

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Incremento de solubilidade do fármaco rifampicina por complexo  
de inclusão e dispersão sólida**

LYGHIA MARIA ARAÚJO MEIRELLES

TERESINA – PIAUÍ

2012

LYGHIA MARIA ARAÚJO MEIRELLES

**Incremento de solubilidade do fármaco rifampicina por complexo de inclusão e dispersão sólida**

Dissertação, como requisito complementar, para obter o título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

**Orientador: Prof. Dr. Alexandre Araújo de Souza**  
**Co-orientador: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho**

TERESINA – PIAUÍ

2012

LYGHIA MARIA ARAÚJO MEIRELLES

**Incremento de solubilidade do fármaco rifampicina por complexo de inclusão e dispersão sólida**

**Dissertação defendida sob a avaliação da Comissão Examinadora constituída por:**

Presidente e Examinador Interno: **Prof. Dr. Alexandre Araújo de Souza**

(Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí)

Assinatura: \_\_\_\_\_

Examinador Externo: **Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho**

(Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais da Universidade Federal do Piauí)

Assinatura: \_\_\_\_\_

Examinador Interno: **Profa. Dra. Antônia Maria das Graças Lopes Citó**

(Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí)

Assinatura: \_\_\_\_\_

Examinadora Suplente: **Profa. Dra. Maria das Graças Freire Medeiros**

(Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí)

Assinatura: \_\_\_\_\_

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**

**REITOR**

Prof. Dr. José Arimatéia Dantas Lopes

**VICE-REITOR**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nadir do Nascimento Nogueira

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Saulo Cunha de Serpa Brandão

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Antônio dos Santos Rocha Filho

**VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

José Guilherme Ferre Pompeu

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

Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

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

Prof. Dr. Lívio Cesar Cunha Nunes

*“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser.  
Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não  
em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer  
terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?”*

*Fernando Pessoa*

## AGRADECIMENTOS

É chegada a hora de expressar minha gratidão a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a concretização desta jornada. Dar graças ao privilégio de galgar um título ainda

À Deus por me dar força para seguir quando tudo parecia confuso, sei que sem tua benção não teria chegado até aqui.

À minha mãe, Maria Dolores Araújo Meireles, por ser meu exemplo de fé e determinação, apoiando-me incondicionalmente.

Ao meu pai, Miguel Batista Meireles, pela sabedoria, alicerce e as decisões difíceis partilhadas.

Ao meu irmão Marcus, cujo papel tem sido me alegrar desde o seu nascimento até hoje, tornando bastante simples a compreensão do significado de fraternidade.

Aos familiares, por entenderem que minha ausência se fez necessária neste período, incentivando-me com palavras carinhosas.

Aos amigos, pelas vezes em que não pude desfrutar da companhia de vocês, pessoas tão estimadas, e mesmo assim não deixavam de me convidar sabendo que teriam como resposta um não.

Aos amigos do trabalho, em especial à Kátia, Aline e Pablo, pela compreensão dos atrasos e cansaço. Apesar da correria, minha rotina se torna mais leve e alegre com todos.

Aos alunos de iniciação científica Jocélio Felipe e Rhilder Borges pela ajuda constante nos experimentos, sem vocês não seria possível.

Aos demais mestrandos, pessoas que conheci mais profundamente nesta convivência alucinante promovida pelo mestrado. Conversar com quem tinha as mesmas angústias parecia mais fácil e me fazia parecer menos maçante. Conseguimos meus amigos!

Aos meus alunos, que me motivaram a galgar além deste título, o conhecimento. Mostrando-me que o aprendizado deve ser contínuo e que o aluno pode ensinar o mestre sim.

Ao prof. Alexandre, pela paciência e pelo conhecimento partilhado. Mais do que eu mesma, ele sempre acreditou neste trabalho.

Ao Prof. Lamartine, pela co-orientação e colaboração com sugestões pertinentes.

Ao corpo docente e discente e funcionários do PPGCF, pelo aprendizado, auxílio e amizade.

Aos demais professores e funcionários que viabilizaram este trabalho, como a equipe do NTF, LIMAV e LAPETRO, os quais sempre importunava à espera de resultados e em busca de ajuda.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

Figura 1. Micrografias das formas polimórficas I (A) e II (B), e amorfa (C).....	23
Figura 2. Fórmula estrutural da rifampicina.....	24
Figura 3. Esquema do Sistema de Classificação Biofarmacêutica.....	26
Figura 4. Estrutura tridimensional e molecular geral das ciclodextrinas.....	28
Figura 5. Representação dos tipos de diagramas de solubilidade obtidos a partir da complexação de fármacos com moléculas carreadoras.....	32
Figura 6. Representação de dispersão sólida amorfa de fármaco e polímero.....	34
Figura 7. Estrutura genérica do polímero polivinilpirrolidona.....	35

### CAPÍTULO II

Figura 1. Espectrofotometria de varredura de rifampicina em solução aquosa, na concentração de 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .....	53
Figura 2. Curva analítica de rifampicina em solução aquosa (8 - 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ).....	53
Figura 3. Curva analítica de rifampicina em solução de HCl 0,1 N (8 - 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ).....	54
Figura 4. Diagrama de solubilidade de rifampicina em presença de $\alpha\text{CD}$ , $\beta\text{CD}$ e $\gamma\text{CD}$ , em água destilada a 37°C.....	54
Figura 5. Incremento de solubilidade de rifampicina na presença de PVP.....	56
Figura 6. Curva DSC de (A) rifampicina, (B) $\alpha$ -ciclodextrina ( $\alpha$ -CD), (C) mistura física (MF RIF: $\alpha$ -CD) e (D) complexo de inclusão rifampicina: $\alpha$ -ciclodextrina (CI RIF: $\alpha$ -CD).....	60
Figura 7. Curva DSC de (A) rifampicina, (B) $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD), (C) mistura física (MF RIF: $\beta$ -CD) e (D) complexo de inclusão rifampicina: $\beta$ -ciclodextrina (CI RIF: $\beta$ -CD).....	62
Figura 8. Curva DSC de (A) rifampicina, (B) $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD), (C) mistura física (MF RIF: $\gamma$ -CD) e (D) complexo de inclusão rifampicina: $\gamma$ -ciclodextrina (CI RIF: $\gamma$ -CD).....	64
Figura 9. Curvas de DSC de (A) rifampicina, (B) PVP, (C) mistura física (MF RIF:PVP) e (D) dispersão sólida (DS RIF:PVP).....	65
Figura 10. Espectro FTIR de rifampicina (RIF).....	67
Figura 11. Espectro FTIR $\alpha$ -ciclodextrina e sua mistura física (MF RIF: $\alpha$ -CD) e complexo de inclusão (CI RIF: $\alpha$ -CD).....	68
Figura 12. Espectro FTIR de $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) e sua mistura física (MF RIF: $\beta$ -CD) e complexo de inclusão (CI RIF: $\beta$ -CD).....	70

Figura 13. Espectro FTIR de $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD) e sua mistura física (MF RIF: $\gamma$ -CD) e complexo de inclusão (CI RIF: $\gamma$ -CD) com o fármaco rifampicina.....	71
Figura 14. Espectros FTIR de PVP e sua mistura física (MF RIF:PVP) e dispersão sólida (DS PVP:RIF) com rifampicina.....	73
Figura 15. Difratoograma de rifampicina, $\beta$ -CD, mistura física RIF: $\beta$ -CD e complexo de inclusão RIF: $\beta$ -CD.....	75
Figura 16. Perfil de dissolução de rifampicina (RIF) e dos complexos de inclusão de rifampicina com $\beta$ -CD (CI RIF: $\beta$ -CD) e $\gamma$ -CD (CI RIF: $\gamma$ -CD).....	77

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1. Toxicidade aguda de ciclodextrinas naturais e derivadas em ratos.....29

### CAPÍTULO II

Tabela 1. Valores da solubilidade intrínseca da rifampicina ( $S_0$ ), coeficiente angular, coeficiente de correlação e constante de estabilidade ( $K_c$ ) e eficiência de complexação (EC) obtidos a partir do diagrama de fases dos complexos de inclusão de rifampicina com  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD.....56

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gama
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin
CD	Ciclodextrina
CI	Complexo de Inclusão
DNT	Doença Negligenciada Tropical
DRX	Difração de Raios X
DS	Dispersão Sólida
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EC	Eficiência de Complexação
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
GCTase	Glucanotransferase
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
Kc	Constante de estabilidade
LAPETRO	Laboratório de Análises de Combustível
LIMAV	Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NTF	Núcleo de Tecnologia Farmacêutica
OMS	Organização Mundial de Saúde
PEG	Polietilenoglicol
PVP	Polivinilpirrolidona
RIF	Rifampicina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S <sub>0</sub>	Solubilidade intrínseca
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
TB	Tuberculose
TG	Termogravimetria
TGI	Trato Gastrointestinal

## SUMÁRIO

Agradecimentos.....	VI
Lista de Figuras.....	VII
Lista de Tabelas.....	IX
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos.....	X
1. Introdução.....	13
2. Objetivos.....	16
3. Capítulo I - Tuberculose e Rifampicina: Revisão Bibliográfica.....	17
Resumo.....	18
Abstract.....	19
Tuberculose.....	20
Etiologia e transmissão.....	20
Manifestações clínicas e diagnóstico.....	20
Epidemiologia.....	21
Tratamento.....	22
Rifampicina.....	23
Considerações biofarmacêuticas e biodisponibilidade.....	25
Sistema de Classificação Biofarmacêutica.....	25
Dificuldades de formulação na terapia anti-tuberculose.....	26
Ciclodextrinas: incremento de solubilidade e permeabilidade.....	28
Polímeros e dispersões sólidas.....	32
Referências Bibliográficas.....	36
4. Capítulo II - Preparo e Caracterização do Complexo de Inclusão de Rifampicina com Ciclodextrinas Naturais e da Dispersão Sólida Rifampicina:PVP.....	46
Resumo.....	47
Abstract.....	48
Introdução.....	49
Materiais e Métodos.....	50

Resultado e Discussão.....	53
Referências Bibliográficas.....	77
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
PERSPECTIVAS.....	76

**Incremento de solubilidade do fármaco rifampicina por complexo de inclusão e dispersão sólida.** LYGHIA MARIA ARAÚJO MEIRELLES. Orientador: Alexandre Araújo de Souza. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Bioquímica e Farmacologia, UFPI, 2012.

## RESUMO

A rifampicina é um antibiótico pertencente ao grupo das ansamicinas naftalênicas, produzida por *Streptomyces mediterranei*. Este fármaco foi descoberto na década de 60, com ação bactericida sobre cepas sensíveis de *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium leprae*, agentes etiológicos da tuberculose e hanseníase, respectivamente. As principais limitações a cerca de formulação de rifampicina advém de sua baixa solubilidade em meio aquoso, enquadrando-se na classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica. A solubilidade restrita, no entanto, pode ser solucionada através de sistemas de liberação não convencionais, empregando, por exemplo, complexos de inclusão ou dispersões sólidas. Para verificar a viabilidade destas estratégias, foram preparados complexos de inclusão de rifampicina com as ciclodextrinas naturais  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , além de dispersão sólida empregando o polímero hidrofílico PVP, ambos pelas técnicas de malaxagem e mistura física. Após o preparo das amostras as mesmas foram caracterizadas por calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia no infravermelho (FTIV), difração de raio X (DRX) e perfil de dissolução. Os dados obtidos a partir da mistura física e do respectivo complexo ou dispersão sólida foram confrontados a fim de confirmar uma maior interação entre o fármaco e o polímero carreador, quando empregou-se a técnica de malaxagem. Os deslocamentos e supressões de eventos térmicos no DSC, além do deslocamento e desaparecimento de bandas no FTIR indicam que houve interação, além da amorfização constatada no complexo da  $\beta$ -ciclodextrina, o qual foi indicado possuir melhor perfil de dissolução quando comparado aos demais. É possível inferir que ocorre alguma interação entre a RIF e as ciclodextrinas  $\beta$  e  $\gamma$ , podendo tratar-se de uma complexação parcial da molécula conforme relatos da literatura, diferente da  $\alpha$ -CD, devido principalmente à incompatibilidade dimensional de sua cavidade e do tamanho da molécula hóspede. A dispersão sólida com PVP demonstrou incremento de solubilidade comparável ao sistema RIF: $\beta$ CD, apresentando-se como os mais promissores.

**Increase of solubility of the drug rifampicin by inclusion complex and solid dispersion.**

**LYGHIA MARIA ARAUJO MEIRELLES.** Adviser: Alexandre Araújo de Souza.

Dissertation. Graduate Program in Pharmaceutical Sciences. Health Sciences Center  
Department of Biochemistry and Pharmacology, UFPI, 2012.

ABSTRACT

Rifampicin is an antibiotic belonging to the group of naftalênicas ansamycins produced by *Streptomyces mediterranei*. This drug was discovered in the 60s, with bactericidal action on susceptible strains of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium leprae*, the etiologic agents of tuberculosis and leprosy, respectively. The main limitation to some formulation of rifampicin comes from its low solubility in aqueous medium and it fits in class II of Biopharmaceutics Classification System. The solubility restricted, however, may be resolved by conventional delivery systems not employing, for example, inclusion complexes or solid dispersions. To verify the feasibility of these strategies were prepared inclusion complexes of cyclodextrins with rifampicin natural  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ , besides solid dispersion employing the hydrophilic polymer PVP, both the techniques of physical mixing and kneading. After the preparation of the same samples were characterized by differential scanning calorimetry (DSC), infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD) and dissolution profile. The data obtained from the physical mixture and its complex or solid dispersion were compared to confirm a greater interaction between the drug and the polymer carrier, when employed the technique of kneading. The displacements and deletions in the DSC thermal events in addition to the displacement and disappearance of bands in the FTIR indicate that interaction was, besides the amorphization observed in the complex of  $\beta$ -cyclodextrin, which was shown to have better dissolution profile compared to others. It is possible to infer that there is some interaction between RIF and  $\beta$  and  $\gamma$  cyclodextrins, can treat is a partial complexation of the molecule as the literature, different from  $\alpha$ -CD, mainly due to its incompatibility dimensional cavity and the size of guest molecule. The solid dispersion with PVP showed increased solubility comparable to the RIF:  $\beta$ CD, presenting itself as the most promising.

## 1. INTRODUÇÃO

A partir da segunda metade do século XIX, especialmente entre países desenvolvidos, houve uma substituição gradual e progressiva das doenças infecciosas e parasitárias por doenças crônico-degenerativas como principais causas de morbidade e mortalidade. Não obstante, em várias populações, em especial em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, não ocorreu a mesma transição linear, verificando-se, na realidade, uma sobreposição desses perfis (PONTES, 2009).

As Doenças Negligenciadas Tropicais (DNT) podem ser causadas por parasitas, bactérias, fungos, ectoparasitas, ou vírus, provocando incapacidade e deformação, com impacto direto na saúde, educação, agricultura e economia. Por muitos anos a falta de um mercado rentável e de políticas públicas eficazes levou à estagnação dos seus tratamentos, tornando-os obsoletos (CHATELAIN; IOSET, 2011; LINDOSO; LINDOSO, 2009).

Tuberculose é uma DNT infecciosa crônica, causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*. Em todo o mundo, cerca de 2 bilhões de pessoas estão infectadas, representando cerca de 30% da população mundial. É a segunda doença infecciosa mais mortífera e a alta prevalência da co-infecção com AIDS levou a Organização Mundial de Saúde (OMS) a declarar a tuberculose uma emergência sanitária mundial desde 1993. Em 2010, a OMS revelou que 8,8 milhões de pessoas desenvolveram a doença e no mesmo ano a mortalidade foi de 1,4 milhões de pessoas (SOSNIK et al., 2010; WHO, 2011).

A descoberta de drogas antimicrobianas foi uma das maiores invenções do século XX. Até então a tuberculose era considerada um prenúncio de morte, sem nenhum tratamento eficaz disponível. Mais tarde, alguns medicamentos foram desenvolvidos para melhorar a quimioterapia da tuberculose, como a redução da duração do tratamento de 18 meses para um regime de 6 meses, com o uso de drogas como rifampicina e pirazinamida. No entanto, algumas lacunas ainda precisavam ser preenchidas, devido ao rápido desenvolvimento de resistência, a co-infecção tuberculose e AIDS, e as limitações do tratamento anti-tuberculose de primeira linha (PANDIT; TIWARI, 2011).

O tratamento atualmente recomendado pela OMS consiste na administração combinada de isoniazida, rifampicina pirazinamida, e etambutol durante os primeiros 2 meses, seguido pela combinação de isoniazida e rifampicina, pelos 4 meses seguintes. No entanto, o período de tratamento ainda longo e os efeitos colaterais indesejáveis, acarretavam no abandono da quimioterapia. Este quadro levou a OMS a investir em programas educativos, com

acompanhamento dos pacientes em tratamento por equipes de saúde, para realizar a vigilância do progresso, aconselhá-los e certificar-se que cada um dos medicamentos é administrado de forma correta (DUCATI et al., 2006; LAWN; ZUMLA, 2011).

A rifampicina é um antibiótico semi-sintético bactericida derivado da rifamicina. Atua mediante ligação estável à RNA polimerase, bloqueando a síntese de RNA mensageiro da micobactéria. O fármaco apresenta-se sob a forma de um pó cristalino, de cor castanho avermelhada, pouco solúvel em água e solúvel em metanol (ARISTOFF et al., 2010; BACCHI; PELIZZI, 1998; BRASIL, 2010; SOUSA, 2005).

Várias técnicas têm sido empregadas para melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Estas incluem a formulação com formas amorfas sólidas, nanopartículas, microemulsões, dispersão sólida (DS), formação de sais e de complexos solúveis em água. Através destas técnicas é possível aumentar a solubilidade aparente de compostos lipofílicos sem diminuir seu potencial terapêutico (LOFTSSON; HREINSDOTTIR; MASSON, 2005).

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos, constituídos por unidades de  $\alpha$ -D-glicose, obtidas por ação da enzima ciclodextrina- $\alpha$ -glucotransferase (CGTase) sobre o amido. As ciclodextrinas apresentam cavidade hidrofóbica e superfície hidrofílica, devido a presença de grupos OH. Esta estrutura possibilita a formação de complexos de inclusão estáveis, com grande diversidade de substâncias orgânicas, sais e halogênios. Esta propriedade permite alterar a solubilidade de fármacos, modelar a velocidade de dissolução, aumentar a estabilidade e proteger as mucosas da irritação causada por determinados fármacos (LINDNER; SZENTE; SZEJTLI, 1981; SALTÃO; VEIGA, 2001; SZEJTLI, 1994).

Muitos fármacos existem na forma cristalina, sendo classificados em polimorfos, solvatos ou hidratos, ou amorfa. Tais formas podem sofrer transições durante as diversas etapas às quais são submetidas na produção farmacêutica, o que resultaria em alterações em alguns parâmetros físico-químicos, como por exemplo, a taxa de dissolução e a permeabilidade da molécula. As substâncias amorfas têm propriedades interessantes, como maior solubilidade, taxa de dissolução, e melhores características de compressão do que os seus respectivos cristais, ao passo que os sólidos amorfos são geralmente menos estáveis física e quimicamente (CHATURVEDI; VERMA, 2012; JACOB et al., 2011).

A dispersão sólida é uma estratégia que tem sido largamente utilizada para melhorar o perfil biofarmacêutico de fármacos pouco solúveis em água, mediante dispersão do fármaco em uma matriz biologicamente inerte. As propriedades físico-químicas do fármaco e do agente carreador livre são relativamente diferentes do seu estado complexado ou disperso. Os

métodos mais empregados na caracterização dos sistemas obtidos são diagrama de solubilidade de fases, dissolução, ressonância magnética nuclear, modelagem molecular, espectroscopia no infravermelho, métodos térmicos, técnicas cristalográficas com difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007; JACOB et al., 2011).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVOS GERAIS

- Obtenção e caracterização físico-química de complexos de inclusão do fármaco rifampicina com ciclodextrinas naturais e dispersão sólida a partir do polímero polivinil pirrolidona para desenvolver uma forma farmacêutica estável e com melhor perfil de solubilidade.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver sistemas binários, solúveis em água, de rifampicina com as ciclodextrinas naturais  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ .
- Determinar a melhor proporção de rifampicina:PVP para preparo de dispersão sólida.
- Caracterizar os complexos de inclusão rifampicina-CD através de espectroscopia no infravermelho (FTIR), difração de raios X (DRX), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e perfil de dissolução.

## CAPÍTULO I

### **Tuberculose e Rifampicina: Revisão Bibliográfica**

**Tuberculose e Rifampicina: Revisão Bibliográfica. LYGIA MARIA ARAÚJO MEIRELLES.** Orientador: Alexandre Araújo de Souza. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Bioquímica e Farmacologia, UFPI, 2012.

## RESUMO

A Tuberculose é uma doença infecciosa crônica, causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*. Em todo o mundo, cerca de 2 bilhões de pessoas estão infectadas, representando cerca de 30% da população mundial. A rifampicina é um antibiótico pertencente ao grupo das ansamicinas naftalênicas, produzida por *Streptomyces mediterranei*. Este fármaco foi descoberto na década de 60 e é um antibiótico bactericida de amplo espectro, usado principalmente no tratamento de tuberculose e hanseníase. Embora cerca de 95% das pessoas com cepas sensíveis ao tratamento possam ser curadas com o esquema terapêutico atual, a dificuldade de formulação relacionada à rifampicina advém de sua classificação biofarmacêutica, classe II. Fármacos pertencentes às classes II e IV têm solubilidade aquosa baixa, no entanto, este problema muitas vezes é solucionado através de projetos criteriosos de formulação. O emprego de técnicas adequadas para melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos como, por exemplo, o uso de nanopartículas, microemulsões, dispersão sólida, formação de sais e de complexos solúveis em água. As ciclodextrinas permitem alterar a solubilidade, modelar a velocidade de dissolução e aumentar a estabilidade, além de proteger as mucosas da irritação causada por determinados fármacos. As dispersões sólidas são uma estratégia simples, capaz de melhorar o perfil biofarmacêutico de fármacos pouco solúveis em água, mediante dispersão do fármaco em uma matriz biologicamente inerte. Estas técnicas são possibilidades viáveis para obtenção de formas farmacêuticas mais estáveis e com melhor solubilidade, minimizando a dose administrada aos pacientes e reduzindo os efeitos colaterais.

