

RE-CRISTALIZAÇÃO DO FÁRMACO ANTIRRETROVIRAL EFAVIRENZ E CARACTERIZAÇÃO DAS FORMAS CRISTALINAS OBTIDAS, POR MEIO DE DSC, TG, DRX E DISSOLUÇÃO.

Ana Cristina Sousa Gramoza Vilarinho (aluna ICV); Mônica Felts de La Roca Soares (Orientadora, Depto de Bioquímica e Farmacologia); José Lamartine Soares Sobrinho (Colaborador, Depto de Bioquímica e Farmacologia); Lívio César Cunha Nunes (Colaborador, Depto de Bioquímica e Farmacologia)

Introdução

O efavirenz é um fármaco anti-retroviral inibidor da transcriptase reversa. Este é utilizado na terapia atual de forma associada a outros fármacos antiretrovirais, sendo nos últimos anos o fármaco anti-retroviral de maior utilização no Brasil. Contudo, a qualidade farmacológica deste medicamento está diretamente correlacionada à sua dissolução nos fluídos biológicos para ser posteriormente absorvido pelo organismo, ou seja, ser biodisponível. O fármaco apresenta baixa solubilidade aquosa e alta lipofilicidade, portanto a biodisponibilidade dele depende da solubilização deste. A dissolução do fármaco nos fluídos biológicos pode ser influenciada por diversos fatores, dentre estes estão tamanho da partícula dos grânulos, tempo de desintegração da forma farmacêutica, associação com adjuvantes farmacotécnicos, propriedades físico-químicas do fármaco e outras características deste, assim como a forma polimórfica utilizada. A forma polimórfica é uma característica crítica, sendo determinada durante o processo de síntese do fármaco, e podendo variar de fornecedor para fornecedor (HALLAL, 2004, LONGER *et al.*, 1995). O objetivo desta pesquisa foi a obtenção de formas polimórficas do EFZ e a posterior discriminação destas por meio das técnicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG), radiação infravermelha, difração de raio X (DRX), além do teste de dissolução.

Metodologia

Inicialmente as 8 amostras foram analiticamente pesadas e solubilizadas de distintas formas: etanol absoluto:metanol (1:1); etanol absoluto; metanol; clorofórmio; tolueno (50 a 55°C); acetato de etila com filtração e adição do n-hexano; clorofórmio:metanol (1:1); hexano:THF (1:0,1) sob temperatura de 62°C. Todas as amostras foram deixadas à temperatura ambiente para posterior secagem.

Após isso, as amostras foram recolhidas e levadas a laboratório para a análise utilizando-se inicialmente o calorímetro de varredura com atmosfera de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, na faixa de temperatura de 25–200 °C. As amostras foram colocadas em porta amostra de alumínio hermeticamente fechados com 2 mg (± 0.2) de fármaco. As determinações foram realizadas em triplicata. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

Para a verificação do comportamento térmico do fármaco sob condições de aquecimentos alternados por resfriamento da amostra, realizou-se um primeiro aquecimento na faixa de temperatura entre -40 a 150 °C na razão de 10 °C.min⁻¹, seguido de resfriamento até -80 °C na razão de 20 °C.min⁻¹ e posterior um aquecimento na faixa de -80 a 400 °C na razão de 10 °C.min⁻¹,

utilizando nitrogênio como gás de purga, com fluxo de 50 mL.min⁻¹. Nesta análise utilizou-se 8 mg (\pm 0.5) de EFZ.

A caracterização termoanalítica através de TG foi realizada em duplicata por meio de termobalança, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa da amostra de cerca de 4 mg (\pm 0.4) de EFZ, acondicionadas em cadinho de alumina na faixa de temperatura de 25 a 500 °C na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. Antes dos ensaios, verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de alumínio e zinco.

Nas amostras de 1 a 4, realizou-se a dissolução aparente, onde encapsulou-se 10mg de cada uma das amostras, além do EFZ puro, e prendeu-se, em cada uma das cápsulas, um aparato para que elas se mantivessem no fundo das cubas do dissolutor. A dissolução foi realizada em condição de 50rpm a uma temperatura de 37° C. Em cada uma das cubas foi inserido 900 mL de LSS 0,5%. Realizou-se a retirada de duas alíquotas nos tempos 15 min e 60 min em todas as amostras. Estas alíquotas foram submetidas à filtração por meio de papéis de filtro e armazenadas em tubos eppendorf. Posteriormente, as amostras foram encaminhadas para análise pelo espectrofotômetro UV-Vis.

