência e para sistemas ternários SAQ:βCD:PVP na forma de cápsulas (CPS) obtidos por ambos os métodos – secagem em estufa (SE) e liofilização (LIO) - e comprimidos (CPR) obtidos por liofilização (LIO).

Amostra	ED±CV, %
CPS LIO 1:2	52,4±1,2
CPS LIO 1:4	54,0±1,5
CPS SE 1:2	18,9±0,9
CPS SE 1:4	30,2±1,3
CPR LIO 1:2	8,2±0,5
CPR LIO 1:4	8,5±0,7
Referência	1,7±0,4

* n = 3

Figura 2 – Representação gráfica dos valores de eficiência de dissolução (%ED) obtidos para o medicamento de referência e sistemas ternários SAQ:βCD:PVP na forma de cápsulas obtidos por ambos os métodos – secagem em estufa e liofilização - e comprimidos obtidos por liofilização.

A presença da βCD e do PVP nas formas farmacêuticas, promove a molhabilidade do fármaco, gerando assim, mudanças na solubilidade e velocidade de dissolução. Sinha *et al.*, (2005), comenta que o aumento da dissolução em complexos de inclusão pode ser justificado pela propriedades das ciclodextrinas, de reduzir a tensão interfacial entre as partículas do fármaco e o meio de dissolução. A utilização de pequenas quantidades de polímeros hidrossolúveis em complexos de inclusão fármaco:ciclodextrina, são descritos em trabalhos recentes, com o finalidade de aumentar a capacidade solubilizante das CDs e

conseqüentemente, a quantidade de fármaco dissolvido (MURA *et al.*, 2001; VALERO *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2003; PARTIKA *et al.*, 2001). Loftsson *et al.* (1994) observaram o aumento significativo (em torno de 1,7 vezes) da solubilidade de vários fármacos pela adição de pequenas quantidades (0,25%) de PVP, CMC ou HPMC. Mura *et al.* (2001) observaram aumento da quantidade dissolvida (%) do naproxeno na forma de complexo ternário naproxeno – hidroxipropil- β -ciclodextrina - PVP.

4. CONCLUSÃO

Os resultados aqui obtidos, indicam que as cápsulas de gelatina dura contendo complexos ternários de SAQ: β CD:PVP liberam mais prontamente o fármaco que os comprimidos dos complexos, indicando assim, que as cápsulas possuem perfil de dissolução destacado quando comparado os perfis dos comprimidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACARTURK, F., KISLAL, O. e CELEBI, N. The effect of some natural polymers on the solubility and dissolution characteristics of nifedipine. *International Journal of Pharmaceutics*, v.85, n.1-3, p.1-6. 1992.

AIDSMEDS. Drugs for HIV & AIDS. Disponível em: <http://www.aidsmeds.com/List.htm>. Acesso em: 22 set. 2007.

AIGNER, Z.; KÉZSMÁRKI, A.; KATA, M.; NOVÁK, C. and ERÖS, I. Investigation of tenoxicam and γ -cyclodextrin binary and ternary complexes. *Journal of Inclusion Phenomenon and. Macrocyclic Chemistry*, v.42, n.3-4, p.227-23, 2002.

AUNGST, B.J. P-glycoprotein, secretory transport, and other barriers to the oral delivery of anti-HIV drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.39, n.1-2, p.105-116, 1999.

BETTINETTI, G. P. e MURA, P. Dissolution properties of naproxen in combinations with polyvinylpyrrolidone. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.20, n.8, p.1353-1366. 1994.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista de Medicamentos de Referência. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/referencia/solicita.htm/> Acesso em: 24 jul 2008.

CASTRONUOVO, G.; NICCOLI, M. Thermodynamics of inclusion complexes of natural and modified cyclodextrins with propranolol in aqueous solution at 298 K. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.14, n.11, p.3883–3887, 2006.

FIGUEIRAS, A.; CARVALHO, R.A.; RIBEIRO, L.; TORRES-LABANDEIRA, J.J.; VEIGA, F.J.B. Solid-state characterization and dissolution profiles of the inclusion complexes of omeprazole with native and chemically modified β -cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.67, n.2, p.531-539, 2007.

LINDENBERG, M.; KOOP, 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 Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.58, n.2, p. 265-278, 2004.

LOFTSSON, T.; FRIORIKSDÓTTIR, H.; SIGUROARDÓTTIR, A.M.; UEDA, H. The effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complexation. *International Journal of Pharmaceutics*, v.110, n.2, p.169-177, 1994.

LOFTSSON, T., FRIKDRÍKSDÓTTIR, H. e GUMUNDSDÓTTIR, T. K. The effect of water-soluble polymers on aqueous solubility of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v.127, n.2, p.293-296. 1996.

LOFTSSON, T. Cyclodextrin and the Biopharmaceutics classification system of drugs. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v.44, n.1-4, p. 63-67, 2002.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v.302, n.1-2, p.18-28, 2005.

LOFTSSON, T; DUCHÊNE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 329, n.1-2, p.1-11, 2007.

MERCK Index: na encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13 ed. Whitehouse Station: Merck Research Laboratories, 2001.

MURA, P.; FAUCCI, M.T.; BETTINETTI, G.P. The influence of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.13, n.2, p.187-194, 2001.

PARTYKA, M.; AU, B.H.; EVANS, C. H. Cyclodextrins as phytotoxicity inhibitors in drug formulations: studies on model systems involving naproxen and β -cyclodextrin. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v.140, n.1, p.67-74, 2001.

RIBEIRO, L.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Physicochemical investigations on the effects of water-soluble polymers on vinpocetine complexation with β -cyclodextrin

and its sulfobutyl ether derivative in solution and solid state. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.20, n.3, p.253-266, 2003.

SINHA, V.R.; ANITHA, R.; GHOSH, S.; NANDA, A.; KUMRIA, R. Complexation of celecoxib with β -cyclodextrin: characterization of the interaction in solution and solid state. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.94, n.3, p.676-687, 2005.

VALERO, M.; ESTEBAN, B.; PELAEZ, R.; RODRIGUEZ, L.J. Naproxen: hydroxypropyl- β -cyclodextrin:polyvinylpyrrolidone ternary complex formation. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v.48, n.3-4, p.157-163, 2004.

VEIGA, F.; TEIXIERA-DIAS, J.J.C.; KEDZIEREWICZ, F.; SOUZA, A.; MAINCENT, P. Inclusion complexation of tolbutamide with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, v.129, n.1, p.63-71, 1996.

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. **As ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica**. 1.ed. Coimbra: MinervaCoimbra, 2006, 67-69.