Palavras-chave: Rifampicina, Solubilidade, Ciclodextrina, Dispersão sólida.

**Tuberculosis and Rifampicin: Literature Review. LYGHIA MARIA ARAÚJO MEIRELLES.** Advisor: Alexandre Araújo de Souza. Master's Dissertation. Post-Graduate Program in Pharmaceutical Sciences. Center for Health Sciences. Department of Biochemistry and Pharmacology, UFPI, 2012.

### ABSTRACT

Tuberculosis is a chronic infectious disease caused by the bacillus *Mycobacterium tuberculosis*. Worldwide, some 2 billion people are infected, representing about 30% of the world population. Rifampicin is an antibiotic belonging to the group of naphthalenic ansamycins produced by *Streptomyces mediterranei*. This drug was discovered in the 60s and is a broad-spectrum bactericidal antibiotic, used primarily in the treatment of tuberculosis and leprosy. Although about 95% of people with drug-sensitive TB strains can be cured with current therapeutic regimen, the difficulty of formulating related to rifampicin results from their biopharmaceutical classification, Class II. Drugs belonging to classes II and IV have low aqueous solubility, however, this problem is often solved by careful design of formulation. The use of appropriate techniques to improve solubility and dissolution rate of drugs such as the use of nanoparticles, microemulsions, solid dispersion formation of salts and water soluble complexes. Cyclodextrins used to change the solubility, dissolution rate shaping and increase stability, and to protect the mucosa from irritation caused by certain drugs. Solid dispersions are a simple strategy, capable of improving the biopharmaceutical profile of poorly water-soluble drug by dispersing the drug in a matrix biologically inert. These techniques are viable possibilities for obtaining pharmaceutical forms more stable and better solubility, minimizing the dose administered to patients and reducing side effects.

Keywords: Rifampicin, Solubility, Cyclodextrin, Solid dispersion.

## 1. TUBERCULOSE

### 1.1. ETIOLOGIA E TRANSMISSÃO

A tuberculose foi uma das principais causas de morte no final do século XIX e início do século XX, estabelecendo-se em todos os níveis sociais e afligindo muitos intelectuais e artistas. Um dos maiores trabalhos sobre tuberculose foi realizado em 1882 por Robert Koch, o qual identificou o agente etiológico da tuberculose: *Mycobacterium tuberculosis* (DUCATI et al., 2006).

Este agente patogênico é obrigatoriamente intracelular e pode infectar várias espécies animais, embora o homem seja o principal hospedeiro. Trata-se de um bacilo ácido-resistente, não encapsulado, aeróbico, por isso cresce principalmente nos pulmões. A taxa de replicação lenta e a capacidade de permanecer em estado de latência resultam em longos períodos de terapia para indivíduos infectados (LAWN; ZUMLA, 2011).

A transmissão ocorre através da inalação de gotículas de aerossol de um paciente infectado é maior nos primeiros anos após a infecção, porém a maioria dos pacientes imunocompetentes elimina o bacilo naturalmente ou o mantém sob um estado latente, sem apresentar danos ou sintomas. A doença está relacionada à pobreza, desnutrição e aglomerados de pessoas, além de outros fatores de risco, tais como co-infecção com o vírus da AIDS, o consumo excessivo de álcool e fumo, diabetes, uso de fármacos imunossupressores e há evidência crescente da contribuição genética para a suscetibilidade à tuberculose (LAWN; ZUMLA, 2011).

### 1.2. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E DIAGNÓSTICO

Geralmente, após a infecção, os bacilos inalados são fagocitados por macrófagos alveolares, podendo ser imediatamente eliminados ou crescer no meio intracelular em lesões localizadas. Os linfócitos T são ativados e ocorre uma infiltração de macrófagos na lesão, formando um granuloma. Esta fase inicial ocorre entre 2 e 12 semanas, até que seja possível detectar a imunidade celular através do teste cutâneo de sensibilidade à tuberculina (DUCATI et al., 2006; KNECHEL, 2009).

Com o desenvolvimento da imunidade celular, o centro do granuloma sofre um processo de necrose. O ambiente torna-se inóspito ao bacilo, levando à redução da carga bacteriana e ao final da infecção primária, geralmente sem apresentação dos sintomas. No entanto, alguns bacilos permanecem latentes na lesão, e a imunocompetência do hospedeiro é fator preponderante para reativação da infecção. Além disso, componentes genéticos,

infecções anteriores e determinadas doenças ou situações imunodepressoras também interferem na trajetória da infecção (COOPER; FLYNN, 1995; FLYNN; CHAN, 2001; SANTOS; BECK, 2009).

Lesões em pessoas imunocompetentes sofrem fibrose e calcificação, caso contrário a infecção progride. O tecido necrosado é liquefeito e drenado para os brônquios, originando a tuberculose pulmonar, ou para vasos sanguíneos próximos, caracterizando a forma extrapulmonar (KNECHEL, 2009).

Se o bacilo latente inicia um processo de replicação mediante imunossupressão do hospedeiro, inicia-se a tuberculose primária. A infecção manifesta-se de forma subclínica e a única evidência é o diagnóstico laboratorial. Caso haja proliferação para o sistema linfático ocorre infiltração pleural, acarretando em febre, dispnéia e dor na região. A evolução para a tuberculose ativa é caracterizada por sinais e sintomas não específicos, como febre, mal-estar, sudorese noturna e perda de peso (KNECHEL, 2009).

O teste intradérmico da tuberculina é único capaz de detectar a infecção latente pelo bacilo de Koch. Entretanto a vacina BCG (Bacilo Calmette-Guérin) também produz a hipersensibilidade característica do indivíduo infectado. Esta vacina reduz o risco de infecção em 50% dos casos, porém tem eficácia controversa em casos de co-infecção com AIDS. Exames radiográficos são indicativos da doença quando infiltrações pulmonares ou redução da cavitação são detectadas em radiografias de pacientes com sintomas respiratórios. O exame do escarro deve ser realizado por 2-3 dias consecutivos para comprovar a infecção pulmonar a partir da presença do bacilo na amostra. O avanço das técnicas moleculares permite o desenvolvimento de métodos mais rápidos e sensíveis, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), através da qual é possível detectar também mutações e o desenvolvimento de resistência (FREITAS; SIQUEIRA; ALBANO, 2009; KENCHEL, 2009; RINAGGIO, 2003; SALTINI, 2006).

### 1.3. EPIDEMIOLOGIA

A OMS declarou a tuberculose um problema reemergente de saúde pública mundial em 1993, ocupando o segundo lugar em causa de mortes por doenças infecciosas em 2011. Este ressurgimento deve-se a vários fatores, tais como o aumento da resistência a fármacos; a pandemia da AIDS; o aumento de usuários de drogas injetáveis; aumento de imigrantes de países de alta prevalência para países desenvolvidos; o envelhecimento da população mundial; e a transmissão ativa entre os ambientes de acumulação humana, tais como prisões, hospitais, moradores de rua e abrigos (SANTOS et al., 2010; VILLEMAGNE et al., 2012).

De acordo com a OMS, a incidência e prevalência da tuberculose ainda são altas, apesar dos avanços nas pesquisas e políticas públicas direcionadas ao problema. Estima-se que um terço da população esteja infectada sob a forma latente. Outro agravante é a co-infecção com o vírus da AIDS, pois o vírus modifica a evolução da tuberculose crônica para a aguda, podendo levar o paciente ao óbito em poucas semanas, além de tornar o paciente tuberculoso resistente a múltiplas drogas, dificultando a cura (SANTOS; BECK, 2009; VILLEMAGNE et al., 2012).

A África e o sudeste asiático são os locais mais afetados pela doença. Os principais obstáculos para o controle mundial da tuberculose incluem a dificuldade para detectar e curar um número suficiente de casos, interrompendo a transmissão, e a implantação de medidas efetivas para prevenção da transmissão (RUSSELL; BARRY; FLYNN, 2010; VILLEMAGNE et al., 2012).

#### 1.4. TRATAMENTO

No Brasil, as taxas de mortalidade referentes à tuberculose foram drasticamente reduzidas devido à introdução de tuberculostáticos na década de 1940, incluindo a estreptomicina (1948), o ácido p-aminossalicílico (1949), e a isoniazida (1952). Posteriormente, outros medicamentos anti-tuberculose também foram desenvolvidos, tais como etambutol e rifampicina. O tratamento recomendado pela OMS para controlar ou erradicar a tuberculose em todo o mundo é baseado numa terapia de curta duração que combina o uso de quatro medicamentos e foi adotada pelo Brasil desde 1962. Atualmente, o regime padrão para a tuberculose é uma combinação de isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida conforme o quadro clínico do paciente (DUCATI et al., 2006; PANDIT; TIWARI, 2011; RUFFINO-NETTO, 2002; SALTINI, 2006; VILLEMAGNE et al., 2012).

Este tratamento tem por objetivo inibir, inicialmente, a síntese da parede celular, ácidos nucleicos e proteínas micobacterianas com um fármaco bacteriostático, conduzindo a uma rápida eliminação da maior parte dos bacilos infectantes. A terapia visa também uma ação bactericida subsequente para consolidar o tratamento por meio da eliminação de todos os bacilos restantes (DUCATI et al., 2006).

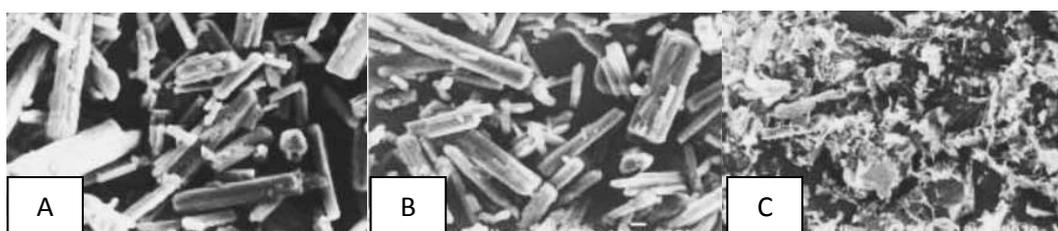
Apesar do impacto da tuberculose no mundo, os medicamentos utilizados foram desenvolvidos há mais de 50 anos, têm efeitos colaterais fortes e o tratamento é de longa duração, variando de seis a 12 meses. O encurtamento do tratamento e a redução da probabilidade de resistência podem ser atingidos com a ajuda de novos fármacos, mas estes só estarão disponíveis depois de muitos anos dedicados a ensaios clínicos e elevados

investimentos. Nesse meio tempo, os mesmos objetivos poderiam provavelmente ser atingidos aperfeiçoando o arsenal terapêutico já disponível (MITCHISON; FOURIE, 2010; PONTES, 2009; SOSNIK et al., 2010).

Mais de 95% das pessoas infectadas com cepas sensíveis ao tratamento podem ser curadas em 6 meses com o esquema terapêutico atual. Porém nos casos de tuberculose multirresistente, os bacilos são resistentes a rifampicina e/ou isoniazida, os principais medicamentos de primeira linha. Este quadro pode ser resultado de uma infecção primária com bactérias resistentes ou pode desenvolver-se mediante um tratamento descontínuo, com taxas de cura variando de 50% a 70% (KOUL et al., 2011).

#### 1.4.1. RIFAMPICINA

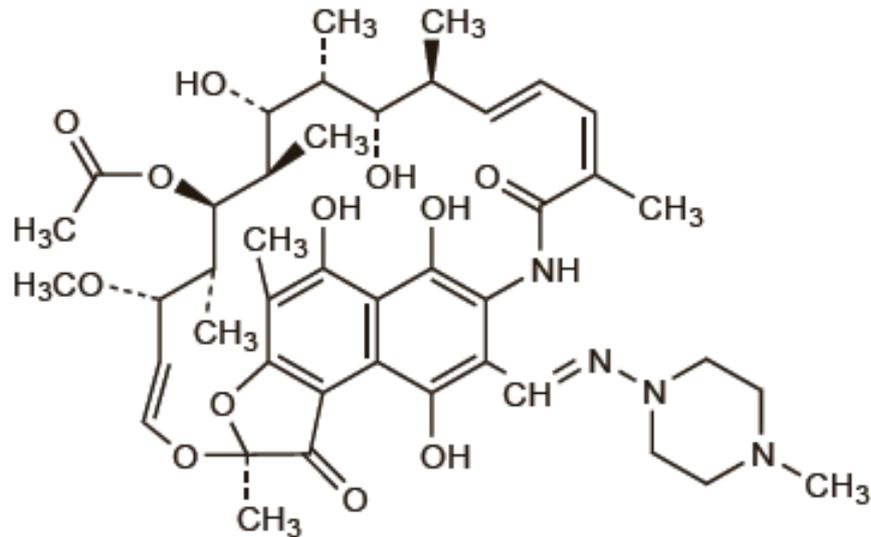
A rifampicina (RIF) é um antibiótico pertencente ao grupo das ansamicinas naftalênicas, produzidos por *Streptomyces mediterranei*. Este fármaco foi descoberto na década de 60 e é um antibiótico bactericida de amplo espectro, usado principal no tratamento de tuberculose e hanseníase. Seu mecanismo de ação consiste na inibição da síntese do RNA bacteriano após a ligação à subunidade beta da enzima RNA polimerase, o que impede a síntese protéica e subsequente replicação do bacilo (BACCHI; PELIZZI, 1998; MIRANDA; CASTRO; GARCÍA, 2001; WEHRLI et al., 1968).



**Figura 1.** Micrografias das formas polimórficas I (A) e II (B), e amorfa (C) (Adaptado de BECKER et al., 2009).

A rifampicina é um pó cristalino castanho avermelhado, ligeiramente solúvel em água e solúvel em metanol. Possui duas formas cristanilas anidras, sendo a forma II a mais utilizada na produção farmacêutica (Figura 1). A presença concomitante de grupos funcionais ácidos (fenol) básicos (aminas) torna a molécula anfotérica, apresentando pKa de 1,7 e 7,9. A rifampicina possui maior estabilidade em pH neutro, com solubilidade mais acentuada em pH ácido. No entanto, a rifampicina é hidrolisada para formas ainda menos solúveis sob condições gástricas, tais como 3-formil rifampicina e 1-amino-4-metil-piperazina. E ainda, na faixa de pH entre 7,4 e 8,2, a molécula é oxidada para um derivado de quinona insolúvel ou

uma forma desacetilada (Figura 2) (BECKER et al., 2009; BRASIL, 2010; SOROKOUMOVA et al., 2008).



**Figura 2.** Fórmula estrutural da rifampicina.

Este fármaco apresenta baixa solubilidade em água e absorção relativamente satisfatória no estômago, enquadrando-se na classe II, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB). No entanto, um estudo mais recente, determinou uma absorção intestinal baixa em três diferentes segmentos do intestino de rato, sugerindo uma reclassificação para a classe IV (SOSNIK et al., 2010).

A rifampicina possui propriedades farmacocinéticas peculiares. É prontamente absorvida no trato gastrointestinal, podendo ter este perfil modificado na presença de alimentos. Apresenta alta taxa de ligação às proteínas plasmáticas e, é amplamente distribuída em tecidos e fluidos corporais, inclusive para o leite materno e placenta. A meia-vida da rifampicina varia de 2 a 5 horas, sendo mais prolongada após administração de doses maiores. No entanto, como este fármaco induz o seu próprio metabolismo, este tempo pode diminuir em até 40% durante as primeiras semanas. Sua metabolização ocorre rapidamente no fígado, principalmente por desacetilação, e sua excreção é preferencialmente biliar ou renal (MARTINDALE, 2009).

## 2. CONSIDERAÇÕES BIOFARMACÊUTICAS E BIODISPONILIDADE

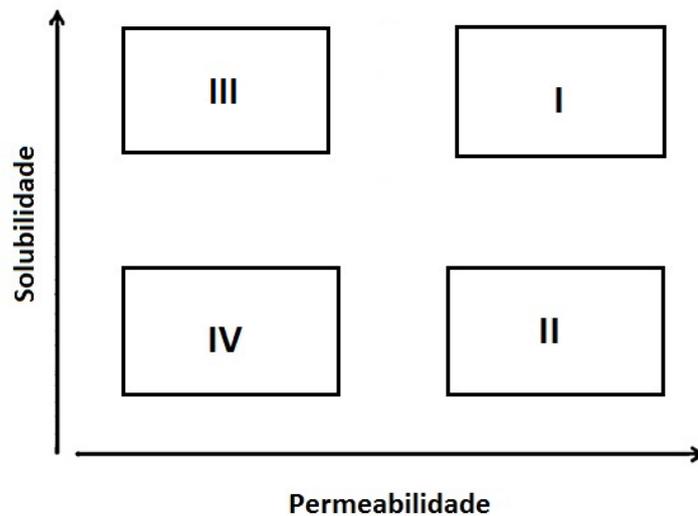
### 2.1. SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA

No estudo de fármacos administrados via oral uma das principais preocupações do pesquisador envolve a etapa de absorção gastrointestinal. A demonstração de que a solubilidade e a velocidade de dissolução, juntamente com o potencial de absorção intestinal da molécula, são satisfatórios, é de fundamental importância para a biodisponibilidade de um fármaco. A biodisponibilidade corresponde à extensão na qual o fármaco atinge a circulação sistêmica e está disponível no sítio de ação, enquanto a absorção consiste na etapa de permeação do fármaco através da mucosa do trato gastrointestinal (CHARKOFTAKI et al., 2009; HARDMAN; LIMBIRD, 2006).

Estas informações são necessárias durante o desenvolvimento de um produto farmacêutico para que a dose adequada alcance o local de ação. O arsenal terapêutico disponível atualmente é classificado a partir de dois critérios: solubilidade e permeabilidade. Esta classificação, conhecida como Sistema de Classificação Biofarmacêutica, é baseada em três etapas limitante na absorção oral: (1) liberação da droga a partir da forma farmacêutica, (2) manutenção do estado dissolvido ao longo do trato gastrointestinal, e (3) permeação de moléculas do fármaco através da mucosa. Existe ainda um quarto passo, o metabolismo entérico, que influencia a disponibilidade sistêmica e a formação de metabólitos (KU, 2008).

Este sistema classifica os fármacos em quatro classes, as quais são determinadas pela combinação das propriedades de solubilidade ao longo da faixa de pH gastrointestinal e sua permeabilidade através da mucosa (Figura 3). O esquema foi criado por Amidon e cols (1995) inicialmente para produtos farmacêuticos orais sólidos de liberação imediata, para os quais os testes de bioequivalência in vivo seriam dispensáveis. Posteriormente percebeu-se a importância desta classificação em etapas preliminares de desenvolvimento, para que obstáculos decorrentes de suas propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas não interferissem na eficácia do produto final (AULTON, 2005; MA; MOULTON, 2011).

Com o advento da triagem computacional na década de 1990, uma mudança nas características biofarmacêuticas dos novos compostos pôde ser percebida. Os novos fármacos tendem a apresentar baixa solubilidade, resultando em um aumento de compostos de classe II de aproximadamente 30% para 50-60% e a diminuição de compostos classe I de cerca de 40% para 10-20% (KU, 2008).



**Figura 3.** Esquema do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (Adaptado de MA; MOULTON, 2011)

## 2.2. DIFICULDADES DE FORMULAÇÃO NA TERAPIA ANTI-TUBERCULOSE

É consensual que a principal melhoria do tratamento para tuberculose seria um encurtamento da duração atual de seis meses, tornando mais simples a adesão do paciente e reduzindo a seleção de cepas resistentes decorrentes de recidivas. O ideal seria o desenvolvimento de novos fármacos, no entanto algum tempo será necessário para que atinjam o mercado. Uma possível solução é otimizar o tratamento já existente que, na maioria das vezes, elimina a carga bacilar dos pacientes suscetíveis que cumprem o tratamento corretamente (MITCHISON; FOURIE, 2010; PANDIT; TIWARI, 2011).

Além do problema de duração da terapia anti-tuberculose, outras lacunas ainda não foram preenchidas, como o surgimento de cepas resistentes; o encurtamento do tratamento pela redução do número de medicamentos administrados por dia; redução da frequência de administração e a possibilidade do uso simultâneo de antirretrovirais (KOUL et al., 2011).

A dificuldade de formulação relacionada à rifampicina advém de sua classificação biofarmacêutica na classe II, embora estudos sugiram uma reclassificação para a classe IV. Geralmente este fármaco não é liberado da fórmula em tempo hábil ao longo do TGI, sofrendo metabolização local e efeito de primeira passagem, com absorção também limitada (AGRAWAL et al., 2004a; AGRAWAL; PANCHAGNULA, 2005; MARIAPPAN; SINGH, 2006; SOSNIK et al., 2010;).

A formulação com dose fixa associada de rifampicina e isoniazida pode ser substancialmente dificultada devido à interação entre ambas em meio gástrico, formando uma

hidrazona insolúvel. A má absorção intestinal de medicamentos anti-tuberculose pode ser observada em apenas 2-5% dos pacientes e dentre os pacientes co-infectados por tuberculose e AIDS, rifampicina e etambutol têm uma redução mais pronunciada da absorção intestinal. Desta forma, o problema de biodisponibilidade da rifampicina é mais atribuível a fatores extrínsecos, tais como formulação ou à própria matéria prima rifampicina, em vez de variabilidade intrínseca de absorção da mesma (AGRAWAL et al., 2004; SOSNIK et al., 2010).

Os pacientes pediátricos constituem uma população de alto risco. Conforme a OMS, 250.000 crianças desenvolvem a doença a cada ano. A farmacocinética de vários medicamentos anti-tuberculose tem contribuído para a baixa eficácia em crianças. Além disso, existe um número limitado de formulações compatíveis com esta população, com a maioria dos medicamentos de primeira linha sem apresentações comerciais pediátricas e, sendo produzidos apenas extemporaneamente (KOUP et al., 1986; SMITH; SEAWORTH, 2005).