Já nas amostras 5 a 8 realizou-se, a técnica de difração de raio-X para uma análise mais acurada dos cristais formados. Em seguida, foi analisado o perfil de biodisponibilidade a partir da dissolução intrínseca. Nas amostras 5, 7 e 8 foram utilizadas 30mg das amostras e na amostra 6 foi utilizada 40mg. Essas amostras foram submetidas a uma pressão de 1,5 toneladas durante 1 minuto, formando uma pastilha a partir de cada uma das amostras. A matriz contendo a amostra foi colocada no fundo da cuba do dissolutor, previamente preenchida com 900mL de meio LSS 0,5%. Neste caso foi utilizado o aparato tipo pá. A dissolução foi realizada sob condições de 50 rpm a uma temperatura de 37°C. As alíquotas foram realizada nos tempos 5, 10, 20, 30, 45 e 60 minutos. Estas alíquotas possuíam um volume de 10mL e as coletas eram feitas sem reposição do meio. Os resultados encontrados eram corrigidos a partir de ajustes matemáticos.

Resultados e Discussão

A partir dos resultados de DSC, pôde-se observar que o pico de fusão das amostras não apresentou diferenças significativas entre elas e/ou com o EFZ referência, exceto a amostra 5 que apresentou dois eventos endotérmicos em sua análise, correspondente ao pico principal e um pequeno evento endotérmico antes desse.

Com relação à análise termogravimétrica foi observada a perda de massa das amostras. No entanto, elas também não apresentam considerável diferença de massa. Neste caso, a partir das análises de DSC e TG, comparando com a amostra de EFZ referência, vê-se que todas as amostras, exceto a amostra 5, representaram uma mesma forma polimórfica.

Ao observar a amostra 5 (Gráfico 4), pôde-se notar uma pequena perda de massa próximo à 100° C. A partir destes resultados, e dos anteriores, nota-se que esta amostra não corresponde a uma forma polimórfica, mas sim um solvato do fármaco.

Depois de observadas diferenças no TG e DSC de algumas amostras, estas tiveram a necessidade de melhor análise. Desta forma realizou-se a técnica de difração de raio X nas amostras

5 a 8, já que as amostras de 1 a 4 se mostraram semelhantes ao EFZ referência. A partir dos resultados observou-se que a amostra 5 apresentou um comportamento significativamente distintos das outras amostras. A comparação dos perfis de dissolução das amostras 1 a 4, além do EFZ referência, obtidos, a partir das amostras analisadas, foi estabelecida pelo cálculo da eficiência de dissolução das amostras (ED%). Observou-se que as ED% mostraram-se diferentes. No entanto, somente este parâmetro não é suficiente para a identificação e caracterização de formas polimórficas. A fim de aperfeiçoar as análises de dissolução, nas amostras de 5 a 8, realizou-se a dissolução intrínseca, visto que esta técnicas caracteriza-se por possuir mais condições controladas do que a dissolução aparente (anteriormente utilizada). De acordo com a tabela 10, notou-se que amostras apresentaram uma inicial velocidade de dissolução consideravelmente mais elevada do que o EFZ referência.

Conclusão

No presente estudo pôde-se observar que a amostra 5 apresentou uma forma solvatada do EFZ referência, obtendo distintas propriedades como mostrado nas técnicas de DSC, TG e difração de raio X, visto que estas técnicas são as necessárias para a identificação e caracterização das formas polimórficas. Com relação aos testes de dissolução, as amostras obtiveram maior disponibilidade do que o EFZ referência. Apesar de não se ter obtido formas polimórficas distintas, o perfil de dissolução se mostrou satisfatório para eventuais modificações na forma cristalina do fármaco utilizado.

Apoio: LTM (UFPE), LIMAV (UFPI) e NTF (UFPI).

Referências Bibliográficas

- HALLAL, R. *Tendências da terapia antiretroviral no Brasil*. In: 1a Oficina de Trabalho da Associação dos Laboratórios Farmacêuticos Oficiais do Brasil – ALFOB. Brasília: 2004.
- LONGER, M. A.; ROBINSON, J.R. Sistema de liberação sustentada de drogas In: GENARO, A.R. **Remington Farmácia**. 17. ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana, 1995, v.2.

Palavras-Chave: Polimorfismo. Efavirenz. Dissolução. Caracterização físico-química.