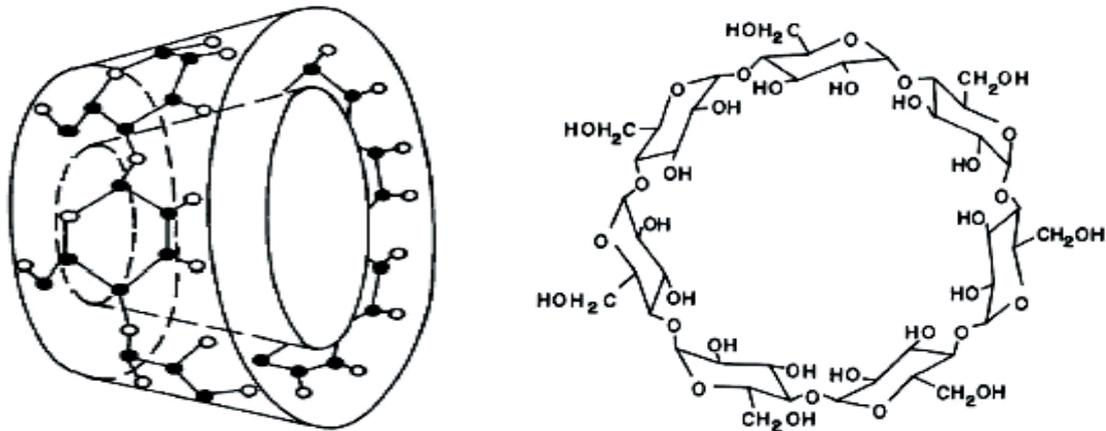
Para atingir o objetivo de redução do período de tratamento algumas técnicas foram empregadas, como ensaios com doses maiores de rifampicina (MITCHISON; FOURIE, 2010); uso de formulações inaláveis (ABDULLA; TAN; DARWIS, 2010; SON; McCONVILLE, 2011; TEWES et al., 2008; YADAV et al., 2011); emprego de polímeros hidrossolúveis (DURÁN et al., 2008; HIROTA et al., 2010; KUMAR et al., 2009; MANCA et al., 2008; QURRAT-UL-AIN et al., 2003), e nanotecnologias para obtenção de dispersões sólidas, lipossomas e complexos de inclusão (FERREIRA et al., 2004; GAUR et al., 2009; KRASNYUK JR, 2009) para controlar a liberação do fármaco e melhorar a biodisponibilidade do mesmo.

### 3. CICLODEXTRINAS: INCREMENTO DE SOLUBILIDADE E PERMEABILIDADE

O ajuste das propriedades físico-químicas de princípios ativos tornou-se uma manobra comum para que sejam liberados no local de ação adequado, além do domínio da cinética de liberação do fármaco, e concepção de formulações estáveis. Fármacos pertencentes às classes II e IV têm solubilidade aquosa baixa, no entanto, este problema muitas vezes é solucionado através de projetos de formulação criteriosa (MA; MOULTON, 2011).

Devido à versatilidade e vantajosas propriedades, as ciclodextrinas possuem aplicações nas mais distintas áreas, e são consideradas excipientes funcionais, uma vez que têm sido exploradas principalmente no incremento da solubilidade, permeabilidade e estabilidade de fármacos e na redução de seus efeitos colaterais. Também é possível destacar sua utilização para mascarar odores e sabores desagradáveis, para reduzir ou eliminar irritações oculares ou

gastrointestinais, na prevenção de interações e incompatibilidades e na conversão de fármacos líquidos em produtos sólidos (BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008; PATIL et al., 2010).



**Figura 4.** Estrutura tridimensional e molecular geral das ciclodextrinas (RASHEED; ASHOK KUMAR; SRAVANTHI, 2008).

As ciclodextrinas naturais são formadas a partir da enzima ciclodextrina- $\alpha$ -glicosiltransferase (CGTase), obtida do *Bacillus macerans*, apresenta a propriedade de transformar a cadeia linear de amido em moléculas, conhecidas como ciclodextrinas. As formas naturais,  $\alpha$ ,  $\beta$ , e  $\gamma$ -ciclodextrinas, são compostas, respectivamente, por 6, 7 e 8 unidades de  $\alpha$ -D-glicopirranose. Estes oligossacarídeos são moléculas cristalinas, homogêneas, que possuem estrutura troncocônica (Figura 4) (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; RASHEED; ASHOK KUMAR; SRAVANTHI, 2008; SALTÃO; VEIGA, 2001).

A molécula possui uma cavidade hidrofóbica devido aos grupos alquila e ligações éteres dos oxigênios glicosídicos, ao passo que a superfície hidrofílica baseia-se nas hidroxilas primárias orientadas para a porção externa. Tal arranjo resulta no incremento de solubilidade de fármacos hidrofóbicos através da formação de complexos de inclusão (VEIGA; PECORELLI; RIBEIRO, 2006).

As ciclodextrinas naturais têm solubilidade aquosa limitada, devido à formação de fortes pontes de hidrogênio intermoleculares no estado de cristal, que não podem ser hidrolisadas pela saliva humana e amilases pancreáticas, embora sejam submetidas à fermentação pela flora intestinal. As modificações químicas das CDs consistem, basicamente, na adição de grupos hidroxílicos por ligações de diferentes grupos funcionais. A introdução de diferentes substituintes ao nível dos grupos hidroxílicos da  $\beta$ -CD, tem resultado num

aumento significativo da sua solubilidade aquosa (GUEDES et al., 2008; RASHEED; ASHOK KUMAR; SRAVANTHI, 2008).

Atualmente, existem centenas de derivados, mas os de maior interesse farmacêutico são os derivados hidroxialquilados, isto é, os derivados hidroxipropil da  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD (HP- $\beta$ -CD e HP- $\gamma$ -CD), mediante a substituição dos grupos hidroxílicos em C2, C3 e C6 por substituintes 2-hidroxipropil; os metilados da  $\beta$ -CD, como, por exemplo, 2,3,6-metil- $\beta$ -CD, também designada “randomly methylate  $\beta$ -cyclodextrin” (RM- $\beta$ -CD) e as sulfobutil-éter- $\beta$ -CD (SBE- $\beta$ -CD) (GUEDES et al., 2008; SALTÃO; VEIGA, 2001).

**Tabela 1.** Toxicidade aguda de ciclodextrinas naturais e derivadas em ratos.

<b>Ciclodextrina</b>	<b>DL<sub>50</sub> Oral (g/Kg)</b>	<b>DL<sub>50</sub> Intravenosa (g/Kg)</b>
<b><math>\alpha</math></b>	> 10	0,5 – 0,8
<b><math>\beta</math></b>	19	1
<b><math>\gamma</math></b>	> 8	4
<b>HP-<math>\beta</math></b>	10	> 2
<b>RM-<math>\beta</math></b>	1,5 – 2,1	> 8
<b>SBE-<math>\beta</math></b>	> 15	> 10

Fonte: Adaptado de BREWSTER; LOFTSSON, 2007.

As ciclodextrinas naturais  $\alpha$ -CD e  $\beta$ -CD, juntamente com um grande número de derivados alquilados, apresentam nefrotoxicidade e atividade hemolítica, por remoção de colesterol, fosfolipídios e proteínas após administração parenteral. Isto acontece devido à precipitação das CDs nos rins (pela sua solubilidade limitada) e formação de complexos com o colesterol (Tabela 1). As formas naturais e seus derivados são empregados em formulações tópicas e orais, mas apenas a  $\alpha$ -ciclodextrina e os derivados hidrofílicos de  $\beta$ - e  $\gamma$ -ciclodextrina podem ser usadas em formulações parenterais (GUEDES et al., 2008).

A cavidade da ciclodextrina fornece um ambiente no qual moléculas de tamanho adequado são captadas, provendo um incremento de solubilidade para uma diversidade de substâncias hóspedes através do encapsulamento molecular que pode ocorrer tanto no estado sólido, quanto em solução. Não há formação ou quebra de ligações covalentes durante o acoplamento das moléculas, haja visto que em soluções aquosas o complexo é prontamente dissociado, conferindo um caráter dinâmico aos complexos de inclusão (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; SINGH et al., 2010).

Há várias abordagens relatadas na literatura para preparo dos complexos de inclusão. As variáveis envolvidas na obtenção do complexo são baseadas nas propriedades do fármaco,

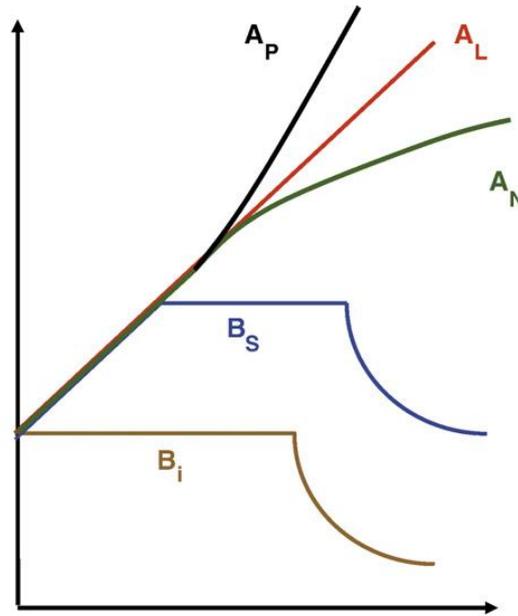
como o tamanho, geometria e polaridade da molécula em relação ao hóspede, a temperatura, o uso de adjuvantes e o método de preparo. São diversos os métodos de obtenção dos complexos de inclusão, dentre eles as técnicas de mistura física; evaporação; co-precipitação; precipitação por neutralização; malaxagem; atomização; co-evaporação do solvente; liofilização; irradiação de microondas; e anti-solvente supercrítico (PATIL et al., 2010).

A estequiometria dos complexos formados e o valor numérico das suas constantes de estabilidade ( $K_c$ ) e dissociação ( $K_d$ ) podem ser determinados através de alterações na solubilidade, reatividade química ou absorvância do fármaco, dos efeitos sobre a permeabilidade através de membranas artificiais, entre outras. O valor da  $K_c$  varia frequentemente entre 50 e 2000  $M^{-1}$ , conforme a ciclodextrina envolvida e sua afinidade pelo fármaco (RASHEED; ASHOK KUMAR; SRAVANTHI, 2008; BREWSTER; LOFTSSON, 2007).

O diagrama de solubilidade é um dos métodos clássicos para verificação da formação do complexo de inclusão, a partir da constante de estabilidade e sua estequiometria. A técnica desenvolvida e interpretada por Higuchi e Connors permite avaliar os diferentes comportamentos dos fármacos adicionados em excesso a volumes fixos de soluções de ciclodextrinas em concentrações crescentes, podendo ser classificados em dois tipos: A e B (Figura 5) (LYRA et al., 2010).

No sistema A, ocorre um aumento gradual da solubilidade em função da concentração de CD, com subtipos  $A_L$ ,  $A_P$  e  $A_N$ , assim classificados conforme a inclinação da reta. Complexos do tipo  $A_L$  têm estequiometria 1:1 e tem a solubilidade aumentada linearmente em função do aumento das concentrações de CD. Complexos  $A_P$  e  $A_N$  possuem estequiometria maior e menor que 1, respectivamente, haja visto que as suas retas sofrem desvios, caracterizando a maior ou menor solubilidade do complexo em relação ao fármaco livre (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; LYRA et al., 2010).

Enquanto o sistema B representa os complexos cuja solubilidade aquosa é limitada, dividindo-se ainda em sistemas  $B_S$  e  $B_I$ . O complexo do tipo  $B_S$  tem um incremento inicial de solubilidade, seguido por um equilíbrio e, ao atingir o limite de solubilidade, precipita-se. O outro complexo,  $B_I$ , não possui solubilidade diferente do fármaco livre, mantendo o equilíbrio até que inicie a precipitação do complexo formado (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; LYRA et al., 2010).



**Figura 5.** Representação dos tipos de diagramas de solubilidade obtidos a partir da complexação de fármacos com moléculas carreadoras (Adaptado de BREWSTER; LOFTSSON, 2007).

A molécula hóspede experimenta mudanças nas propriedades físico-químicas quando é incorporada à cavidade da ciclodextrina, por isso é importante a caracterização do material obtido a fim de confirmar a formação do complexo e determinar suas propriedades. Os complexos de inclusão formados entre moléculas hóspedes e ciclodextrina podem ser caracterizados tanto no estado sólido, quanto em solução, a partir de técnicas que complementam-se para elucidar as propriedades do novo composto (SINGH et al., 2010).

O complexo no estado sólido pode ser caracterizado a partir de análise térmica; microscopia eletrônica de varredura; difração de raios X; teste de dissolução; espectroscopia no infravermelho. Porém, no estado líquido técnicas eletroquímicas; diagrama de solubilidade de fases; métodos espectroscópicos; ressonância magnética nuclear (RMN) e microcalorimetria são mais utilizadas (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; SINGH et al., 2010).

Além dos experimentos convencionais, métodos computacionais tornaram-se ferramentas importantes nesta linha de pesquisa, pois nem sempre se dispõe de tempo, infraestrutura e recursos para execução de todos os ensaios. Múltiplos métodos *in silico* são usados para descrever as interações moleculares do complexo de inclusão e a orientação do fármaco na cavidade da ciclodextrina. Estruturas moleculares com energia conformacional mínima podem ser dimensionadas com a teoria do funcional da densidade e métodos semi-

empíricos, enquanto os cálculos do estado de excitação eletrônica são executados por programas específicos (AALTONEN et al., 2008; ARAÚJO et al., 2009; BRITTO; MERZLIKINEA et al., 2011; NASCIMENTO JR; SANTOS, 2004).

#### 4. POLÍMEROS E DISPERSÕES SÓLIDAS

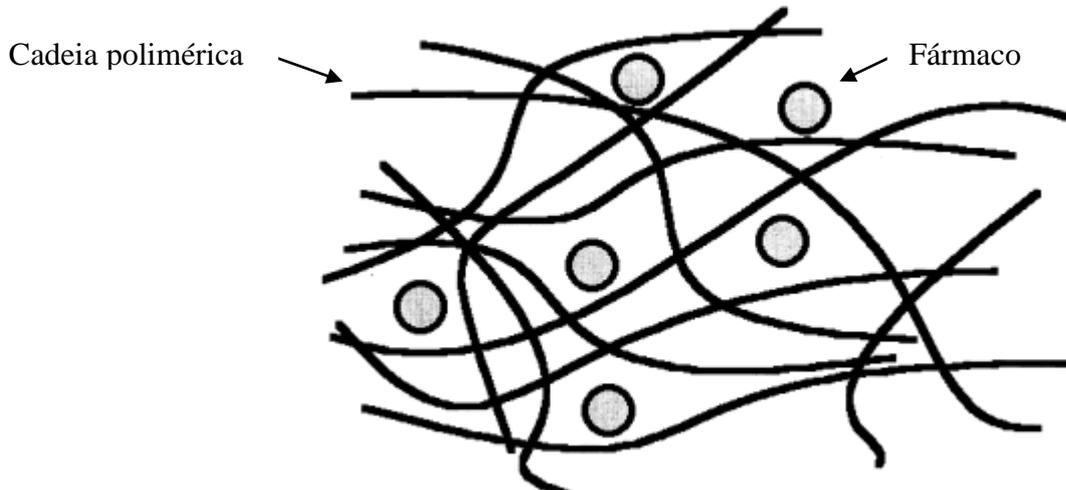
Durante o processo inicial de triagem de novas moléculas, os candidatos com baixa solubilidade em água podem ser excluídos das etapas subsequentes, pela grande probabilidade de falha em estágios tardios. O número de candidatos a fármacos com baixa solubilidade têm crescido, abrangendo cerca de 70% dos novos fármacos nos últimos anos. A fim de obter formulações oralmente biodisponíveis e eficazes, desenvolveram-se estratégias para contornar este obstáculo, e dispersões sólidas amorfas são uma opção promissora (CLARYSSE et al., 2011; GRIBBON; SEWING, 2005; KAWABATA et al., 2011; LUKYANOV; TOECHILIN, 2004; VAN DEN MOOTER, 2011).

O grande interesse da indústria farmacêutica em polímeros justifica-se pelo fato de contornarem problemas como falta de biocompatibilidade, ausência de solventes residuais e efeitos danosos ao fármaco durante a fabricação, quando comparados a outros excipientes. Quando uma mistura de um fármaco pouco solúvel em água e um veículo inerte, altamente solúvel, é dissolvida em um meio aquoso, o veículo se dissolve rapidamente liberando cristais muito finos do fármaco. A extensa área de superfície resulta em um aumento da taxa de dissolução e, conseqüentemente, a biodisponibilidade. A miscibilidade de um fármaco em um material polimérico é um processo que envolve três etapas dissolução, migração e difusão das moléculas do fármaco em função da solubilidade e coeficiente de difusão (OLIVEIRA; LIMA, 2006).

Os mecanismos sugeridos para obtenção de um melhor perfil de dissolução, a partir de dispersões sólidas, incluem a redução do tamanho de partícula do fármaco incorporado, transformação do fármaco, antes cristalino, para o estado amorfo, formação de soluções sólidas, formação de complexos, redução da agregação e aglomeração e umedecimento e melhoria da solubilização do fármaco pelo transportador na camada de difusão (VERHEYEN et al., 2002).

Em 1961, Sekiguchi e Obi propuseram pela primeira vez a utilização de dispersões sólidas para aumentar a dissolução e absorção oral de fármacos pouco solúveis em água. Este termo refere-se à dispersão de um ou mais princípio ativo em um carreador inerte no estado sólido (Figura 6). Podendo ser classificadas de acordo com a sua miscibilidade (contínua ou descontínua) e segundo a maneira na qual as moléculas de soluto são distribuídos no solvente

(substitucional, intersticial ou amorfo) (LIMBACHIYA, 2011; LEUNER; DRESSMAN, 2000).



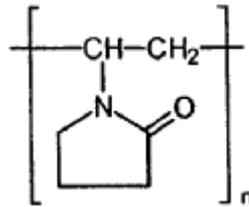
**Figura 6.** Representação de dispersão sólida amorfa de fármaco e polímero (Adaptado de LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Os carreadores mais comumente utilizados são polímeros hidrofílicos polietilenoglicóis (PEG), derivados da celulose e polivinilpirrolidona (PVP). Desta forma, a relação entre as características de libertação da dispersão sólida e uma mistura física dos dois componentes varia de acordo com a combinação fármaco / transportador. E os principais métodos de preparação de dispersões sólida são: método de fusão por extrusão, método de evaporação do solvente e *spray drying* (SAFFOON et al., 2011; LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Os PEGs são polímeros de óxido de etileno, com um elevado peso molecular. Para preparação de dispersões sólidas utilizam-se, preferencialmente, aqueles com pesos moleculares de 1.500 a 20.000 Da, pois este é diretamente proporcional à sua viscosidade. A sua solubilidade em água geralmente é satisfatória e uma vantagem especial dos PEGs, para a formação de dispersões sólidas, é que eles também possuem solubilidade razoável em muitos solventes orgânicos. Os PEGs com ponto de fusão relativamente baixo são vantajosos para a obtenção de dispersões sólidas pelo método de fusão (BLEY; FUSSNEGGER; BODMEIER, 2010; LEUNER; DRESSMAN, 2000).

A polimerização da vinilpirrolidona leva a formação de polivinilpirrolidona de massas moleculares variando entre 2.500 a 3.000.000 Da (Figura 7). A temperatura de transição vítrea de um PVP é dependente não só da sua massa molecular, mas também do teor de umidade. Em geral, a temperatura de transição vítrea é elevada, entre 110 e 180 °C. Devido à sua boa

solubilidade em uma grande variedade de solventes orgânicos, são adequados para a preparação de dispersões sólidas pelo método de evaporação do solvente (LEUNER; DRESSMAN, 2000).



**Figura 7.** Estrutura genérica do polímero Polivinilpirrolidona.

Celuloses são polissacarídeos naturais, constituídos por cadeias de elevada massa molecular, não-ramificadas, nas quais as unidades glicosídicas estão ligadas por ligações  $\beta$ -1,4-glicosídea. a celulose pode ser derivatizada, por alquilação apropriada, para formar metil-(MC), hidroxipropil- (HPC), hidroxipropilmetilcelulose- (HPMC) e muitos outros produtos semi-sintéticos à base de celulose (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

A instabilidade em função do tempo ou desencadeada por condições de armazenamento é frequentemente relatada e contribui para a discrepância entre a pesquisa científica intensa e o número reduzido de dispersões sólidas que atingem o mercado. Entretanto, diferentes técnicas analíticas têm sido utilizadas para caracterizá-las, como por exemplo, a calorimetria diferencial de varredura, termogravimetria, difração de raios X, ressonância magnética nuclear, espectroscopia no infravermelho e perfil de dissolução (GAVRILIN, 2001; VAN DEN MOOTER, 2011).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALTONEN, J.; GORDON, K. C.; STRACHAN, C. J.; RADES, T. **Perspectives in the use of spectroscopy to characterize pharmaceutical solids.** International Journal of Pharmaceutics. v. 34, p. 159-169, 2008.

ABDULLA, J. M.; TAN, Y. T.; DARWIS, Y. **Rehydrated Lyophilized Rifampicin-Loaded mPEG–DSPE Formulations for Nebulization.** AAPS Pharma Science Technology. v. 11, n. 2, p. 663-671, 2010.

AGRAWAL, S.; PANCHAGNULA, R. **Implication of biopharmaceutics and pharmacokinetics of rifampicin in variable bioavailability from solid oral dosage forms.** Biopharmaceutics & Drug Disposition. v. 26, p. 321–334, 2005.

AGRAWAL, S.; SINGH, I.; KAUR, K. J.; BHADE, S.; KAUL, C. L.; PANCHAGNULA, R. **Bioequivalence trials of rifampicin containing formulations: extrinsic and intrinsic factors in the absorption of rifampicin.** Pharmacological Research. v. 50, p. 317–327, 2004.

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. **A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability.** Pharmaceutical Research. v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ARAÚJO, M. V. G.; MACEDO, F. L. O.; NASCIMENTO, C. C.; CONEGERO, L. S.; BARRETO, L. S.; ALMEIDA, L. E.; COSTA, N. B.; GIMENEZ, L. F. **Characterization, phase solubility and molecular modeling of  $\beta$ -cyclodextrin/pyrimethamine inclusion complex.** Spectrochim Acta. v. 72, p. 165–170, 2009.

ARISTOFF, P. A.; GARCIA, G. A.; KIRCHHOFF, P. D.; HOLLIS SHOWALTER, H. D. **Rifamycins e Obstacles and opportunities.** Tuberculosis. v. 90, p. 94-118, 2010.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BACCHI, A.; PELIZZI, G. **Comprehensive Study on Structure-Activity Relationships of Rifamycins: Discussion of Molecular and Crystal Structure and Spectroscopic and Thermochemical Properties of Rifamycin O.** *Journal of Medicinal Chemistry*. n. 41, p. 2319-2332, 1998.

BARRETO, L. C. L. S.; CUNHA-FILHO, M. S. S. **Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional.** *Latin American Journal of Pharmacy*. n. 27, v. 4, p. 629-636, 2008.

BECKER, C.; DRESSMAN, J. B.; JUNGINGER, H. E.; KOPP, S.; MIDHA, K. K.; SHAH, V. P.; STAVCHANSKY, S.; BARENDT, D. M.. **Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Rifampicin.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 98, n. 7, p. 2252-2267, 2009.

BLEY, H.; FUSSNEGGER, B.; BODMEIER, R. **Characterization and stability of solid dispersions based on PEG/polymer blends.** *International Journal of Pharmaceutics*. v. 390, p. 165–173, 2010.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**, 5ª ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2010.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. **Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers.** *Advanced Drug Delivery Reviews*. v. 59, p. 645–666, 2007.

BRITTO, M. A. F. O.; NASCIMENTO JR., C. S.; SANTOS, H. F. **Análise estrutural de ciclodextrinas: um estudo comparativo entre métodos teóricos clássicos e quânticos.** *Química Nova*, v. 27, n. 6, p. 882-888, 2004.

CHARKOFTAKI, G.; DOKOUMETZIDIS, A.; VALSAMI, G.; MACHERAS, P. **Biopharmaceutical classification based on solubility and dissolution: A reappraisal of criteria for hypothesis models in the light of the experimental observations.** *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. v. 106, n. 3, p. 168–172, 2009.

CHATELAIN, E.; IOSET, J. **Drug discovery and development for neglected diseases: the DNDi model.** *Journal of Drug Design, Development and Therapy*. v. 5, p. 175-181, 2011.

CHATURVEDI, A. K.; VERMA, A. **Solubility enhancement of poorly water soluble drugs by solid dispersion.** International Journal of Pharmaceuticals and Research Development. v. 3, n. 1, p. 26-34, 2012.

CLARYSSE, S.; BROUWERS, J.; TACK, J.; ANNAERT, P.; AUGUSTIJNS, P. **Intestinal drug solubility estimation based on simulated intestinal fluids: Comparison with solubility in human intestinal fluids.** European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics. v. 43, n. 4, p. 260-269, 2011.

COOPER, A. M.; FLYNN, J. L. **The protective immune response to Mycobacterium tuberculosis.** Current Opinion in Immunology. v. 7, p. 512-516, 1995.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. **Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. v. 28, n.1, p.1-9, 2007.

DUCATI, R. G.; RUFFINO-NETTO, A.; BASSO, L. A.; SANTOS, D. S. **The resumption of consumption - A review on tuberculosis.** Memorial do Instituto Oswaldo Cruz. v. 101, n. 7, p. 697-714, 2006.

DURÁN, N.; ALVARENGA, M. A.; SILVA, E. C.; MELO, P. S.; MARCATO, P. D. **Microencapsulation of Antibiotic Rifampicin in Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate).** Archives of Pharmacal Research. v. 31, n. 11, p. 1509-1516, 2008.

FERREIRA, D. A.; FERREIRA, A. G.; VIZZOTTO, L.; FEDERMAN NETO, A.; OLIVEIRA, A. G. **Analysis of the molecular association of rifampicin with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. v. 40, n. 1, 2004.

FLYNN, J. L.; CHAN, J. **Immunology of tuberculosis.** Annual Review of Immunology. n. 19, p. 93-129, 2001.

FREITAS, F. A. D., SIQUEIRA, H. R., ALBANO, R. M. **Métodos moleculares na tuberculose e resistência do *Mycobacterium tuberculosis*.** Pulmão. v. 18, n. 2, p. 96-101, 2009.

GAUR, P. K.; MISHRA, S.; GUPTA, V. B.; RATHOD, M. S.; PUROHIT, S.; SAVLA, B. A. **In-Situ Formation of Liposome of Rifampicin: Better Availability for Better Treatment.** *Current Drug Delivery.* v. 6, p. 461-468, 2009.

GAVRILIN, M. V. **Application of polymers and copolymers based on acrylic acid and ethylene oxide in pharmacy (A review).** *Pharmaceutical Chemistry Journal.* v. 35, n. 1, p. 35-39, 2001.

GUEDES, F. L.; ALVES, G. M. C.; SANTOS, F. L. A.; LIMA, L. F.; ROLIM, L. A.; ROLIM-NETO, P. J. **Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos.** *Revista Brasileira de Farmácia,* v. 89, n. 3, p. 220-225, 2008.

GRIBBON, P.; SEWING, A. **High-throughput drug discovery: what can we expect from HTS?** *Drug Discovery Today.* v. 10, n. 1, p. 17-22, 2005.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **Goodman & Gilman - As Bases Farmacológicas da Terapêutica.** Rio de Janeiro: McGraw Hill, 11<sup>a</sup> ed. 2006.

HIROTA, K.; HASEGAWA, T.; NAKAJIMA, T.; INAGAWA, H.; KOHCHI, C.; SOMA, G.; MAKINO, K.; TERADA, H. **Delivery of rifampicin-PLGA microspheres into alveolar macrophages is promising for treatment of tuberculosis.** *Journal of Controlled Release.* v. 142, p. 339-346, 2010.

JACOB, S.; NAIR, A. B.; PATIL, P. N.; PANDA, B. P. **Solid state crystallinity, amorphous state, and its implications in the pharmaceutical process.** *International Journal of Pharmaceuticals and Research Development.* v. 2, n. 3, p. 472-482, 2011.

KAWABATA, Y.; WADA, K.; NAKATANI, M.; YAMADA, S.; ONOUE, S. **Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications.** *International Journal of Pharmaceutics.* v. 420, n. 1, p. 1-10, 2011.

KNECHEL, N. A. **Tuberculosis: Pathophysiology, Clinical Features, and Diagnosis.** *Critical Care Nurse.* n. 29, p. 34-43, 2009.

KOUL, A.; ARNOULT, E.; LOUNIS, N.; GUILLEMONT, J.; ANDRIES, K. **The challenge of new drug discovery for tuberculosis.** *Nature*. v. 469, p. 483-490, 2011.

KOUP, J. R.; WILLIAMS-WARREN, J.; VISWANATHAN, C. T.; WEBER, A.; SMITH, A. L. **Pharmacokinetics of rifampin in children II. Oral bioavailability,** *Therapeutic Drug Monitoring*. v. 8, p. 17-22, 1986.

KRASNYUK JR, I. I. **Effects of solid dispersions on the solubility of antibiotics.** *Pharmaceutical Chemistry Journal*. v. 43, n. 4, 2009.

KU, M. S. **Use of the Biopharmaceutical Classification System in Early Drug Development.** *AAPS Journal*. v. 10, n. 1, p. 208-212, 2008.

KUMAR, K. N. A.; RAY, S. B.; NAGARAJA, V.; RAICHUR, A. M. **Encapsulation and release of rifampicin using poly(vinyl pyrrolidone)-poly(methacrylic acid) polyelectrolyte capsules.** *Materials Science and Engineering C*. v. 29, p. 2508-2513, 2009.

LAWN, S. D.; ZUMLA, A. I. **Tuberculosis.** *The Lancet*. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21420161>>. Acesso em: 03 mai. 2011.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. **Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. v. 50, n. 1, p. 47-60, 2000.

LIMBACHIYA, M. I. **Solubility enhancement techniques for poor soluble drugs: A review.** *International Journal of Pharmaceutics and Research Development*. v. 4, n. 4, p. 71-86, 2011.

LINDNER, K.; SZENTE, L.; SZEJTLI, J. **Food flavoring with  $\beta$ -cyclodextrin complex flavor substances.** *Acta Alimentaria*. v. 10, n. 3, p. 175-185, 1981.

LINDOSO, J. A. L.; LINDOSO, A. A. B. P. **Neglected tropical diseases in Brazil.** *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. v. 51, n. 5, p. 247-253, 2009.

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

LUKYANOV, A. N.; TORCHILIN, V. P. **Micelles from lipid derivatives of water-soluble polymers as delivery systems for poorly soluble drugs.** Advanced Drug Delivery Reviews. v. 56, n. 9, p. 1273-1289, 2004.

MA, Z.; MOULTON, B. **Recent advances of discrete coordination complexes and coordination polymers in drug delivery.** Coordination Chemistry Reviews. v. 255, p. 1623–1641, 2011.

MANCA, M. L.; LOY, G.; ZARU, M.; FADDA, A. M.; ANTIMISIARIS, S. G. **Release of rifampicin from chitosan, PLGA and chitosan-coated PLGA microparticles.** Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. v. 67, p. 166–170, 2008.

MARIAPPAN, T. T.; SINGH, S. **Positioning of rifampicin in the Biopharmaceutics Classification System (BCS).** Clinical Research and Regulatory Affairs. v. 23, p. 1–10, 2006.

**Martindale: The Complete Drug Reference.** 36th Edition. London: Pharmaceutical Press, 2009.

MERZLIKINEA, A.; ABRAMOVA, Y. A.; KOWSZA, S. J.; THOMASA, V. H.; MANO, T. **Development of machine learning models of beta-cyclodextrin and sulfobutylether- $\beta$ -cyclodextrin complexation free energies.** International Journal of Pharmaceutics. v. 418, p. 207–216, 2011.

MIRANDA, L. M.; CASTRO, M. L.; GARCÍA, M. T. **Estabilidad de tabletas de rifampicina 300 mg.** Revista Cubana de Farmacia. v.35, n. 1, p. 18-22, 2001.

MITCHISON, D. A.; FOURIE, P. B. **The near future: Improving the activity of rifamycins and pyrazinamide.** Tuberculosis. v. 90, p. 177-181, 2010.

OLIVEIRA, R. B.; LIMA, E. M. **Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos.** Revista Eletrônica de Farmácia. v. 3, n. 1, p. 29-35, 2006.

PANDIT, P.; TIWARI, S. **Recent advances in the chemotherapy of tuberculosis.** Indian Journal of Rheumatology. v. 6, n. 1, p. 95-98, 2011.

PATIL, J. S.; KADAM, D. V.; MARAPUR, S. C.; KAMALAPUR, M. V. **Inclusion complex system: A novel technique to improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs: A review.** International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. v. 2, p. 29–34, 2010.

PONTES, F. **Doenças negligenciadas ainda matam 1 milhão por ano no mundo.** [S.I.]: Inovação em pauta. n. 4, jun/jul. 2009. Disponível em: <[http://www.finep.gov.br/imprensa/revista/edicao6/inovacao\\_em\\_pauta\\_6\\_doencas\\_negl.pdf](http://www.finep.gov.br/imprensa/revista/edicao6/inovacao_em_pauta_6_doencas_negl.pdf)>. Acesso em: 09 jun. 2011.

QURRAT-UL-AIN; SHARMA, S.; KHULLER, G. K.; GARG, S. K. **Alginate-based oral drug delivery system for tuberculosis: pharmacokinetics and therapeutic effects.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. v. 51, p. 931–938, 2003.

RASHEED, A.; ASHOK KUMAR, C. K.; SRAVANTHI, V. V. N. S. S. **Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review.** SciencePharma. v. 76, p. 567–598, 2008.

RINAGGIO, J. **Tuberculosis.** Dental Clinics of North America. v. 47, p. 449–465, 2003.

RUFFINO-NETTO, A. **Tuberculose: a calamidade negligenciada.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v. 35, n. 1, p. 51-58, 2002.

RUSSELL, D. G.; BARRY, C. E.; FLYNN, J. L. **Tuberculosis: What We Don't Know Can, and Does, Hurt Us.** Science. v. 328, p. 852-856, 2010.

SAFFOON, N.; UDDIN, R.; HUDA, N. H.; SUTRADHAR, K. B. **Enhancement of Oral Bioavailability and Solid Dispersion: A Review.** Journal of Applied Pharmaceutical Science. v. 01, n. 7, p. 13-20, 2011.

SALTÃO, R.; VEIGA, F. **Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. v. 37, n. 1, jan./abr., 2001.

SALTINI, C. **Chemotherapy and diagnosis of tuberculosis**. Respiratory Medicine. v. 100, p. 2085–2097, 2006.

SANTOS, J. S.; BECK, S. T. **A coinfeção tuberculose e HIV: um importante desafio**. Revista Brasileira de Análises Clínicas. v. 41, n. 3, p. 209-215, 2009.

SANTOS, L. C.; BOUSQUET, H. M.; PEREIRA, A. M.; JUNQUEIRA-KIPNIS, A. P.; KIPNIS, A. **A high prevalence of resistance in new tuberculosis cases of midwestern Brazil**. Infection, Genetics and Evolution. v. 10, p. 1052–1057, 2010.

SINGH, R.; BHARTI, N.; MADAN, J.; HIREMATH, S. N. **Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review**. Journal of Pharmaceutical Science and Technology. v. 2, n. 3, p. 171-183, 2010.

SMITH, K. C.; SEAWORTH, B. J. **Drug-resistant tuberculosis: controversies and challenges in pediatrics**. Expert review of anti-infective therapy. v. 3, p. 995–1010, 2005.

SON, Y.; McCONVILLE, J. T. **A new respirable form of rifampicin**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. v. 78, n. 3, p. 366-376, 2011.

SOROKOUMOVA, G. M.; VOSTRIKOV, V. V. ; SELISHCHEVA, A. A.; ROGOZHKINA, E. A.; KALASHNIKOVA, T. YU.; SHVETS, V. I.; GOLYSHEVSKAYA, V. I.; MARTYNOVA, L. P.; EROKHIN, V. V. **Bacteriostatic activity and decomposition products of rifampicin in aqueous solution and liposomal composition**. Pharmaceutical Chemistry Journal. v. 42, n. 8, p. 35-38, 2008.

SOSNIK, A.; CARCABOSO, A. M.; GLISONI, R. J.; MORETTON, M. A.; CHIAPPETTA, D. A. **New old challenges in tuberculosis: Potentially effective nanotechnologies in drug delivery**. Advanced Drug Delivery Reviews. n. 62, p. 547–559, 2010.

SOUSA, M. V. N. **Rifampicina, um importante fármaco no combate a tuberculose.** Revista Brasileira de Farmácia. v. 86, n. 3, p. 92-94, 2005.

SZEJTLI, L. **Limits of cyclodextrins application in oral drug preparations.** Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry. v. 2, p. 487-501, 1984.

TEWES, F.; BRILLAULT, J.; COUET, W.; OLIVIER, J. C. **Formulation of rifampicin–cyclodextrin complexes for lung nebulization.** Journal of Controlled Release. v. 129, p. 93–99, 2008.

VAN DEN MOOTER, G. **The use of amorphous solid dispersions: A formulation strategy to overcome poor solubility and dissolution rate.** Drug Discovery Today: Technology, 2011. doi:10.1016/j.ddtec.2011.10.002TECHNOLOGIESDRUG.

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. **As ciclodextrinas em tecnologia farmacêutica.** MinervaCoimbra: Coimbra, 2006.

VERHEYEN, S.; BLATON, N.; KINGET, R.; VAN DEN MOOTER, G. **Mechanism of increased dissolution of diazepam and temazepam from polyethylene glycol 6000 solid dispersions.** International Journal of Pharmaceutics, v. 249, p. 45-58, 2002.

VILLEMAGNE, B.; CRAUSTE, C.; FLIPO, M.; BAULARD, A. R.; DÉPREZ, B.; WILLAND, N. **Tuberculosis: The drug development pipeline at a glance.** European Journal of Medicinal Chemistry. v. 51, p. 1-16, 2012.

WEHRLI, W.; KNUSEL, F.; SCHMID, K.; STAEHELIN, M. **Interaction of rifamycin with bacterial RNA polymerase.** Proceedings of the National Academy of Sciences USA. v. 61, n. 2, p. 667–673, 1968.

YADAV, A. B.; SINGH, A. K.; VERMA, R. K.; MOHAN, M.; AGRAWAL, A. K.; MISRA, A. **The devil's advocacy: When and why inhaled therapies for tuberculosis may not work.** Tuberculosis. v. 91, p. 65-66, 2011.

## CAPÍTULO II

### **Preparo e Caracterização dos Complexos de Inclusão do Fármaco Rifampicina com Ciclodextrinas Naturais e da Dispersão Sólida Rifampicina:PVP**

**Preparo e Caracterização dos Complexos de Inclusão do Fármaco Rifampicina com Ciclodextrinas Naturais e da Dispersão Sólida Rifampicina:PVP. LYGHIA MARIA ARAÚJO MEIRELLES.** Orientador: Alexandre Araújo de Souza. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Bioquímica e Farmacologia, UFPI, 2012.

### RESUMO

A rifampicina (RIF) é um dos antibióticos que compõe o tratamento atual, de primeira linha, contra a tuberculose. E embora possua uma margem de cura elevada, algumas limitações biofarmacêuticas restringem a otimização do tratamento como, por exemplo, sua baixa solubilidade oral. A fim de obter um incremento no perfil de solubilidade da RIF um estudo foi realizado para obtenção de sistemas binários a partir de ciclodextrinas naturais e polímero. Foram realizados ensaios de solubilidade com as ciclodextrinas naturais, e a partir do diagrama de solubilidade pôde-se determinar sua eficiência de complexão (EC) e constante de estabilidade ( $K_c$ ), com melhores resultados para  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD. Os ensaios foram seguidos primeiramente com a  $\beta$ -CD, tendo em vista o maior número de publicações a cerca desta molécula. O polímero PVP foi avaliado em proporções distintas junto ao fármaco, e elegeu-se a proporção 1:1 para obtenção da dispersão sólida. O complexo de inclusão CI RIF: $\beta$ -CD e dispersão sólida DS RIF:PVP foram obtidos pelo método de mistura física e malaxagem, seguido de caracterização por perfil de dissolução, calorimetria exploratória de varredura (DSC), espectroscopia no infravermelho (FTIR) e difração de raios X (DRX), confrontados com suas respectivas misturas físicas (MF). As diferenças entre o complexo RIF: $\beta$ -CD e dispersão sólida RIF:PVP de suas misturas físicas correspondentes foram constatadas e observou-se que as mesmas provocaram um incremento diferencial de solubilidade aquosa frente ao fármaco livre.

Palavras-chaves: Rifampicina, Solubilidade, Polivinilpirrolidona e Ciclodextrinas naturais.

**Preparation and Characterization of Inclusion Complexes of the Drug Rifampicin with Natural Cyclodextrins and Solid Dispersion Rifampicin:PVP. LYGHIA MARIA ARAÚJO MEIRELLES.** Advisor: Alexandre Araújo de Souza. Master's Dissertation. Post-Graduate Program in Pharmaceutical Sciences. Center for Health Sciences. Department of Biochemistry and Pharmacology, UFPI, 2012.

### ABSTRACT

Rifampin (RIF) is an antibiotic that makes up the current treatment of first-line TB. And although it has a high margin of healing, biopharmaceutical limitations restrict the optimization of treatment, eg, its low solubility oral. In order to obtain an increase in solubility profile of RIF a study was conducted to obtain binary systems from natural cyclodextrins and polymer. Tests of solubility with natural cyclodextrins, and from the solubility diagram was possible to determine its complexation efficiency (CE) and stability constant ( $K_c$ ), with better results for  $\beta$ CD and  $\gamma$ CD. Assays were followed primarily with  $\beta$ CD in view of the greater number of publications about this molecule. The polymer PVP was evaluated in different proportions with the drug chosen and the proportion of 1:1 for ontenção solid dispersion. The inclusion complex RIF CI:  $\beta$ CD and RIF solid dispersion DS: PVP was obtained by the method of physical mixing and kneading followed by characterization by dissolution profile, raster scanning calorimetry (DSC) infrared spectroscopy (FTIR), and X-ray diffraction (XRD), faced with their physical mixtures (MF). The differences between the complex RIF:  $\beta$ CD and solid dispersion RIF: PVP their corresponding physical mixtures were observed and it was observed that they caused an increase aqueous solubility differential across the free drug.

Key-words: Rifampicin, Solubility, Polyvinyl pyrrolidone and Natural ciclodextrins.

## 1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa, causada pelo *Micobacterium tuberculosis*. Esta cepa possui afinidade por ambientes aerados, instalando-se preferencialmente nos pulmões do indivíduo suscetível. Em 1993, a Organização Mundial de Saúde declarou a TB uma emergência de saúde pública mundial, num momento em que foram estimados 7-8 milhões de casos. Em 2010, havia cerca de 8,5 - 9,2 milhões de casos, enquadrando-se como a segunda causa principal de mortes por doença infecciosa no mundo (DUCATI et al., 2006; WHO, 2011).

O tratamento utilizando combinações de fármacos anti-TB, desenvolvidos nos anos 1940 e 1950, pode reduzir drasticamente as taxas de mortalidade, com uma margem de cura superior a 90%. A rifampicina, um dos fármacos que compõem o tratamento atual, possui limitações biofarmacêuticas. A baixa solubilidade e boa permeabilidade tornam esta molécula pertencente à classe II, conforme o Sistema de Classificação Biofarmacêutico, embora estudos em animais indiquem que sua biodisponibilidade comprometida deva-se não somente à dissolução reduzida, quando administrada via oral (AGRAWAL et al., 2004a; AGRAWAL; PANCHAGNULA, 2005; SOSNIK et al., 2010; WHO, 2011).

O número de novos candidatos a fármacos com solubilidade limitada em meio aquoso tem crescido ao longo das duas últimas décadas, devido à utilização de ferramentas combinatórias de elevado potencial para a descoberta e seleção de moléculas. Para tanto, algumas estratégias podem ser adotadas na elaboração de uma formulação a fim de contornar este obstáculo, como: secagem por atomização, redução do tamanho de partículas, amorfização, modificação do cristal, sistemas de liberação auto-emulsionantes ou formação de complexos de inclusão com ciclodextrina (KAWABATA et al., 2011; MA; MOULTON, 2011; VAN DEN MOOTER, 2011).

As ciclodextrinas podem ser diferenciadas pela dimensão de sua cavidade, além de cargas e grupos substituintes, o que possibilita a escolha do agente complexante conforme as características da molécula hóspede. Alguns trabalhos demonstram a complexação de rifampicina com ciclodextrinas naturais e derivadas. O emprego desta tecnologia na obtenção de formas farmacêuticas apóia-se no incremento de solubilidade obtido a partir da encapsulação parcial do fármaco na cavidade da molécula hospedeira (CHADHA et al., 2010; FERREIRA et al., 2004; KUMAR et al., 2011; LIMBACHIYA, 2012; TAKAHASHI et al., 2012).

As dispersões sólidas constituem uma ferramenta viável para otimização da biodisponibilidade de fármacos insolúveis em água, a partir de sua dispersão em um veículo hidrofílico inerte no estado sólido. Tal matriz geralmente é de origem polimérica, sendo os excipientes mais utilizados hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicóis (PEGs), entre outros. O fármaco permanece disperso entre as cadeias poliméricas, que promovem a solubilização do mesmo. Embora o produto obtido seja amorfo, ou seja, termodinamicamente instável, apresenta vantagens como redução do tamanho de partícula, obtenção de partículas mais porosas, sob processos simples e de baixo custo, tornando esta técnica adequada para preparo de dispersões solúveis (DAHLBERG et al., 2010; SAFFOON et al., 2011; VAN DEN MOOTER, 2011).

Desta forma, a dispersão sólida com o polímero polivinilpirrolidona e os complexos de inclusão com as ciclodextrinas naturais e rifampicina foram avaliados comparativamente, quanto à possibilidade de empregá-los como estratégias para incremento de solubilidade deste fármaco.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. MATERIAIS E REAGENTES

Rifampicina (RIF) foi cedida pelo Núcleo de Pesquisa em Alimentos e Medicamentos (NUPLAM) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Polivinilpirrolidona (PVP K 30),  $\alpha$ -ciclodextrina ( $\alpha$ -CD),  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) e  $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD) foram cedidas pelo Núcleo de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal do Piauí. As soluções foram preparadas utilizando reagentes de grau analítico, água destilada e membranas filtrantes de porosidade 28  $\mu$ m.

### 2.2. DIAGRAMA DE SOLUBILIDADE DAS CICLODEXTRINAS

O estudo de solubilidade foi realizado conforme o método descrito por Higuchi e Connors (1965), em triplicata, adicionando-se excesso de RIF a tubos de ensaio contendo soluções aquosas da ciclodextrinas naturais,  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD, em concentrações crescentes (0 – 10 mmolL<sup>-1</sup>). As amostras foram mantidas em banho-maria (Nova Ética modelo 304D) a 37°C, sob agitação, por 2 dias, até obter-se o equilíbrio. Alíquotas foram retiradas, filtradas

em papel filtro e adequadamente diluídas em água destilada. O conteúdo foi determinado em espectrofotômetro UV-Vis (Varian modelo AA 50) no LIMAV, no comprimento de onda de 475 nm, a partir da equação da reta  $y = 0,0198x + 0,0185$  ( $R^2 = 0,9999$ ).

### 2.3. AVALIAÇÃO DO POLÍMERO

A polivinilpirrolidona (PVP) é um dos principais polímeros empregados em dispersões sólidas, neste trabalho avaliou-se o seu potencial em incrementar a solubilidade de rifampicina (RIF). Preparou-se soluções de RIF:PVP nas proporções 1:1 e 1:2, as quais foram incubadas em banho-maria a 37°C, sob agitação, por 2 dias, até atingir o equilíbrio. Alíquotas foram retiradas, filtradas em papel filtro e adequadamente diluídas em água destilada. O conteúdo foi determinado espectrofotometricamente, no comprimento de onda de 475 nm, a partir da equação da reta  $y = 0,0198x + 0,0185$ . Os experimentos foram realizados em triplicata.

### 2.4. PREPARO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO E DA DISPERSÃO SÓLIDA

Os complexos de inclusão RIF:CD foram preparados empregando as ciclodextrinas naturais ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD) pelo método de malaxagem, na razão molar 1:1. O método de malaxagem consiste em triturar a massa do sistema binário RIF e CD em gral de porcelana, com auxílio de pistilo, adicionando uma pequena quantidade de água destilada, suficiente para obter uma pasta. Em seguida, o gral contendo a mistura foi mantido em banho-maria, sob 37°C, até secagem completa, protegido da luz. O material resultante foi triturado, dessecado, e acondicionado em frasco-ampola de vidro hermeticamente fechado, sendo armazenado em dessecador. empregado também para obtenção da dispersão sólida RIF:PVP, na proporção de 1:1 (p/p)

Para preparo da dispersão sólida RIF:PVP, pesou-se RIF e PVP na proporção 1:1 (p/p). O método de malaxagem adotado consiste em triturar a massa do sistema binário RIF e PVP em gral de porcelana, com auxílio de pistilo, adicionando uma pequena quantidade de água destilada, suficiente para obter uma pasta. Em seguida, o gral contendo a mistura foi mantido em banho-maria, sob 37°C, até secagem completa, protegido da luz. O material resultante foi triturado, dessecado, e acondicionado em frasco-ampola de vidro hermeticamente fechado, sendo armazenado em dessecador.

## 2.5. PREPARO DAS MISTURAS FÍSICAS

As misturas físicas de rifampicina e ciclodextrinas (MF RIF:CD) foram preparadas mediante pesagem de quantidade equimolar (1:1) e a mistura física de rifampicina e PVP (MF RIF:PVP) foi pesada na proporção de 1:1 (p/p). A massa de cada sistema binário foi triturada em gral de porcelana, com auxílio de pistilo, até homogeneização. O material resultante foi acondicionado em frasco-ampola hermeticamente fechado e armazenado em dessecador de vidro.

## 2.6. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO, DISPERSÃO SÓLIDA E MISTURAS FÍSICAS

### 2.6.1. CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A análise térmica através de DSC (2920 TA Instruments), foi realizada no Laboratório de Análise de Combustíveis (LAPETRO) da UFPI, em atmosfera dinâmica de nitrogênio ( $50 \text{ mLmin}^{-1}$ ), empregando uma massa de aproximadamente 5,5 mg, acondicionada em porta-amostra de alumínio, hermeticamente fechado. Analisou-se o fármaco puro, as ciclodextrinas ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD), o PVP, as misturas físicas, os complexos de inclusão obtidos por malaxagem e a dispersão sólida, na faixa de aquecimento de  $30 - 350 \text{ }^\circ\text{C}$ , sob um razão de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{Cmin}^{-1}$ , usando  $\text{N}_2$  como gás de purga.

### 2.6.2. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Os espectros de absorção no infravermelho por transformada de Fourier foram obtidos pelo método de refletância total atenuada (ATR). As amostras de rifampicina pura, das misturas físicas RIF:CD (MF RIF:CD) e RIF:PVP (MF RIF:PVP) e dos complexos de inclusão RIF:CD (CI RIF:CD) e da dispersão sólida RIF:PVP (DS RIF:PVP) foram obtidos em Espectrômetro FTIR (Bruker modelo Vertex 70), do Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV) da UFPI. Empregou-se resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$ , na faixa de  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ , com 32 scans.

### 2.6.3. DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A análises de raios X da rifampicina pura, das misturas físicas RIF:CD (MF RIF:CD) e RIF:PVP (MF RIF:PVP), dos complexos de inclusão RIF:CD (CI RIF:PVP) obtidos por malaxagem, e da dispersão sólida RIF:PVP (DS RIF:PVPV) foram realizados no Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV) da UFPI, em difratômetro (Shimadzu modelo XRD-6000), operando a 40 KV, 30 mA, com varredura angular  $2\theta$  de  $2^\circ\text{min}^{-1}$ , variando de  $2 - 40^\circ$ , utilizando-se radiação de cobre.

### 2.6.4. PERFIL DE DISSOLUÇÃO

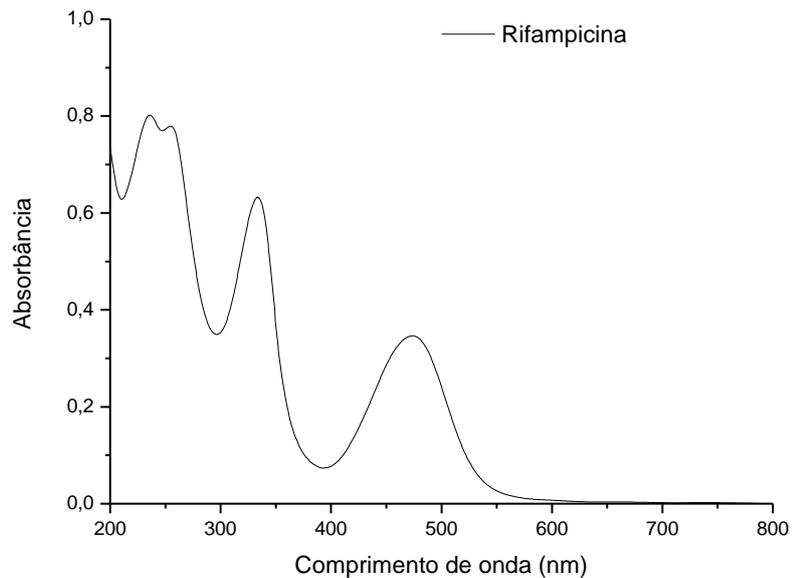
A análise de dissolução foi realizada no Núcleo de Tecnologia Farmacêutica (NTF) da UFPI em dissolutor (Nova Ética modelo 299) e as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro UV/Vis (Varian modelo AA 50) pertencente ao no Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV) da UFPI. Os perfis de dissolução do fármaco puro e seus sistemas binários foram determinados a partir de método descrito na Farmacopéia Brasileira V ed.

Cada um dos sistemas binários obtidos foi encapsulado, contendo quantidade equivalente a 40 mg de rifampicina, inclusive o fármaco puro. As cápsulas foram depositadas dentro do aparato cesta, imersas em 900 mL de meio de dissolução HCl  $0,1 \text{ molL}^{-1}$ , sob agitação de 100 rpm, durante 75 minutos. Alíquotas de 10 mL do meio de dissolução foram coletadas de cada cuba, sem reposição, após 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 45 min, 60 min e 75 min do início do ensaio. O experimento foi realizado em triplicata.

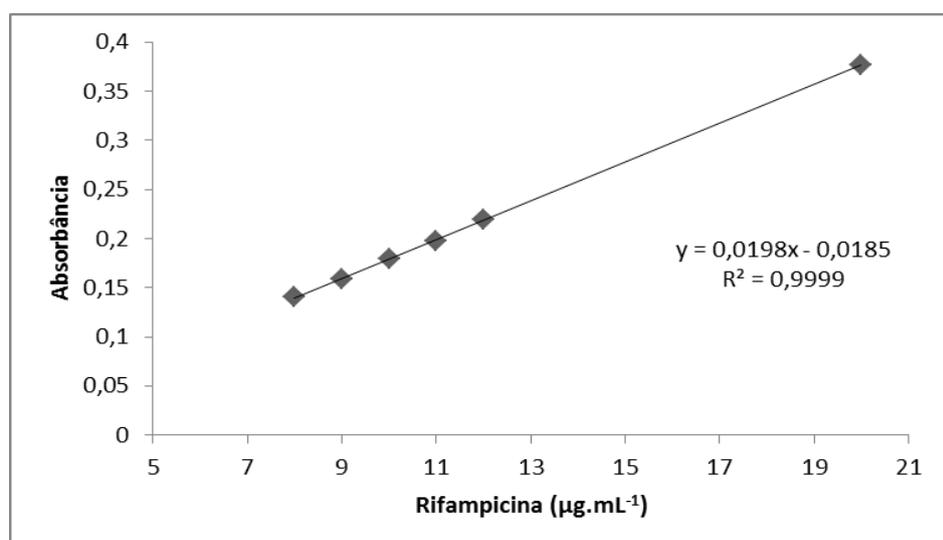
## 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Para realizar a quantificação de rifampicina nos ensaios, realizou-se uma varredura de uma solução deste fármaco na concentração de  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$  em água destilada, entre 200 – 700 nm, a fim de determinar o melhor comprimento de onda para efetuar as leituras (Figura 1), selecionando-se o  $\lambda = 475 \text{ nm}$ , correspondente ao grupo cromóforo naftalênico. Em seguida, construiu-se uma curva analítica em meio aquoso (Figura 2) e em HCl  $0,1 \text{ molL}^{-1}$  (Figura 3), após regressão linear, no intervalo de  $8 - 20 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ .

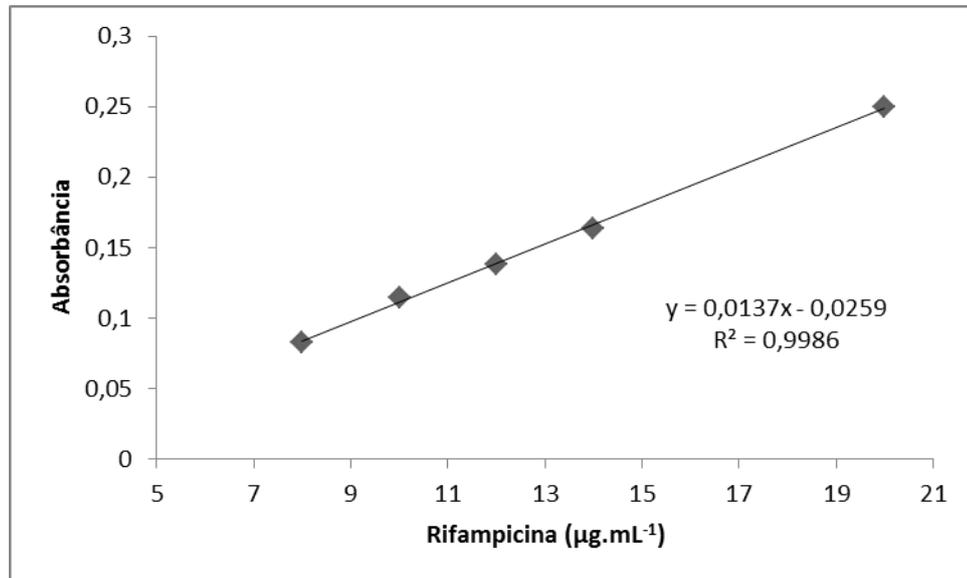
O diagrama de solubilidade obtido a partir das CDs naturais demonstrou um aumento linear da solubilidade da rifampicina (Figura 4), com um coeficiente angular ( $S_0$ ) inferior a 1, o que evidencia uma estequiometria 1:1. Os diagramas obtidos para cada ciclodextrina são do tipo linear crescente ( $A_L$ ), ou seja, o aumento da solubilidade é diretamente proporcional ao incremento das concentrações do agente complexante (HIGUCHI; CONNORS, 1965).



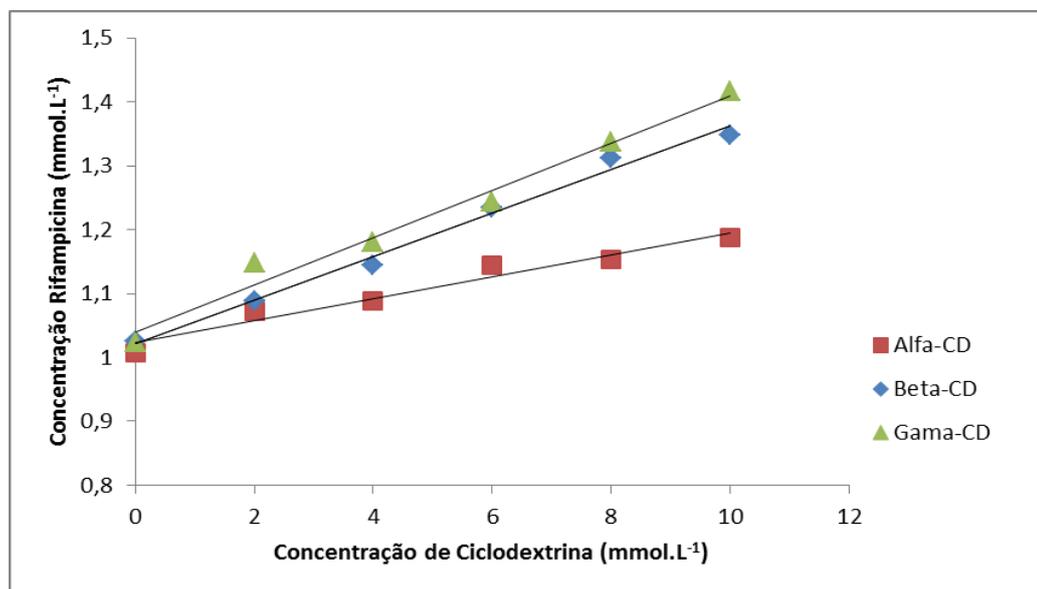
**Figura 1.** Espectrofotometria de varredura de rifampicina em solução aquosa, na concentração de  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ .



**Figura 2.** Curva analítica de rifampicina em solução aquosa ( $8 - 20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).



**Figura 3.** Curva analítica de rifampicina em solução de HCl  $0,1 \text{ molL}^{-1}$  ( $8 - 20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).



**Figura 4.** Diagrama de solubilidade de rifampicina em presença de  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD, em água destilada, sob  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ .

A constante de estabilidade ( $K_c$ ), parâmetro que avalia a razão na qual a solução, contendo ciclodextrina (CD) e fármaco (F), forma o complexo (CD.F), foi calculada com os

dados obtidos a partir da equação da reta do diagrama de solubilidade de cada ciclodextrina, usando a equação (1):

$$\begin{array}{c}
 \text{Kc} \\
 \text{CD} + \text{F} \longleftrightarrow \text{CD.F} \\
 \text{K}_{1:1} = \frac{\text{Coeficiente angular}}{S_0 (1 - \text{Coeficiente angular})} \quad \text{Equação (1)}
 \end{array}$$

onde,  $S_0$  corresponde à solubilidade intrínseca do fármaco, ou seja, solubilidade aquosa do fármaco livre (HIGUCHI; CONNORS, 1965).

A eficiência de complexação (EC) de cada complexo é determinada a partir da equação (2) (HIGUCHI; CONNORS, 1965):

$$\text{EC} = \frac{\text{Coeficiente angular}}{(1 - \text{Coeficiente angular})} \quad \text{Equação (2)}$$

A constante de estabilidade ( $K_c$ ) e a eficiência de complexação (EC) de cada sistema RIF:CD foram calculadas a partir das equações formuladas por Higuchi e Connors (1965) com os dados obtidos da porção linear das retas construídas (Figura 4). Estes parâmetros são de grande interesse para a caracterização da interação molecular entre os diversos componentes do complexo, sua estequiometria e viabilidade prática (VEIGA; PECORELLI; RIBEIRO, 2006).

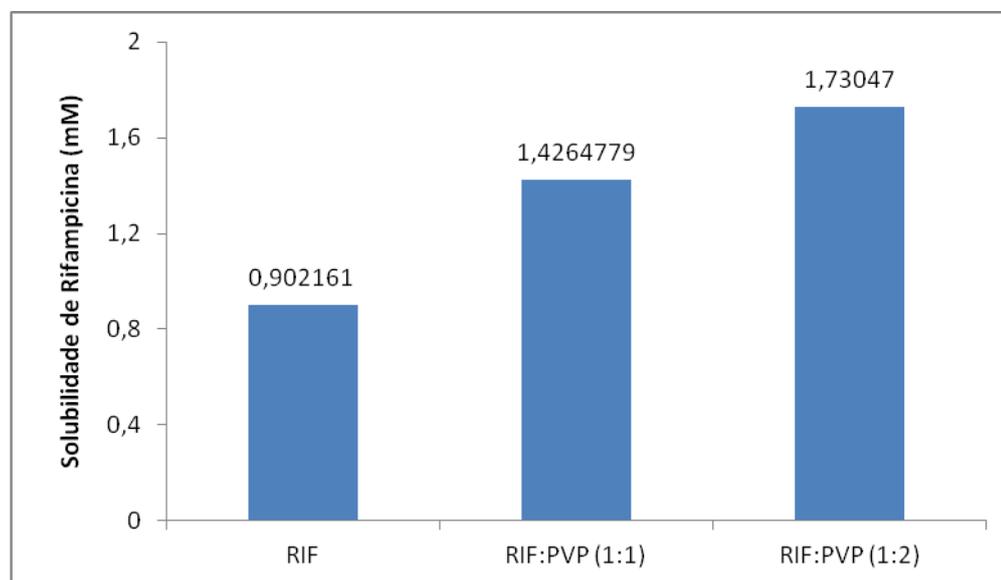
Quanto maior a  $K_c$  do complexo de inclusão, maior será a facilidade de formação do complexo. O maior valor de  $K_c$  foi encontrado para o sistema RIF: $\gamma$ -CD (Tabela 2). Segundo Loftsson e colaboradores (2005), se a EC for igual a 0,010, significa que apenas uma de cada cem moléculas de ciclodextrina tem a capacidade de complexar-se com a molécula hóspede. Ou seja, aproximadamente uma molécula de ciclodextrina dentre 58, 29 e 27 moléculas de  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD, respectivamente, complexa-se à rifampicina.

Embora as  $K_c$  obtidas para as ciclodextrinas estejam abaixo dos valores expressos na literatura como ideais ( $100 - 1000 \text{ M}^{-1}$ ), deve-se buscar não apenas o melhor incremento de

solubilidade, mas também a menor proporção de CD para solubilização do fármaco (LOFTSSON; HREINSDÓTTIR; MÁSSON, 2005; RAMA et al., 2005).

**Tabela 1.** Valores da solubilidade intrínseca da rifampicina ( $S_0$ ), coeficiente angular, coeficiente de correlação e constante de estabilidade ( $K_c$ ) e eficiência de complexação (EC) obtidos a partir do diagrama de fases dos complexos de inclusão de rifampicina com  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD.

Ciclodextrina	$S_0$ (molL <sup>-1</sup> )	Coefficiente angular	Coefficiente de correlação	$K_c$ (molL <sup>-1</sup> )	EC
$\alpha$ -CD	$1,0235 \times 10^{-3}$	0,0172	0,9565	17,098	$1,750 \times 10^{-2}$
$\beta$ -CD	$1,0235 \times 10^{-3}$	0,0339	0,9904	34,284	$3,509 \times 10^{-2}$
$\gamma$ -CD	$1,0235 \times 10^{-3}$	0,0371	0,9812	37,645	$3,853 \times 10^{-2}$



**Figura 5.** Incremento de solubilidade de rifampicina na presença de PVP em meio aquoso.

As amostras analisadas em duas proporções de RIF:PVP, 1:1 e 1:2, resultaram em um incremento de solubilidade em água significativo perante o fármaco puro. A Figura 5 demonstra os melhores resultados para a proporção de 1:2, no entanto a viscosidade desta

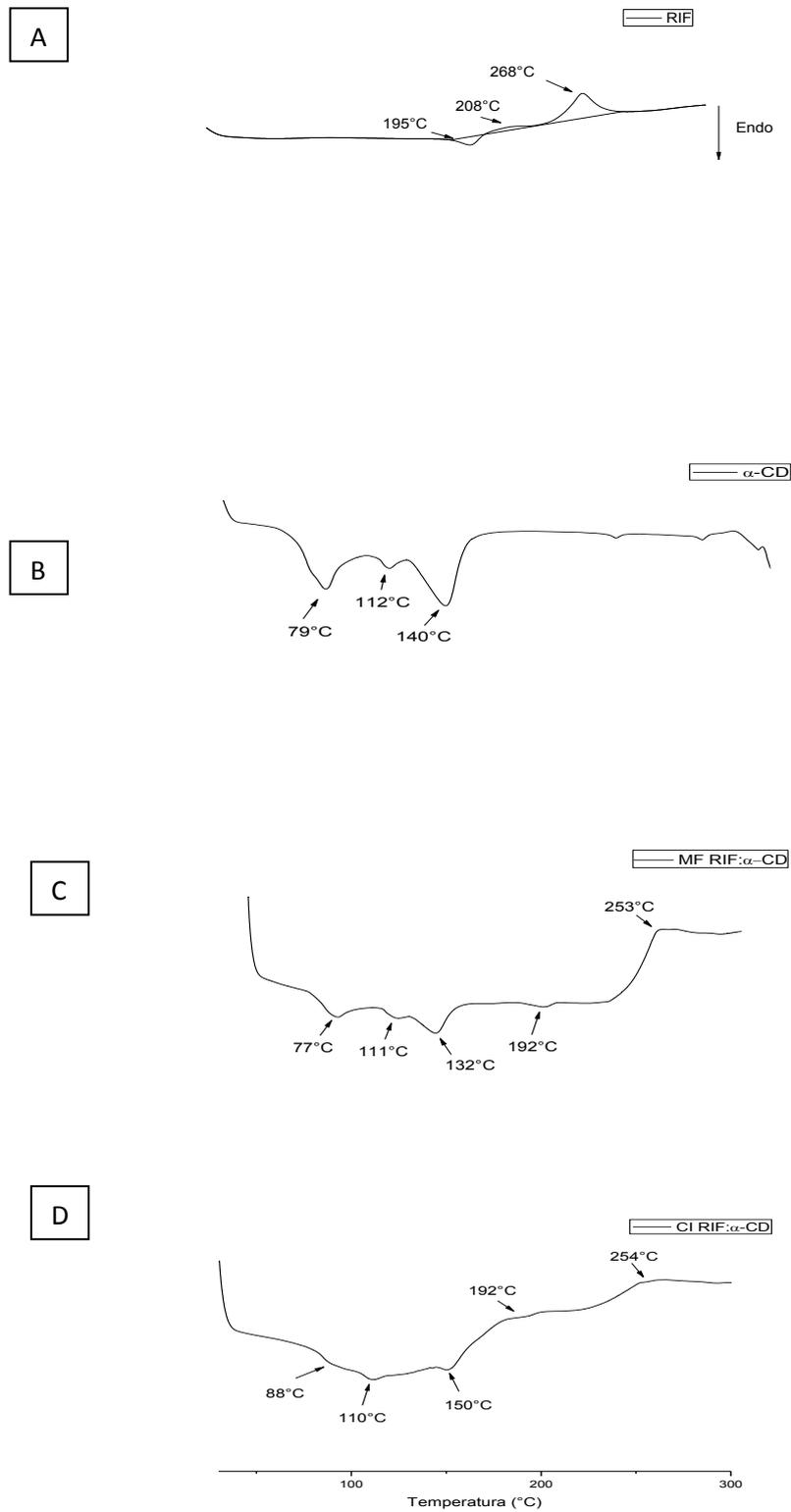
solução e a dose terapêutica elevada do fármaco restringem a quantidade de excipiente empregado numa possível forma farmacêutica, escolhendo-se a proporção 1:1 para obtenção e caracterização da dispersão sólida.

Há relatos a cerca do uso de polímeros para obtenção de complexos com fármacos, aumentando sua solubilidade, porém deseja-se que o efeito solubilizante seja otimizado sem que haja, contudo, um incremento concomitante da viscosidade. O PVP possui amplo uso em dispersões sólidas, por ser um polímero hidrossolúvel e com baixa toxicidade, sendo responsável pela solubilização de fármacos pouco solúveis (LEUNER; DRESSMAN, 2000; LOFTSSON; FRIORIKSDOTTIR; GUMUNDSOTTIR, 1996).

Os diferentes perfis de DSC para as misturas físicas e complexos de inclusão permitem caracterizar a ocorrência de inclusão do fármaco ou não. Quando não há interação química entre o fármaco e a molécula hóspede as curvas apresentam-se como somatório dos componentes do sistema binário, porém a inclusão é representada por deslocamentos ou desaparecimentos de eventos relacionados à fusão ou decomposição anteriores à decomposição da CD (VEIGA; PECORELLI; RIBEIRO, 2006; FERNANDES; VIEIRA; VEIGA, 2002).

A análise térmica do fármaco demonstrou tratar-se predominantemente da forma tipo II, a qual é a mais empregada na indústria farmacêutica (BECKER et al., 2009). A curva DSC apresentou um evento endotérmico e dois eventos exotérmicos, característicos da forma II (Figura 6A). A fusão, evento endotérmico, iniciou em aproximadamente 174°C ( $T_{\text{pico}} = 195$  °C) e os demais eventos exotérmicos são representados por recristalização para a forma I em cerca de 208 °C, seguida de decomposição da forma I em  $T_{\text{pico}} = 268$  °C (235-288 °C), referente à forma I (ALVES et al., 2010; AGRAWAL et al., 2004b).

A  $\alpha$ -CD possui uma faixa de desidratação entre 80-140 °C, representada por diversos picos endotérmicos ( $T_{\text{pico}} = 79, 112, 140$  °C). A mistura física apresenta diversos eventos endotérmicos em  $T_{\text{pico}} = 77, 111$  e 132 °C, decorrente da perda de água da ciclodextrina, e um pico menor em torno de 192 °C relacionado à fusão da rifampicina. Um pico exotérmico em  $T_{\text{pico}} = 253$  °C pode ser atribuído à decomposição da forma I.

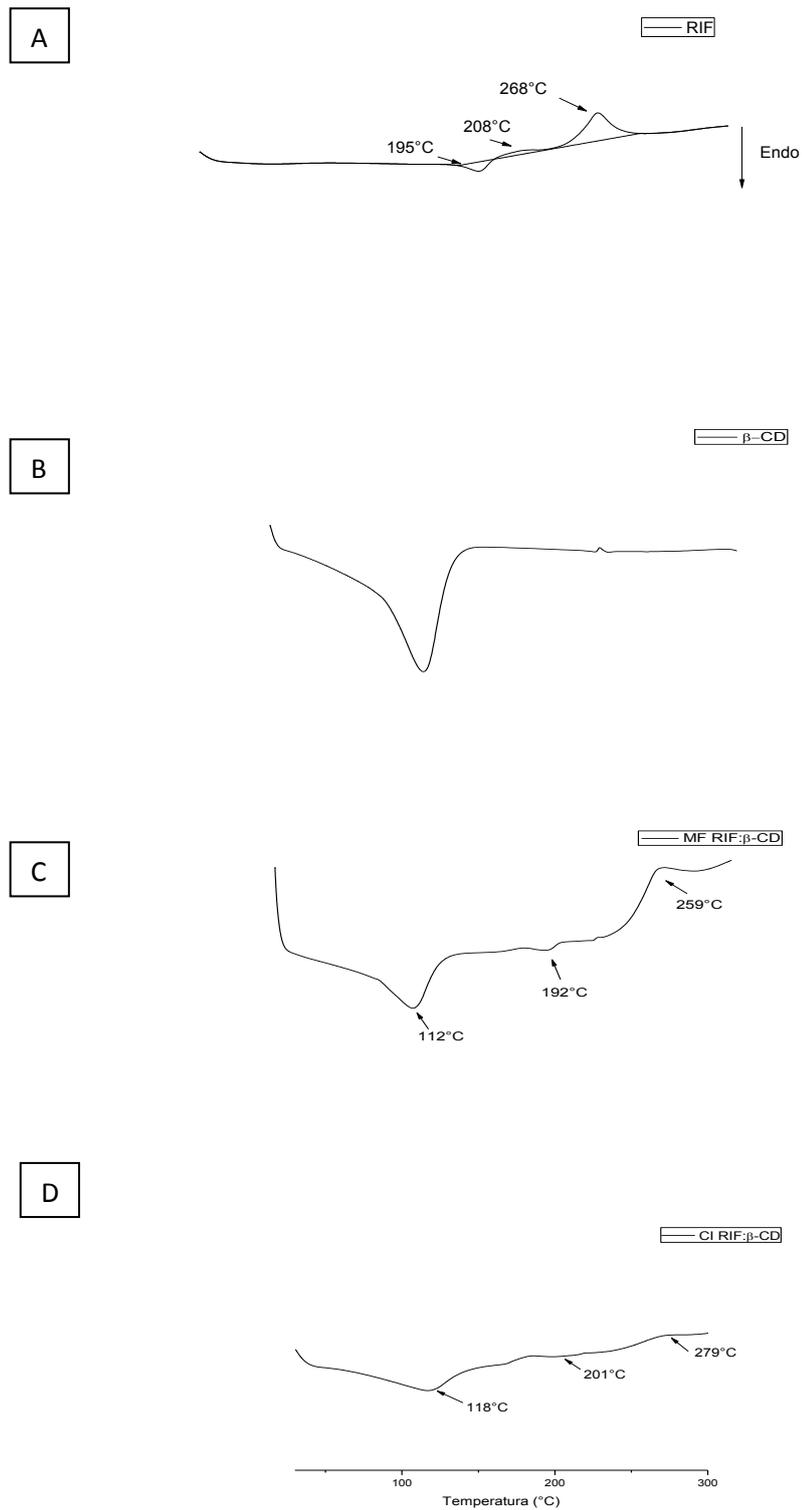


**Figura 6.** Curva DSC de (A) rifampicina (RIF), (B)  $\alpha$ -ciclodextrina ( $\alpha$ -CD), (C) mistura física (MF RIF: $\alpha$ -CD) e (D) complexo de inclusão rifampicina: $\alpha$ -ciclodextrina (CI RIF: $\alpha$ -CD).

O perfil da curva DSC CI demonstrou-se semelhante à MF, com picos representativos da fusão do carreador e do fármaco, seguindo-se à recristalização para a forma cristalina II, como uma sobreposição das curvas dos espécimes isolados (Figura 6D).

A  $\beta$ -CD possui um pico endotérmico intenso em torno de 118 °C, correspondente à perda de água (Figura 7B) (FERNANDES; VIEIRA; VEIGA, 2002). A mistura física e o complexo de inclusão de rifampicina e  $\beta$ -ciclodextrina foram avaliados para confirmar a interação fármaco-carreador. O pico endotérmico da  $\beta$ -CD relacionado à desidratação teve uma redução significativa no complexo, quando comparado à mistura física, mantendo-se em torno de 118 °C (Figura 7B).

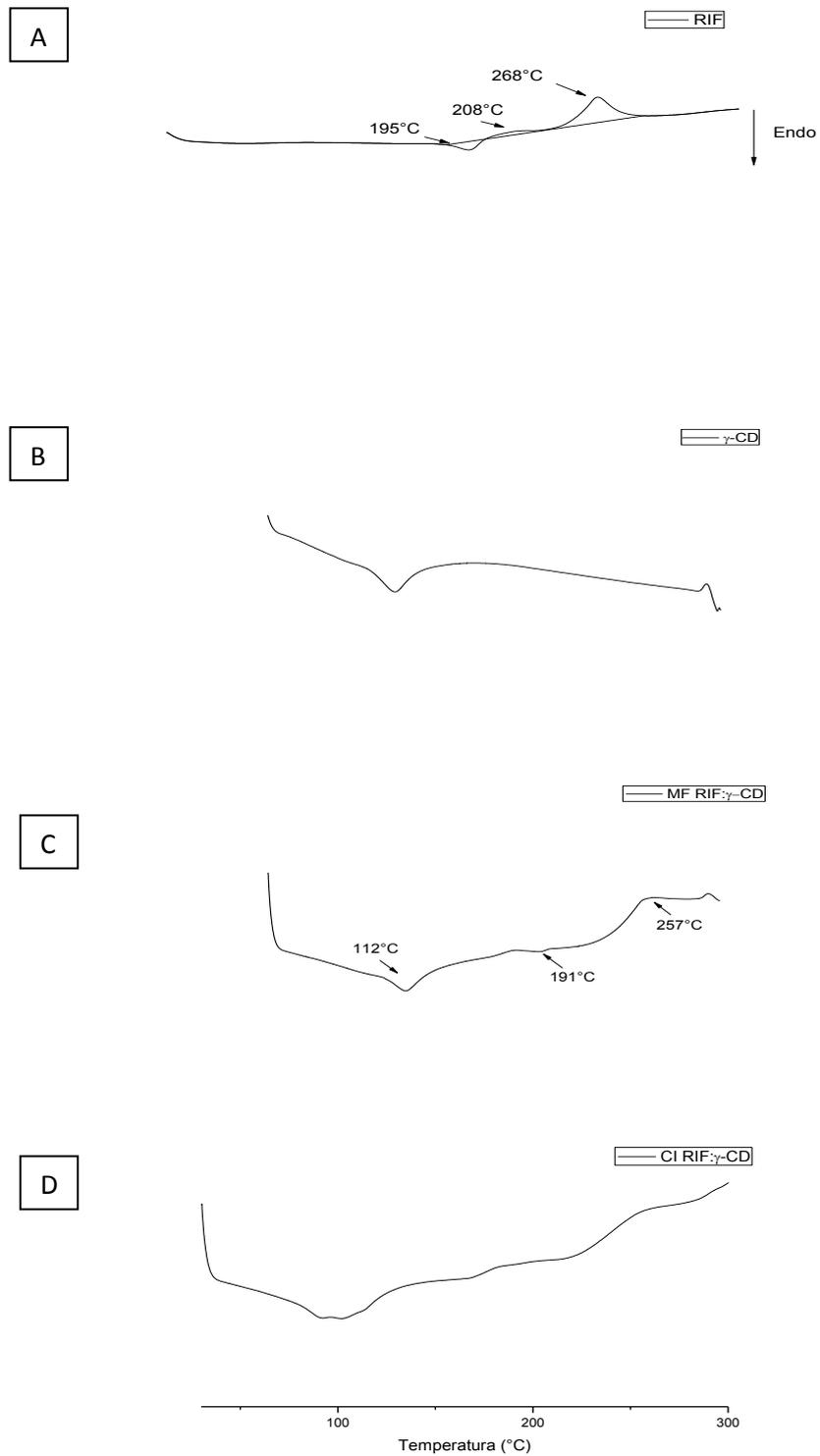
O evento endotérmico referente à fusão da RIF foi mantido na mistura física ( $T_{\text{pico}} = 197$  °C), e tornou-se praticamente imperceptível no complexo de inclusão e levemente deslocado ( $T_{\text{pico}} = 201$  °C) (Figura 7C). O evento exotérmico, referente à recristalização da RIF, tornou-se menos evidente no material complexado, enquanto a mistura física manteve o pico distinto ( $T_{\text{pico}} = 259$  °C). A sobreposição das curvas DSC da RIF e  $\beta$ -CD na mistura física, demonstra uma fraca interação entre a molécula hóspede e o fármaco, diferente do perfil térmico do seu respectivo complexo de inclusão (Figura 7C e 7D).



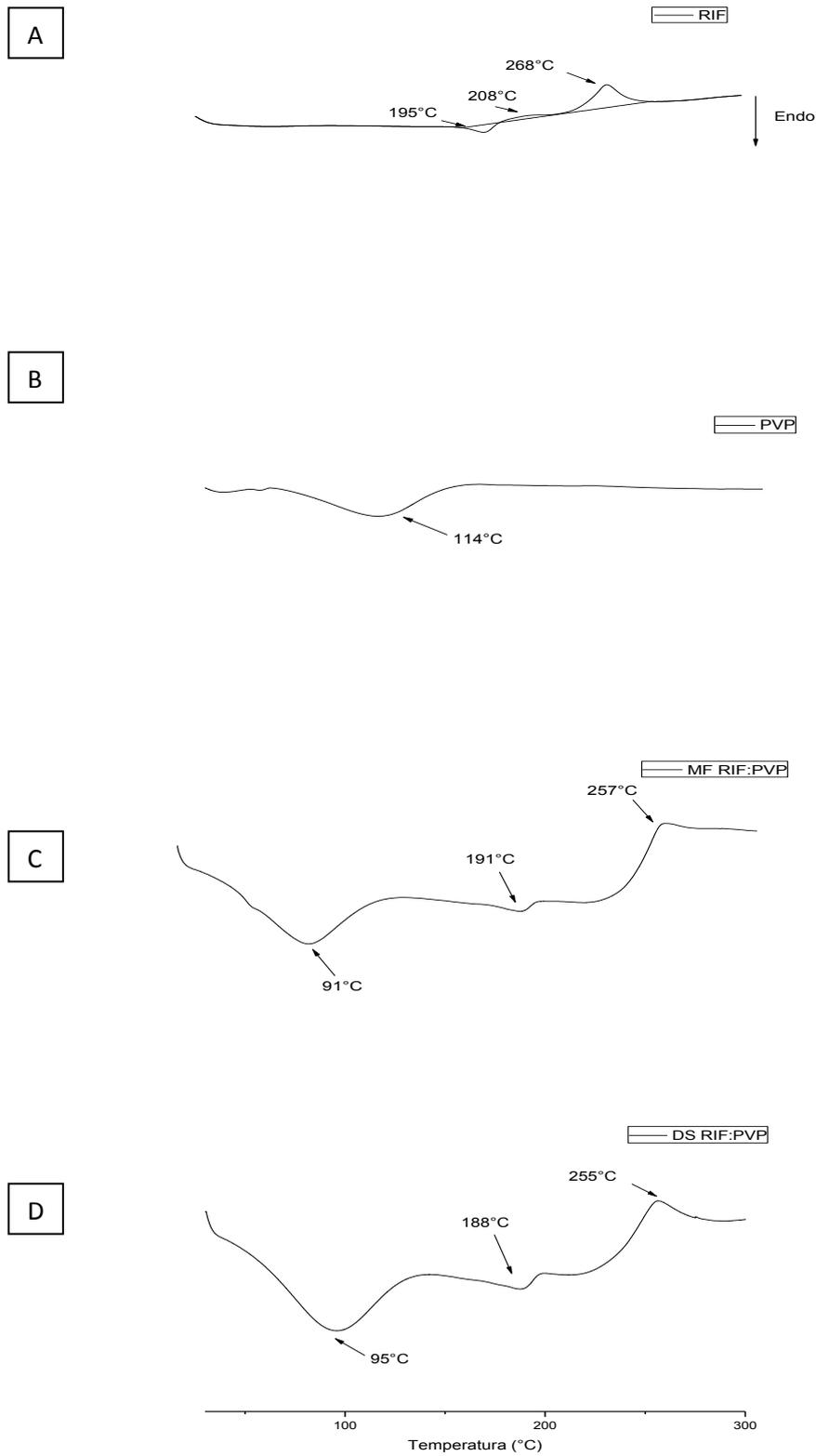
**Figura 7.** Curva DSC de (A) rifampicina, (B)  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD), (C) mistura física (MF RIF: $\beta$ -CD) e (D) complexo de inclusão rifampicina: $\beta$ -ciclodextrina (CI RIF: $\beta$ -CD).

A  $\gamma$ -CD apresenta evento endotérmico iniciando a partir de 93°C ( $T_{\text{pico}} = 106$  °C), devido a desidratação do carreador e outro, exotérmico, caracterizado pela decomposição da ciclodextrina, em torno de 291 °C (Figura 8B) (ANSELMINI et al., 2006). O pico endotérmico da  $\gamma$ -CD relacionado à desidratação sofreu um alargamento no complexo (87-128 °C), quando comparado à mistura física, a qual manteve-se em torno de 112 °C, sofrendo um deslocamento. O evento endotérmico referente à fusão da RIF foi mantido na mistura física ( $T_{\text{pico}} = 191$  °C), e tornou-se praticamente imperceptível no complexo de inclusão. A recristalização da RIF tornou-se menos evidente no material complexado, aproximadamente em 253 °C, enquanto a mistura física manteve o pico exotérmico distinto ( $T_{\text{pico}} = 257$  °C) (Figura 8C e 8D).

O PVP, cujo pico largo ( $T_{\text{pico}} = 114$  °C) é característico de material amorfo higroscópico devido à desidratação do polímero (Figura 9B) (LIMA, 2009; SHARMA; JAIN, 2010). O pico endotérmico referente à desidratação do PVP foi deslocado para temperaturas inferiores na MF e na DS. Os eventos térmicos de fusão e recristalização da RIF, na faixa de temperatura entre 195 e 268 °C, foram deslocados para temperaturas em 191 e 257 °C na MF e 188 e 255 °C na DS (Figuras 9C e 9D). A análise térmica deste material evidenciou pequena interação entre as substâncias envolvidas sob a forma de dispersão sólida.



**Figura 8.** Curva DSC de (A) rifampicina, (B)  $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD), (C) mistura física (MF RIF: $\gamma$ -CD) e (D) complexo de inclusão rifampicina: $\gamma$ -ciclodextrina (CI RIF: $\gamma$ -CD).

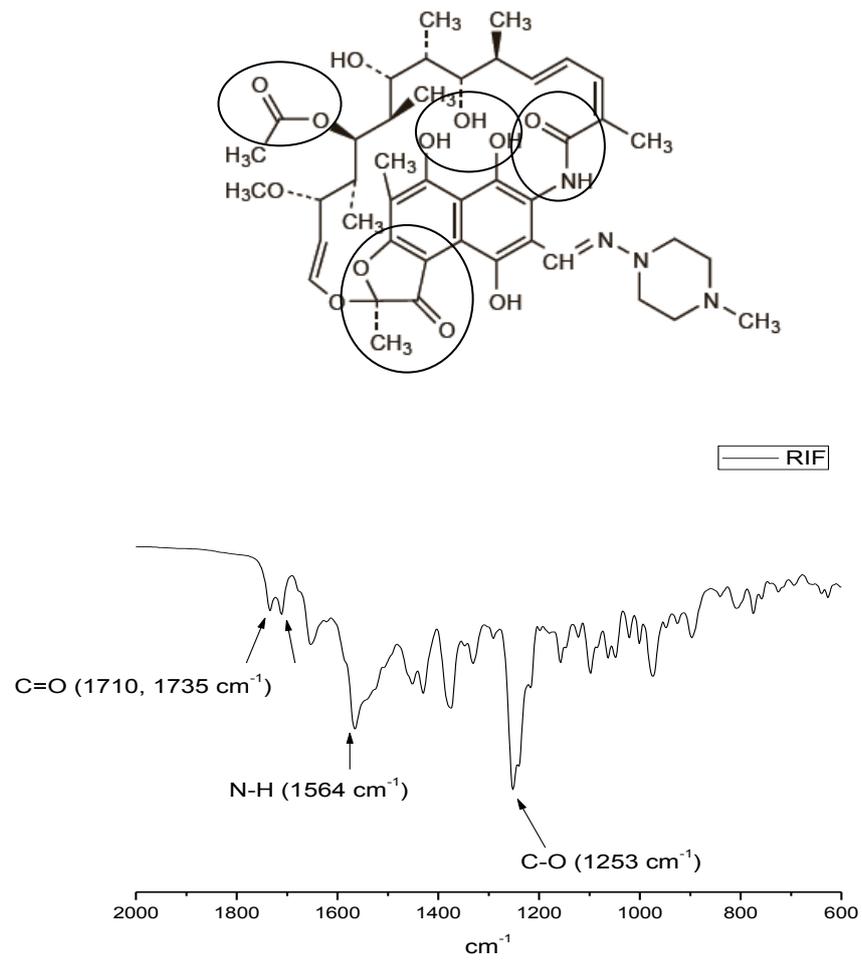
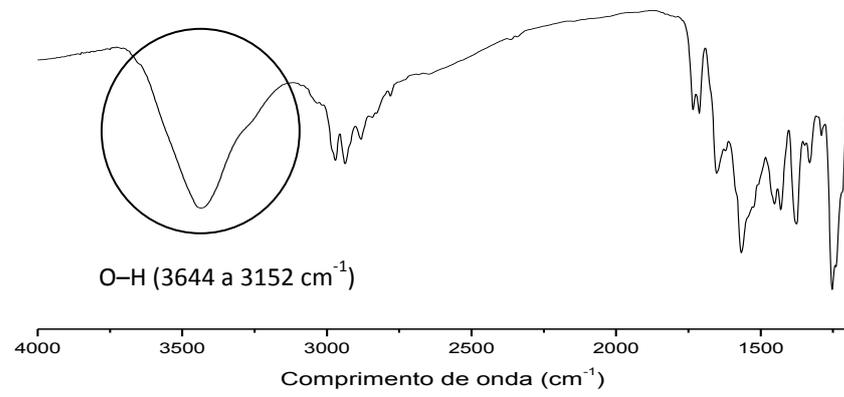


**Figura 9.** Curvas de DSC de (A) rifampicina, (B) PVP, (C) mistura física (MF RIF:PVP) e (D) dispersão sólida (DS RIF:PVP).

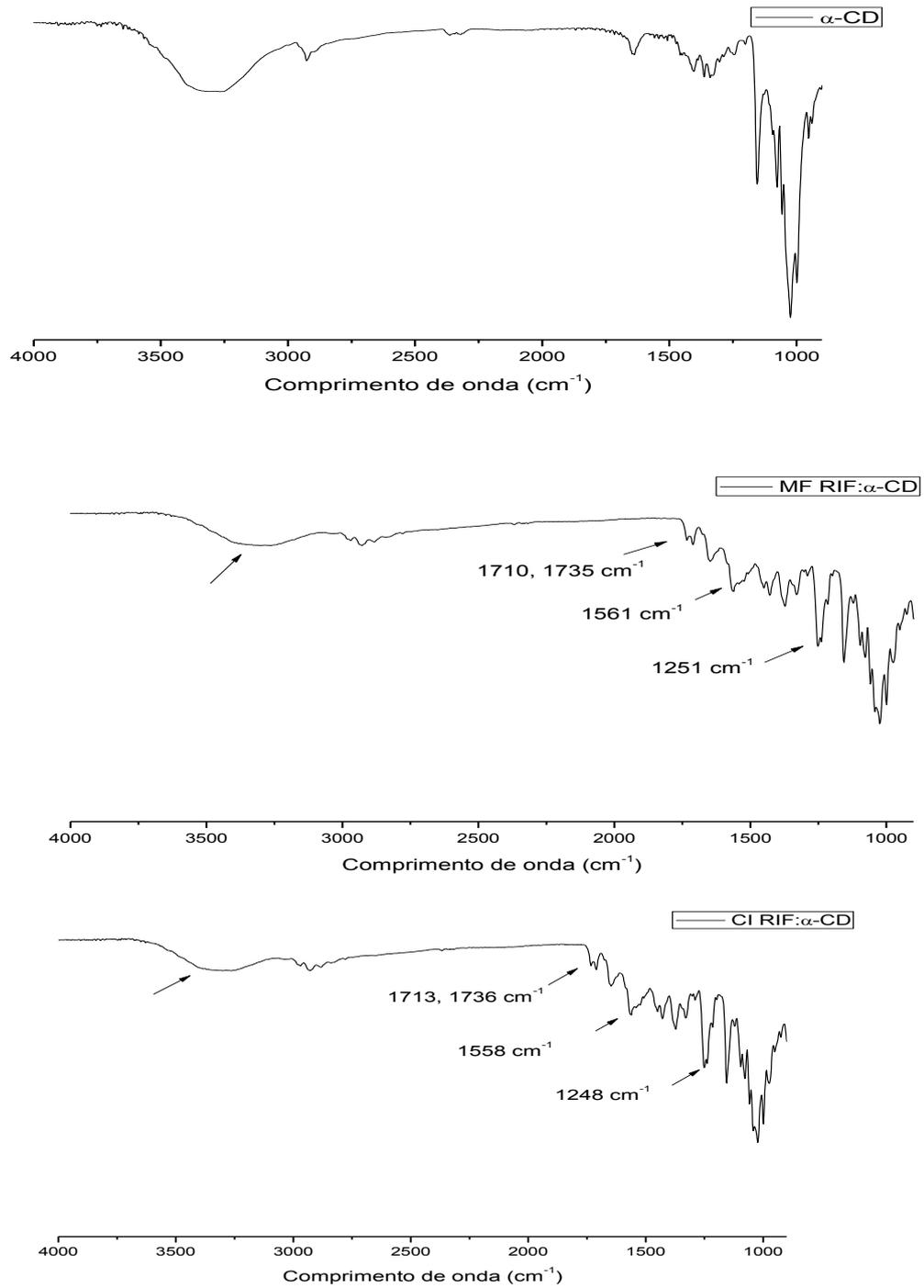
A espectroscopia de infravermelho é uma metodologia analítica que pode ser utilizada para a avaliação da ocorrência de interações entre diferentes moléculas no estado sólido, mediante comparação das bandas da molécula hóspede e do carreador, com a mistura física e o complexo (CORTI et al., 2007; MACEDO ; 2010).

As bandas do espectro muitas vezes mudam apenas ligeiramente quando há formação do complexo e, se a fração das moléculas hóspedes encapsuladas é inferior a 25%, bandas que poderiam ser atribuídas à parte incluída são facilmente mascaradas pelas bandas do espectro da CD (SINGH et al., 2010).

O espectro FTIR da RIF possui bandas características, como uma banda larga entre 3644 a 3152  $\text{cm}^{-1}$ , referentes às hidroxilas da cadeia ansamicina; 1710 e 1735  $\text{cm}^{-1}$ , acetila (O-C=O) e cetona cíclica (furanona), respectivamente; 1564  $\text{cm}^{-1}$ , dobramento da amida secundária (N-H) e; estiramento C-O com bandas fortes em 1253  $\text{cm}^{-1}$ , conforme relatos da literatura (Figura 10) (AGRAWAL et al., 2004b; PAVIA et al., 2010; PELIZZA et al., 1977).



**Figura 10.** Espectro FTIR de rifampicina (RIF).

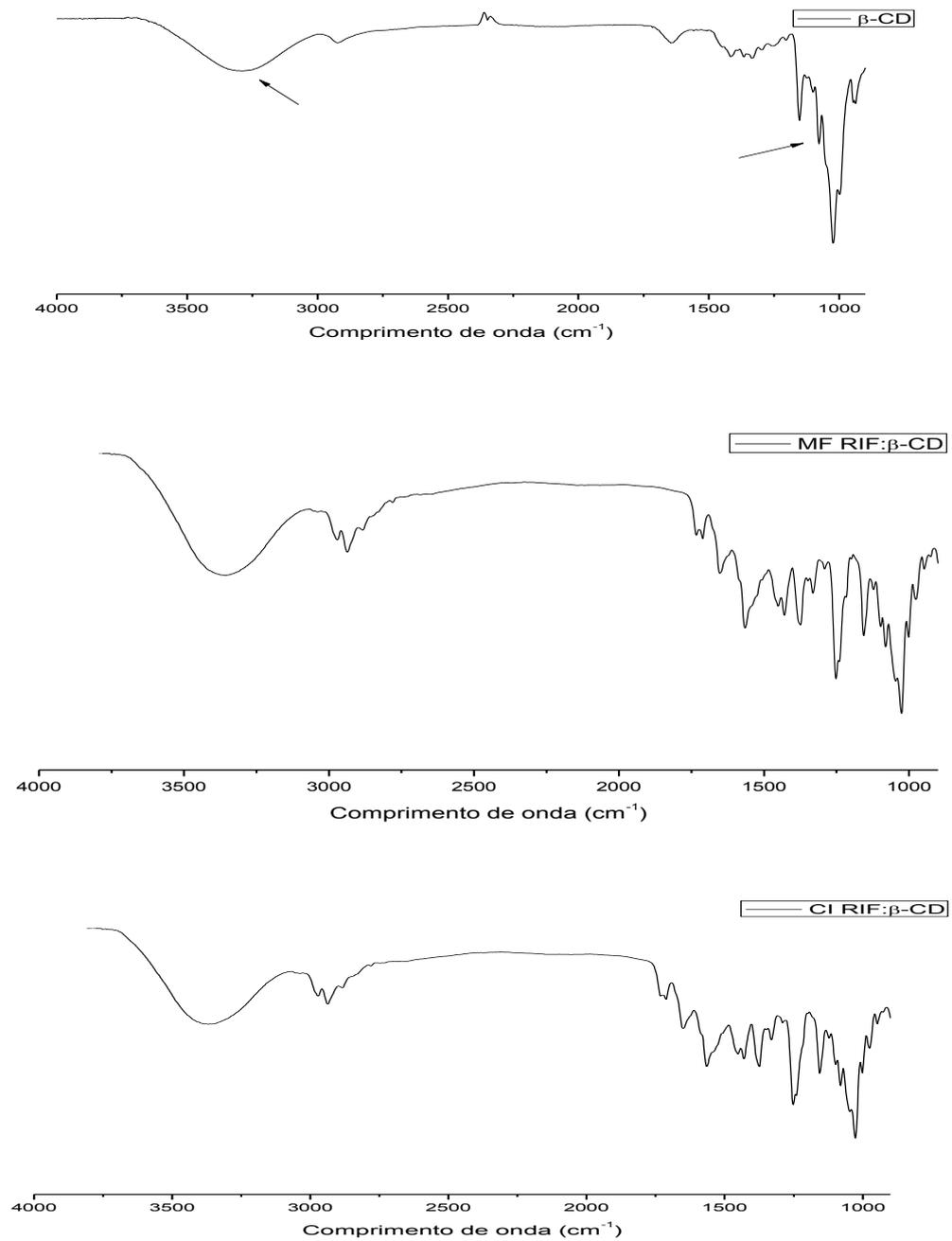


**Figura 11.** Espectro FTIR de  $\alpha$ -ciclodextrina e sua mistura física (MF RIF: $\alpha$ -CD) e complexo de inclusão (CI RIF: $\alpha$ -CD) com o fármaco rifampicina.

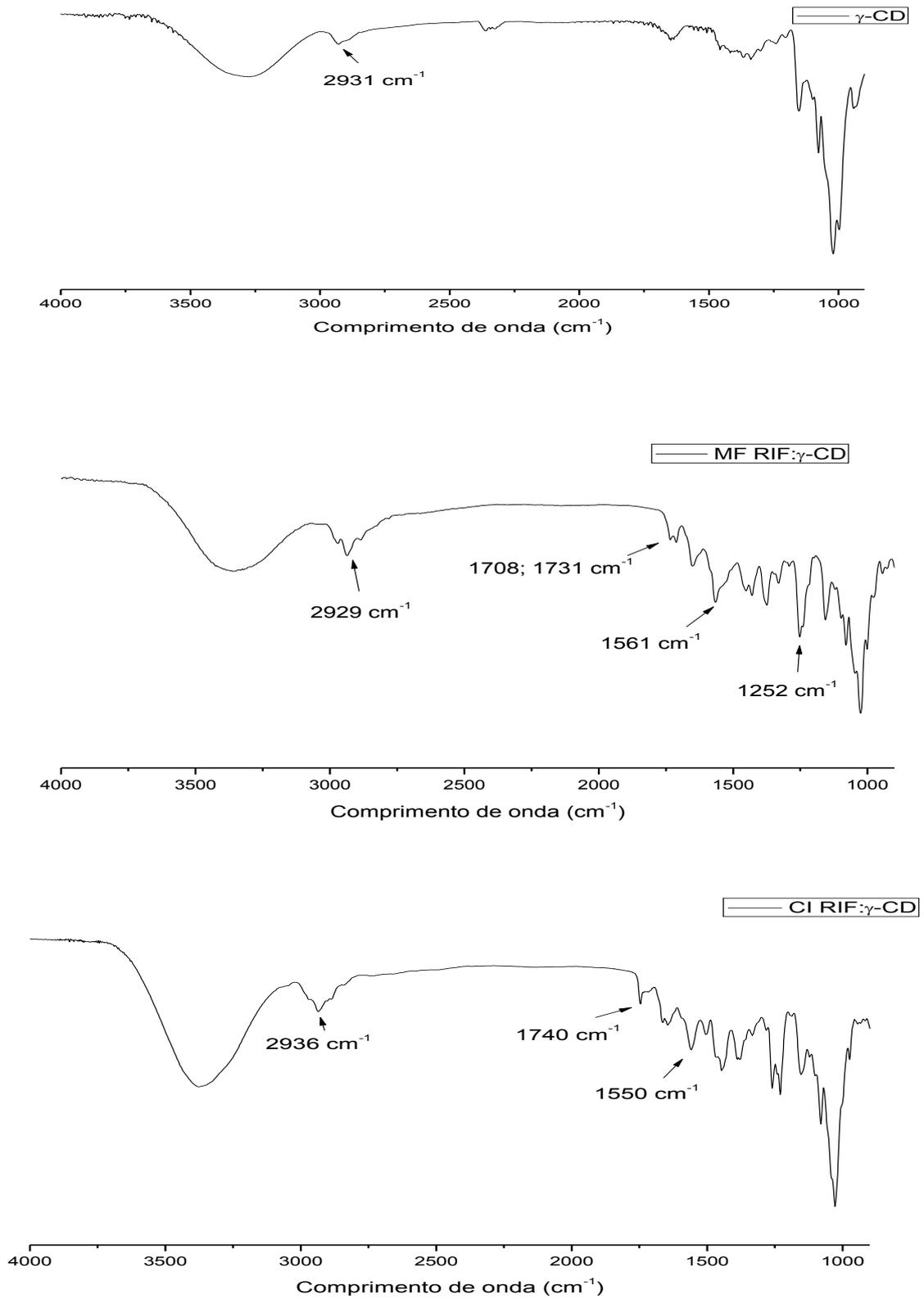
A  $\alpha$ -CD tem uma banda larga de O-H entre 3000 e 3600  $\text{cm}^{-1}$ , que é indicativo de hidroxila de álcool e bandas intensas de vibrações de estiramento C-O entre 1100 e 1300  $\text{cm}^{-1}$ . A MF RIF: $\alpha$ -CD apresentou uma sobreposição das principais bandas de rifampicina e da  $\alpha$ -CD. Teve a intensidade da banda representativa das hidroxilas reduzida, a banda dupla em 1710 e 1735  $\text{cm}^{-1}$  da acetila e furanona, respectivamente; em 1561  $\text{cm}^{-1}$ , o dobramento da amida secundária e o estiramento C-O com banda forte em 1251  $\text{cm}^{-1}$  permaneceram praticamente inalterados. O perfil do complexo RIF: $\alpha$ -CD apresentou-se bastante semelhante à mistura física, com um ligeiro deslocamento das bandas referentes a amida de 1564 para 1558  $\text{cm}^{-1}$  e da ligação C-O, de 1253 para 1248  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 11).

A  $\beta$ -CD tem uma banda larga característica de O-H em 3292  $\text{cm}^{-1}$ , que é indicativo de hidroxila de álcool e bandas intensas de estiramento C-O entre 1100 e 1300  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 12) (MACEDO, 2010). O estiramento dos grupos O-H da cadeia ansa são sobrepostos pelo pico mais intenso das hidroxilas da ciclodextrina. Os picos referentes ao estiramento do C-H alifático sofreram uma redução na intensidade da frequência, o que sugere interação do fármaco com a molécula hóspede mediante a formação de ligações de hidrogênio, corroborada pelo deslocamento desta banda no CI RIF: $\beta$ -CD de 2974 para 2982  $\text{cm}^{-1}$ . A banda dupla em 1710 e 1735  $\text{cm}^{-1}$  da acetila e furanona adquiriu o aspecto de banda única no CI RIF: $\beta$ -CD, tornando-se menos intensa tanto no complexo (Figura 12).

A  $\gamma$ -CD é caracterizada pela banda larga de estiramento O-H em 3290  $\text{cm}^{-1}$ , que é indicativo de hidroxila de álcool e uma banda de estiramento C-H em 2930  $\text{cm}^{-1}$ . Tanto na MF quanto no CI, estas bandas sobrepõem-se às do fármaco, referentes a hidroxilas, na mesma região espectral. A MF apresentou as principais bandas das espécies livres, como a banda larga de O-H da  $\gamma$ -CD, o estiramento C-H em 2929  $\text{cm}^{-1}$ , a banda dupla de C=O em 1708 e 1731  $\text{cm}^{-1}$ , da amida secundária em 1561  $\text{cm}^{-1}$  e o estiramento C-O em 1252  $\text{cm}^{-1}$ . O CI teve a banda referente às hidroxilas deslocada para a direita e o estiramento C-H também foi deslocado de 2930 para 2936  $\text{cm}^{-1}$ . A banda dupla característica da rifampicina tornou-se única em 1740  $\text{cm}^{-1}$  e a banda referente à amida secundária também sofreu um deslocamento de 1564 para 1550  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 13).



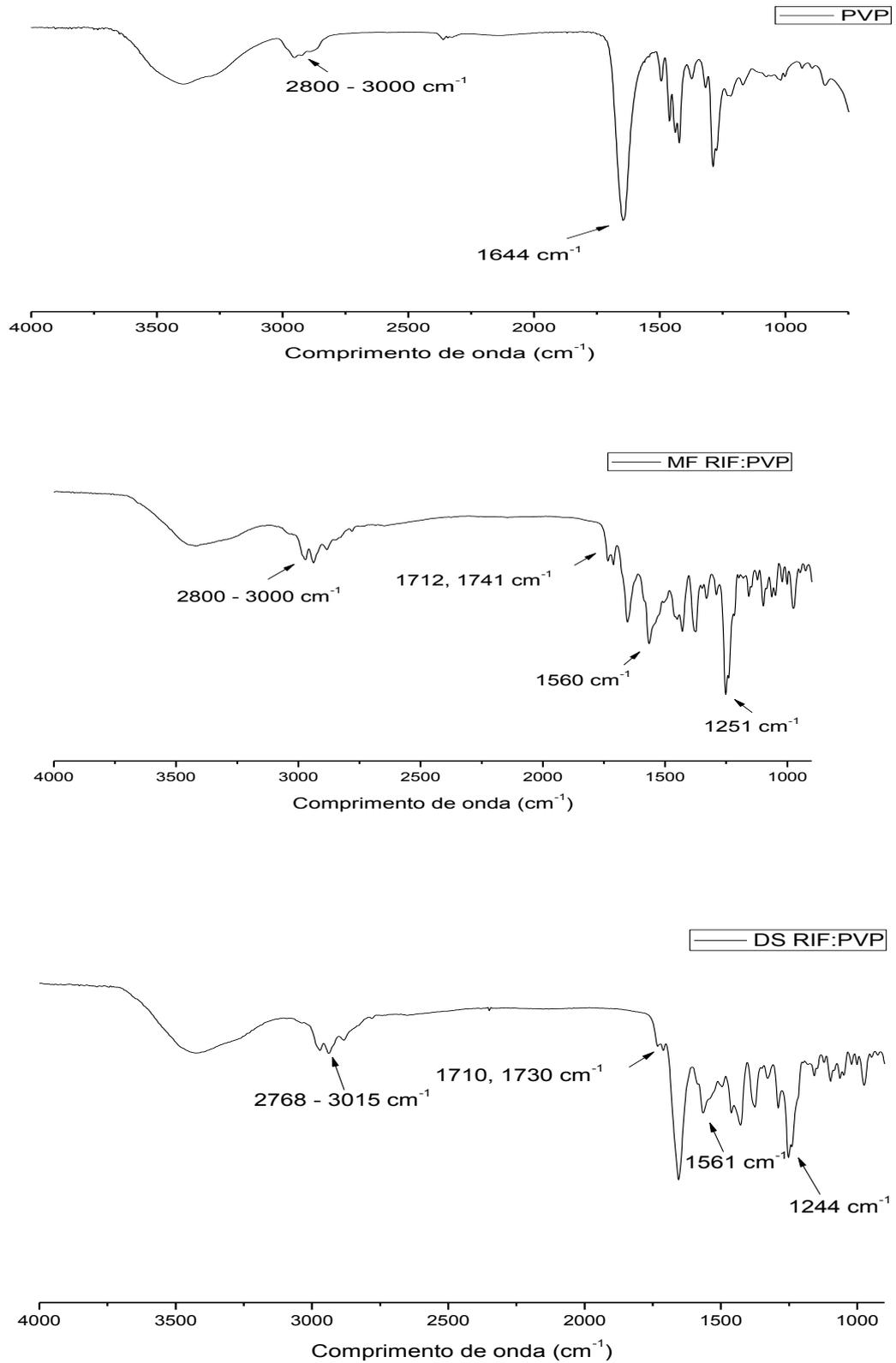
**Figura 12.** Espectro FTIR de β-ciclodextrina (β-CD) e sua mistura física (MF RIF:β-CD) e complexo de inclusão (CI RIF:β-CD) com o fármaco rifampicina.



**Figura 13.** Espectro FTIR de  $\beta$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD) e sua mistura física (MF RIF: $\gamma$ -CD) e complexo de inclusão (CI RIF: $\gamma$ -CD) com o fármaco rifampicina.

O espectro do PVP possui uma banda em  $3441\text{ cm}^{-1}$  relativa ao estiramento da ligação N-H da amina secundária. Em  $1644\text{ cm}^{-1}$  há uma banda característica do estiramento da ligação C=O. Alcanos alifáticos são representados por bandas na região compreendida entre  $3000$  e  $2800\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação C-H dos carbonos  $sp^2$  e  $sp^3$  (Figura 14) (LIMA, 2009; PAVIA, LAMPMAN; KRIZ, 2010).

No espectro da MF RIF:PVP que a banda referente às hidroxilas entre  $3000$  e  $3500\text{ cm}^{-1}$  foi atenuada, seguindo-se à região da cadeia alifática, na mesma região do carreador livre. percebe-se apenas uma diminuição da intensidade da banda referente ao estiramento da ligação N-H da amina secundária e da carboxila, causada pela vizinhança química diferenciada. O estiramento C-O em  $1251\text{ cm}^{-1}$ , apresenta uma banda mais intensa na MF. As bandas da acetila e da cetona cíclica foram ligeiramente deslocadas na MF em  $1712$  e  $1741\text{ cm}^{-1}$ , bem como a banda de estiramento da amida secundária, de  $1564$  para  $1560\text{ cm}^{-1}$ . A DS obtida apresentou indício de que houve interação entre o fármaco e o polímero PVP, pois as bandas da carbonila e furanona, em  $1710$  e  $1735\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, tiveram suas intensidades bastante reduzidas e o deslocamento da banda de  $1253$  para  $1244\text{ cm}^{-1}$  da ligação C-O. A banda referente à amina do anel piperazínico da rifampicina é sobreposta à amina (N-H) do PVP e é deslocada para  $1649\text{ cm}^{-1}$  (Figura 14).

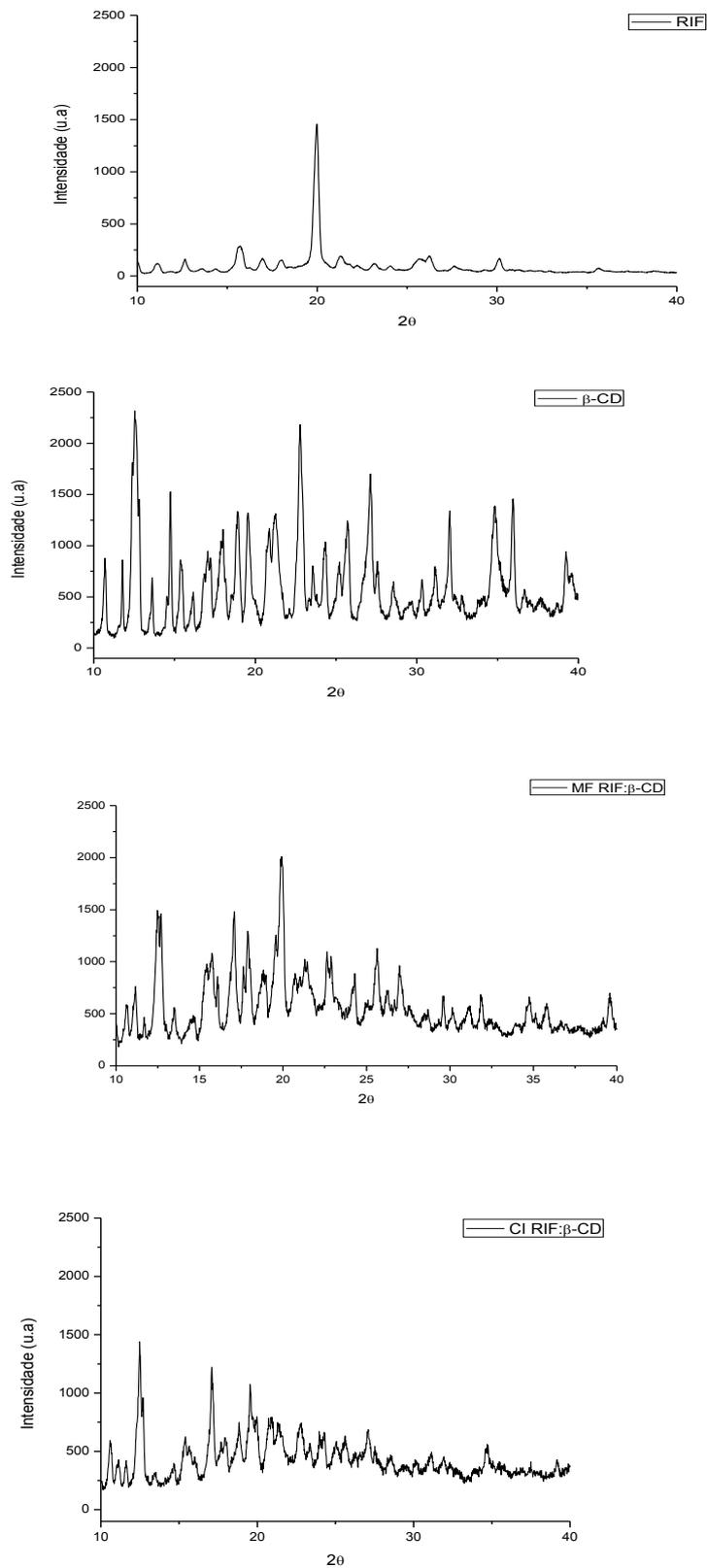


**Figura 14.** Espectros FTIR de PVP e sua mistura física (MF RIF:PVP) e dispersão sólida (DS PVP:RIF) com rifampicina.

A difração de raios X (DRX) determina a natureza cristalina de materiais sólidos, apresentando-se como uma técnica simples e rápida para a caracterização de complexos de inclusão. Baseia-se no espalhamento coerente da radiação X por estruturas organizadas (cristais), possibilitando um estudo morfológico das substâncias, ou seja, sua estrutura cristalina e/ou sua fração cristalina. A comparação dos difratogramas das espécies puras com os seus respectivos complexos e dispersão permite inferir a ocorrência de interação entre estes, mediante alterações em seus picos característicos (JUNIOR, 2004; VEIGA, PERCORELI, RIBEIRO, 2006).

O difratograma da RIF apresentou picos característicos da forma cristalina II em  $2\theta = 11,03^\circ$ ,  $12,70^\circ$ ,  $15,68^\circ$ ,  $16,95^\circ$ ,  $18,03^\circ$ ,  $20,02^\circ$  e  $21,29^\circ$ , já descritos na literatura por Agrawal et al, 2004b. A  $\beta$ -CD também teve sua estrutura cristalina bem evidenciada pela grande quantidade de picos (Figura 15).

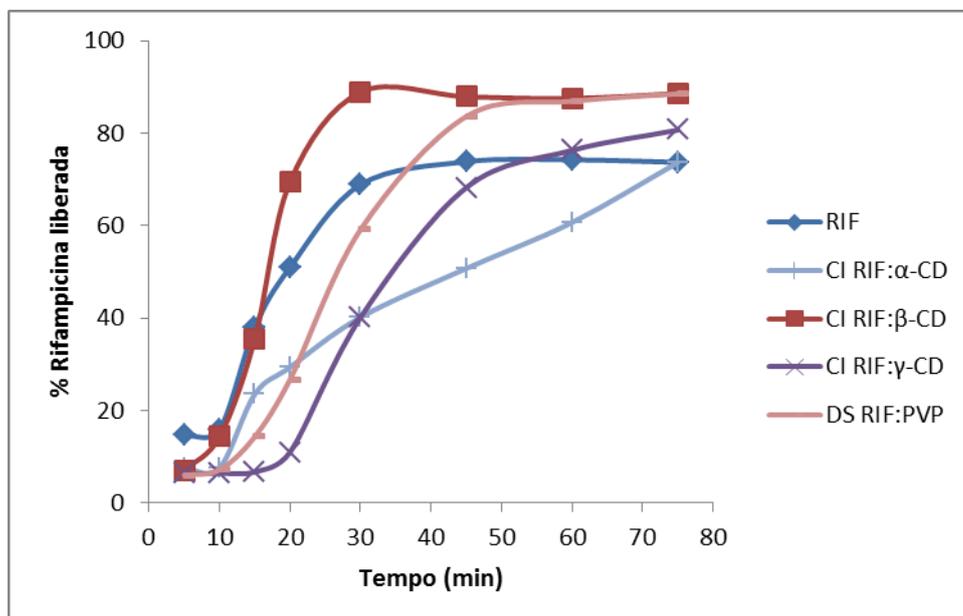
A mistura física apresentou uma sobreposição dos padrões de DRX das espécies isoladas, com redução de alguns picos característicos da ciclodextrina, mas mantendo o pico mais intenso da RIF em  $2\theta = 19,94^\circ$ . O complexo de inclusão sofreu uma ligeira amorfização, tendo em vista que o número de sinais foi reduzido, bem como sua intensidade, o que caracteriza perda de cristalinidade da amostra (Figura 15). A obtenção de um difratograma com características de um material amorfo, ou seja, sem picos finos bem definidos, pode ser um indicativo da ocorrência de complexação (CORTI et al, 2007).



**Figura 15.** Difratoograma de rifampicina,  $\beta$ -CD, mistura física RIF: $\beta$ -CD e complexo de inclusão RIF: $\beta$ -CD.

Incrementar a dissolução de um fármaco é a etapa mais importante ao delinear formulações envolvendo aqueles pertencentes à classe II do SCB. Neste caso a correlação de sua dissolução *in vitro*/ *in vivo* pode fornecer informações úteis para avaliar a biodisponibilidade do fármaco. Para tanto, realiza-se este ensaio em formas farmacêuticas sólidas a fim de prever a taxa de liberação do fármaco, mimetizando as condições do TGI (YASUJI et al., 2008).

Os complexos de inclusão tiveram maior eficiência de dissolução que sua mistura física correspondente, quanto à porcentagem de rifampicina liberada no meio. Os complexos RIF: $\beta$ -CD (88,6%) e RIF: $\gamma$ -CD (80,7%) tiveram melhor desempenho que o fármaco puro, enquanto o complexo RIF: $\alpha$ -CD (73,7%) apresentou uma liberação semelhante à rifampicina livre (73,7%). Isto pode ter sido provocado pela forma como o fármaco interage com a ciclodextrina, uma vez que a cavidade desta ciclodextrina possui diâmetro reduzido, inviabilizando a encapsulação mesmo que parcial do fármaco. O polímero PVP ao formar a dispersão sólida junto com o fármaco teve resultados semelhantes à  $\beta$ -CD, em torno de 88,5%, justificando seu emprego como agente promotor de solubilização por favorecer sua molhabilidade (Figura 16).



**Figura 16.** Perfil de dissolução de rifampicina (RIF), dos seus complexos de inclusão com  $\beta$ -CD (CI RIF: $\beta$ -CD) e  $\gamma$ -CD (CI RIF: $\gamma$ -CD) e da dispersão sólida com PVP (DS RIF:PVP).

Os melhores resultados do diagrama para estas ciclodextrinas deve-se ao tamanho de suas cavidades que, embora não sejam capazes de encapsular a molécula hóspede por completo, tem diâmetros compatíveis com determinados grupamentos da rifampicina. A eficiência de dissolução observada em torno de 45 minutos, não respeitou a especificação farmacopéica em todos os sistemas avaliados, que determina uma liberação mínima de 75%.

Desta forma, apenas o CI RIF: $\beta$ -CD e a DS RIF:PVP tiveram perfil de dissolução adequado às exigências sanitárias. Porém, para uma melhor compreensão a cerca da interação entre o fármaco e as moléculas carreadoras é preciso realizar análises complementares, como espectroscopia de ressonância magnética nuclear e microscopia eletrônica de varredura, por exemplo.

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos pelo ensaio de solubilidade, DSC e FTIR, não são conclusivos, mas permitem inferir que ocorre alguma interação entre a RIF e as ciclodextrinas  $\beta$  e  $\gamma$ , podendo tratar-se de uma complexação parcial da molécula conforme relatos da literatura, confirmadas pela diferença do perfil espectroscópico e térmico de suas respectivas misturas físicas, além do incremento na dissolução. No caso da  $\alpha$ -CD, esta limitação deve-se principalmente à incompatibilidade dimensional de sua cavidade e do tamanho da molécula hóspede. No entanto a dispersão sólida com PVP demonstrou incremento de solubilidade comparável ao sistema RIF: $\beta$ CD, interação esta também confirmada mediante alterações nas curvas DSC e espectros FTIR da mistura física e do complexo de inclusão.

### 4. PERSPECTIVAS

Além do trabalho desenvolvido até o momento pretendemos caracterizar todos os sistemas fármaco:carreador e suas espécies livres a partir de difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e ressonância magnética nuclear (RMN), cálculos computacionais e estudos de fotoestabilidade.

Após caracterizá-los, o sistema mais estável e eficiente, quanto à solubilização, serão realizados estudos de pré-formulação, a fim de obter uma forma farmacêutica líquida para este fármaco, facilitando o ajuste de dose e a administração em pacientes pediátricos e idoso e, concomitantemente, otimizando a sua biodisponibilidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, S.; PANCHAGNULA, R. **Implication of biopharmaceutics and pharmacokinetics of rifampicin in variable bioavailability from solid oral dosage forms.** *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. v. 26, p. 321–334, 2005.

AGRAWAL, S.; SINGH, I.; KAUR, K. J.; BHADE, S.; KAUL, C. L.; PANCHAGNULA, R. **Bioequivalence trials of rifampicin containing formulations: extrinsic and intrinsic factors in the absorption of rifampicin.** *Pharmacological Research*. v. 50, p. 317–327, 2004a.

AGRAWAL, S.; ASHOKRAJ, Y.; BHARATAM, P. V.; PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. **Solid-state characterization of rifampicin samples and its biopharmaceutic relevance.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 22, p. 127–144, 2004b.

ALVES, R.; REIS, T. V. S.; SILVA, L. C. C.; STORPÍRTIS, S.; MERCURI, L. P.; MATOS, J. R. **Thermal behavior and decomposition kinetics of rifampicin polymorphs under isothermal and non-isothermal conditions.** *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 46, n. 2, p. 333-351, 2010.

ANSEMI C., CENTINI M., RICCI M., BUONOCORE A., GRANATA P., TSUNO T., AND FACINO R. M. **Analytical characterization of a ferulic acid/gamma-cyclodextrin inclusion complex.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. v. 40, p. 875- 881, 2006.

BECKER, C.; DRESSMAN, J. B.; JUNGINGER, H. E.; KOPP, S.; MIDHA, K. K.; SHAH, V. P.; STAVCHANSKY, S.; BARENDS, D. M.. **Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Rifampicin.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 98, n. 7, p. 2252-2267, 2009.

CHADHA, R.; SAINI, A.; GUPTA, S.; ARORA, P.; THAKUR, D.; JAIN, D. V. S. **Encapsulation of rifampicin by natural and modified  $\beta$ -cyclodextrins: characterization and thermodynamic parameters.** *Journal of Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry*. v. 67, p. 109–116, 2010.

CORTI, G; CAPASSO, G; MAESTRELLI, F; CIRRI, M; MURA, P. **Physicochemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- $\beta$ -cyclodextrin.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. v. 45, p. 480-486, 2007.

DAHLBERG, C.; MILLQVIST-FUREBY, A.; SCHULEIT, M.; FURÓ, I. **Polymer–drug interactions and wetting of solid dispersions.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 39, p. 125–133, 2010.

DUCATI, R. G.; RUFFINO-NETTO, A.; BASSO, L. A.; SANTOS, D. S. **The resumption of consumption - A review on tuberculosis.** Memorial do Instituto Oswaldo Cruz. v. 101, n. 7, p. 697-714, 2006.

FERNANDES, C. M.; VIEIRA, M. T.; VEIGA, F. J. B. **Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nicardipine–cyclodextrins inclusion compounds.** European Journal of Pharmaceutical Sciences. v. 15, p. 79–88, 2002.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. **Phase solubility techniques.** Advanced Analytical Chemistry Instrumental. v. 4, p. 207–212, 1965.

JUNIOR, S.V.C. **Técnicas de caracterização de polímeros.** Editora Artiber, 2004.

KAWABATA, Y.; WADA, K.; NAKATANI, M.; YAMADA, S.; ONOUE, S. **Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications.** International Journal of Pharmaceutics. v. 420, n. 1, p. 1-10, 2011.

KUMAR, N.; KUMAR, P.; KUMAR, P.; KUMAR, M.; KUMAR, R. **Nanotechnology: A focus on Treatment of Tuberculosis.** International Journal of Drug Delivery. v. 3, p. 25-42, 2011.

LIMA, A. C. **Preparação de dispersões sólidas de praziquantel com polivinilpirrolidona pelo processo do fluido supercrítico.** Tese – Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 2009.

LOFTSSON, T.; FRIORIKSDOTTIR, H.; GUMUNDSOTTIR, T. K. **The effect of water-soluble polymers on aqueous solubility of drugs.** International Journal of Pharmaceutics, v. 127, p. 293-296, 1996.

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

MA, Z.; MOULTON, B. **Recent advances of discrete coordination complexes and coordination polymers in drug delivery.** Coordination Chemistry Reviews. v. 255, p. 1623–1641, 2011.

MACEDO, L, F, O. **Preparação e Caracterização de complexo de inclusão entre trimetoprim e 2-Hidroxiopropil-Gama-Ciclodextrina.** Dissertação - Mestrado. Universidade Federal de Sergipe. 2010.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introdução a Espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PELIZZA, G.; NEBULONI, M.; FERRARI, P.; GALLO, G. G. **Polimorphism of rifampicin**. *Farmaco (Sci)*. v. 32, n. 7, p. 471-481, 1977.

RAMA, A. C. R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I. V.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. **Aspectos biofarmacêuticos da formulação de medicamentos para neonatos. Fundamentos da complexação de indometacina com hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina para tratamento oral do fechamento do canal arterial**. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 41, n. 2, p. 281-299, 2005.

SAFFOON, N.; UDDIN, R.; HUDA, N. H.; SUTRADHAR, K. B. **Enhancement of Oral Bioavailability and Solid Dispersion: A Review**. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. v. 01, n. 7, p. 13-20, 2011.

SHARMA, A.; JAIN, C.P. **Preparation and characterization of solid dispersions of carvedilol with PVP K30**. *Research in Pharmaceutical Science*. v. 5, n. 1, p. 49–56, 2010.

SINGH, R.; BHARTI, N.; MADAN, J.; HIREMATH, S. N. **Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review**. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. v. 2, n. 3, p. 171-183, 2010.

SOSNIK, A.; CARCABOSO, A. M.; GLISONI, R. J.; MORETTON, M. A.; CHIAPPETTA, D. A. **New old challenges in tuberculosis: Potentially effective nanotechnologies in drug delivery**. *Advanced Drug Delivery Reviews*. n. 62, p. 547–559, 2010.

TAKAHASHI, A. I.; VEIGA, F. J. B.; FERRAZ, H. G. **A literature review of cyclodextrins inclusion complexes characterization - Part I: Phase solubility diagram, dissolution and scanning electron microscopy**. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. v. 12, n. 1, p. 16-20, 2012.

VAN DEN MOOTER, G. **The use of amorphous solid dispersions: A formulation strategy to overcome poor solubility and dissolution rate**. *Drug Discovery Today: Technology*, 2011. doi:10.1016/j.ddtec.2011.10.002TECHNOLOGIESDRUG.

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. **As ciclodextrinas em tecnologia farmacêutica**. Coimbra: MinervaCoimbra, 2006.

WHO. **Global tuberculosis control 2011**. Geneva, 2011.

YASUJI, T., TAKEUCHI, H., KAWASHIMA, Y. **Particle design of poorly water- soluble drug substances using supercritical fluid technologies.** *Adv. Drug Deliv. Rev.* v. 60, p. 388-398, 2008.